

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos



Una Institución Adventista

**Estudio de la cinética de degradación de la actividad antioxidante
y fenoles en el tostado de cacao (*Theobroma cacao* L) variedad
chuncho**

Autor:

Alicia Cristina Pareja Lozano

Asesor:

Ing. Joel Coaquira Quispe

Lima, noviembre de 2018

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA DEL INFORME DE TESIS

Joel Jerson Coaquira Quispe, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela de Ingeniería de alimentos, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: "Estudio de la cinética de degradación de la actividad antioxidante y fenoles en el tostado de cacao (*teobroma cacao L*) variedad chuncho" constituye la memoria que presenta la Bachiller Alicia Cristina Pareja Lozano para aspirar al título de Profesional de Ingeniería de Alimentos, cuya tesis ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente declaración en Juliaca, al 27 de diciembre del 2018



Joel Jerson Coaquira Quispe

Estudio de la cinética de degradación de la actividad antioxidante y fenoles en el tostado de cacao (*Theobroma cacao* L) variedad chuncho

TESIS

Presentada para optar el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos

JURADO CALIFICADOR



Dr. Rodrigo Alfredo Maños Chamorro
PRESIDENTE



Dr. Reynaldo Justino Silva Paz
SECRETARIO



Dr. Julio Florencio Paredes Guzmán
VOCAL



MSc. Daniel Sumire Oquenta
VOCAL



Ing. Joel Jerson Coaquira Quispe
ASESOR

Lima, 08 de noviembre de 2018

DEDICATORIA

Con amor para mis padres Esmila lozano Torres y Héctor Pareja por su comprensión y apoyo en toda esta etapa.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios por la salud y la sabiduría brindada en toda esta etapa de investigación, a mis padres por el apoyo incondicional.

Al Mg. David Condori por la orientación incondicional en el estudio de esta variedad de cacao.

Al bachiller Andres por sus sabias enseñanzas y sugerencias, fortaleciendo mis conocimientos.

A todos los encargados de laboratorio por la disponibilidad de los materiales y equipos sobre todo a la Mis Luz Miguel y Marita Díaz de la Vega por recibirme muy cordialmente.

A mi asesor Joel Coaquira por el aporte intelectual en este proyecto.

A la E.P. Ingeniería de Industrias Alimentarias, por los permisos para el uso de laboratorios y reactivos.

A todas las personas dentro del plantel que me brindaron su apoyo de una u otra manera para culminar con éxito mi tesis.

Índice general

Resumen.....	ii
Abstract	iii
CAPÍTULO I	1
EL PROBLEMA	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo general	3
1.1.2. Objetivo específicos	3
CAPÍTULO II	4
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
1.2. El Cacao (<i>Thebroma cacao</i> L.).....	4
1.3. Composición química del grano de cacao.....	6
1.4. Los antioxidantes	7
1.5. Operaciones post cosecha	9
1.5.1. Fermentación.....	9
1.5.2. Secado.....	10
1.5.3. Tostado	10
1.5.4. Maquinaria y métodos.....	11
1.5.4.1. Tostadora discontinua	11
1.5.4.2. Tostador / asador continuo	12
1.5.4.3. Tostador de lecho fluidizado.....	13
1.5.4.4. Tostado a microondas	14
1.6. Cinética química	14
1.6.1. Orden de reacción.....	14
1.6.2. Reacciones de orden cero	14
1.6.3. Reacción de primera orden	15
1.6.4. Reacción de segundo orden	15
CAPÍTULO III	17
MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución	17
3.2. Materiales	17
3.2.1. Materia prima.....	17
3.2.2. Reactivos.....	17
3.2.3. Materiales	18
3.2.4. Equipos	18

3.3.	Metodología experimental.....	19
3.3.1.	Esquema experimental	19
3.3.2.	Análisis estadístico.....	20
3.3.3.	Tostado del cacao.....	20
3.3.4.	Molienda y descascarillado	20
3.3.5.	Determinación de color	21
3.3.6.	Análisis proximal.....	21
3.3.7.	Contenido de grasas	21
3.3.8.	Extracción etanólica.....	22
3.3.9.	El contenido total de polifenoles	22
3.3.10.	Determinación de la capacidad antioxidante.....	23
3.3.11.	Cinética de compuestos antioxidantes y capacidad antioxidante.....	23
	CAPÍTULO IV.....	25
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1.	Análisis proximal.....	25
4.2.	Contenido de grasa.....	26
4.3.	Contenido total de polifenoles.....	28
4.4.	Actividad antioxidante	30
4.5.	Determinación de la cinética	33
4.5.1.	Influencia de los parámetros en la concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidantes.	33
4.6.	Determinación de color	42
	CAPITULO V.....	47
	CONCLUSIÓNES.....	47
	RECOMENDACIONES	47
	Referencias	48
	Anexos.....	55

Índice de figuras

Figura 1. "Cacao chuncho"	4
Figura 2. Antioxidantes como secuestradores de radicales libres.....	9
Figura 3. Vista esquemática de un tostador por lotes: 1, tolva de alimentación, 2, tambor giratorio, 3, puerta de salida del producto y 4, gas descargado.	12
Figura 4. Tostadora en espiral continua: 1, sistema de alimentación, 2, tubos vibratorios para transportar materiales, 3, tubos astillados progresivos, 4, tubos de enfriamiento y 5, salida de producto	13
Figura 5. Tostador de lecho fluidizado tipo discontinuo	13
Figura 6. Cacao chuncho fermentado sin tostar.....	17
Figura 7. Tostadora (Paleta giratoria, 100- 200°C).....	20
Figura 8. Molino manual: grano de cacao descascarillado y molienda	21
Figura 9. Equipos para la determinación de los análisis proximales (A) estufa, (B) mufla, (C) pH metro y (D) Soporte universal.....	21
Figura 10. Equipos soxhlet para extracción de grasas.....	22
Figura 11 Variación de la grasa (%) según tiempo (min) y temperatura (°C).....	27
Figura 12. Curva estándar de ácido gálico (mg/ml)	28
Figura 13. Efecto del tostado en el contenido de poli fenoles totales	29
Figura 14 Curva estándar de trolox (mg/ml).....	31
Figura 15. Variación de la actividad antioxidante con respecto al tiempo (min) y temperatura (°C).....	32
Figura 16. Reacción de orden 1 para absorbancia 1 de fenoles (RMSE _{100°C} = 0.011, RMSE _{120°C} = 0.036, RMSE _{140°C} = 0.081 y RMSE _{160°C} = 0.411)	34
Figura 17. Reacción de orden 1 para absorbancia 2 de fenoles (RMSE _{100°C} = 0.011, RMSE _{120°C} = 0.036, RMSE _{140°C} = 0.081 y RMSE _{160°C} = 0.411)	35
Figura 18. Reacción de orden 1 para absorbancia 3 de fenoles (RMSE _{100°C} = 0.011, RMSE _{120°C} = 0.036, RMSE _{140°C} = 0.081 y RMSE _{160°C} = 0.411)	35
Figura 19. Reacción de orden 0 para absorbancia 1 de antioxidantes (RMSE _{100°C} = 2.025, RMSE _{120°C} = 2.613, RMSE _{140°C} = 6.004 y RMSE _{160°C} = 8.7)	37
Figura 20. Reacción de orden 0 para absorbancia 2 de antioxidantes (RMSE _{100°C} = 2.025, RMSE _{120°C} = 2.613, RMSE _{140°C} = 6.004 y RMSE _{160°C} = 8.7)	38
Figura 21. Reacción de orden 0 para absorbancia 3 de antioxidantes (RMSE _{100°C} = 2.025, RMSE _{120°C} = 2.613, RMSE _{140°C} = 6.004 y RMSE _{160°C} = 8.7)	39
Figura 22. Contenido total de fenoles para cacao tostado a 25 min	41
Figura 23. Contenido de la actividad antioxidante para cacao tostado a 25 min	41
Figura 24. Distribución de la luminosidad (L*) según la variación de tiempo y temperatura	43
Figura 25. Variación de a* con relación al tiempo (min) y temperatura (°C).....	44
Figura 26. Variación de b* con relación al tiempo (min) y temperatura (°C).....	45
Figura 27. Variación de L*, a*, b* del cacao tostado a los 25 min.....	46

Índice de tablas

Tabla 1. Diferencias entre Cacao “Chuncho” y otras variedades de cacao	5
Tabla 2. Características cualitativas y cultivares del cacao variedad chuncho.....	6
Tabla 3. Diagrama del procedimiento experimental.....	19
Tabla 4. Características fisicoquímicas de la materia prima sin tostar.....	25
Tabla 5. Energía de activación de fenoles totales	36
Tabla 6. Constante de velocidad para cada temperatura de fenoles	36
Tabla 7. Energía de activación de antioxidantes	39
Tabla 8. Constante de velocidad para cada temperatura de Antioxidantes	39

Índice de anexos

Anexo 1 Parámetros de color medidos por el método CIE $L^* a^* b^*$ en granos de cacao tostado.....	55
Anexo 2 Variación del porcentaje de grasa según las temperaturas.....	56
Anexo 3 Cuantificación de polifenoles totales de absorbancia 1.....	57
Anexo 3.1 Cuantificación de polifenoles totales de absorbancia 2.....	58
Anexo 3.2 Cuantificación de polifenoles totales de absorbancia 3.....	59
Anexo 4 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 1 de fenoles	60
Anexo 4.1 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 1 de fenoles.....	60
Anexo 4.2 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 2 de fenoles.....	60
Anexo 4.3 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 2 de fenoles	61
Anexo 4.4 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 3 de fenoles.....	61
Anexo 4.5 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 3 de fenoles.....	61
Anexo 5 Reacción de orden 0 para absorbancia 1 de fenoles	62
Anexo 5.1 Reacción de orden 0 para absorbancia 2 de fenoles	62
Anexo 5.2 Reacción de orden 0 para absorbancia 3 de fenoles	63
Anexo 5.3 Reacción de orden 2 para absorbancia 1 de fenoles	63
Anexo 5.4 Reacción de orden 2 para absorbancia 2 de fenoles	64
Anexo 5.5 Reacción de orden 2 para absorbancia 3 de fenoles	64
Anexo 6 Capacidad antioxidante de absorbancia 1.....	65
Anexo 6.1 Capacidad antioxidante de absorbancia 2	66
Anexo 6.2 Capacidad antioxidante de absorbancia 3	67
Anexo 7 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 1 de antioxidantes.....	68
Anexo 7.1 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 1 de antioxidantes.....	68
Anexo 7.2 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 2 de antioxidantes	68
Anexo 7.3 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 2 de antioxidantes.....	69
Anexo 8 Reacción de orden 1 para absorbancia 1 de antioxidantes	69
Anexo 8.1 <i>Reacción de orden 1 para absorbancia 2 de antioxidantes</i>	70
Anexo 8.2 Reacción de orden 1 para absorbancia 3 de antioxidantes.....	70
Anexo 8.3 Reacción de orden 2 para absorbancia 1 de antioxidantes.....	71
Anexo 8.4 Reacción de orden 2 para absorbancia 2 de antioxidantes.....	71
Anexo 8.5 Reacción de orden 2 para absorbancia 3 de antioxidantes.....	72
Anexo 9 Grafico de normalidad para L^* de cacao tostado a 25 min	73
Anexo 9.1 Homogeneidad de varianzas para luminosidad de cacao tostado a 25 min... 73	73
Anexo 9.2 Análisis de varianza para luminosidad de cacao tostado a 25 min	73
Anexo 9.3 Test de Tukey para luminosidad a los 25 min	74
Anexo 10 Grafico de normalidad para a^* de cacao tostado a 25 min.....	74
Anexo 10.1 Homogeneidad de varianzas para a^* de cacao tostado a 25 min	74
Anexo 10.2 Cuadro de prueba de kruskal – wallis para a^* de cacao tostado a 25 mi (a^* vs. Tratamientos).....	75
Anexo 10.3 Cuadro de ANOVA para a^* de cacao tostado a 25 min.....	75
Anexo 10.4 Comparación múltiple para a^* de caco tostado a 25 min	75
Anexo 10.5 Comparación múltiple de p- valor para a^* de cacao tostado a 25 min	76
Anexo 11 Grafico de normalidad para b^* de cacao tostado a 25 min.....	76
Anexo 11.1 Tabla de varianzas para b^* de cacao tostado a 25 min.....	76
Anexo 11.2 Cuadro de prueba de kruskal – wallis para b^* de cacao tostado a 25 mi (b^* vs. Tratamientos).....	77

Anexo 11.3	Tabla de ANOVA b * de caco tostado a 25 min	77
Anexo 11.4	Comparación múltiple para b * de caco tostado a 25 min	77
Anexo 11.5	Comparación múltiple de p – valor para a * de caco tostado a 25 min	78
Anexo 12	Grafico de normalidad para % de inhibición de cacao tostado a 25 min.....	78
Anexo 12.1	Varianzas para % inhibición de cacao tostado a 25 min	78
Anexo 12.2	Análisis de varianza para % inhibición de cacao tostado a 25 min.....	79
Anexo 12.3	Test de Tukey para % inhibición a los 25 min	79
Anexo 13	Grafico de normalidad para capacidad antioxidante de cacao tostado a 25 min	79
Anexo 13.1	Varianzas para capacidad antioxidante de cacao tostado a 25 min.....	80
Anexo 13.2	Análisis de varianza para capacidad antioxidante de cacao tostado a 25 min	80
Anexo 13.3	Test de Tukey para capacidad antioxidante de caco tostado a los 25 min .	80
Anexo 14	Grafico de normalidad para fenoles totales de cacao tostado a 25 min	81
Anexo 14.1	Varianzas para fenoles totales (mg eq ácido gálico/g de cacao) de cacao tostado a 25 min	81
Anexo 14.2	Cuadro de prueba de kruskal – wallis para fenoles totales (ácido gálico/g de cacao) de cacao tostado a 25 min.....	81
Anexo 14.3	Comparación múltiple para fenoles totales (mg ácido gálico/g de cacao) de caco tostado a 25 min.....	82
Anexo 14.4	Comparación múltiple de p – valor para fenoles totales (mg ácido gálico/g de cacao de caco tostado a 25 min.....	82
Anexo 15	ANOVA para capacidad antioxidante	83
Anexo 15.1	ANOVA para polifenoles totales	83

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar la cinética de degradación de la actividad antioxidante y fenoles totales en granos de cacao (*Theobroma cacao*) variedad chuncho y su evolución del color durante el tostado. Se sometieron a temperaturas de tostado de 100, 120, 140 y 150 °C por intervalos de 5, 10, 15, 20 y 25 min. Se determinó después de cada tratamiento la actividad antioxidante, polifenoles totales y la variación del color. El análisis de compuestos bioactivos como fenoles totales mostró que la degradación fue menor a una temperatura de 100 °C, la cual vario 0.065 a 0.010 EAG mg/g. A pesar de la relación de los fenoles con la actividad antioxidante no se apreció una degradación sino un aumento, oscilando desde 17.034 a 51.925 mg eq Trolox/g. Así también para la determinación de cinética se revelaron datos de 45.30 kJ/mol (fenoles) y 63.49 kJ/mol (antioxidantes). Y los parámetros cuantificados presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre actividad antioxidante, fenoles totales y las condiciones de tostado.

Palabras claves: *capacidad antioxidante, fenoles, cinética, variedad chuncho, energía de activación, tostado.*

Abstract

The objective of this work was to study the kinetics of degradation of antioxidant activity and total phenols in cocoa beans (*Theobroma cacao*) variety chuncho and its color evolution during roasting. They were subjected to roasting temperatures of 100, 120, 140 and 150 °C at intervals of 5, 10, 15, 20 and 25 min. Antioxidant activity, total polyphenols and color variation were determined after each treatment. The analysis of bioactive compounds as total phenols showed that the degradation was lower at a temperature of 100 °C, which varied from 0.065 a 0.010 EAG mg / g. Despite the relationship of the phenols with the antioxidant activity, there was no degradation but an increase, ranging from 17.034 a 51.925 mg eq Trolox / g. Also for the determination of kinetics, data of 45.30 kJ / mol (phenols) and 63.49 kJ / mol (antioxidants) were revealed. And the quantified parameters presented significant differences ($P < 0.05$) between antioxidant activity, total phenols and roasting conditions.

Keywords: *antioxidant capacity, phenols, kinetics, chuncho variety, activation energy, roasting.*

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

El árbol del cacao (*Thebroma cacao L.*) es una especie que pertenece a la familia Malvaceae a partir de la cual se elabora el chocolate, uno de los alimentos más populares a nivel mundial (Baharum *et al.*, 2016).

El cacao contiene más de 300 compuestos químicos, muchos de los cuales son de importancia para el desarrollo del aroma y sabor del chocolate. Asimismo, posee compuestos bioactivos de potencial beneficio para la salud. Los granos de cacao contienen una gran cantidad de antioxidantes, los fenoles reducen los niveles de colesterol. Dentro de los principales compuestos se encuentran los ácidos grasos, minerales, metilxantinas (teobromina y cafeína), aminoácidos, terpenos y los polifenoles. Estos últimos son de gran importancia por sus actividades antioxidante, antiinflamatoria y cardioprotectora; entre otras (De Araujo *et al.*, 2016).

Los niveles de polifenoles junto con los alcaloides proporcionan la astringencia y amargor del cacao. Otros componentes como teobromina, cafeína, aminoácidos, péptidos, pirazinas, aldehídos, éteres contribuyen al sabor del chocolate.

Perú alberga el 60 % de grupos genéticos, clasificado como el segundo país productor y exportador de cacao fino. Según el Ministerio de Agricultura y Riego del Perú; 44% de la producción corresponde al cacao fino (criollo + nativo) y el 56% es cacao corriente o común (CCN – 51 + Forastero) (Romero, 2016).

Una de las variedades nativas que está ganando visibilidad es la variedad Chuncho, conocida como: chuncho de montaña, pamuco, señorita, sábado, achoccha, común. Esta variedad esta siendo revalorada por sus características sensoriales que otorga a los productos procesados, sin embargo existen escasos estudios respecto a su caracterización durante la cosecha y pos cosecha (fermentado, secado y tostado) (MINAGRI, 2009; Romero, 2016).

El tostado es uno de los procesos más importantes para la obtención de calidad de los chocolates desarrollando características que realzan sus propiedades del sabor, realizado generalmente entre 120 y 150 °C (Zy'zelewicz *et al.*, 2014), dependiendo de factores origen, periodo de cosecha, tratamiento antes del tostado, contenido de humedad y tamaño. A su vez, las reacciones químicas involucradas se ven afectadas por el tiempo, temperatura, pH, humedad y lípidos totales; también por la presencia de compuestos aromáticos, azúcares reductores aminoácidos libres (Yamaguchi *et al.*, 1981).

Hasta el momento se conoce que el uso de altas temperaturas y tiempos prolongados en el tostado reduce la capacidad antioxidante y cantidad de polifenoles, a pesar de la presencia de melanoidinas, sin embargo aún no se ha estudiado este efecto en el cacao variedad chuncho. Por lo tanto, estudiar la cinética de la actividad antioxidantes y contenido de fenoles totales, permitirán conocer parámetros involucrados en el proceso de tostado y con ello revalorar a esta especie nativa cultivada en la provincia de la Convención – Cusco, y al mismo tiempo satisfacer la demanda como ingrediente en la industria alimentaria. (Romero, 2016; Weisburguer, 2001).

Por ello el estudio del tostado es importante para mejorar o estandarizar las propiedades sensoriales de este producto. (Nazaruddin *et al.*, 2006).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Estudiar la cinética de degradación de la actividad antioxidante y fenoles totales en granos de cacao variedad chuncho y su evolución del color durante el tostado.

1.1.2. Objetivo específicos

- Caracterizar los granos de cacao.
- Evaluar el efecto de la temperatura y tiempo durante el tostado sobre la capacidad antioxidantes (mg eq. Trolox / g cacao) y fenoles (mg de ácido gálico / g de cacao).
- Calcular los parámetros cinéticos de degradación de la capacidad antioxidante y fenoles totales.
- Evaluar la variación del color durante del proceso de tostado.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.2. El Cacao (*Thebroma cacao* L.)

El cacao “Chuncho” del Cusco 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 ascendía a unas 18,500 ha en el año 2015. Este cacao nativo presenta diferentes características agromorfológicas, y de acuerdo a ellas, los agricultores han dado diversos nombres a estos cultivares, como por ejemplo: Chuncho, Común, Achoccha, Sábalo, Señorita, Pamuco, Chuncho de montaña, entre otros. (Ministerio de agricultura [MINAGRI], 2009).



Figura 1. “Cacao chuncho”

Fuente: (Rojas et al., 2017).

En la Tabla 1 se presenta las características intrínsecas del cacao variedad chuncho comparado con otras variedades de cacao (Rojas et al., 2017)

Tabla 1. Diferencias entre Cacao “Chuncho” y otras variedades de cacao

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 a 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 a alta
Sabor de almendras (amargor)	Bajo o ausente	Alto o muy alto
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: (Rojas *et al.*, 2017).

Los granos de cacao usado en este estudio es un blend, el cual hace referencia a la mezcla de diversos biotipos de cacao chuncho, los cuales se menciona en la Tabla 2.

Tabla 2. Características cualitativas y cultivares del cacao variedad chuncho

Denominación	Característica	Cultivares
“Chuncho”	Forma de fruto elíptico y oblongo	- Chuncho - Pamuco liso - Pamuco rugoso
“Pamuco”	Forma de fruto oblado y orbicular	- Pamuco alargado - Pamuco redondo - Común - Común liso
“Común”	Tamaño de fruto pequeño	- Común rugoso - Común surcado
“Blanco”	Almendra de color blanco	- Blanco Común - Blanco Pamuco - Blanco Chuncho
“Achoccha”	Forma de fruto abovado y con contricción basal del fruto	- Achoccha liso - Achoccha rugoso
“Cáscara de huevo”	Cáscara suave y frágil al tacto	- Cáscara de huevo liso - Cáscara de huevo rugoso
“Señorita”	Forma de fruto oblongo	- Señorita lisa - Señorita rugosa
“Chuncho-común”	Forma de fruto oblongo, ápice de fruto liso	- Chuncho-común liso - Chuncho-común rugoso
“Chuncho de montaña”	Forma de fruto elíptico y rugoso	- Chuncho de montaña
“Común Manzana”	Tamaño de fruto pequeño con almendras color violeta	- Común Manzana

Fuente: (Rojas *et al.*, 2017).

1.3. Composición química del grano de cacao

La composición química del cacao depende de factores como: variedad, origen geográfico, grado de madurez, calidad de fermentación, secador y tostado. Los

principales constituyentes son: agua, grasa, compuestos fenólicos, materia nitrogenada (proteína y purinas), almidón y otros carbohidratos (Keen *et al.*, 2005)

Respecto al contenido de grasa varía entre 50 al 55% en el cacao fresco y luego de ser tostado oscila entre 48 y 52% en el licor de cacao, los principales ácidos son: oleico, láurico, palmítico y esteárico (Keen *et al.*, 2005)

El cacao es rico en el contenido de polifenoles, representando del 12 y 18 % de peso seco en los granos, los cuales se encuentran fuertemente asociados con la actividad antioxidante y con las características organolépticas de producto elaborado a partir del grano de cacao, estos compuestos bioactivos (polifenoles) están presentes en las células pigmentarias de los cotiledones, la cual aportan colores que van del blanco hasta un morado oscuro, dependiendo específicamente de la cantidad de antocianinas almacenadas (Osman *et al.*, 2004). En los granos de cacao según Krysiak (2006) se diferencian 3 tipos de polifenoles, como la catequinas o flavan-3-oles, antocianinas y proantocianidinas.

1.4. Los antioxidantes

El termino antioxidante hace referencia a cualquier sustancia presente a una concentración baja, comparada con la de un sustrato oxidable es capaz de retrasar o prevenir la oxidación de dicho sustrato oxidable (Nazaruddin *et al.*, 2006). Los antioxidantes son capaces de neutralizar radicales libres, y pueden jugar un rol importante en la modulación de detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria y modulación del metabolismo hormonal (Othman *et al.*, 2007)

La prueba que utiliza la reducción del radical DPPH en presencia de compuestos fenólicos es muy popular en la investigación de alimentos. Esta prueba se basa en la disminución de la absorbancia de la solución radical de acuerdo con la reacción DPPH con antioxidantes fenólicos. El DPPH es uno de los compuestos que posee un radical libre de protones y muestra una absorción máxima a 517 nm. (Othman *et al.*, 2007).

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) desempeñan un papel importante en muchos procesos biológicos. Se generan durante las reacciones de transferencia de electrones en las células aeróbicas, especialmente por la cadena transportadora de electrones mitocondrial. El radical hidróxido (OH), anión superóxido ($O_2 \cdot^-$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl) y oxígeno individual ($1O_2$). Cuando se producen en exceso y no destruidos por el sistema antioxidante de defensa del

organismo, pueden reaccionar fácilmente con el ADN, las proteínas y los lípidos, provocando enfermedades como cáncer, aterosclerosis, injuria de la mucosa gástrica y envejecimiento. Para ayudar a los sistemas antioxidantes de defensa, es deseable la ingestión de sustancias con capacidad antioxidante para combatir el exceso de ERO. Algunos polifenoles, como el flavonol, quercetina y los flavanoles, catequina y epicatequina, además de carotenoides y vitaminas C y E, presentan una elevada actividad antioxidante (Othman *et al.*, 2007).

La actividad antioxidante del cacao se determinó en diversos estudios. Se evaluó el efecto *in vitro* de un extracto rico en flavonoides obtenido a partir de licor de cacao en solución alcohólica 80%. Los resultados indicaron que no sólo las catequinas y epicatequinas presentaron efecto antioxidante, como también quercetina, quercetina-3-glucósido, quercetina-3-arabinosídeo y dideoxiclovaída. Mao *et al.*, (2000) demostraron la elevada actividad antioxidante *in vitro* de las procianidinas del cacao, tanto en la fase de inducción (actuando como antioxidante preventivo), como en la fase de propagación (actuando como antioxidante que rompe cadenas) de la peroxidación de lípidos. Los mismos compuestos se mostraron capaces, aún, de retardar el ataque de lípidos durante la fase de rotura de las reacciones de prooxidación, inhibiendo totalmente la formación de productos de degradación. Estos efectos se observaron incluso en concentraciones submicromoleculares, indicando que las procianidinas del cacao pueden actuar como inhibidores de las inflamaciones agudas. Los datos presentados a partir de otros estudios demostraron que la capacidad antioxidante de las procianidinas de cacao y derivados fue mayor en comparación con otros alimentos. (Othman *et al.*, 2007).

Los polifenoles son productos del metabolismo secundario de las plantas. Los más representativos en el cacao son metabolitos tipo flavonoide: catequinas o flavan-3-ol (37%), antocianinas (4%) y proantocianidinas (58%). La principal catequina es (-)-epicatequina, que representa cerca del 30% del contenido de polifenoles del grano, otras catequinas minoritarias son (+)-catequina, (+)-gallocatequina y (-)-epigallocatequina. La fracción de antocianinas consiste principalmente de cianidina-3-arabinosa y cianidina-3-D-galactosa; entre las procianidinas, las más abundantes son aquellas unidades diméricas, triméricas y oligoméricas de epicatequina y flavan-3,4-diol. (Wollgast, J., & Anklam, E, 2000).

La actividad antioxidante de los polifenoles es la propiedad de mayor interés, ya que ha sido blanco de un sin número de estudios; este efecto se debe a que contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres (Figura 2).

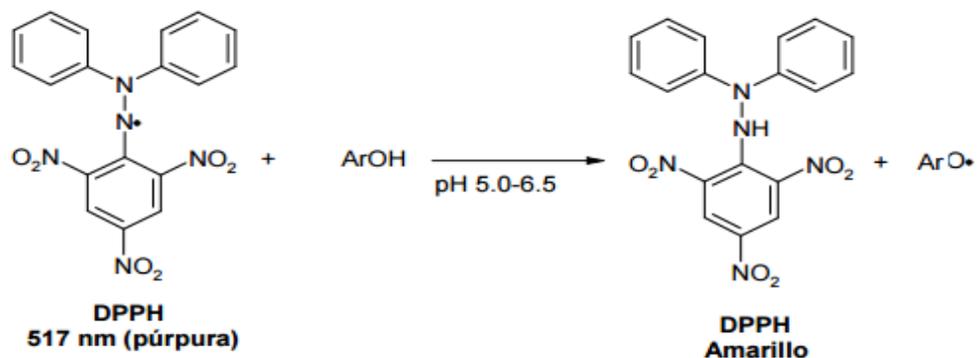


Figura 2. Antioxidantes como secuestradores de radicales libres

Fuente: (Othman et al., 2007)

Las actividades antioxidantes se expresan como inhibición de la oxidación o equivalentes de un antioxidante de referencia seleccionado tal como trolox, ácido ascórbico u otro compuesto. (Huang et al., 2005)

El ensayo de la capacidad antioxidante equivalente trolox (TEAC) se desarrolló por primera vez como un método simple y conveniente para la determinación de la capacidad antioxidante total (TAC) (Miller et al., 1993). El ensayo mide la capacidad de los antioxidantes para neutralizar el radical. Se clasifica como un método basado en transferencia de electrones (ET) y también se aplica el mecanismo transferencia de átomos de hidrógeno (HAT). El ensayo TEAC se ha utilizado para medir la actividad antioxidante total de sustancias, fluidos corporales y materiales vegetales. El ensayo TEAC, similar a otros métodos de eliminación de radicales, puede automatizarse y adaptarse a microplacas y técnicas de inyección de flujo (Milardovic, Kerekovic & Rumenjak, 2007).

1.5. Operaciones post cosecha

1.5.1. Fermentación

El inicio de este proceso comienza con la extracción de los granos con mucilago de la mazorca, tiene como fin la conservación del grano y originar la formación de aromas y sabores (Zambrano et al., 2010). El proceso pasa por dos etapas: una anaeróbica y otra aeróbica. En la primera etapa microorganismos como las levaduras (*Saccharomyces spp*, *Kloeckera spp*, *Saccharomycopsis spp*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torulopsis spp*, entre otros microorganismos) en medio anaeróbico atacan la pulpa hidrolizando carbohidratos y proteínas para convertirlos en etanol,

dióxido de carbono y péptidos de bajo peso molecular. En la segunda etapa, la remoción del grano favorece la actividad de bacterias aeróbicas: bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus spp*, *Leuconostoc spp*, *Pediococcus spp*) y ácido acéticas (*Acetobacter spp* y *Gluconobacter oxydans*). Estas últimas convierte el etanol en ácido acético, el cual penetra al cotiledón y causa la muerte del grano; además se inician las reacciones enzimáticas que favorecen la formación de péptidos de bajo peso molecular, aminoácidos libres y la oxidación de los polifenoles, dichas reacciones son controladas principalmente por los cambios de temperatura y pH (Hansen *et al.*, 1998).

1.5.2. Secado

En este proceso se llegará a reducir el exceso de humedad aproximadamente 60 % a 6-8 % para asegurar un almacenamiento sin ningún daño al grano, en este paso se agrega valor al sabor que obtendrá el chocolate, así también se aprecia una variación en los colores, acentuándose el color marrón. Se puede realizar por distintos mecanismos como el natural que hace referencia al secado por exposición al sol o el artificial empleando maquinas (Hansen *et al.*, 1998).

1.5.3. Tostado

Lo que se toma como criterio más importante el cual definirá la calidad del grano de cacao en los fabricantes de chocolate es el sabor, este es desarrollado en dos etapas de fundamental importancia como la fermentación y el tostado. Los precursores de aromas desarrollados durante la fermentación interactúan en el proceso de tostado para producir el deseado sabor de chocolate es por ello que el tostado es considerado como la operación tecnológica más importante en el procesamiento de los granos de cacao, optimizar las condiciones de tostado de cacao significa desenvolver al máximo el potencial aromático de las almendras. (Nazaruddin, 2006)

La etapa de tostado es fundamental para la obtención de las características de calidad de los chocolates (Oliviero, 2009).

Principalmente las variables tiempo y temperatura, dependerán de las propiedades de los granos tostados, así como; la concentración de compuestos volátiles, el sabor, acidez total y contenido de grasa. Según Noor (2009); esta última debido a que los granos rotos dejan escapar la manteca de cacao a través de las células lesionadas, disminuyendo el rendimiento productivo, en tanto que la acidez se ve afectada debido a la reducción de las concentraciones de ácido volátiles, tales como el ácido acético, pero no los ácidos no volátiles tales como: el oxálico, cítrico, tartárico, succínico y láctico (Wollgast & Anklam, 2000). Es por ello que Toledo (2007) recomienda el

tostado convectivo debido a que es el método más utilizado en el tratamiento térmico de los granos de cacao, se realiza en tostadoras continuas tipo tambor de revolución, en donde se exponen los granos de cacao a un rango de temperatura de operación entre los 120 a 140°C.

1.5.4. Maquinaria y métodos

Tostar los granos de café o frutos secos o granos son realizadas por los tostadores continuos y discontinuos. Los alimentos se calientan directamente poniéndose en contacto con la llama o indirectamente empleando sistemas de infrarrojos / microondas y tostadores de tambor rotativo. 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. Con frecuencia, el tostador de tambor se sustituye por túneles o hornos de lecho fluidizado en los que los granos o frutos secos pasan sobre correas móviles o son sometidos a vibración bajo una fuente de calor que emite luz infrarroja bajo temperatura controlada. El tostador empleado comúnmente se discute en la sección subsecuente. (Noor, 2009). A continuación, se describen tostadores utilizados en el procesamiento de cacao:

1.5.4.1. Tostadora discontinua

El sistema básico de un tostador de café discontinuo (Figura 3) consiste en (a) una tolva para alimentar el material, (b) una cámara de tostado o tambor a través del cual pasa aire caliente y el material se mezcla, (c) una unidad de descarga que lleva el material tostado al final del tostado y (d) un motor de accionamiento. La cámara de tostado es generalmente un tambor horizontal, el cual en un ángulo deseado puede ser girado para una buena mezcla, una tostadura y una descarga uniformes. Un tostador discontinuo con recirculación de aire es también posible empleando un horno que suministra el aire calentado quemando un combustible de gas o aceite. Un ventilador suministra aire al quemador en el horno y válvulas adecuadas controlan la velocidad a la que se necesita el flujo de combustible y aire. Se puede instalar un ciclón para recoger las virutas y las cáscaras que se generan durante la tostadura. Otro ventilador recircula la mayor parte del gas caliente para la eficiencia energética.

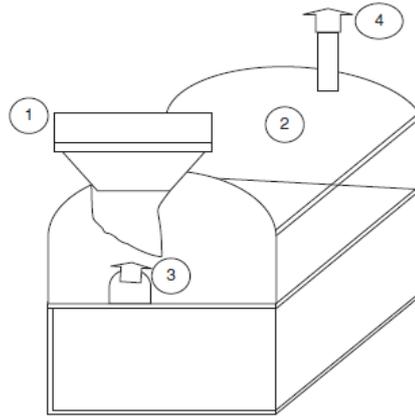


Figura 3. Vista esquemática de un tostador por lotes: 1, tolva de alimentación, 2, tambor giratorio, 3, puerta de salida del producto y 4, gas descargado.

Fuente: (Noor, 2009).

1.5.4.2. Tostador / asador continuo

Se emplean sistemas continuos (sistemas horizontales inclinados y sistemas de tubos en espiral) para la fabricación a gran escala de granos tostados, nueces, semillas oleaginosas, café y semillas de cacao. Hay tres fases para un tostador espiral continuo (Figura 4), que consisten en (a) alimentación de la materia prima a un caudal constante, (b) los materiales se calientan en los tubos en espiral directamente durante un tiempo y temperatura residencial deseados donde El material es asado gradualmente y transportado a la siguiente cámara de enfriamiento por vibración y (c) el material tostado se deja enfriar en la tercera fase de los segundos tubos en espiral donde la inyección de aire frío y seco reduce la temperatura del material así como estabiliza la temperatura producto adecuado para el envasado. Una amplia gama de productos puede ser asado o tostado, como almendras, anacardos, pistachos, avellanas, semillas de girasol, semillas de calabaza, semillas de sésamo, trigo, cebada, té y especias. Se puede alcanzar una temperatura tan alta como 300 °C y una capacidad de producción de 5000 kg/h.

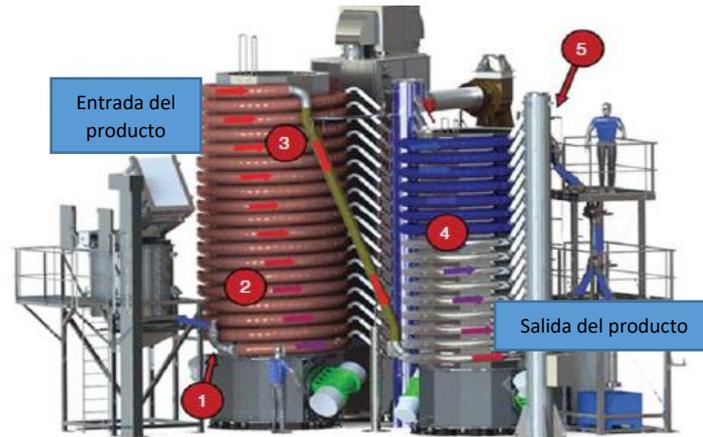


Figura 4. Tostadora en espiral continua: 1, sistema de alimentación, 2, tubos vibratorios para transportar materiales, 3, tubos astillados progresivos, 4, tubos de enfriamiento y 5, salida de producto

Fuente: (Noor, 2009)

1.5.4.3. Tostador de lecho fluidizado

El aire caliente se sopla hacia arriba a través de las partículas de alimento con la fuerza suficiente para suspender las partículas en un suave movimiento de ebullición. El aire calentado se introduce a través de una placa porosa que soporta el lecho de los materiales alimenticios (Figura 5). El aire húmedo existe en la parte superior. El tiempo de tostado / asador depende principalmente de la profundidad del material, el contenido de humedad y la temperatura de tostado.

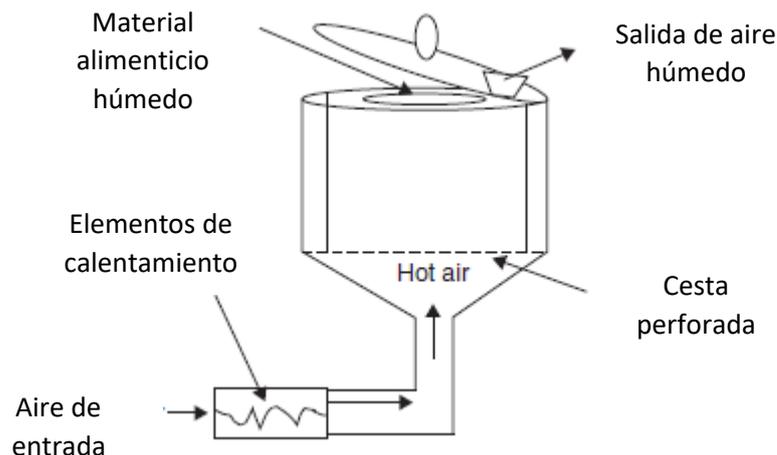


Figura 5. Tostador de lecho fluidizado tipo discontinuo

Fuente: (Noor, 2009)

En el caso de un tostador de lecho fluidizado de tipo continuo, el material se mueve sobre una cinta metálica perforada vibratoria a través de la cual el aire caliente pasa

a una velocidad moderada para ayudar a la fluidización. El ajuste de una inclinación adecuada también ayuda al movimiento del material durante el tratamiento térmico.

1.5.4.4. Tostado a microondas

El tostado o asado por microondas es el método más rápido de tratamiento térmico de los materiales alimenticios. Las microondas con una frecuencia de 950 o 2450MHz son generadas por un magnetrón. El límite de penetración de las microondas a los alimentos es sólo unos pocos centímetros. Una ventaja de la torrefacción de microondas es que el tiempo de tostado es diez veces más rápido que un método de cocción convencional, ahorrando un tiempo considerable y energía eléctrica. La limitación del tostado en microondas es que la formación de costra o el dorado de la superficie externa no ocurren en el alimento asado y Por consiguiente, el desarrollo del sabor es también pobre. Las aplicaciones específicas de tostado / asado de microondas son para el desarrollo de cereales tostados, legumbres / frijoles, carne, etc. (Nor, 2006)

1.6. Cinética química

La cinética es una ciencia que implica el estudio de las tasas de reacción química y los mecanismos, así como el estudio de la velocidad a la que ocurren los procesos. La comprensión de los mecanismos de reacción, junto con la cuantificación de las constantes de velocidad, facilitará la selección de las mejores condiciones de un proceso o almacenamiento, para que las características deseadas estén presentes en el producto (Toledo, 2007).

1.6.1. Orden de reacción

El orden de reacción es la suma de los exponentes de los términos de concentración de reactivos en la ecuación de velocidad.

1.6.2. Reacciones de orden cero

Una característica de una reacción de orden cero es una relación lineal entre la concentración de reactivo o producto con el tiempo de la reacción, t. como indican las ecuaciones 1 y 2.

$$r = \frac{\partial A}{\partial t} = k \dots \dots \dots (1)$$

Integrando se obtiene la siguiente ecuación

$$A = A_0 + kt \dots \dots \dots (2)$$

Dónde:

A: concentración (mg/g)

A₀: concentración inicial (mg/g)

k: constante de velocidad (min⁻¹)

t: tiempo (min)

1.6.3. Reacción de primera orden

La reacción de primer orden se caracteriza por un cambio logarítmico en la concentración de un reactivo con el tiempo. Como indica la ecuación 3 y 4, donde la ecuación 2 es igual a la ecuación 1.

$$r = \frac{\partial A}{\partial t} = kA \dots \dots \dots (3)$$

Integrando se obtiene la siguiente ecuación

$$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = kt \dots \dots \dots (4)$$

Dónde:

t: tiempo (min)

A: concentración (mg/g)

A₀: concentración inicial (mg/g)

k: constante de velocidad (min⁻¹)

1.6.4. Reacción de segundo orden

La reacción de segundo orden es la velocidad de reacción la cual es proporcional al cuadrado de la concentración de la concentración que interviene en la reacción. Como indica la ecuación 5 y 6.

$$r = -\frac{\partial A}{\partial t} = kA^2 \dots \dots \dots (5)$$

$$\frac{1}{A} - \frac{1}{A_0} = kt \dots \dots \dots (6)$$

La reacción unimolecular de segundo orden se caracteriza por una relación hiperbólica entre la concentración del reactivo o producto y el tiempo. Se obtendrá una gráfica lineal si $\frac{1}{A}$ se representa en función del tiempo. Las reacciones bimoleculares de segundo orden también pueden seguir la siguiente ecuación de velocidad (ecuación 7 y 8):

$$r = -\frac{\partial A}{\partial t} = kAB \dots \dots \dots (7)$$

Donde A y B son los reactivos. La ecuación diferencial puede integrarse manteniendo B constante para dar:

$$\ln \left(\frac{\partial A}{\partial t} \right) = -k't \dots \dots \dots (8)$$

k' es la constante de velocidad de pseudo-primer orden: $k' = kB$.

Una reacción bimolecular de segundo orden proporcionará un gráfico similar de la concentración del reactivo frente al tiempo como una reacción unimolecular de primer orden, pero la constante de velocidad de reacción variará con diferentes concentraciones del segundo reaccionante. Un ejemplo de una reacción bimolecular de segundo orden es la degradación aeróbica del ácido ascórbico. El oxígeno es un reactivo y se obtendrá una familia de parcelas de pseudo-primer orden cuando se estudie la degradación del ácido ascórbico en diferentes niveles de disponibilidad de oxígeno

Así mismo en él estudio de la cinética del tostado con aire caliente de las semillas de cacao y la calidad del producto (Ching *et al.*, 2016) reportaron que trabajaron las semillas de cacao se tostaron a temperaturas de 120, 130 y 140 °C dentro de un horno convectivo de aire caliente. Los análisis cinéticos mostraron que las tasas generales de calentamiento sensible (de T= 27 a 100 °C) estaban en el rango de 5,1-9,5 °C / min en comparación con las tasas generales de tostado efectivo (desde T=100 °C en adelante) en el rango de 0,9-1,4 °C/min. La información sobre la cinética de tostado, humedad y difusión térmica son parámetros de diseño importantes para el tostador de cacao. Los cambios en la calidad del sabor durante el tostado son importantes para controlar el desarrollo del sabor en los productos de chocolate terminados. Por lo tanto, los estudios actuales aportan conocimiento a la industria del cacao tanto para los fabricantes de equipos como para los fabricantes de chocolate.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de Centro de investigación de Ciencias Alimentarias (CICAL), Procesos y Química pertenecientes a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión (Km 19.5 Carretera Central, Ñaña-Lima).

3.2. Materiales

3.2.1. Materia prima

Los granos de cacao (*Theobroma cacao L.*) variedad chuncho procedieron de la fábrica CR&DC Inversiones cacao S.R.L ubicado en la localidad de La Convención - Quillabamba, Cuzco, Perú. Presentaron una humedad de 7.5 % con 6 días de fermentación representando un 80%, fueron envasadas en polietileno de alta densidad y almacenado a temperatura ambiente hasta su uso. En la Figura 6 se presenta las condiciones de almacenamiento de las muestras.



Figura 6. Cacao chuncho fermentado sin tostar

3.2.2. Reactivos

- Hidróxido de sodio (NaOH) 1N (Fermont – Mexico)
- Ácido Clorhídrico (HCL) 8N
- Nitrato de plata (AgNO₃) 1N
- Éter de petróleo (99%) (Merck – Alemania)
- Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) (6%)
- Alcohol Anhidro (C₂H₅OH) (80%) (Kossodo – Estados Unidos)

- Folin ciocalteu (Merck – Alemania)
- DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)
- Ácido gálico (Meyer – Mexico)

3.2.3. Materiales

- Beakers de 600 ml, 300 ml y 50 ml
- Placas Petri
- Tubos de ensayo de 5ml y 10 ml
- Soporte universal
- Probetas de 100 ml y 500 ml
- Bureta
- Micropipeta de 100 ul, 1000 ul y 5000 ul

3.2.4. Equipos

- Balanza electrónica (Henkel, Hen-0.01-1000, 1000g - China)
- Molino Manual (Victoria – Colombia)
- Colorímetro (3nh – CQCS3, China)
- pH-Metro (Termofix - Belgica)
- Centrifuga (Greetmed, GT119-200, Italia)
- Campana extractora (Innova, Perú)
- Digestor (Nova, Perú)
- Soxhlet (ISO)
- Tostadora (Vogvigo - China)
- Agitador orbital (ATC-1, China)
- Baño ultrasónico (BRANSON, Estados Unidos)
- Espectrofotómetro (Genesys - China)
- Estufa (MEMMERT – UN6200, Alemania)
- Mufla

3.3. Metodología experimental

3.3.1. Esquema experimental

El diagrama de esta investigación se muestra en la Tabla 3 donde cada análisis se realizó por triplicado.

Tabla 3. Diagrama del procedimiento experimental.

OPERACIONES	CONDICIONES O PARAMETROS	ANALIS Y /O OBSERVACIONES (cada análisis por triplicado)
Recepción	Granos de cacao variedad chuncho	Granos sin tostar
Análisis de materia prima	Análisis fisicoquímicos (granos sin tostar)	Humedad (%) Acidez (meq NaOH/g) pH Color (L, a, b)
Tostado	Temperaturas: 120°, 140°C, 150°C y 160 °C Tiempos: 5, 10, 15, 20 y 25 min	Color (L*, a*, b*)
Descascarillado	↓	Manualmente
Molienda	↓	Tamiz de 100 micras Color (L*, a*, b*)
Desengrasado	Solvente: 500 ml de éter Muestra: 0.8 g de cacao molido (100 µm) Tiempo: 13 h	Terminado el tiempo se lo coloca en el deseCADador
Almacenamiento	Temperatura ambiente	DeseCADador
Extracción etanólica	Solvente: 10 ml etanol Muestra: 1g cacao desengrasado Rpm: 5000	-1 paso: extracto con sol. Etanólica por 1h a 40°C - 2 paso: centrifugación
Almacenado	Temperatura: 5°C	
Análisis	_____	Capacidad antioxidante (mg eq trolox / g de cacao) Compuestos fenólicos (mg eq de ácido gálico / g de cacao)

3.3.2. Análisis estadístico

La presente investigación fue experimental, que busco hacer de conocimiento el efecto de la temperatura (°C) y tiempo (min) sobre los fenoles y la actividad antioxidante, para el cual se aplicó 4 temperaturas (100, 120, 140 y 150 °C) y 5 tiempos (5, 10, 15, 20 y 25 min) la cual se hizo por triplicado cada una, aplicando un diseño factorial 4 x 5 donde se evaluó el ANOVA de cada variable dependiente (fenoles y la actividad antioxidante).

Tomando el tiempo máximo para evaluar estadísticamente se realizó las pruebas de Levene y Shapiro Wilk para evaluar la homogeneidad de varianza y la distribución normal, respectivamente. El ANOVA de un solo factor seguido de la prueba de comparación de medias (Test de Tukey) se aplicó cuando se cumplieron los supuestos mencionados. Cuando este no fue el caso, se analizó los datos mediante las pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) para la evaluar la significación. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Statistica 13.0 (Statsoft, EE.UU) y las diferencias significativas se establecieron en $p < 0.05$

3.3.3. Tostado del cacao

Se pesó 500 g de muestra de semilla con cáscara, las cuales fueron distribuidas uniformemente en la tostadora continua a 100°C, 120°C, 140°C y 160°C durante 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 min. (Figura 7).



Figura 7. Tostadora (Paleta giratoria, 100- 200°C)

3.3.4. Molienda y descascarillado

Después del tostado se procedió a desprender la ascara manualmente, seguidamente se molió en un molino domestico manual (Corona - Colombia) para luego pasarlo por un tamiz de 100 μm



Figura 8. Molino manual: grano de cacao descascarillado y molienda

3.3.5. Determinación de color

Según lo recomendado por Zzaman & Yang (2013) para la determinación de color se realizó por triplicado antes y después de la molienda, de la misma forma se realizó para el secado de la pasta de cacao. Los atributos de color L^* , a^* , b^* de cada muestra se midieron utilizando un colorímetro (3nh – CQCS3). Este fue calibrado contra un azulejo blanco. Las muestras molidas de granos de cacao en grano se midieron para L^* [luminosidad (0 - 100)], a^* [verde (-) a rojo (+)], y b^* [azul (-) a amarillo (+)].

3.3.6. Análisis proximal

Se determinaron los siguientes análisis químicos según los métodos de la AOAC (2010): contenido de humedad (Nº 931.04), cenizas (Nº 972.15), pH (Nº 970.21) y acidez total titulable (Nº 942.15) (Figura 9)

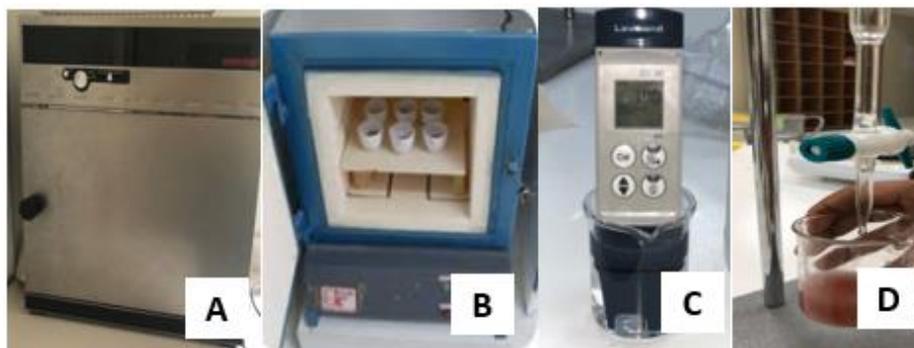


Figura 9. Equipos para la determinación de los análisis proximales (A) estufa, (B) mufla, (C) pH metro y (D) Soporte universal.

3.3.7. Contenido de grasas

Se determinó el porcentaje de grasa en la muestra mediante el método de soxhlet. (AOAC, 2010). En un cartucho de papel filtro se pesó 0.8 gramos de pasta y se puso

en reflujo por 13 h empleando éter de petróleo (60°C) como solvente de extracción. Se realizó por triplicado la determinación de grasas y expresada como porcentaje de grasa (% grasa). (Figura 10).



Figura 10. Equipos soxhlet para extracción de grasas

$$\% \text{grasa} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

Pf: peso final del cartucho

Pi: peso inicial del cartucho

3.3.8. Extracción etanólica.

Para la extracción etanólica se realizó según Muñoz A. *et al.*, (2007) donde se homogenizo 10 g de muestra de granos de cacao molidos en 100 mL de etanol. La mezcla se almaceno en un baño ultrasónico (BRANSON - 2800, Estados Unidos) a 40°C durante 60 min y finalmente se centrifugo (Genesis 10UV - Thermo spectronic) a 5000 rpm durante 30min. El extracto obtenido se utilizó para la determinación de la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles.

3.3.9. El contenido total de polifenoles

La determinación fenoles totales se realizó de según el método de Folin & Ciocalteu (1927) partiendo de una dilución del extracto etanólico de 0.1 ml (100 µL de extracto + 900 µL de alcohol (80%)), de la cual solo se utilizara 20 µL; se adiciono en un tubo 1580 µL de H₂O, 20 µL de extracto diluido, 100 µL de Folin Ciocalteu (HIMEDIA –

India) y 300 µL de Na₂CO₃ (20%) (Merck – Alemania), seguidamente se dejó reposar por 2 h a temperatura ambiente, luego se hizo lectura de las muestras a 750nm en el espectrofotómetro (Genesis 10UV - Thermo spectronic). En la realización de la curva estándar se preparó una solución de 10 ml de ácido gálico a una concentración de 2 mg/ml de las cuales se hicieron diluciones de 0.0625 a 1 mg/ml.

3.3.10. Determinación de la capacidad antioxidante

Se trabajó con una dilución 0.3 ml (300 µL de extracto + 2700 µL de alcohol anhidro (80%) para el extracto etanólico el cual fue vertido en tubos de prueba de 5ml por cada tratamiento, seguidamente se retiró 50 µL de la dilución en otros tubos de prueba de 5ml y se agregó 3950 µL de 100 µM de DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhidrazyl) (Sigma) previamente preparado en etanol. Esta muestra se dejó reposando durante 30 min y finalmente se hizo lectura de la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro (Genesis 10UV - Thermo spectronic), usando las cubetas de cuarzo para el respectivo proceso. Con respecto a la curva estándar se llegó a realizar diluciones de 0.195 a 0.93 mg/ml. (Othman *et al.*, 2007).

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{Abs\ 1 - Abs\ 2}{Abs\ 1} \times 100 \dots \dots \dots (9)$$

Donde:

Abs 1: absorbancia del blanco

Abs 2: absorbancia de la muestra

3.3.11. Cinética de compuestos antioxidantes y capacidad antioxidante

El modelo cinético de se utilizó para describir el proceso de degradación de fenoles totales y la capacidad antioxidante vs tiempo y temperatura de tostado. Usando las ecuaciones 10, 11 y 12 para representar a la reacción de orden 0, 1 y 2 respectivamente. Para hallar la energía de activación se usó la ecuación 13.

$$A_t = -kt + A_0 \dots \dots \dots (10)$$

$$\ln(A_t) = -kt + \ln(A_0) \dots \dots \dots (11)$$

$$\frac{1}{A_t} = kt + \frac{1}{A_0} \dots \dots \dots (12)$$

$$Ea = -mR \dots \dots \dots (13)$$

Donde:

k: constante de velocidad (min⁻¹)

A: concentración inicial

Ea: energía de activación (J/mol)

R: constante de los gases (8.314 kJ/mol)

El mejor ajuste cuadrático se dará a conocer por el R^2 de estas ecuaciones, revelando que orden de reacción es la más apta para esta investigación.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis proximal

Se presenta los resultados de los análisis fisicoquímicos de la materia prima, los cuales concuerdan con una humedad de 6 a 8 %, límite que indica unidad crítica para el almacenamiento [Ministerio de Agricultura, (2000), INDECOPI, (2008) y Sinche Quillatupa. (2011)]. Si supera el límite máximo permitido de humedad que es 8%, el grano es susceptible al ataque de los hongos del moho y a los insectos. Sin embargo, para la caracterización de materia prima el grano de cacao no fue sometido al tostado, es por ello que tiene mayor similitud con el valor de 6.68 % presentado por Mary Lares Amaiz *et al.*, (2013). Al someter el cacao fermentado al proceso de secado al sol, la humedad disminuye rápidamente y en mayor velocidad cuando se tuesta. Este nivel de humedad es seguro para almacenamiento, ya que tiene como fin completar el proceso de beneficio (deteniendo el proceso fermentativo) y eliminar la humedad del grano. (Tabla 4)

Tabla 4. Características fisicoquímicas de la materia prima sin tostar

Humedad (%)	Ceniza (%)	Acidez (meq de NaOH /g de muestra)	pH	Grasa (%)
5.60 ± 0.48	2.91 ± 0.01	1.39 ± 0.21	4.97 ± 0.02	48.27 ± 0.30

El valor de ceniza obtenido fue de 2.91 el cual no coincide con el dato informado por Ortiz, Torres & Trujillo, (2004), los cuales reportan datos para la ceniza de 3.21 a 4 %. 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.

La cantidad de grasa se encuentra dentro de los valores de 45.0 a 63.5 % que fueron informados por Ortiz *et al.*, (2004) y Rojas *et al.*, (2017), estos autores analizaron variedades distintas a la de la presente investigación, pero por falta de información se toma en cuenta dichos valores.

Durante la fermentación tradicional del cacao, se forma una fracción volátil de ácidos orgánicos, principalmente ácido acético. Este ácido se elimina parcialmente durante el secado y el tostado (Lee *et al.*, 2001). En el tostado, los compuestos volátiles, la acidez total, el pH y el contenido de grasa dependen de las condiciones de

temperatura y del tiempo de proceso (Jinap *et al.*, 1998). El efecto del pH se ha evaluado en estudios modelo que encuentran una estrecha relación con la formación de compuestos volátiles; por ejemplo el pH menor o igual a 5 favorece la formación de pirazinas y un pH más alto favorece a las metilpirazinas (Nazaruddin *et al.*, 2006). En el presente estudio, el contenido de pH es menor al valor de 6,0 pH mencionado por Ortiz *et al.*, (2004). Y Quillatupa. (2011). En cambio otros autores como Aldave Gladis J. (2016) para la variedad CCN-51 fue de 4,81 y para la variedad ICS-6 fue de 4,92; siendo comparables para la variedad en estudio.

La acidez (meq de NaOH /g de muestra) se encuentra por encima de los parámetros indicado por Ortiz *et al.*, (2004). Quien indica que el porcentaje de acidez del grano de cacao es de 0,73%. Pero se encuentra en similitud con 1.22 (meq. De NaOH/g de muestra) calculado por Lares *et al.*, (2012). La variación de acidez se atribuyó a la eliminación de ácidos orgánicos volátiles, principalmente ácido acético. (García *et al.*, 2017)

4.2. Contenido de grasa

El contenido de grasa a diferentes temperaturas y tiempos de tostado se indica en la Figura 11 los valores de esta variable están en un rango comprendido entre 53.282 - 60.792%, el nivel de grasa difiere entre cada temperatura. Oracz *et al.*, (2014) reporto para las especies híbridas de Ghana (59.32 %), y el más bajo fue para el cultivar Trinitario de Venezuela (53.08%). Estos resultados se asemejan con los reportados por Carpenter *et al.*, (1944), Gu *et al.*, (2013) y Liendo *et al.*, (1997). También se encontró por Lares *et al.*, (2013) que los granos de cacao en bruto del cultivar Nacional de Ecuador, que desde el punto de vista botánico es también la variedad Forastero, contenían mucha menos grasa que los granos de la variedad Forastero de Brasil. Estos hallazgos son consistentes con los datos de Efrain *et al.*, (2013) los cuales encontraron que los granos de cacao de la variedad Forastero Amelonado y Forastero originarias de Brasil tenían la mayor cantidad de grasa, mientras que los clones del grupo Trinitario cultivados en la misma región se caracterizaban por los contenidos de grasa más bajos. Estos resultados tienen gran similitud con el alto contenido de grasa que posee la variedad en estudio.

Además de la influencia del tipo de cacao en la disminución del contenido de grasa, el tratamiento térmico también provoca un aumento como se aprecia en la Figura 11. Se ha demostrado que las temperaturas de tostado y humedad relativa afectan en gran medida el contenido de este componente. En general, la disminución más baja de grasa bruta se observa en las muestras tostadas a temperaturas de 110 y 120 °C.

Las pérdidas de grasa durante el tostado a estas temperaturas pueden ser causadas por la difusión de la grasa hasta la cáscara, y no como se supone por la degradación de esta. Sin embargo (Oracz *et al.*, 2014) encontraron que la aplicación de una mayor humedad del aire durante el tratamiento térmico a 135 °C no redujo las pérdidas de grasa tan eficientemente como a las temperaturas más 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, la aplicación de aire húmedo proporciona la formación de espacio libre entre el núcleo y la cáscara que impide la absorción de grasa por la cáscara. Resultados similares fueron obtenidos por (Krysiak, 2011) que demostró que tostar granos de cacao a la temperatura de 135 °C y humedad relativa elevada (^{HR} 5%) redujo las pérdidas de grasa en comparación con el tostado con aire seco (^{HR} 4%). También se encontró en nuestro estudio que los granos de cacao tostados a 160 °C tenían cantidades significativamente de grasa que las muestras tostadas a temperaturas más bajas. El fenómeno observado probablemente se debió al hecho de que durante el tostado las altas temperaturas y aire húmedo que se presenta en el medio ambiente provoque el aflojamiento de la estructura de la cáscara facilitando la penetración de calor en el núcleo. En consecuencia, un calor más intenso del núcleo acelera la hidrólisis de los triglicéridos.

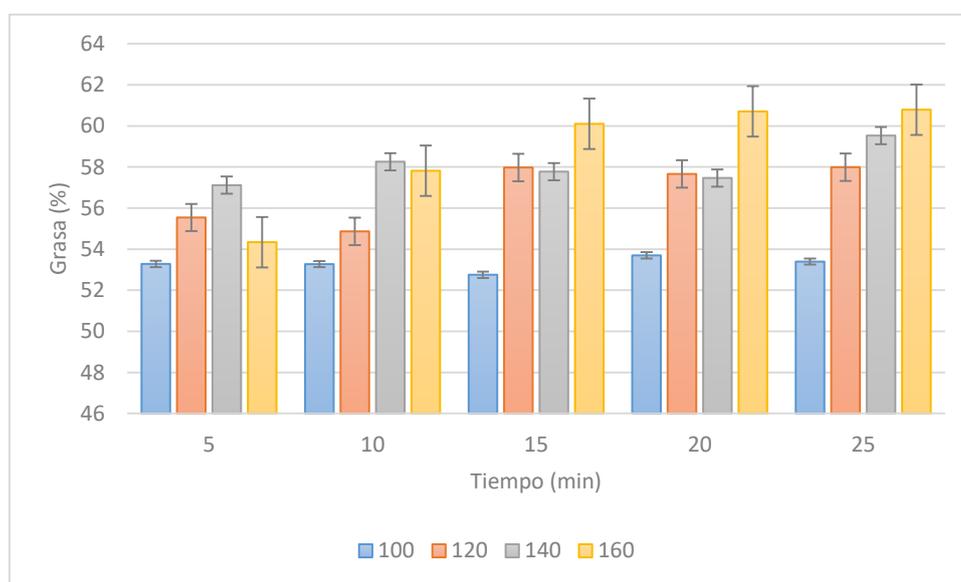


Figura 11 Variación de la grasa (%) según tiempo (min) y temperatura (°C).

4.3. Contenido total de polifenoles

Con los valores encontrados se procedió a realizar la curva estándar obteniendo un R^2 de 0.999 la cual se presenta en la Figura 12. Al realizarse la curva patrón se puede proceder a usar el ácido gálico debido a que este es un compuesto estable y pierde solo 5 % de su valor real después de refrigerado y tapado.

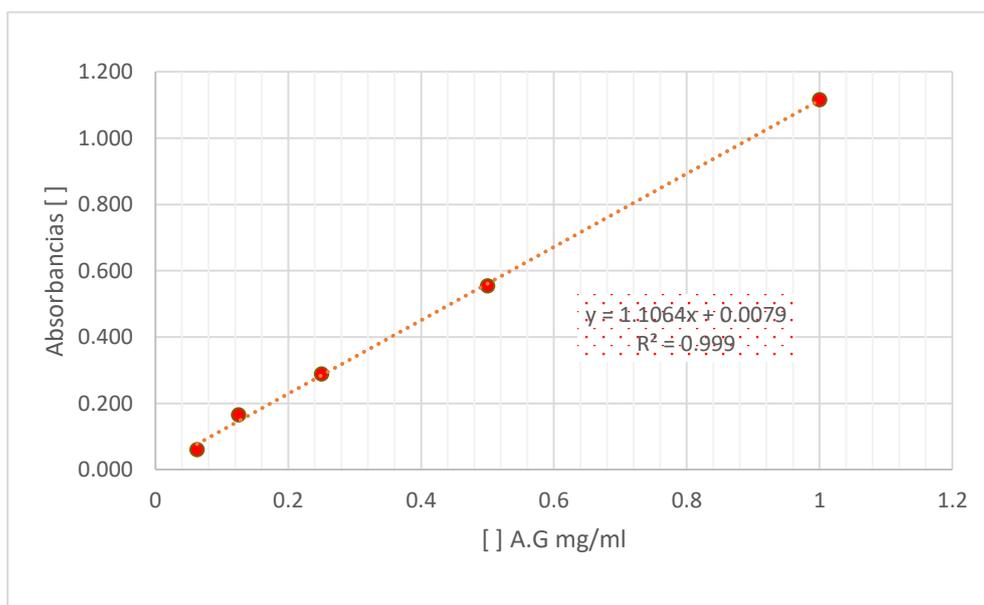


Figura 12. Curva estándar de ácido gálico (mg/ml)

En el presente estudio se observó que el contenido de polifenoles totales en la pasta de cacao chuncho disminuye más cuando los granos son tostados y con incremento de temperatura y tiempo (Figura 13). Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura, los cuales sostienen que los procesos de poscosecha son los principales factores que afectan la concentración de estos biocompuestos, independientemente del origen y variedad de cacao. (Wollgast, J., & Anklam, E, 2000).

En el proceso de tostado ocurren reacciones no-enzimáticas entre polifenoles y aminoácidos libres, así como polimerización de polifenoles. Se ha reportado que temperaturas por debajo de 70°C permiten la conservación de los polifenoles (Jolic *et al.*, 2011).

La tendencia a decrecer se debería a que durante la fermentación, las concentraciones de polifenoles de los granos disminuyen, debido a la difusión a través de la liberación de agua y a través de una mayor oxidación y condensación de los compuestos de polifenoles. Es decir, durante la fermentación de los granos de cacao, los polifenoles se difunden con líquidos celulares de sus celdas de almacenamiento y se oxidan a taninos condensados de alto peso molecular y en su mayor parte insolubles. Estas

reacciones son no enzimáticas y catalizadas por la enzima polifenol oxidasa, a pesar de que esta enzima se inactiva fuertemente durante los primeros días de la fermentación. Es así que durante el tostado se producen reacciones de oxidación de compuestos fenólicos, que conducen a 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. Aunque la temporada no afectará el contenido de polifenoles de los granos de cacao recién cosechados, las condiciones climáticas (microclima y luz solar) y la intensidad de la luz (posición de las vainas en el árbol, luz solar directa) parecen ser importantes. En general, la presencia de polifenoles en los granos de cacao depende de varios factores, incluidos el grado de maduración de la vaina, la variedad de cacao, el procesamiento y el almacenamiento. (Bertazzo, 2011)

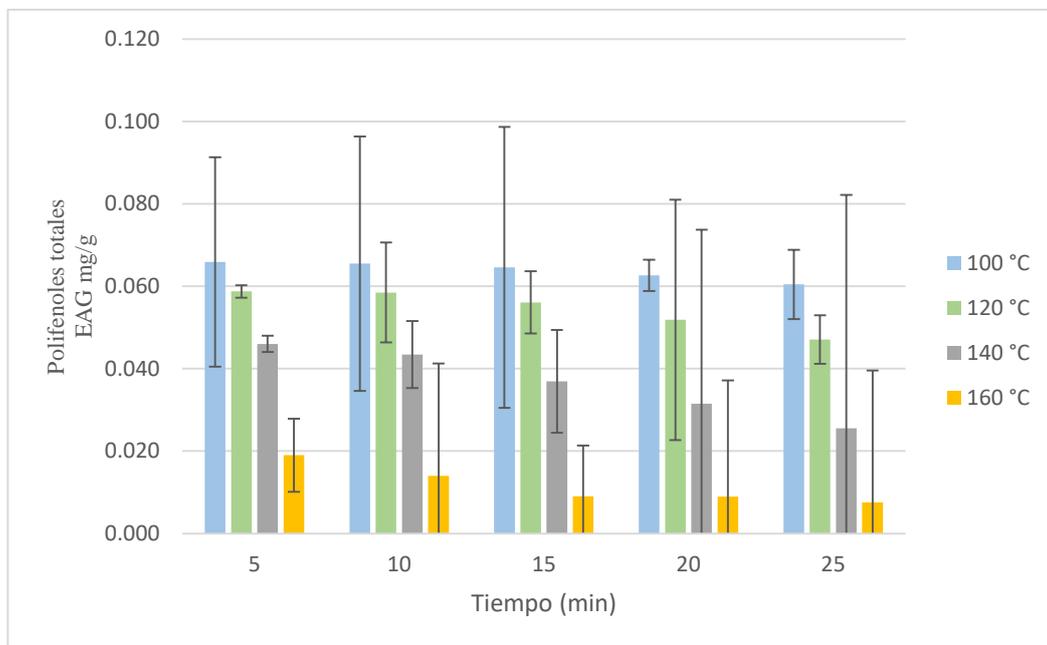


Figura 13. Efecto del tostado en el contenido de poli fenoles totales

El contenido polifenólico total promedio varió de 0.067 a 0.010 EAG mg/g fue más alto en la muestra de Gu. F *et al.*, (2013) los cuales fueron 81.22 EAG mg / 10 g a 301.01 EAG mg / 10 g, la cual también coincide con la tendencia de disminución de polifenoles a una temperatura de 160 °C durante 30 min. Así mismo Yader Suazo Mercado (2012) presento para las temperaturas de 110°, 130° y 150 °C valores de 45, 41 y 39 mg /L de polifenoles totales respectivamente observando nuevamente como va descendiendo los datos a medida que la temperatura aumenta. Valores más cercanos se encontraron con Rojas *et al.*, (2017) de 1.4 a 3.0 mg AG/g para 120 °C a 20 min.

La notoria pérdida de polifenoles en el cotiledón durante la fermentación se debe a que estos difunden desde sus células de almacenamiento y sufren reacciones de oxidación enzimática y no-enzimática. La acción enzimática está catalizada por la polifenoloxidasas que forma compuestos quinónicos, los cuales posteriormente se condensan y generan productos marrones. La oxidación no-enzimática esta mediada por el oxígeno que difunde al interior del cotiledón durante la remoción de la masa fermentativa. (Wollgast, J., & Anklam, E, 2000). Durante el secado continúan las reacciones de oxidación enzimáticas iniciadas en la fermentación, pero estas van decayendo a medida que el cotiledón pierde humedad (Efraim *et al.*, 2010). Edy *et al.*, (2000) analizaron la estructura interna del cacao en varios procesos, una de ellos es el cambio que sucede durante el tostado, es así que se puede apreciar que los polifenoles a una temperatura de 150 °C, aplicada por los investigadores, va degradando el contenido de polifenoles. Además la significancia (p valor < 0.05) de la temperatura en el tostado sobre los fenoles totales se pudo corroborar en el Anexo 15.1.

4.4. Actividad antioxidante

La curva de calibración empleada para el experimento de DPPH se presenta en la Figura 14. Esta curva también fue evaluada en cuanto a la linealidad. Con la finalidad de evaluar la capacidad de los constituyentes del extracto etanólico de cacao chuncho en capturar radicales libres (DPPH) se realizó análisis de soluciones de este extracto con DPPH. Los resultados fueron expresados en mg eq. Trolox / g cacao (Figura 15) y porcentaje de inhibición de oxidación, es decir, el porcentaje de actividad antioxidante es correspondiente a la cantidad de DPPH consumida por el antioxidante (Anexo 6) (Anexo 6.1) (Anexo 6.2). Cuanto mayor el consumo de DPPH por la muestra, mayor es su actividad antioxidante (AA) (Alves *et al.*, 2007). Siendo así, cuanto mayor sea la concentración de la muestra y menor la absorbancia, mayor el consumo de DPPH. Se observó en el estudio de Juliana Couto *et al.*, (2011) una cantidad de 98,32% de actividad antioxidante en la concentración de 200 µg/mL. Además a la concentración de 100 µg/ml el consumo de DPPH fue directamente proporcional a la concentración de la muestra, o sea, con absorbancias menores y que a partir de la concentración de 200 µg/ml esto no ocurrió, ya que la absorbancia aumentó. Todas las muestras presentaron capacidad de consumo de DPPH, puesto que las absorbancias después de la reacción de DPPH con las diferentes concentraciones de las muestras probadas fueron significativamente menores en comparación con las absorbancias obtenidas para el control negativo (DPPH + solvente), lo que puede demostrar preliminarmente la actividad antioxidante para el extracto probado.

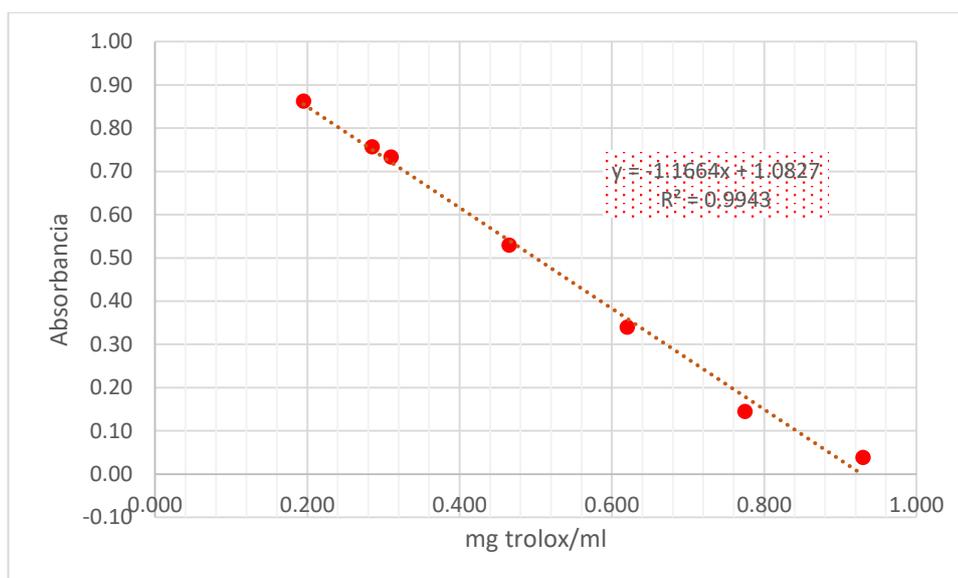


Figura 14 Curva estándar de trolox (mg/ml)

Los resultados en función al tiempo de tostado y temperatura se muestran en la Figura 15. Los tratamientos mostraron cambios notables sobre el valor inicial de los extractos. El rango de la capacidad de inhibición del radical DPPH fue 20.42 – 52.07 %. Estos resultados fueron diferentes en comparación con García *et al.*, (2017) quienes reportaron 84.40 - 85.09% y 82.91 - 84.95% en agua y extractos etanólicos, para temperaturas de 110°, 120°, 130°, 140° y 150 °C a 5, 14, 30, 46 y 55 min respectivamente. En comparación con Zzaman W. & Yang T. A. (2014) los datos de la investigación fueron diferentes; informaron una disminución de la inhibición de radicales DPPH en extractos metanólicos antes y después del proceso de tostado; sin embargo, Othman *et al.*, (2007) y Summa C. *et al.*, (2006) mencionó que la capacidad del radical DPPH se ve afectada por otros compuestos como metilxantinas, flavonoides y pigmentos, además de la variedad, la postcosecha, los métodos de extracción, los solventes y la concentración del extracto. Summa C. *et al.*, (2006) informó que la eliminación de radicales DPPH aumenta significativamente después del proceso de tostado. Othman *et al.*, (2007) no encontraron ninguna correlación entre la actividad antioxidante y el contenido total de polifenoles (TPC) e indicaron que una alta capacidad de inhibición en el radical DPPH no podría deberse a compuestos fenólicos en los extractos de granos de cacao. De forma similar, nuestro estudio no mostró ninguna correlación entre las capacidades de inhibición del radical DPPH y los compuestos fenólicos totales. La capacidad antioxidante de los extractos de granos de

cacao durante el proceso de tostado también podría deberse a otros compuestos además de fenólicos que son solubles en agua y etanol.

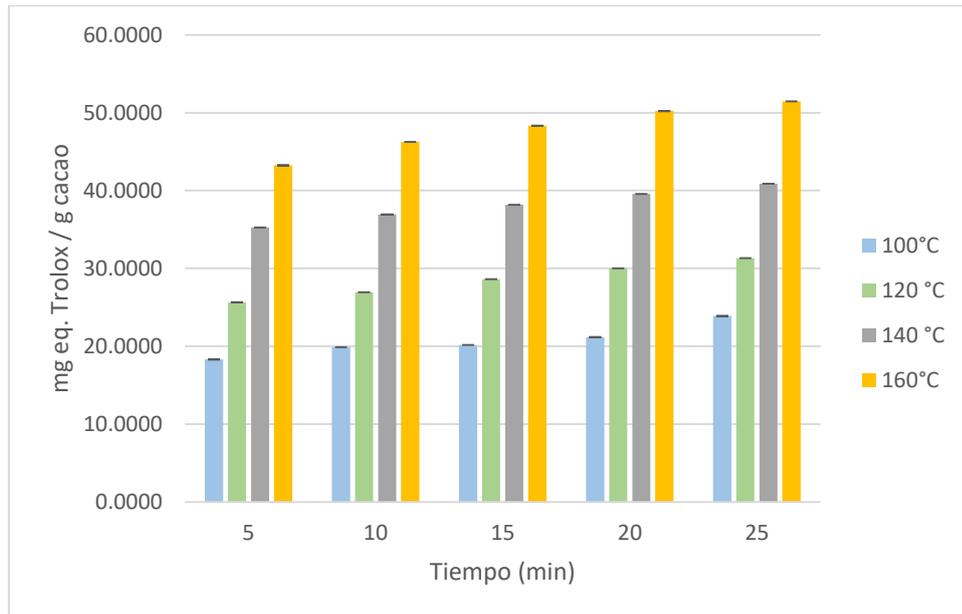


Figura 15. Variación de la actividad antioxidante con respecto al tiempo (min) y temperatura (°C)

Otras investigaciones reportaron 0.27, 0.45, 0.29 y 0.68 mg eq. trolox/g para las temperaturas de 110°, 130° y 140°C, encontrando un aumento a medida que la temperatura avanzaba, en los valores de antioxidantes (Yader Suazo Mercado, 2012).

La oxidación y condensación de polifenoles simples a taninos complejos podría contribuir a reducir el contenido total de polifenoles (TPC), pero también contribuir al aumento en la actividad antioxidante (AA), ya que se ha demostrado que los taninos tienen un mayor poder eliminador que los compuestos fenólicos simples (Hagerman *et al.*, 1998). Otra razón para el incremento del AA podría ser la formación de melanoidinas, como resultado de las reacciones de Maillard durante el tostado, que compensó la degradación de los monómeros polifenólicos que equilibran el AA (Vignoli *et al.*, 2011).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende en gran medida del peso molecular, la estructura y la concentración de estos compuestos. La configuración y el número total de grupos hidroxilo en las moléculas de flavonoides influyen en su eficiencia de eliminación de radicales. La presencia de la estructura orto-dihidroxi (catecol) en el anillo B, doble enlace 2,3 en conjugación con un 4 - función oxo en el anillo C, y los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5 aumentan la actividad de eliminación de radicales. Además, la actividad antioxidante de las

procianidinas también depende de su grado de polimerización (Procházková, D.; Boušová, I. & Wilhelmová, N. 2011). Por lo tanto, la naturaleza (hidrófila o lipófila) de los distintos compuestos presentes en las muestras de cacao puede afectar los resultados de los ensayos de actividad antioxidante, como se informó anteriormente y Summa C. *et al.*, (2006) menciona que el aumento en la actividad de inhibición de radicales libres durante el tratamiento térmico se relaciona 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.

El análisis estadístico en función al efecto del tiempo y temperatura en el tostado sobre el contenido de polifenoles totales arrojó una significancia (Anexo 15).

4.5. Determinación de la cinética

4.5.1. Influencia de los parámetros en la concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidantes.

Se realizó una regresión lineal sobre los datos transformados logarítmicamente. También se representa gráficamente la reacción de orden 0, 1 y 2 con la constante de velocidad encontradas en las Figuras 16 al 21. El R^2 presentó valores de 0.6524 a 0.8327 para el orden 0 siendo la reacción que mejor ajuste cuadrático presentó para los datos de antioxidantes, en comparación con los datos de los fenoles en donde el orden 1 tuvo mejor ajuste. La constante de velocidad se estableció para cada tiempo (Tabla 6) observando que a medida que aumentaba la temperatura la velocidad de reacción de degradación aumentaba, estos datos corresponden a los fenoles; y para los antioxidantes la velocidad de reacción iba aumentando a medida que la temperatura aumenta (Tabla 8).

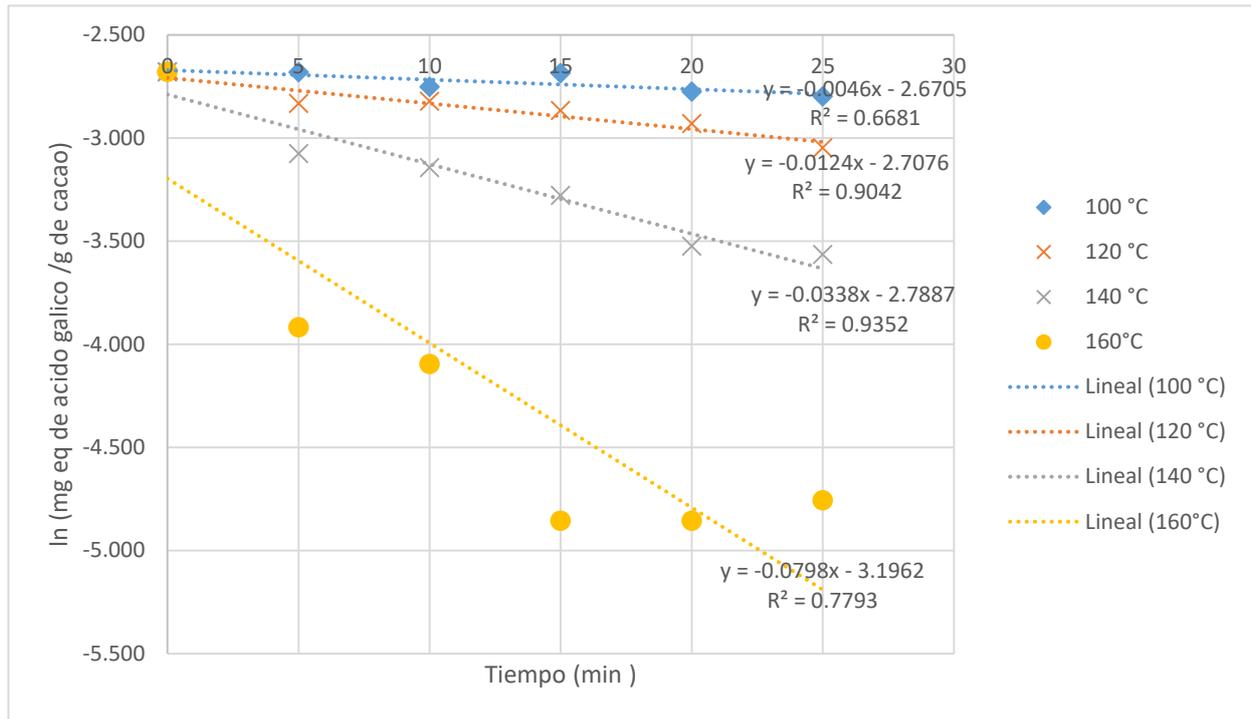


Figura 16. Reacción de orden 1 para absorbancia 1 de fenoles ($RMSE_{100^{\circ}C} = 0.011$, $RMSE_{120^{\circ}C} = 0.036$, $RMSE_{140^{\circ}C} = 0.081$ y $RMSE_{160^{\circ}C} = 0.411$)

Ching Lik *et al.*, (2016) reportó la energía de activación en 51.4 kJ / mol a partir del modelo de Arrhenius. Las altas temperaturas de tostado tuvieron un efecto adverso sobre los polifenoles del cacao y mostraron una mayor degradación en el rango de 15 - 29%. En el caso de la presente investigación encontramos una energía de activación de 43.63, 64.29 y 92.47 kJ / mol, para reacción de orden 0, 1 y 2 y correlacionándola con el resultado del autor se observa que obtuvimos un dato más alto a partir del orden 1. Así también para los resultados de energía de activación no se alejan, están en el mismo rango (Tabla 5).

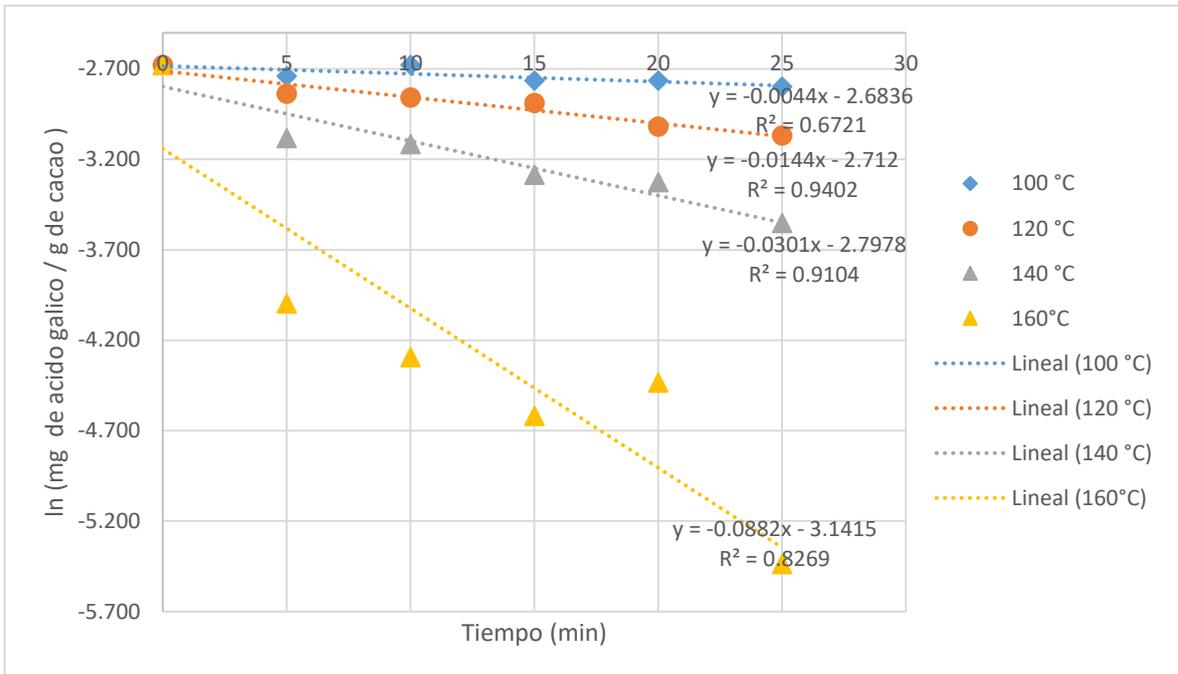


Figura 17. Reacción de orden 1 para absorbancia 2 de fenoles ($RMSE_{100^{\circ}C} = 0.011$, $RMSE_{120^{\circ}C} = 0.036$, $RMSE_{140^{\circ}C} = 0.081$ y $RMSE_{160^{\circ}C} = 0.411$)

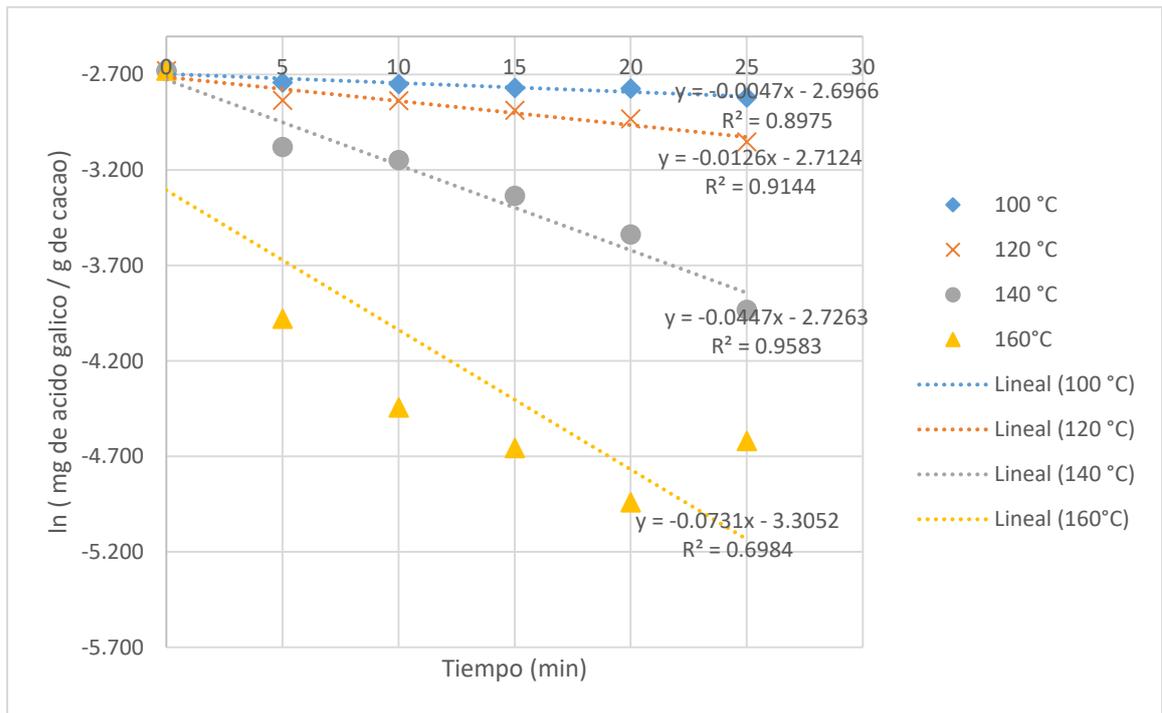


Figura 18. Reacción de orden 1 para absorbancia 3 de fenoles ($RMSE_{100^{\circ}C} = 0.011$, $RMSE_{120^{\circ}C} = 0.036$, $RMSE_{140^{\circ}C} = 0.081$ y $RMSE_{160^{\circ}C} = 0.411$)

La Tabla 6 muestra las constantes de velocidad determinadas a partir de la cinética de reacción. El modelo propuesto sugirió que la cinética de orden 0 es suficiente para describir el proceso de degradación de polifenoles durante el secado con valores de

constante de velocidad (k) determinados dentro del rango de 0.0003 a 0.002, 0.0003 a 0.002, 0.0003 a 0.0019 (min^{-1}) para absorbancia 1, 2 y 3 a temperaturas de 100, 120, 140 y 160 °C respectivamente. Los valores determinados son más altos que los reportados por Queena Tzyy Mei *et al.*, (2015). Ya que el modelo actual tiene en cuenta el proceso de degradación a lo largo de todo el período de tostado. Típicamente, el modelo de degradación para la mayoría de los nutrientes alimentarios o compuestos químicos se puede describir mediante dicho modelo que es de naturaleza exponencial. La alta energía de activación sugirió que el proceso de degradación bajo la acción tanto del tostado como del tiempo solo necesita energía relativamente mayor para iniciar la degradación. (Tabla 5)

Tabla 5. Energía de activación de fenoles totales

	Absorbancia 1			Absorbancia 2			Absorbancia 3		
	K_0	R^2	E_a (kJ/mol)	K_0	R^2	E_a (kJ/mol)	K_0	R^2	E_a (kJ/mol)
ORDEN 0	5248.1	0.9749	43.632	-5090.7	0.9749	42.324	-5238.6	0.9749	43.554
ORDEN 1	7721.7	0.9995	64.198	-7856.6	0.9934	65.319	-7856.6	0.9934	65.319
ORDEN 2	11111	0.9797	92.376	-11911	0.9567	99.028	-11116	0.9889	92.418

Tabla 6. Constante de velocidad para cada temperatura de fenoles

Temperatura (°C)	Constante de velocidad (min^{-1})								
	Absorbancia 1			Absorbancia 2			Absorbancia 3		
	Orden 0	Orden 1	Orden 2	Orden 0	Orden 1	Orden 2	Orden 0	Orden 1	Orden 2
100	0.0003	0.0046	0.0715	0.0003	0.0044	0.0673	0.0003	0.0044	0.0737
120	0.0007	0.0124	0.2196	0.0008	0.0144	0.2601	0.0007	0.0144	0.2226
140	0.0015	0.0338	0.8228	0.0014	0.0301	0.7077	0.0017	0.0301	1.2833
160	0.002	0.0798	4.6396	0.002	0.0882	6.8295	0.0019	0.0882	4.0786

Queena Tzyy Mei *et al.*, (2015) menciona que los efectos térmicos contribuyen en parte a la degradación de los polifenoles, especialmente a altas temperaturas de tostado, estudio es la cinética de secado y el proceso de degradación de polifenoles los cuales fueron investigados para el secado aplicando aire caliente y luz solar. El modelo de cinética de reacción de primer orden se utilizó con éxito para describir el proceso de degradación de polifenoles. La energía de activación se determinó a 9.00 kJ / mol para la degradación de polifenoles en oposición a la barrera de energía más alta para la difusión de humedad a 11.80 kJ / mol. Los valores de polifenoles totales fueron de 23.2 - 11.4 mg de ácido gálico/g, observados en granos secados al aire caliente (horno) y granos secados al sol, respectivamente. Cabe resaltar que a pesar que esta cinética no es precisamente de tostado se llegó a comparar por el hecho

que aplica temperaturas en el secado muy cercanas a las estudiadas en la presente investigación.

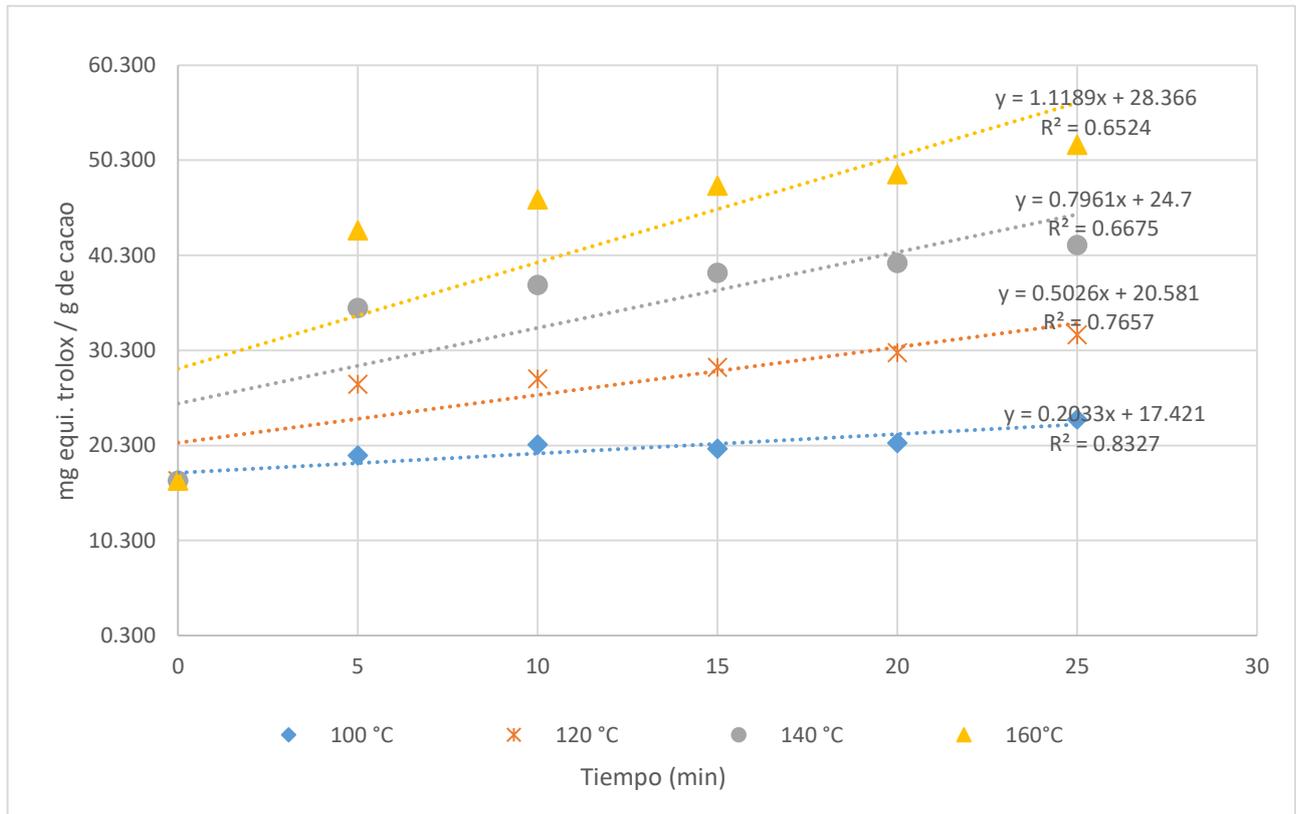


Figura 19. Reacción de orden 0 para absorbancia 1 de antioxidantes ($RMSE_{100^{\circ}C} = 2.025$, $RMSE_{120^{\circ}C} = 2.613$, $RMSE_{140^{\circ}C} = 6.004$ y $RMSE_{160^{\circ}C} = 8.7$)

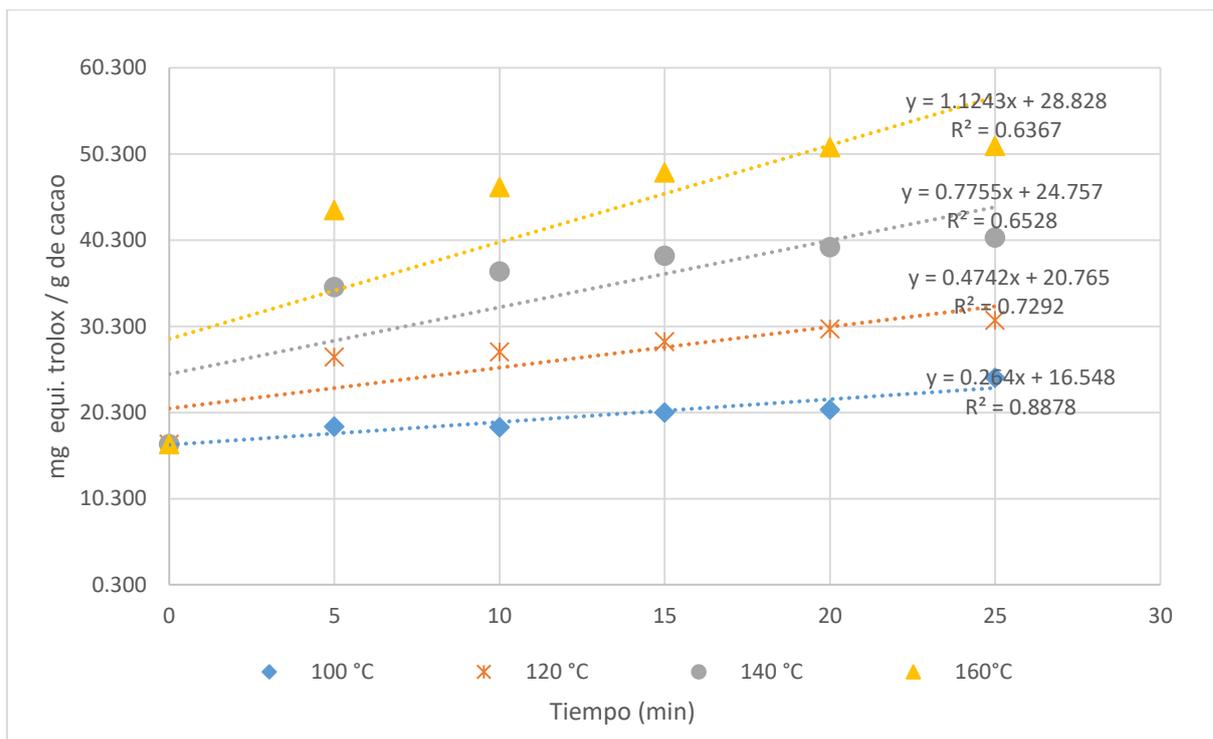


Figura 20. Reacción de orden 0 para absorbancia 2 de antioxidantes ($RMSE_{100^{\circ}C} = 2.025$, $RMSE_{120^{\circ}C} = 2.613$, $RMSE_{140^{\circ}C} = 6.004$ y $RMSE_{160^{\circ}C} = 8.7$)

Y. M. Baghdadi & C. L. Hii. (2017) estudio los efectos de la adición de temperatura y humedad en la cinética de transferencia de masa de las semillas de cacao durante la torrefacción a temperaturas de 120°, 140 ° y 160 °C donde se observaron tasas de tostado más altas en las semillas de cacao empapadas en comparación con las semillas crudas. Solo se observaron tasas de caída para la transferencia de humedad durante el tostado. La energía de activación se estimó en 28.60 kJ/mol durante el tostado, además encontró que el valor del tostado es mucho menor que el determinado para el secado de cacao (45 kJ/mol) debido a la mayor temperatura utilizada que corresponde a una mayor fuerza motriz para la transferencia de masa. Además de eso, el tostado se llevó a cabo utilizando fragmentos de cascara en lugar de usar granos enteros como en el caso del secado de cacao. Por lo tanto, la velocidad de calentamiento es más rápida para las cascara debido al tamaño de partícula más pequeño. Estos valores de energía de activación son cercanos a los obtenidos en esta investigación (Tabla 7).

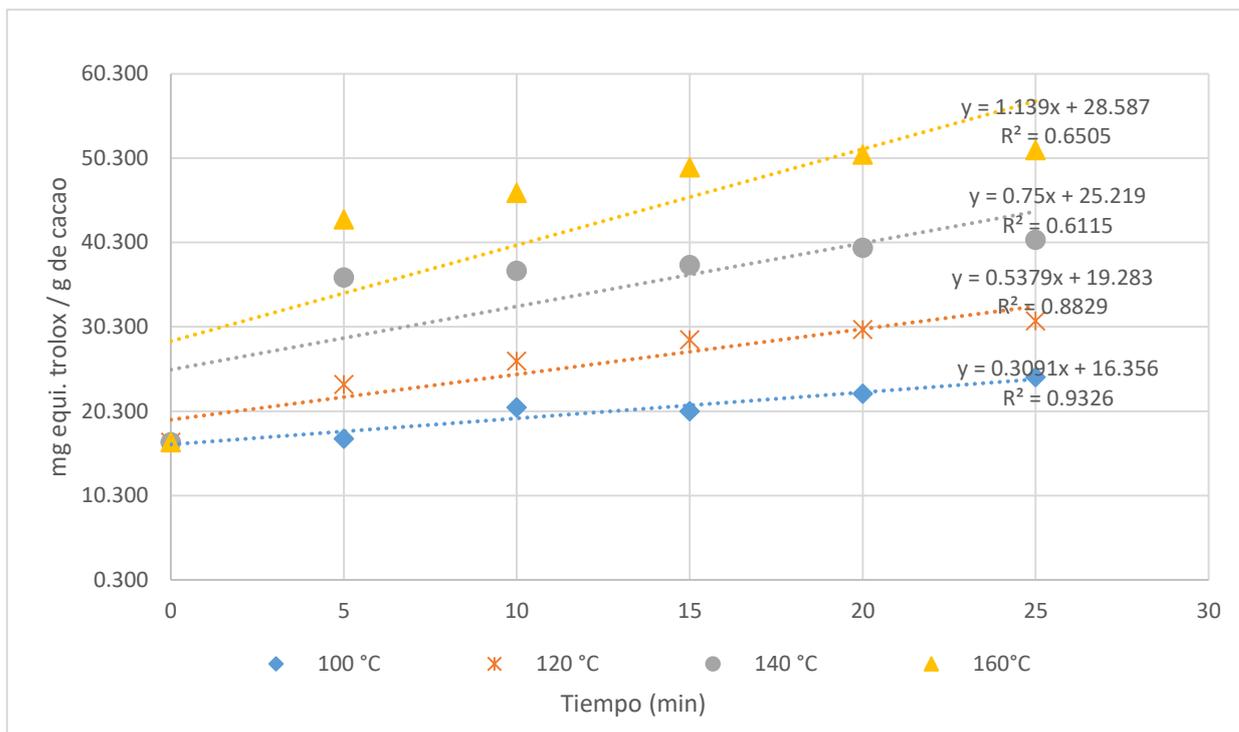


Figura 21. Reacción de orden 0 para absorbancia 3 de antioxidantes ($RMSE_{100^\circ C} = 2.025$, $RMSE_{120^\circ C} = 2.613$, $RMSE_{140^\circ C} = 6.004$ y $RMSE_{160^\circ C} = 8.7$)

Tabla 7. Energía de activación de antioxidantes

	Absorbancia 1			Absorbancia 2			Absorbancia 3		
	K_0	R^2	Ea (kJ/mol)	K_0	R^2	Ea (kJ/mol)	K_0	R^2	Ea (kJ/mol)
ORDEN 0	4542	0.9656	37.762	3918.9	0.997	32.581	3434.3	0.9943	28.552
ORDEN 1	3246.2	0.9415	26.988	3246.2	0.9415	26.988	2172.8	0.9869	18.064
ORDEN 2	2320.1	0.8864	19.289	2320.1	0.8864	19.289	2320.1	0.8864	19.289

Tabla 8. Constante de velocidad para cada temperatura de Antioxidantes

Temperatura (°C)	Constante de velocidad (min^{-1})								
	Absorbancia 1			Absorbancia 2			Absorbancia 3		
	Orden 0	Orden 1	Orden 2	Orden 0	Orden 1	Orden 2	Orden 0	Orden 1	Orden 2
100	0.2033	0.0103	0.0005	0.264	0.0103	0.0005	0.3091	0.0154	0.0005
120	0.5026	0.0210	0.0009	0.4742	0.0210	0.0009	0.5379	0.0226	0.0009
140	0.7961	0.0285	0.0011	0.7755	0.0285	0.0011	0.750	0.0272	0.0011
160	1.1189	0.0351	0.0012	1.1243	0.0351	0.0012	1.139	0.0354	0.0012

Los resultados de los estudios han proporcionado una idea de la cinética de transferencia de calor de los granos de cacao durante la torrefacción, que son beneficiosas para la industria del cacao, especialmente para comprender mejor la interacción entre la difusión de la humedad y el desarrollo del aroma en futuras investigaciones.

La significancia de la temperatura en el tostado sobre los fenoles totales y antioxidantes se pudo corroborar con la Figura 22 donde fue notorio la variación que existe para el tiempo de 25 min a diferentes temperaturas, la barra de 160°C difirió en gran manera con la barra de 100°, lo cual confirmó la degradación de los fenoles totales a una temperatura elevada. De la misma forma se encontró en la Figura 23 al distar el dato de 100°C con el de 160 °C debido a un aumento de la capacidad antioxidante.

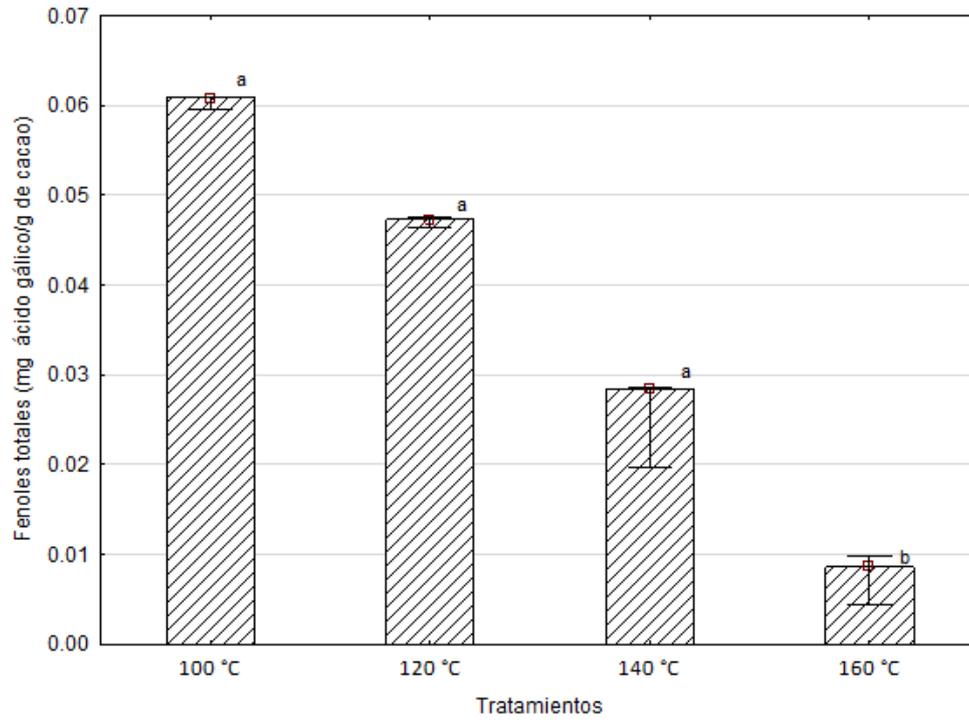


Figura 22. Contenido total de fenoles para cacao tostado a 25 min

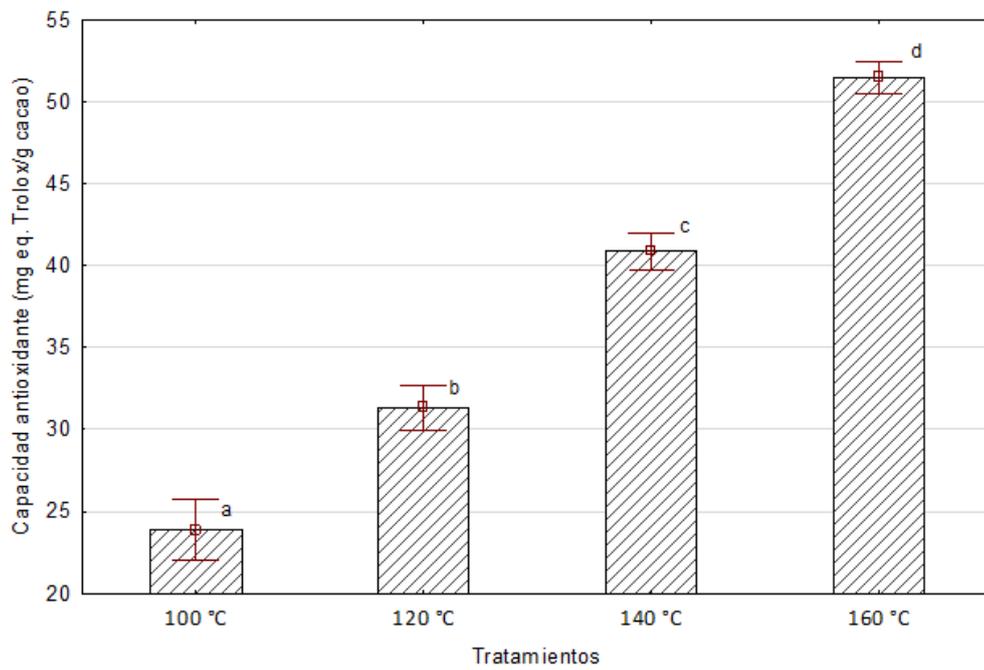


Figura 23. Contenido de la actividad antioxidante para cacao tostado a 25 min

4.6. Determinación de color

El color es un parámetro importante del material alimenticio que se usa para controlar un proceso. Las operaciones de tostado se controlan sobre la base de la formación del color porque el pigmento marrón se desarrolla a medida que el oscurecimiento y la reacción de caramelización progresan durante los períodos de tostado. Los cambios en los valores L^* , a^* y b^* de granos de cacao tostados a diferentes temperaturas se presentaron en las Figura 24, 25 y 26.

J .R. Moss (1989) estimaron que el oscurecimiento se debió a la deshidratación de las moléculas de carbohidratos a altas temperaturas, lo que da como resultado reacciones de Maillard y caramelización de azúcar. También reportaron que la tasa de oscurecimiento aumentaba con la temperatura de tostado y a medida que se elimine humedad el grano tendera a oscurecerse rápidamente por el efecto del tostado.

Aunque se informaron diferentes métodos de tostar cacao, generalmente, los valores para estos parámetros deben alcanzar valores similares en condiciones óptimas. Para el parámetro L^* , los valores se obtuvieron en el rango de 13.02 – 22.46 (Anexo 1) siendo inferior a los valores de 51-34.36, informado por (García *et al.*, 2017) para un rango de temperatura de 110-150°C y también menor que la informada por Zy'zelewicz *et al.*, (2014) cuyo valor L^* era 32.43-37.20 a una temperatura de 135-150 °C, usando una sistema de torrefacción convectiva. Zzaman *et al.*, (2013) informaron el uso de vapor sobrecalentado para tostar cacao en un rango de 150° - 250 °C, encontrando que el valor L^* aumenta con este método con respecto al valor inicial. Estos autores argumentan que este cambio podría ser una función de la desnaturalización de proteínas, junto con la cantidad de grasa alrededor de la proteína de la matriz, combinada con bajo niveles de humedad, además observaron que los aminoácidos libres se redujeron como resultado de las reacciones de Maillard, que dependen del tiempo y la temperatura de tostado.

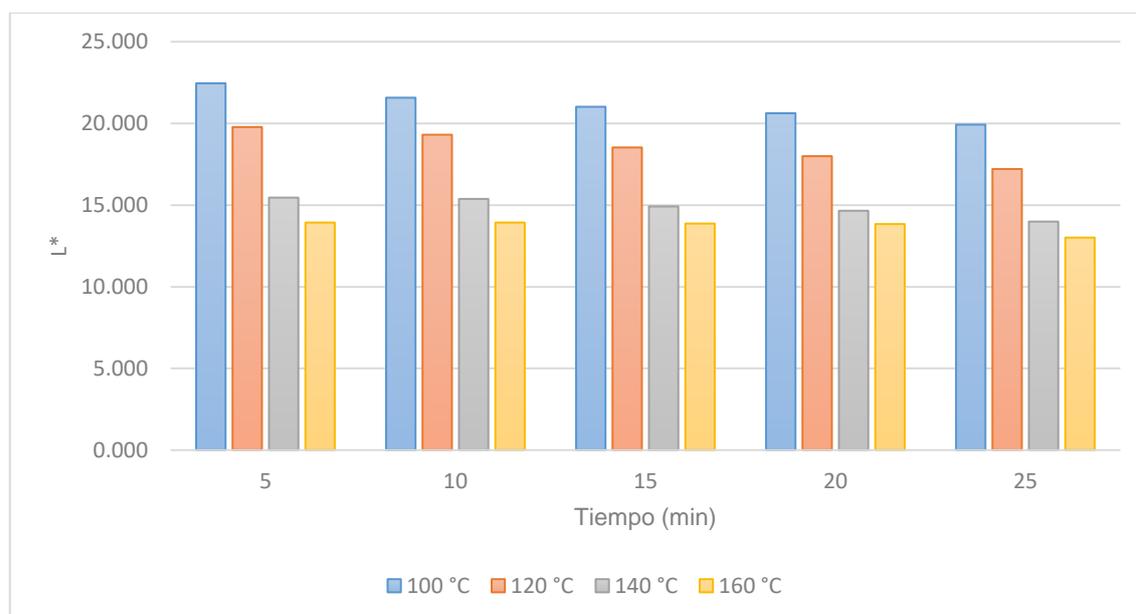


Figura 24. Distribución de la luminosidad (L^*) según la variación de tiempo y temperatura

El valor b muestra el amarillamiento. Y la variación en el valor b^* durante el tostado del cacao se muestran en la Figura 25. El valor b^* aumentó con la extensión del tiempo de tostado y la temperatura en el vapor sobrecalentado. Zzaman *et al.*, (2013). A medida que el tostado continuaba y los carbohidratos se volvían cada vez más deshidratados, se formaron pigmentos marrones, por lo tanto, hubo un fuerte aumento. Se encontró que la tasa de cambio de color era una función de la temperatura de tostado, lo que respalda las observaciones de Moss & L. (1989).

En cuanto al verde-rojo dado por a^* (Anexo 1), se encontró entre 8.993 – 109.385, y para el azul-amarillo dado por b^* , era encontrado entre 2.815 – 11.750. Los valores por a^* con respecto a la investigación de Zy'zelewicz *et al.*, (2014) encontraron un aumento repentino después 30 min y al final de la torrefacción, los valores informados del presente trabajo están por encima de los de García *et al.*, (2017) los cuales son para b^* 22.94 - 32.67 y para a^* 6.21 - 11.96. Dando a conocer que los cambios en este parámetro b^* están asociados con la formación de pigmentos marrones debido a la condensación y reacciones de polimerización.

El valor de a^* muestra el enrojecimiento de los productos. Los cambios en el valor de a^* durante el tostado se muestran en la Figura 25. Se incrementó durante el tostado de granos de cacao a 100 y 160 °C. La formación de pigmentos marrones a través del pardeamiento no enzimático y la degradación de los fosfolípidos podría ser un motivo de aumento del valor. El estudio observó que el aumento en el valor a^* se

correlacionaba con la disminución en el valor L^* durante el proceso de tostado. (Zzaman *et al.*, 2013).

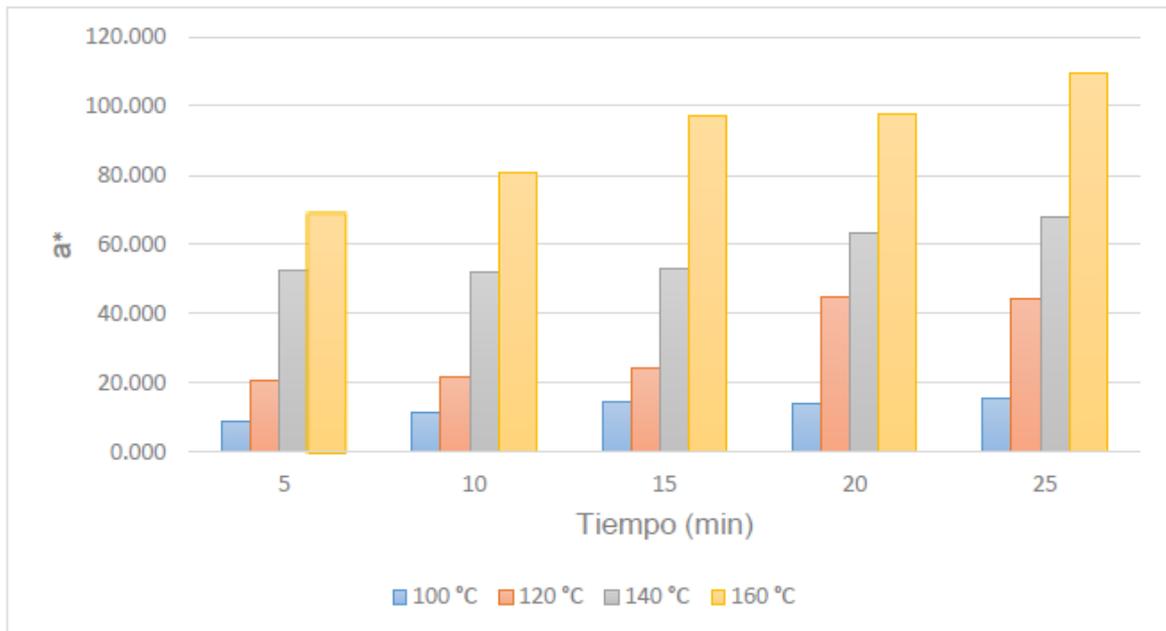


Figura25. Variación de a^* con relación al tiempo (min) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Zy'zelewicz *et al.*, (2014) dieron a conocer datos entre 2.48 y 6.68 con respecto al parámetro b^* y Zzaman *et al.*, (2013) obtuvieron valores entre 10 y 20 al final del proceso de tostado. Los cambios observados para b^* se asocia de manera similar con el de a^* dependiendo de la formación de pigmento marrón. Los diferentes métodos de tostado de los granos de cacao aumentan o disminuyen los parámetros de color L^* , a^* y b^* , y también dependen de la degradación durante el proceso de fermentación y secado. (García *et al.*, 2017)

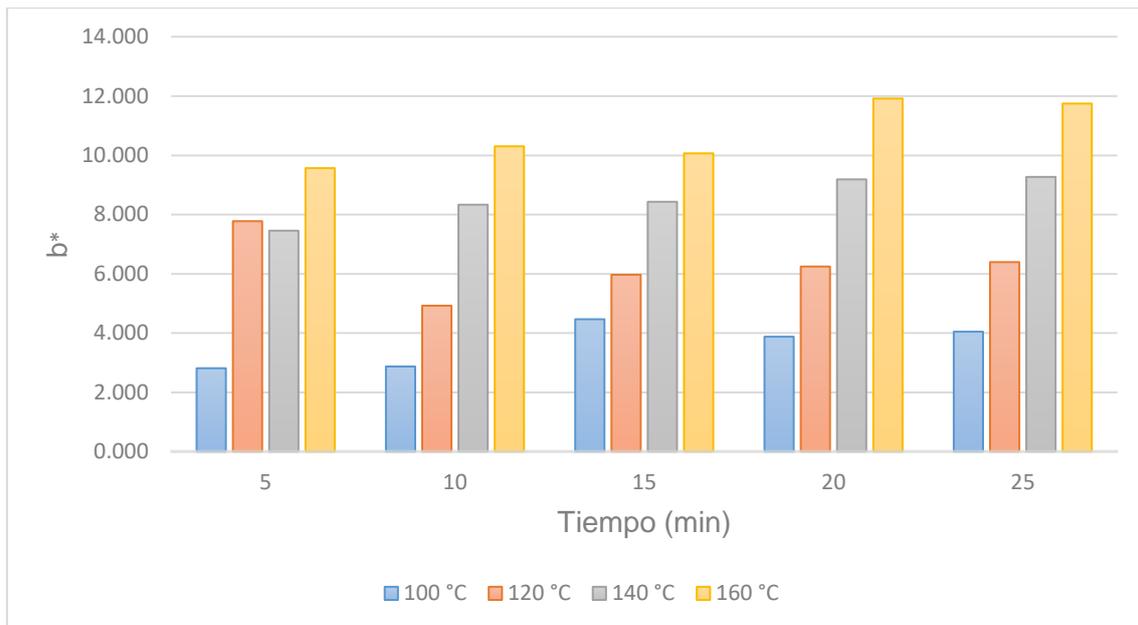


Figura 26. Variación de b^* con relación al tiempo (min) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

Los datos de color mostraron que los principales cambios en el desarrollo del color ocurrieron después de aproximadamente 15 a 25 min. Los valores de las escalas de color a^* y b^* aumentaron rápidamente, mientras que los de la escala L^* disminuía. Los resultados del estudio parecen indicar que el desarrollo de los colores L^* y a^* , que representan el grado de luminosidad y el rango rojo-verde, respectivamente depende de las características de los granos sin tostar. (J .R. Moss & L, 1989). (Figura 27)

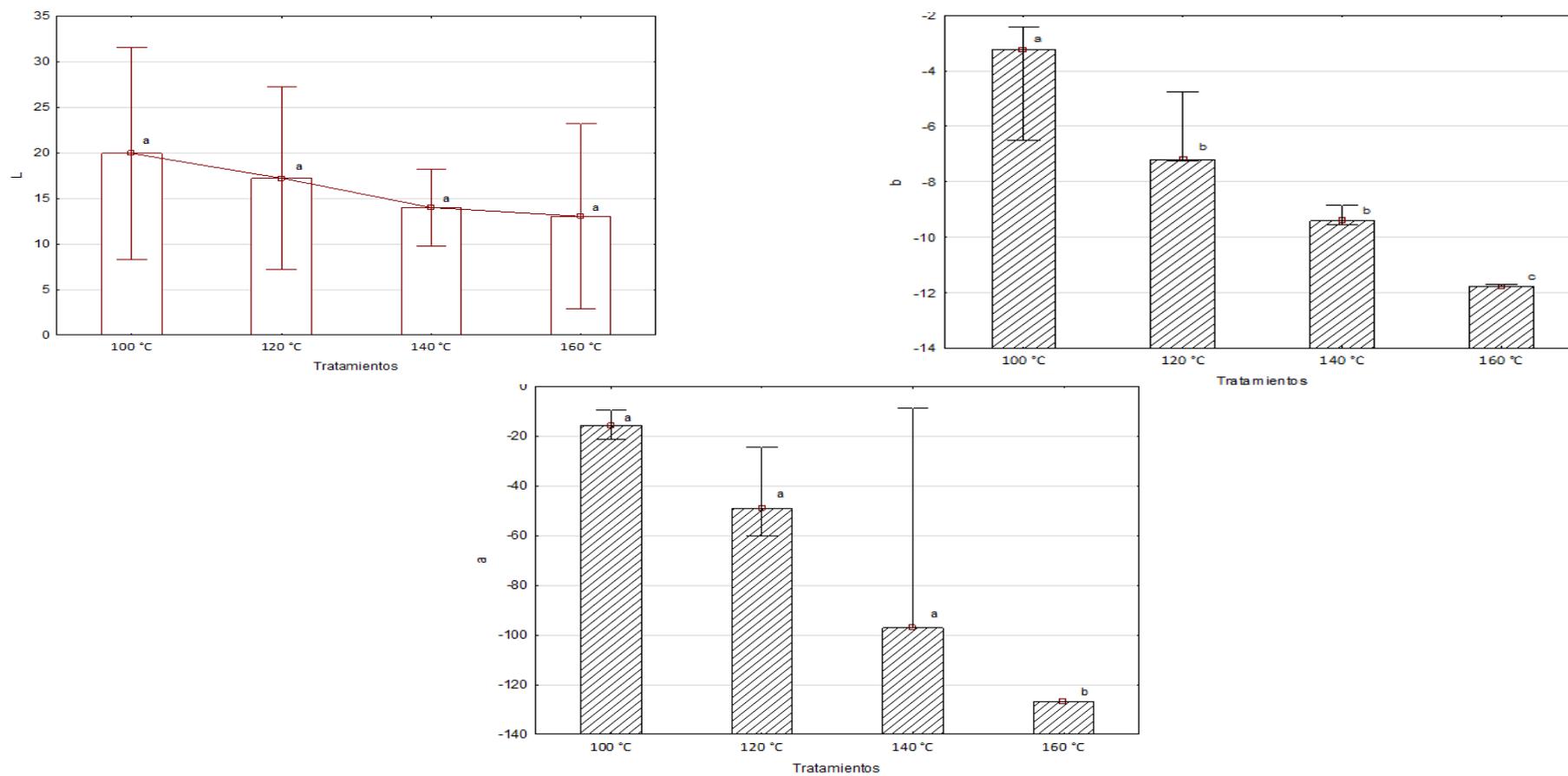


Figura 27. Variación de L^* , a^* , b^* del cacao tostado a los 25 min.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

- El porcentaje de grasas de cacao, varió de 53.28 a 60.79%, estos valores son superiores al promedio reportado para otros genotipos de cacao. La temperatura de tostado de 160 °C incrementa el contenido de manteca respecto a la temperatura de 100 °C debido a la reducción del contenido de agua.
- El contenido de polifenoles totales (0.069 – 0.010 mg AGE/g) y actividad antioxidante (16.605 – 51.925 mg eq trolox/g), se ven afectados por las variables poscosecha estudiadas y son más bajas que otros genotipos de cacao. Este factor contribuye a la calidad sensorial de este cacao, y al hacerlo menos amargo lo incluye en el grupo de los cacaos finos de aroma.
- 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 fenoles totales y actividad antioxidante. La temperatura de menor pérdida de compuestos fenólicos fue de 100°C a 5 min.

El efecto de la temperatura mostro una disminución en el contenido de fenoles totales siguiendo el modelo cinético de orden 1, demostrando que la temperatura a 100°C es la que causa menos degradación en los granos de cacao.

- La energía de activación se estimó en 63.493 kJ / mol a partir del modelo de Arrhenius para la capacidad antioxidante. Y para los fenoles totales 45.300 kJ / mol
- La evaluación de color mostró un mayor oscurecimiento en los granos de cacao tostadas a mayor tiempo y temperatura consecuencia de las reacciones de maillard efecto del tostado.

RECOMENDACIONES

Se recomienda profundizar qué tipo de grasa se ve más afectada por el tostado en la variedad chuncho. Así también verificar si existe variación al tostar con cascara o sin cascara al analizar compuestos antioxidantes. Y se podría evaluar si el tostado a diferentes tiempos y temperaturas tuvo efecto en el sabor del chocolate

Referencias

- Alves CQ, Brandão HN, David JM, David JP & Lima LS. (2007). Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. *Diálogos e ciência – Revista da rede ensino FTC*, 5(12): 7- 8.
- AOAC. (2010). Official method of analysis of A.O.A.C International. 18th Edition. Current through revision 3. *Grasas. Método oficial 920.39*.
- Bertazzo, A.; Agnolin, F.; Comai, S.; Zancato, M.; Costa, C. V. L.; 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>
- Beckett, S. T. (2008). Traditional chocolate making. In *Industrial chocolate manufacture and use*, S. T. Beckett (Ed.), Glasgow: Chapman and Hall.
- Baharum Z, Akim AM, Hin TYY, Hamid RA, Kasran R. (2016). *Theobroma cacao*: Review of extraction, isolation, and bioassay of its potential anti-cancer compounds. *Tropical life Science Research*. pp: 27 (1), 21-42.
- Carpenter, R. R., Hammerstone, J. F., Jr., Romanczyk, L. J., Jr., Aitken, W. M. (1994). Lipid composition of *Herrania* and *Theobroma* seeds. *J.Am. Oil Chem. Soc.* 71, 845–851.
- Cherniack, E.P. (2011). Polyphenols: Planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome. *Nutrition* 27(6): 617-623. doi: 10.1016/j.nut.2010.10.013.
- Ching Lik Hii, Abhay S. Menon, Choon Lai Chiang & Suzannah Sharif. (2016). Kinetics of hot air roasting of cocoa nibs and product quality. doi: 10.1111/jfpe.12467
- De Araujo QR, Gattward JN, Almoosawi S, Silva Md, Dantas PA, De Araujo Junior QR (2016). Cacao and human health: from feed to food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Pp 56, 1-12. doi: 10.1080/10408398.2012.657921
- Edy S de Brito, Nelson H Pezoa Garcia, Mi Gallao, Angelo L Cortelazzo, Pedro S Fevereiro & Marcia R Braga. (2000). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. doi: 10.1002/1097-0010(20010115)81:2<281::AID-JSFA808>3.0
- Efrain, P., Pires, J. L., Garcia, A. O., Grimaldi, R. (2013), Characteristics of cocoa butter and chocolates obtained from cocoa varieties grown in Bahia, Brazil. *Eur. Food Res. Technol.*, 237, 419–428. doi: 10.1007/s00217-013-2006-x.

- Efraim P, Pezoa-Garcia NH, Jardim CD, Nishikawa A, Haddad R, Eberlin. (2010). Influence of cocoa beans fermentation and drying on the polyphenol content and sensory acceptance. *Ciencia Tecnol Aliment*; 30 (1): 142-150. doi: 10.1007/s00217-013-2006-x.
- Enríquez Gustavo. (2007). *Manual del cacao para agricultores*. Centro Agrónomo Tropical de Investigación y enseñanza.
- Folin, C. & Ciocalteu, V. (1927). Tyrosine and tryptophan determination in protein.
- García Alamilla Pedro, Lagunes Gálvez Laura Mercedes, Barajas Fernández Juan, & García Alamilla Ricardo. (2017). Physicochemical Changes of Cocoa Beans during Roasting Process. *Journal of Food Quality*, (1):1-11. doi: 10.1155/2017/2969324
- García, C. (2012). *Catálogo cultivares de cacao del Perú*. 2ª reimpression. Minagri, Lima. pp. 21-55-108.
- Gu, L., House, S. E., Wu, X., Ou, B., & Prior, R. L. (2006). Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4057–4061.
- Gu, F., Tan, L., Wu, H., Fang, Fei Xu, Zhong Chu & Qinghuang Wang. (2013). Comparison of cocoa beans from China, Indonesia and Papua New Guinea. *Foods*, 2, 183–197. doi: 10.3390/foods2020183
- Gladis J. Aldave. (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.
- Hansen CE, Del Olmo M & Schmitz HH. (1998). Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *J Sci Food Agr*; 77: 237 – 281. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010
- Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W. & Riechel, T.L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 46,1887–1892. doi: 10.1021/jf970975b
- Herrero A & Romero de Ávila M. (2006). Innovaciones en el procesado de Alimentos: Tecnologías térmicas *Rev. Med. Univ. Navarra* 50(4):71-74
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841–1856. doi: 10.1021/jf030723c

- J .R. Moss & L. Otten (1989). A Relationship Between Colour Development and Moisture Content During Roasting of Peanuts. doi: 10.1186/s13065-014-0055-2
- Jolic SM, Redovnikovic IR, Markovic K, Sipusic DI & Delonga K. (2011). Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *Int J Food Sci Tech*; 46 (9): 1793-1800. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02670.x
- Jinap, Rosli, Russly, & Nordin. (1998). Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*)". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 77, no. 4, pp. 441–448. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199808)77:4<441::AID-JSFA46>3.0.CO;2-
- INIAP. (1993). Informe anual detallado 1992 – 1993. Proyecto fortalecimiento a la investigación y producción de cacao.
- INDECOPI, (2006), NTP-ISO2451. "GRANOS DE CACAO Especificaciones"
- International Chocolate Awards. (2017). Disponible en: <http://www.internationalchocolateawards.com/2017/10/world-final-winners-2017/>
- Juan C. Motamayor, Philippe Lachenaud, Jay Wallace da Silva e Mota, Rey Loor, David N. Kuhn, J. Steven Brown¹, Raymond J. Schnell. (2008) Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L).
- Juliana Couto Nascimento, Luiz Fernando Oliveira Lage, Cláudio Rodrigues Dayrell Camargos, Juliana Coelho Amaral, Lucas Martins Costa, Adriana Nascimento de Sousa & Franciella Queiroz Oliveira. (2011). Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L.
- Joanna Oracz, Ewa Nebesny & Dorota Żyżelewicz. (2014). Effect of roasting conditions on the fat, tocopherol, and phytosterol content and antioxidant capacity of the lipid fraction from cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. cultivars. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116, 1002–1014. doi: 10.1002/ejlt.201300474

- Joanna Oracz & Ewa Nebesny. (2016). Antioxidant Properties of Cocoa Beans (*Theobroma cacao L.*): Influence of Cultivar and Roasting Conditions. *International Journal of Food Properties*, 19:6, 1242-1258. doi: 10.1080/10942912.2015.1071840
- Keen, C.L., R.R. Holt, P.I. Oteiza, C.G. Fraga and H.H. Schmitz. (2005). Cocoa antioxidants and cardiovascular. doi: 10.1093/ajcn/81.1.298S
- Krysiak, W., Adamski, R., & Z_ yz_ elewicz, D. (2013). Factors affecting the color of roasted cocoa bean. *Journal of Food Quality*, 36, 21–31. doi: 10.1111/jfq.12009
- Krysiak, W. (2006). Influence of roasting conditions on coloration of roasted cocoa beans. 77 (3), 449-453. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.07.013
- Krysiak, W. (2011). *Grasas Aceites*, 62,467–478. Effects of convective and microwave roasting on the physicochemical properties of cocoa beans and cocoa butter extracted from this material. doi: 10.3989/gya.114910. 1
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.51 (25), 7292–7295. doi: 10.1021/jf0344385
- Lee, Yoo, Lee, Kwon, & Pyun. (2001). Optimization of nibs roasting in cocoa bean processing with lotte-better taste and color process”. *Food Science and Biotechnology*, vol. 10, pp.286–293. doi: 10.1007/s00217-013-2123-6
- Liendo, R., Padilla, F. C., Quintana, A. (1997). Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao L.* *Food Res. Int.*30, 727–731. doi: 10.1016/S0963-9969(98)00025-8
- Mary Lares Amaiz, Elevina Pérez Sira, Clímaco Álvarez Fernández, José Perozo González & Sandra El Khor. (2013). Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio. *Agronomía Trop.* 63(1-2): 37-47.
- Mary Del Carmen Lares Amaíz, Rafael Gutiérrez, Elevina Pérez & Clímaco Álvarez. (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.
- Ministerio de Agricultura. (2000). *Manual del Cultivo del Cacao en la Amazonía Peruana*. Pág. 57 – 64.
- MINAGRI. (2012). *Catálogo de cultivares de cacao del Perú*.

- MINAGRI. (2009). Superárboles de cacao chuncho del cusco. Sistematización del primer concurso regional en el distrito de Echarate.
- Miller, N. J., Diplock, A. T., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407–412.
- Milardovic, S., Kerekovic, I., & Rumenjak, V. (2007). A flow injection biamperometric method for determination of total antioxidant capacity of alcoholic beverages using bienzymatically produced ABTS+. *Food Chemistry*, 105, 1688–1694. doi: 10.1016/j.talanta.2006.03.042
- Muñoz, A., Ramos-Escudero, F., Alvarado-Ortiz, C. & Castañeda, B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev. Soc. Quim. Perú*. 73(3): 142-149.
- Noor Soffalina. S, Jinap. S, Nazamid.s y Nazimah.S, (2009). Effect of Polyphenol and pH on Cocoa Maillar - Related flavor Precursors in Lipidic Model System. *International Journal of Food Science & Techology*, Vol 44. doi: 10.1111/j.1365-2621.2008.01711.x.
- Nazaruddin, R.; Osman, H.; Wahid, S.; Nor, A. (2006). Influence of Roasting Conditions on Volatile Flavor of Roasted Malaysian Cocoa Beans. *Journal of Food Processing and Preservation*. doi: 10.1111/j.1745-4549.2006.00065.x
- Oliviero, T., E. Capuano, B. Cammerer and V. Fogliano. (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: 10.1021/jf802250j.
- Osman, H., R. Nasarudin and S.I. Lee. (2004). Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potential. *Food Chemistry* 86(1): 41–46. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.08.026.
- Othman, A., A. Ismail, N.A. Ghani and I. Adenan. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100(4): 1523–1530. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.12.021
- Queena Tzyy Mei, Grace Li Yin Tan, Siew Mei Loo, Fitriyah Zainol Azhar, Abhay Santhanam Menon & And Ching Lik Hii. (2015). The Drying Kinetics And Polyphenol Degradation Of Cocoa Beans. *Journal of Food Process Engineering*. ISSN 1745-4530

- Procházková, D.; Boušová, I. & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and Pro-Oxidant Properties of Flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513–523. doi: 10.1016/j.fitote.2011.01.018
- Romero Cesar Armando. (2016). Estudio del cacao en el Perú y en el mundo. Lima: MINAGRI – DGPA-DEEIA. 1edición.
- Rosario Rojas, Carlos Rodríguez, Candy Ruiz, Rosario Portales, Edgar Neyra, Kirti Patel, Julio Mogrovejo, Gabriela Salazar, Jasmin Hurtado. (2017). Cacao Chuncho del Cusco.
- Singleton VL, Rossi JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* 16: 144-158. doi: 10.12691/jfnr-3-7-5.
- Sinche Quillatupa. (2011). Evaluación del tiempo de fermentación del grano de cacao criollo (theobroma cacao l.) Para la obtención de la pasta.
- Summa, C; Raposo, F. C; J.McCourt; Roberto Lo; ScalzoKarl-Heinz Wagner; Ibrahim Elmadfa & Elke Anklam (2006). Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *European Food Research and Technology*, vol. 222, no. 3-4, pp. 368–375. doi: 10.1002/mnfr.200700403.
- Toledo R.T. (2007) Kinetics of Chemical Reactions in Foods. In: *Fundamentals of Food Process Engineering*. Food Science Text Series. Springer, Boston, MA
- Van Boekel, Martinus A. J. S. (2009). Kinetic modeling of reactions in foods.
- Vignoli, J.A., Bassoli, D.G. & Benassi, M.T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chem.* 124, 863–868. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.008.
- Weisburger, J.H. (1999). Mechanism of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes, and tea, *Food Chem. Toxicol.*, 37, 943-948. doi: 10.1016/S0278-6915(99)00086-1.
- 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, 423–447. doi: 10.1016/S0963-9969(00)00068-5
- Y. M. Baghdadi & C. L. Hii. (2017). Mass Transfer Kinetics And Effective Diffusivities During Cocoa Roasting. doi: 10.1080/07373937.2016.1234849.
- Yader Suazo Mercado. (2012). Efecto de la fermentación y el tostado sobre la concentración polifenólica y actividad antioxidante de cacao nicaragüense.

- Yamaguchi, N., Y. Koyama and M. Fujimaki. (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. doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.044.
- Zambrano A, Romero C, Gómez A, Ramos G, Lacruz C, Brunetto M, Máximo G, Gutiérrez L & Delgado Y. (2010). Evaluación química de precursores de aroma y sabor del cacao criollo merideño durante la fermentación en dos condiciones edafoclimáticas.
- Zyzelewicz, D.; Budryn, G.; Krysiak, W.; Oracz, J.; Nebesny, E.; Bojczuk, M. (2014). Influence of roading conditions on fatty acid composition and oxidative changes of cocoa butter extracted from cocoa bean of Forastero variety cultivated in Tongo. doi: 10.1016/j.foodres.2014.04.053
- Zy'zelewicz, W. Krysiak, E. Nebesny, & G. Budryn. (2014). Application of various methods for determination of the color of cocoa beans roasted under variable process parameters. *European Food Research and Technology*, vol. 238, no. 4, pp. 549–563. doi: 10.1007/s00217-013-2123-6
- Zzaman, Wahidu., & Yang, Tajul. A. (2013). Moisture, color and texture changes in cocoa beans during superheated steam roasting. *Journal of food processing and preservation*, 9(1): 1-7; 38(3), 1364-1370. doi: 10.1111/jfpp.12098

Anexos

Anexo 1 Parámetros de color medidos por el método CIE L * a * b * en granos de cacao tostado

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	L*	Promedio	a*	Promedio	b*	Promedio	
100 °C	5	5a	20.898		11.878	0.452		
		5b	20.475	22.462 ± 3.08	3.720	8.993 ± 4.57	0.229	2.815 ± 4.29
		5c	26.013		11.381		7.765	
	10	10a	23.454		12.021		3.588	
		10b	17.352	21.584 ± 3.67	11.574	11.347 ± 0.81	1.445	2.874 ± 1.24
		10c	23.945		10.445		3.588	
	15	15a	18.456		15.108		4.739	
		15b	22.173	21.028 ± 2.23	13.270	14.496 ± 1.06	3.791	4.470 ± 0.59
		15c	22.454		15.111		4.879	
	20	20a	20.785		19.670		5.008	
		20b	20.462	20.631 ± 0.16	3.133	14.142 ± 9.53	1.510	3.880 ± 1.63
		20c	20.646		19.624		5.123	
	25	25a	20.678		15.731		6.498	
		25b	24.206	19.932 ± 4.69	9.425	15.425 ± 5.85	3.241	4.049 ± 2.16
		25c	14.911		21.119		2.408	
120 °C	5	5a	21.371		24.188	8.996		
		5b	16.253	19.786 ± 3.07	14.127	20.817 ± 5.79	5.344	7.780 ± 2.11
		5c	21.734		24.135		8.999	
	10	10a	22.819		23.301		6.159	
		10b	12.991	19.315 ± 5.49	20.400	21.701 ± 1.47	2.485	4.926 ± 2.11
		10c	22.136		21.402		6.134	
	15	15a	19.485		25.695		6.232	
		15b	16.463	18.534 ± 1.80	20.905	24.430 ± 3.09	6.383	5.970 ± 0.59
		15c	19.654		26.689		5.296	
	20	20a	16.784		60.606		9.231	
		20b	20.760	17.999 ± 2.40	10.363	44.774 ± 9.83	9.394	6.248 ± 5.31
		20c	16.454		63.352		0.120	
	25	25a	19.635		49.032		7.194	
		25b	19.429	17.214 ± 4.02	60.191	44.547 ± 8.30	4.768	6.398 ± 1.41
		25c	12.579		24.419		7.231	
140 °C	5	5a	15.644		64.042	8.982		
		5b	15.373	15.464 ± 0.16	30.107	52.800 ± 9.65	4.482	7.459 ± 2.58
		5c	15.374		64.252		8.912	
	10	10a	17.020		65.451		9.536	
		10b	11.298	15.384 ± 3.56	26.184	51.996 ± 2.36	5.707	8.336 ± 2.28
		10c	17.834		64.352		9.764	
	15	15a	16.903		68.876		9.943	
		15b	11.619	14.922 ± 2.88	22.852	53.240 ± 6.32	5.380	8.435 ± 2.65
		15c	16.245		67.991		9.981	
	20	20a	15.985		82.602		10.170	
		20b	12.068	14.659 ± 2.24	25.820	63.521 ± 2.65	6.980	9.191 ± 1.92
		20c	15.924		82.141		10.422	
	25	25a	15.563		97.207		9.411	
		25b	12.172	13.996 ± 1.71	97.207	67.705 ± 1.10	8.849	9.274 ± 0.38
		25c	14.252		8.700		9.561	
160 °C	5	5a	13.909		84.679	9.878		
		5b	13.785	13.937 ± 0.09	36.913	68.858 ± 7.67	9.878	9.570 ± 0.53
		5c	13.965		84.983		8.954	
	10	10a	14.204		102.476		11.372	
		10b	12.733	13.937 ± 1.09	36.909	80.640 ± 7.87	8.203	10.307 ± 1.82
		10c	14.873		102.535		11.345	
	15	15a	11.767		88.720		10.171	
		15b	10.474	13.875 ± 0.71	101.707	97.261 ± 7.40	10.926	10.069 ± 0.91
		15c	11.645		101.356		9.109	
	20	20a	14.549		113.134		12.723	
		20b	12.260	13.844 ± 1.37	67.308	97.861 ± 6.46	10.317	11.919 ± 1.39
		20c	14.724		113.142		12.718	
	25	25a	15.414		110.699		11.77	
		25b	8.289	13.015 ± 4.09	106.728	109.385 ± 2.30	11.71	11.750 ± 0.04
		25c	15.343		110.728		11.77	

Anexo 2 Variación del porcentaje de grasa según las temperaturas.

Temperatura (°C)															
100				120				140				160			
Tiempo (min)	% Grasa	Promedio Grasa	%	Tiempo (min)	% Grasa	Promedio Grasa	%	Tiempo (min)	% Grasa	Promedio Grasa	%	Tiempo (min)	% Grasa	Promedio Grasa	%
5a	56.860			5a	55.508			5a	58.009			5a	54.138		
5b	47.369	53.282		5b	55.853	55.542		5b	57.290	57.113		5b	58.145	54.340	
5c	57.934			5c	55.088			5c	55.357			5c	53.209		
5d	50.966			5d	55.720			5d	57.795			5d	51.867		
10a	56.572			10a	57.590			10a	58.887			10a	58.927		
10b	51.878	53.271		10b	51.923	54.866		10b	57.941	58.259		10b	57.942	57.819	
10c	57.964			10c	57.758			10c	59.007			10c	57.318		
10d	46.672			10d	52.191			10d	57.200			10d	57.089		
15a	53.292			15a	58.125			15a	57.264			15a	59.569		
15b	55.963	52.755		15b	57.828	57.976		15b	58.763	57.776		15b	56.216	60.102	
15c	42.900			15c	57.798			15c	57.870			15c	61.787		
15d	58.864			15d	58.153			15d	57.206			15d	62.835		
20a	51.204			20a	57.784			20a	58.614			20a	61.624		
20b	54.878	53.697		20b	57.681	57.662		20b	57.757	57.468		20b	58.113	60.705	
20c	54.415			20c	58.008			20c	56.121			20c	60.837		
20d	54.293			20d	57.175			20d	57.382			20d	62.248		
25a	52.128			25a	59.127			25a	60.117			25a	61.533		
25b	52.508	53.394		25b	57.060	57.992		25b	58.798	59.532		25b	61.210	60.792	
25c	52.853			25c	57.887			25c	59.159			25c	60.320		
25d	56.090			25d	57.893			25d	60.054			25d	60.106		

Anexo 3 Cuantificación de polifenoles totales de absorbancia 1

Temperatura °C	Tiempo (min)	Absorbancia 1	ug/g muestra	EAG mg/g
0	0	0.775	69.333	0.069
	5	0.766	68.520	0.069
	10	0.714	63.820	0.064
	15	0.762	68.158	0.068
	20	0.698	62.373	0.062
	25	0.682	60.927	0.061
100	5	0.659	58.849	0.059
	10	0.666	59.481	0.059
	15	0.637	56.860	0.057
	20	0.599	53.426	0.053
	25	0.533	47.460	0.047
120	5	0.519	46.195	0.046
	10	0.485	43.122	0.043
	15	0.425	37.699	0.038
	20	0.334	29.474	0.029
	25	0.321	28.299	0.028
140	5	0.228	19.893	0.020
	10	0.192	16.640	0.017
	15	0.094	7.782	0.008
	20	0.094	7.782	0.008
	25	0.103	8.595	0.009

Anexo 3.1 Cuantificación de polifenoles totales de absorbancia 2

Temperatura °C	Tiempo (min)	Absorbancia 2	ug/g muestra	EAG mg/g
0	0	0.747	66.802	0.067
	5	0.722	64.543	0.065
	10	0.768	68.700	0.069
	15	0.704	62.916	0.063
	20	0.705	63.006	0.063
	25	0.681	60.837	0.061
100	5	0.656	58.577	0.059
	10	0.642	57.312	0.057
	15	0.623	55.595	0.056
	20	0.548	48.816	0.049
	25	0.522	46.466	0.046
120	5	0.515	45.833	0.046
	10	0.498	44.297	0.044
	15	0.422	37.428	0.037
	20	0.405	35.891	0.036
	25	0.325	28.661	0.029
140	5	0.211	18.357	0.018
	10	0.159	13.657	0.014
	15	0.117	9.861	0.010
	20	0.139	11.849	0.012
	25	0.056	4.347	0.004
160	5	0.211	18.357	0.018
	10	0.159	13.657	0.014
	15	0.117	9.861	0.010
	20	0.139	11.849	0.012
	25	0.056	4.347	0.004

Anexo 3.2 Cuantificación de polifenoles totales de absorbancia 3

Temperatura °C	Tiempo (min)	Absorbancia 3	ug/g muestra	EAG mg/g
0	0	0.779	69.695	0.070
	5	0.722	64.543	0.065
	10	0.715	63.910	0.064
	15	0.702	62.735	0.063
	20	0.699	62.464	0.062
	25	0.667	59.572	0.060
100	5	0.658	58.758	0.059
	10	0.657	58.668	0.059
	15	0.625	55.775	0.056
	20	0.598	53.335	0.053
	25	0.531	47.279	0.047
120	5	0.517	46.014	0.046
	10	0.483	42.941	0.043
	15	0.402	35.620	0.036
	20	0.330	29.112	0.029
	25	0.225	19.622	0.020
140	5	0.215	18.718	0.019
	10	0.138	11.759	0.012
	15	0.113	9.499	0.009
	20	0.087	7.149	0.007
	25	0.117	9.861	0.010

Anexo 4 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 1 de fenoles

Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100 °C	ln (mg de ácido gálico / g de cacao)	120 °C	ln (mg de ácido gálico / g de cacao)	140 °C	ln (mg de ácido gálico / g de cacao)	160 °C	ln (mg de ácido gálico / g de cacao)
0	0.069	-2.679	0.069	-2.679	0.069	-2.679	0.069	-2.679
5	0.069	-2.681	0.059	-2.833	0.046	-3.075	0.020	-3.917
10	0.064	-2.752	0.059	-2.822	0.043	-3.144	0.017	-4.096
15	0.068	-2.686	0.057	-2.867	0.038	-3.278	0.008	-4.856
20	0.062	-2.775	0.053	-2.929	0.029	-3.524	0.008	-4.856
25	0.061	-2.798	0.047	-3.048	0.028	-3.565	0.009	-4.757

Anexo 4.1 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 1 de fenoles

Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	120°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	140°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	160°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)
0	0.069	14.575	0.069	14.575	0.069	14.575	0.069	14.575
5	0.069	14.594	0.059	16.993	0.046	21.647	0.020	50.268
10	0.064	15.669	0.059	16.812	0.043	23.190	0.017	60.098
15	0.068	14.672	0.057	17.587	0.038	26.526	0.008	128.502
20	0.062	16.032	0.053	18.718	0.029	33.928	0.008	128.502
25	0.061	16.413	0.047	21.070	0.028	35.337	0.009	116.341

Anexo 4.2 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 2 de fenoles.

Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100 °C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)	120 °C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)	140 °C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)	160°C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)
0	0.069	-2.679	0.069	-2.679	0.069	-2.679	0.069	-2.679
5	0.065	-2.740	0.059	-2.837	0.046	-3.083	0.018	-3.998
10	0.069	-2.678	0.057	-2.859	0.044	-3.117	0.014	-4.294
15	0.063	-2.766	0.056	-2.890	0.037	-3.285	0.010	-4.619
20	0.063	-2.765	0.049	-3.020	0.036	-3.327	0.012	-4.435
25	0.061	-2.800	0.046	-3.069	0.029	-3.552	0.004	-5.438

Anexo 4.3 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 2 de fenoles

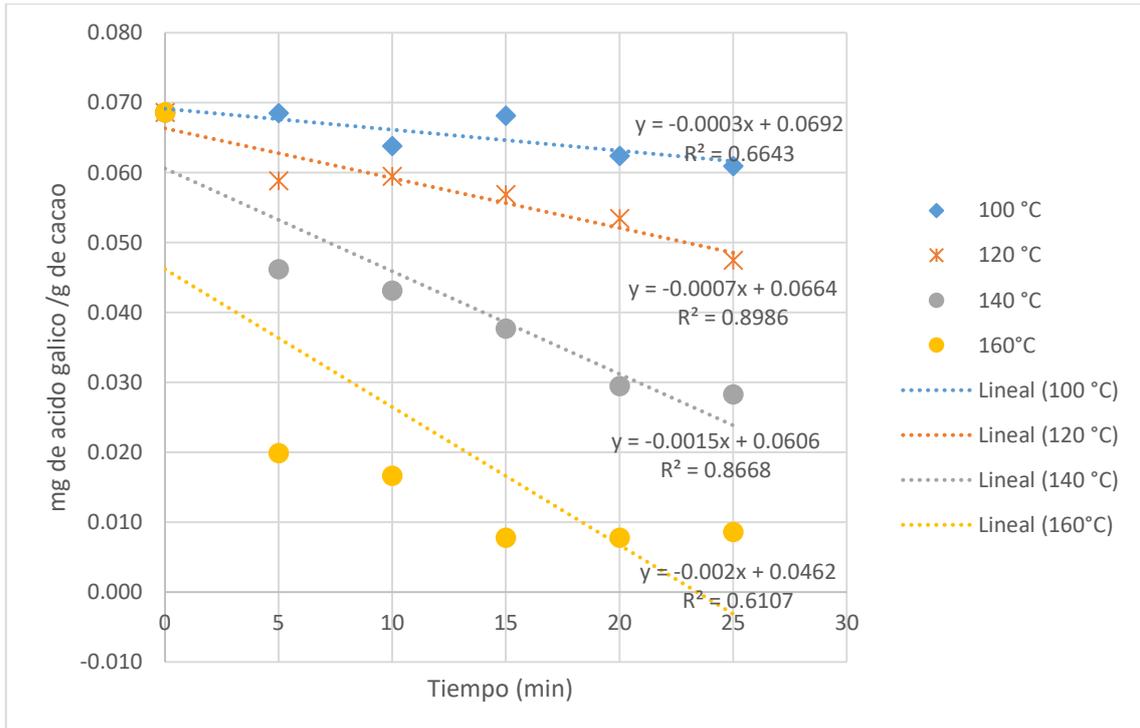
Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	120°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	140°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	160°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)
0	0.069	14.575	0.069	14.575	0.069	14.575	0.069	14.575
5	0.065	15.494	0.059	17.071	0.046	21.818	0.018	54.476
10	0.069	14.556	0.057	17.448	0.044	22.575	0.014	73.223
15	0.063	15.894	0.056	17.987	0.037	26.718	0.010	101.412
20	0.063	15.871	0.049	20.485	0.036	27.862	0.012	84.394
25	0.061	16.437	0.046	21.521	0.029	34.891	0.004	230.021

Anexo 4.4 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 3 de fenoles

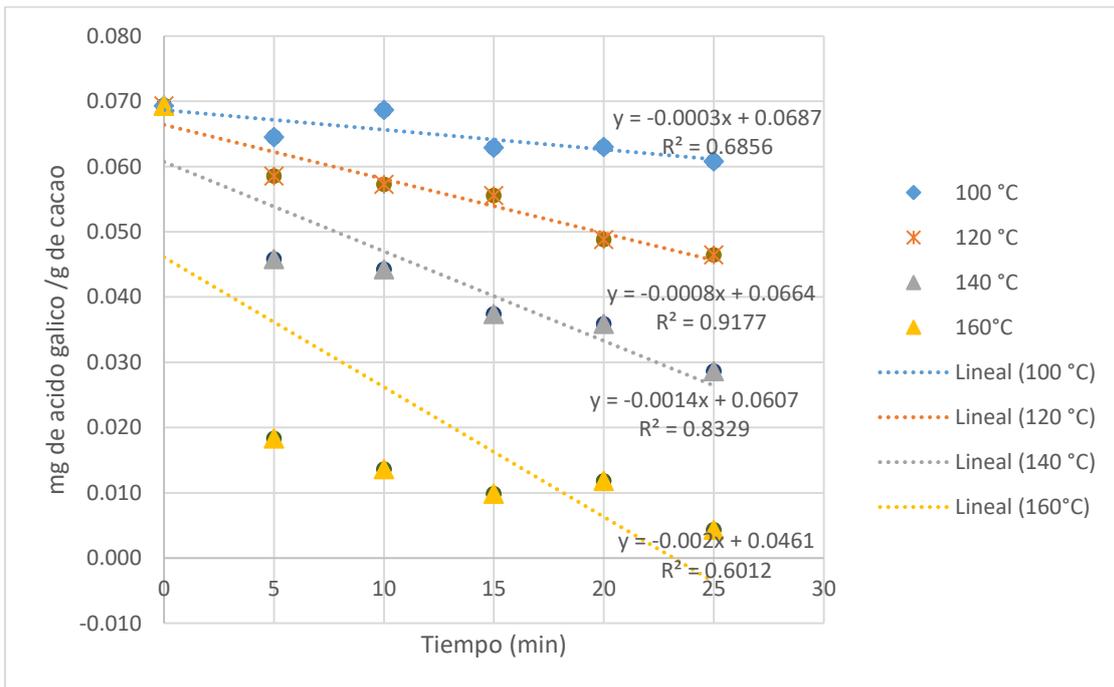
Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100 °C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)	120 °C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)	140 °C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)	160°C	ln(mg de ácido gálico / g de cacao)
0	0.069	-2.679	0.069	-2.679	0.069	-2.679	0.069	-2.679
5	0.065	-2.740	0.059	-2.834	0.046	-3.079	0.019	-3.978
10	0.064	-2.750	0.059	-2.836	0.043	-3.148	0.012	-4.443
15	0.063	-2.769	0.056	-2.886	0.036	-3.335	0.009	-4.657
20	0.062	-2.773	0.053	-2.931	0.029	-3.537	0.007	-4.941
25	0.060	-2.821	0.047	-3.052	0.020	-3.931	0.010	-4.619

Anexo 4.5 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 3 de fenoles.

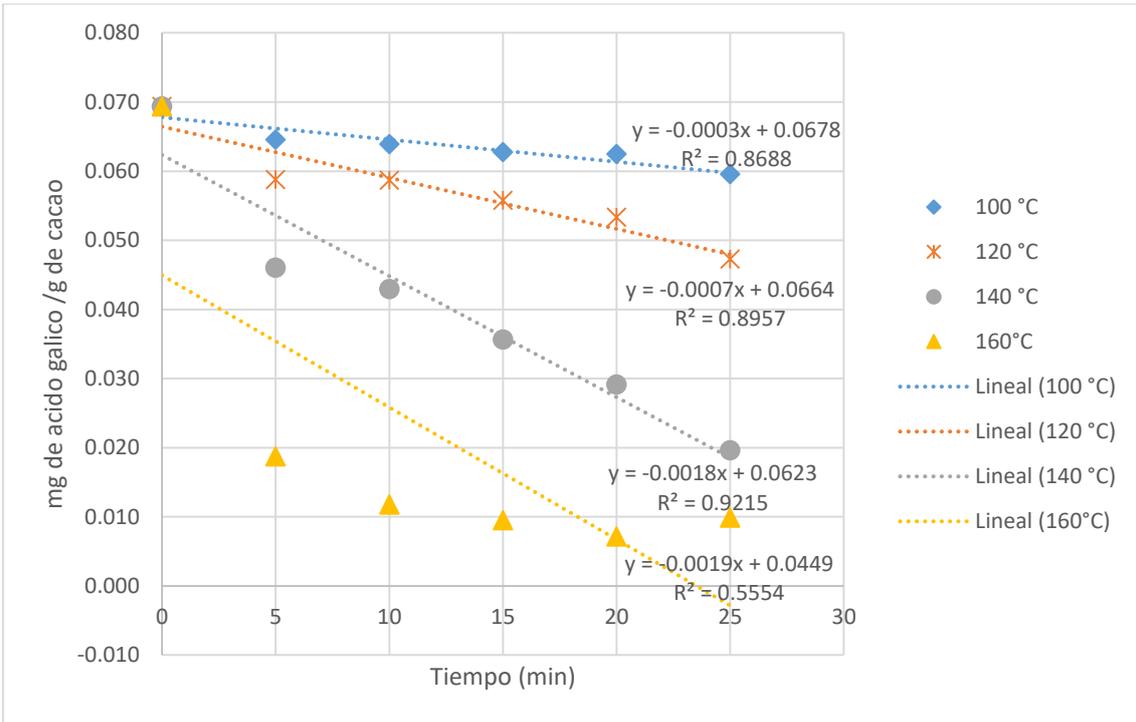
Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	120°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	140°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)	160°C	1/(mg de ácido gálico/ g de cacao)
0	0.069	14.575	0.069	14.575	0.069	14.575	0.069	14.575
5	0.065	15.494	0.059	17.019	0.046	21.732	0.019	53.423
10	0.064	15.647	0.059	17.045	0.043	23.288	0.012	85.042
15	0.063	15.940	0.056	17.929	0.036	28.074	0.009	105.271
20	0.062	16.009	0.053	18.749	0.029	34.350	0.007	139.874
25	0.060	16.787	0.047	21.151	0.020	50.963	0.010	101.412



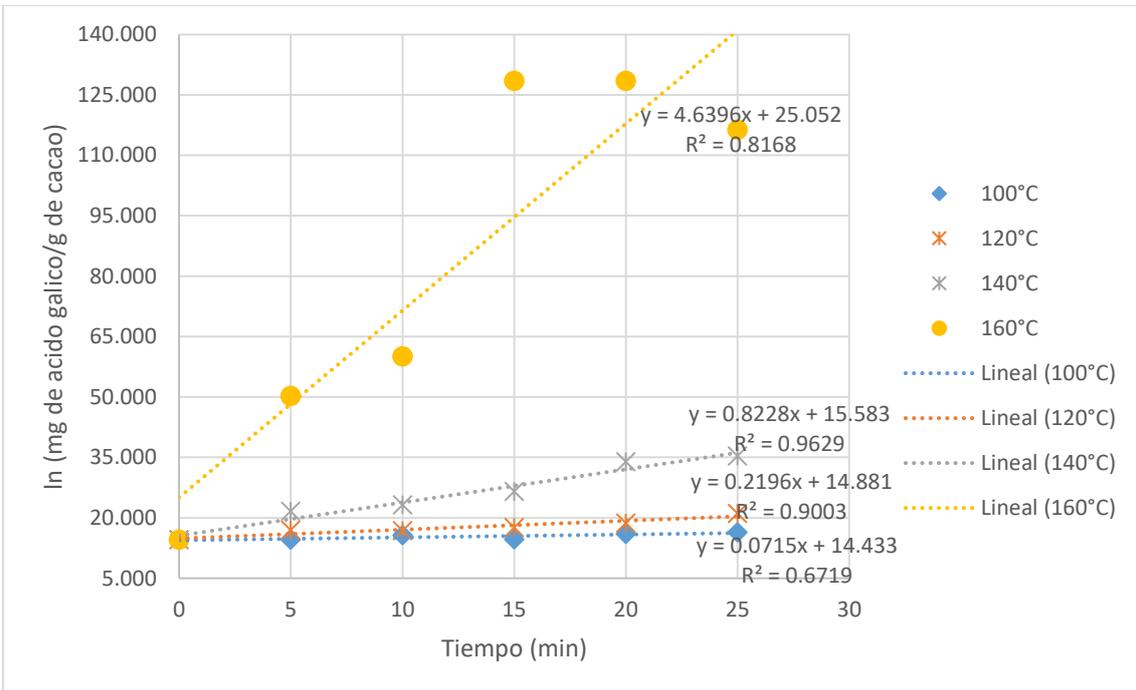
Anexo 5 Reacción de orden 0 para absorbancia 1 de fenoles



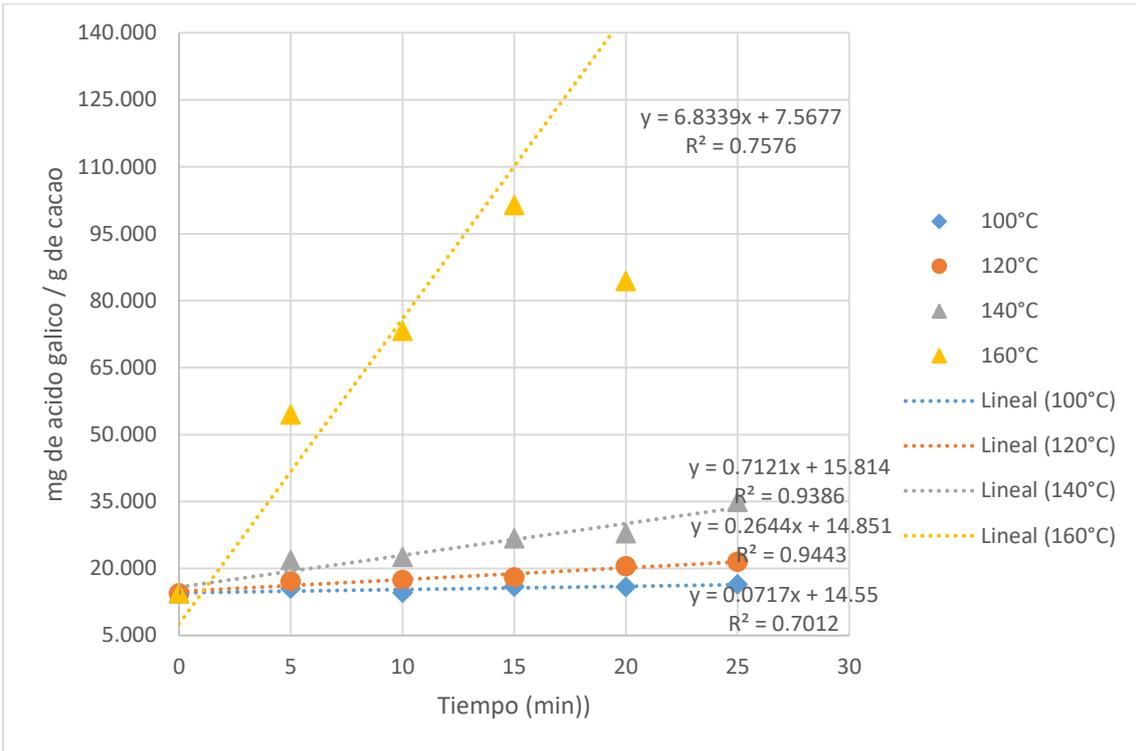
Anexo 4 Reacción de orden 0 para absorbancia 2 de fenoles



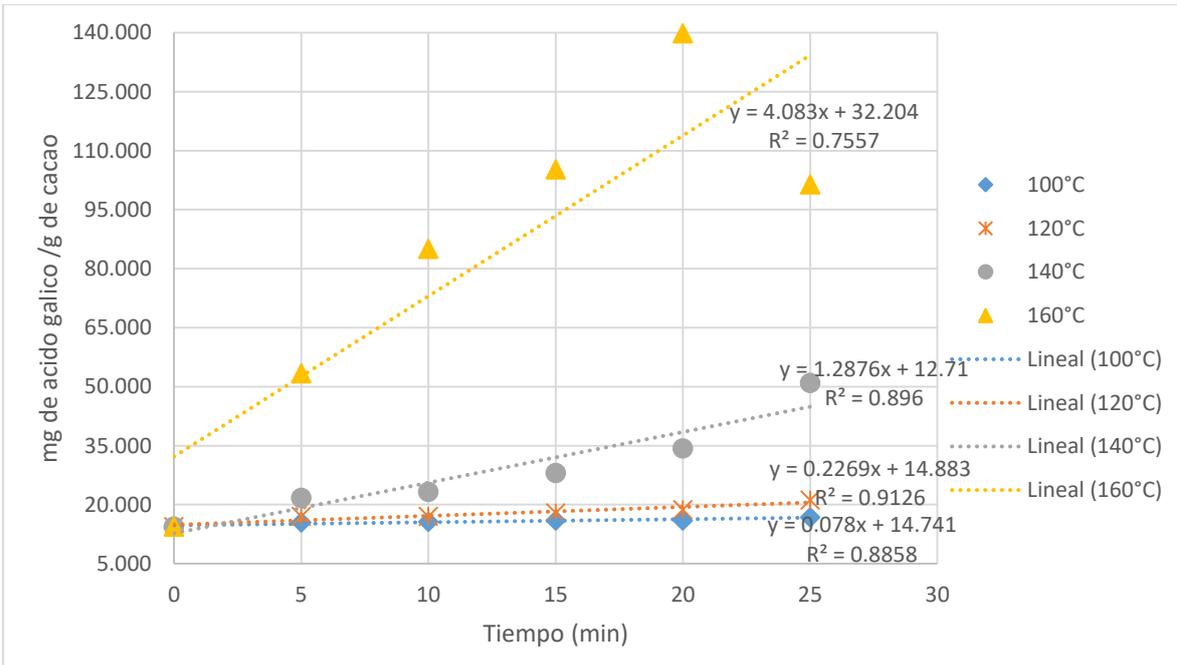
Anexo 5.2 Reacción de orden 0 para absorbancia 3 de fenoles



Anexo 5.3 Reacción de orden 2 para absorbancia 1 de fenoles



Anexo 5.4 Reacción de orden 2 para absorbancia 2 de fenoles



Anexo 5.5 Reacción de orden 2 para absorbancia 3 de fenoles

Anexo 6 Capacidad antioxidante de absorbancia 1

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Absorbancia 1	% inhibición	mg eq. Trolox / ml solución	mg eq. Trolox / g cacao
0	0	0.889	19.328	0.166	16.6050
	5	0.858	22.142	0.193	19.2626
	10	0.845	23.321	0.204	20.3771
100	15	0.850	22.868	0.199	19.9484
	20	0.843	23.503	0.205	20.5485
	25	0.814	26.134	0.230	23.0347
	5	0.771	30.036	0.267	26.7210
	10	0.764	30.672	0.273	27.3211
120	15	0.750	31.942	0.285	28.5213
	20	0.732	33.575	0.301	30.0644
	25	0.710	35.572	0.320	31.9505
	5	0.677	38.566	0.348	34.7795
	10	0.649	41.107	0.372	37.1800
140	15	0.634	42.468	0.385	38.4659
	20	0.622	43.557	0.395	39.4946
	25	0.600	45.554	0.414	41.3807
	5	0.582	47.187	0.429	42.9238
	10	0.544	50.635	0.462	46.1815
160	15	0.527	52.178	0.476	47.6389
	20	0.513	53.448	0.488	48.8391
	25	0.477	56.715	0.519	51.9253

Anexo 6.1 Capacidad antioxidante de absorbancia 2

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Absorbancia 2	% inhibición	mg eq. Trolox / ml solución	mg eq. Trolox / g cacao
0	0	0.889	19.328	0.166	16.6050
	5	0.865	21.506	0.187	18.6625
	10	0.866	21.416	0.186	18.5768
100	15	0.846	23.230	0.203	20.2913
	20	0.842	23.593	0.206	20.6343
	25	0.799	27.495	0.243	24.3206
	5	0.771	30.036	0.267	26.7210
	10	0.764	30.672	0.273	27.3211
120	15	0.750	31.942	0.285	28.5213
	20	0.733	33.485	0.300	29.9787
	25	0.721	34.574	0.310	31.0075
	5	0.676	38.657	0.349	34.8653
	10	0.655	40.563	0.367	36.6656
140	15	0.634	42.468	0.385	38.4659
	20	0.622	43.557	0.395	39.4946
	25	0.609	44.737	0.406	40.6091
	5	0.572	48.094	0.438	43.7811
	10	0.541	50.907	0.464	46.4387
160	15	0.521	52.722	0.482	48.1533
	20	0.487	55.808	0.511	51.0680
	25	0.485	55.989	0.512	51.2395

Anexo 6.2 Capacidad antioxidante de absorbancia 3

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Absorbancia 3	% inhibición	mg eq. Trolox / ml solución	mg eq. Trolox / g cacao
0	0	0.889	19.328	0.166	16.6050
	5	0.884	19.782	0.170	17.0336
	10	0.841	23.684	0.207	20.7200
100	15	0.846	23.230	0.203	20.2913
	20	0.822	25.408	0.223	22.3488
	25	0.799	27.495	0.243	24.3206
	5	0.809	26.588	0.235	23.4633
120	10	0.777	29.492	0.262	26.2066
	15	0.747	32.214	0.288	28.7785
	20	0.733	33.485	0.300	29.9787
	25	0.721	34.574	0.310	31.0075
	5	0.661	40.018	0.362	36.1512
140	10	0.652	40.835	0.369	36.9228
	15	0.644	41.561	0.376	37.6086
	20	0.620	43.739	0.397	39.6661
	25	0.609	44.737	0.406	40.6091
	5	0.581	47.278	0.430	43.0095
160	10	0.544	50.635	0.462	46.1815
	15	0.509	53.811	0.492	49.1820
	20	0.491	55.445	0.507	50.7251
	25	0.485	55.989	0.512	51.2395

Anexo 7 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 1 de antioxidantes

Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100 °C	ln (mg eq. Trolox / g cacao)	120 °C	ln (mg eq. Trolox / g cacao)	140 °C	ln(mg eq. Trolox / g cacao)	160°C	ln(mg eq. Trolox / g cacao)
0	16.605	2.810	16.605	2.810	16.605	2.810	16.605	2.810
5	19.263	2.958	26.721	3.285	34.780	3.549	42.924	3.759
10	20.377	3.014	27.321	3.308	37.180	3.616	46.181	3.833
15	19.948	2.993	28.521	3.351	38.466	3.650	47.639	3.864
20	20.549	3.023	30.064	3.403	39.495	3.676	48.839	3.889
25	23.035	3.137	31.950	3.464	41.381	3.723	51.925	3.950

Anexo 6 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 1 de antioxidantes

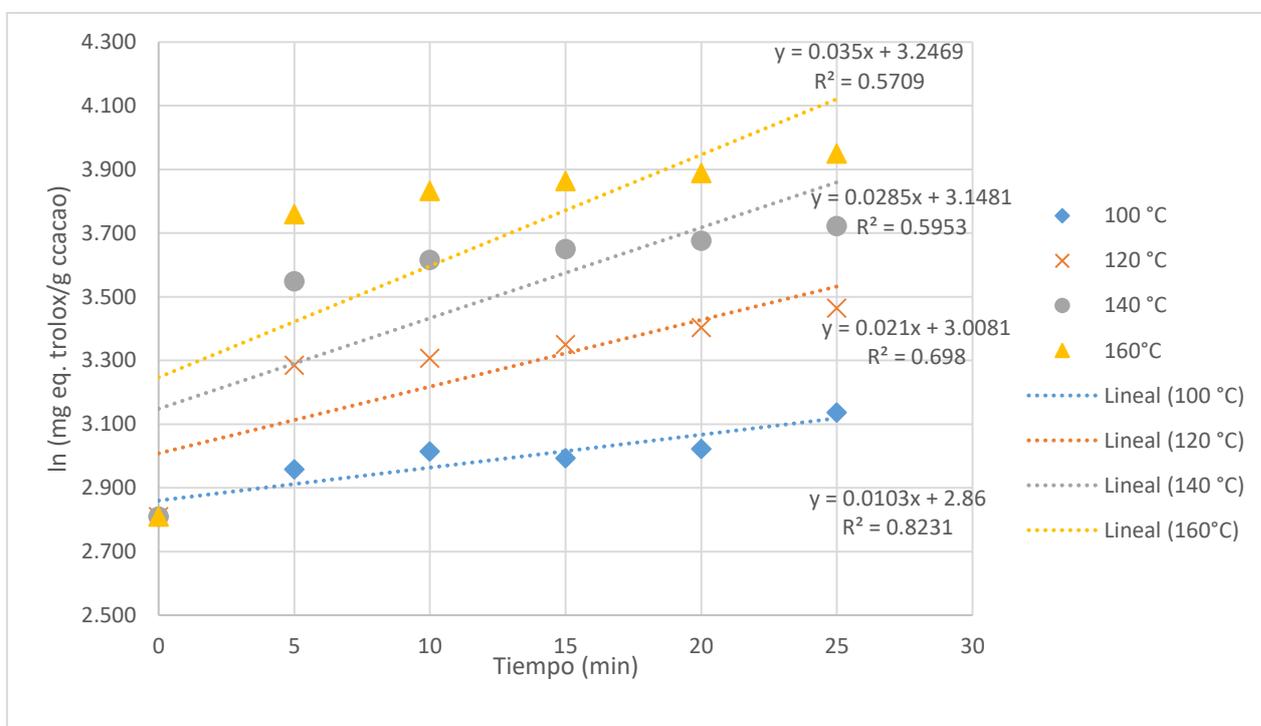
Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)	120°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)	140°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)	160°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)
0	16.605	0.060	16.605	0.060	16.605	0.060	16.605	0.060
5	19.263	0.052	26.721	0.037	34.780	0.029	42.924	0.023
10	20.377	0.049	27.321	0.037	37.180	0.027	46.181	0.022
15	19.948	0.050	28.521	0.035	38.466	0.026	47.639	0.021
20	20.549	0.049	30.064	0.033	39.495	0.025	48.839	0.020
25	23.035	0.043	31.950	0.031	41.381	0.024	51.925	0.019

Anexo 7.2 Reacción de orden 1 aplicado a absorbancia 2 de antioxidantes

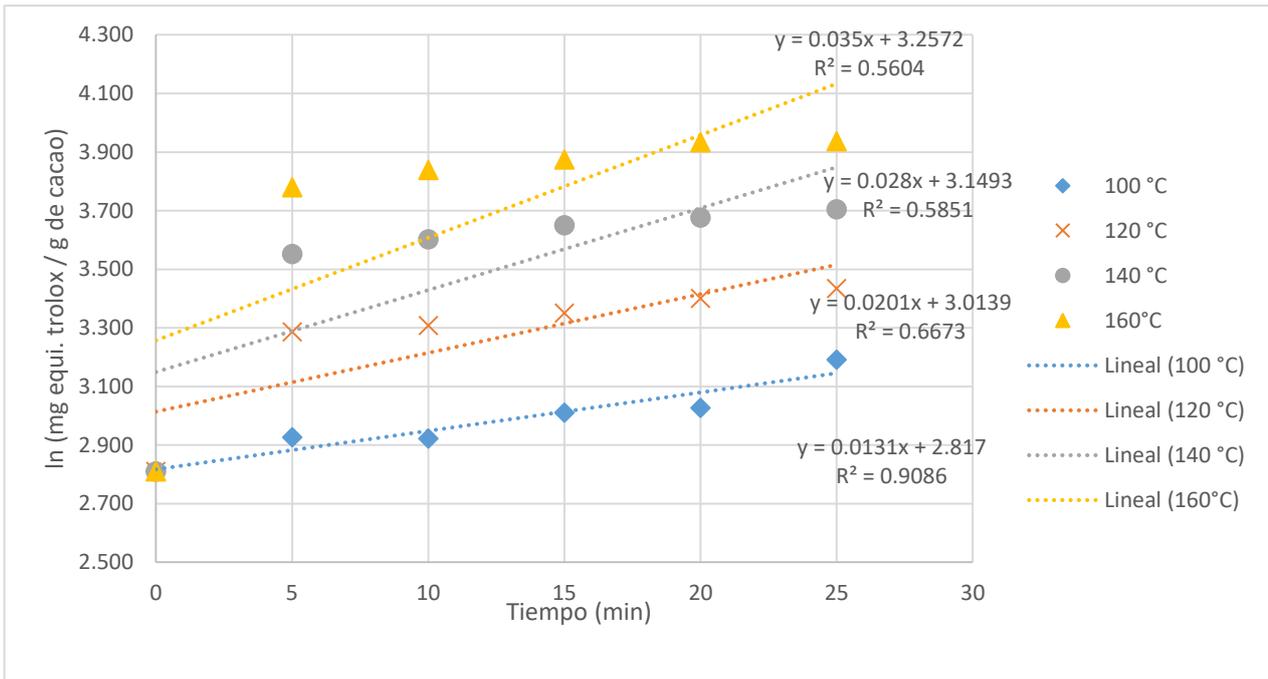
Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100 °C	ln(mg eq. Trolox / g cacao)	120 °C	ln(mg eq. Trolox / g cacao)	140 °C	ln(mg eq. Trolox / g cacao)	160°C	ln(mg eq. Trolox / g cacao)
0	16.605	2.810	16.605	2.810	16.605	2.810	16.605	2.810
5	18.662	2.927	26.721	3.285	34.865	3.551	43.781	3.779
10	18.577	2.922	27.321	3.308	36.666	3.602	46.439	3.838
15	20.291	3.010	28.521	3.351	38.466	3.650	48.153	3.874
20	20.634	3.027	29.979	3.400	39.495	3.676	51.068	3.933
25	24.321	3.191	31.007	3.434	40.609	3.704	51.239	3.937

Anexo 7.3 Reacción de orden 2 aplicado a absorbancia 2 de antioxidantes

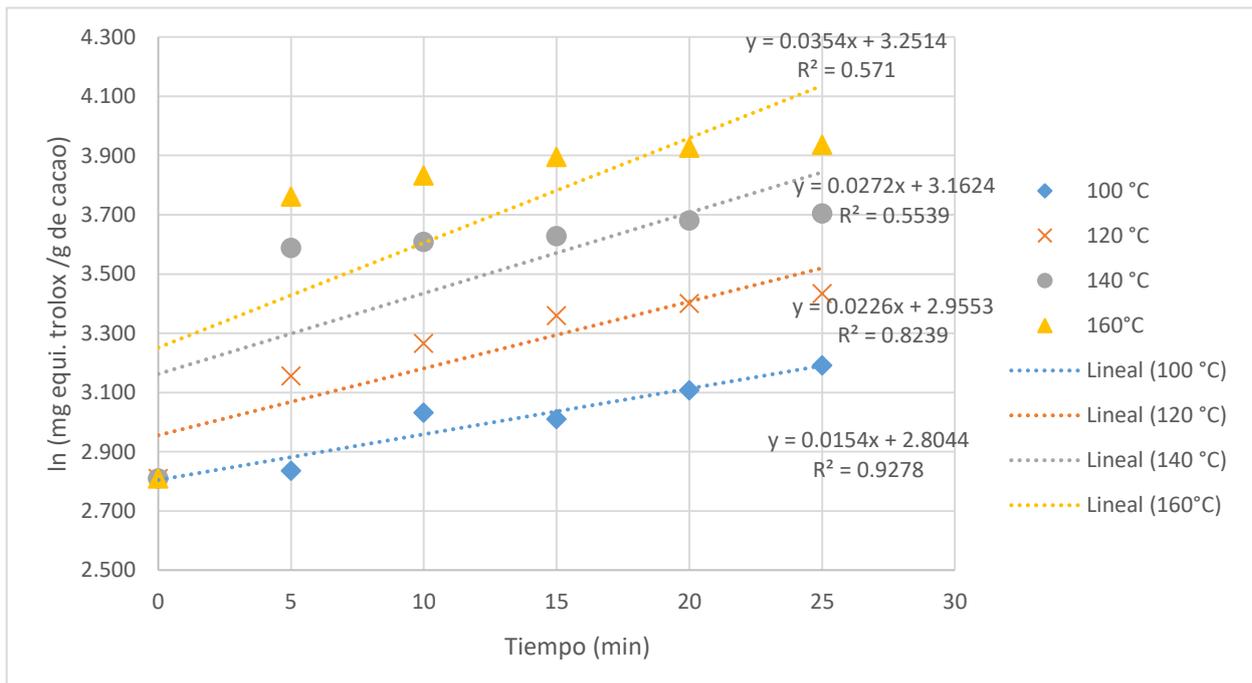
Tiempo (min)	Temperatura (°C)							
	100°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)	120°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)	140°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)	160°C	1/(mg eq. Trolox / g cacao)
0	16.605	0.060	16.605	0.060	16.605	0.060	16.605	0.060
5	19.263	0.052	26.721	0.037	34.865	0.029	43.781	0.023
10	20.377	0.049	27.321	0.037	36.666	0.027	46.439	0.022
15	19.948	0.050	28.521	0.035	38.466	0.026	48.153	0.021
20	20.549	0.049	29.979	0.033	39.495	0.025	51.068	0.020
25	23.035	0.043	31.007	0.032	40.609	0.025	51.239	0.020



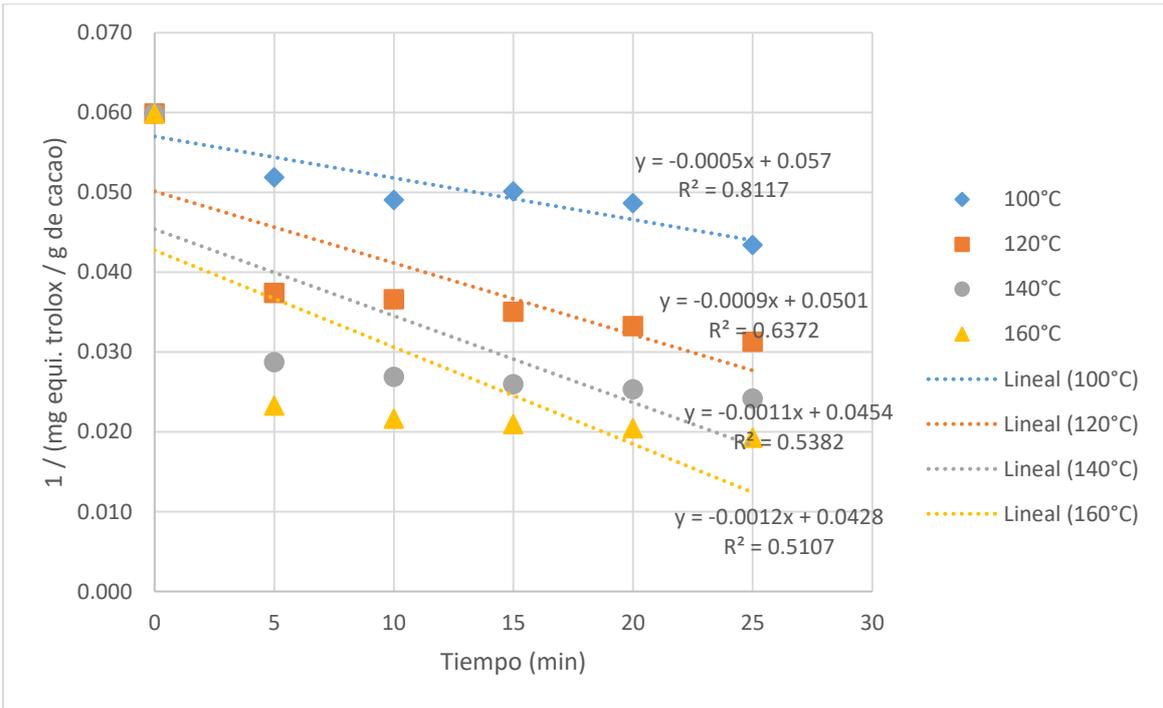
Anexo 8 Reacción de orden 1 para absorbancia 1 de antioxidantes



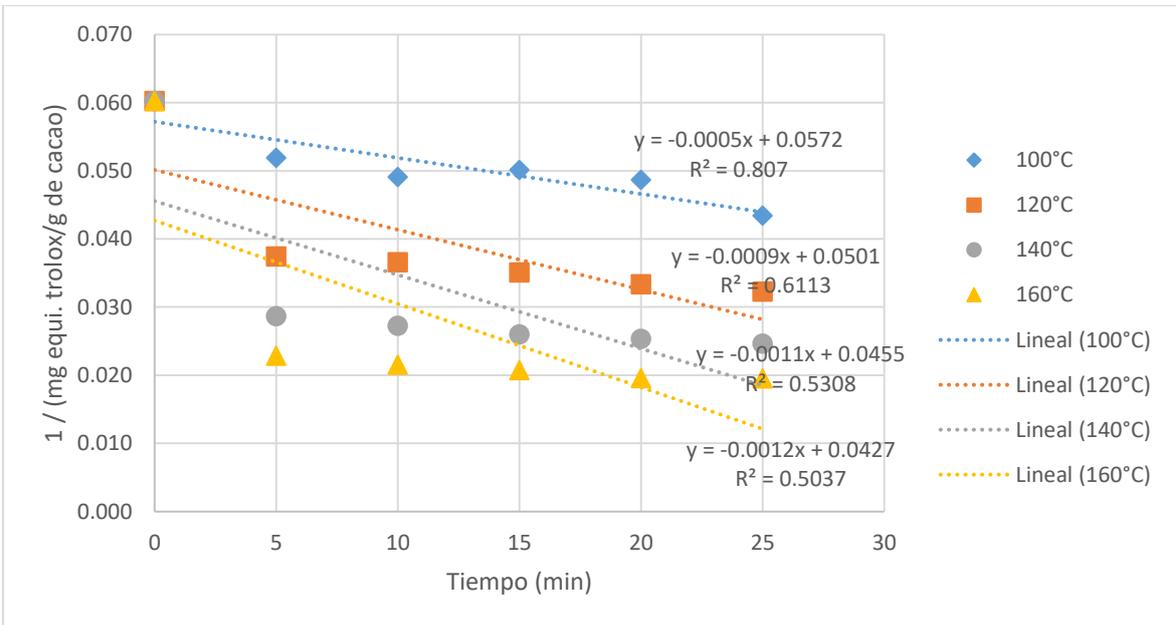
Anexo 8.1 Reacción de orden 1 para absorbancia 2 de antioxidantes



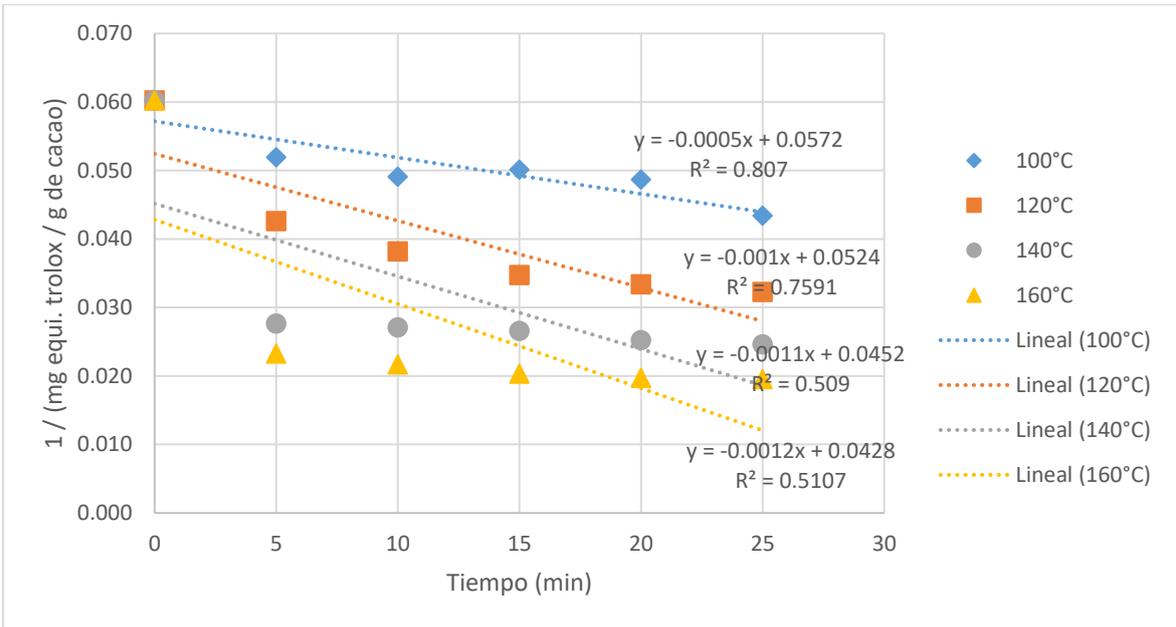
Anexo 8.2 Reacción de orden 1 para absorbancia 3 de antioxidantes



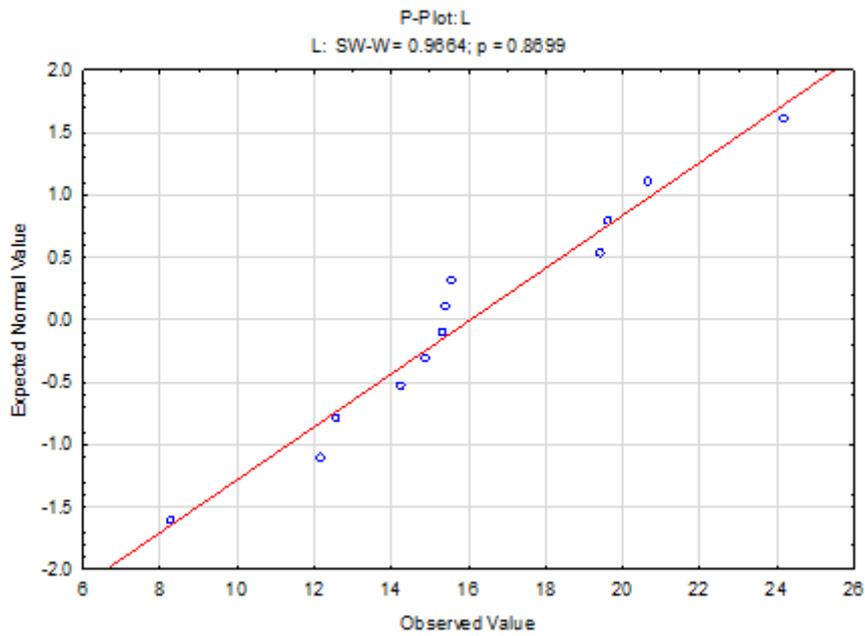
Anexo 7.3 Reacción de orden 2 para absorbancia 1 de antioxidantes



Anexo 8 Reacción de orden 2 para absorbancia 2 de antioxidantes



Anexo 8.5 Reacción de orden 2 para absorbancia 3 de antioxidantes



Anexo 9 Grafico de normalidad para L* de cacao tostado a 25 min

Anexo 9.1 Homogeneidad de varianzas para luminosidad de cacao tostado a 25 min

Levene's Test for Homogeneity of Variances (kinetic cacao.sta) Effect: "Tratamientos" Degrees of freedom for all F's: 3, 8

MS Effect	MS Error	F	p
2.977239	2.395757	1.242713	0.356612

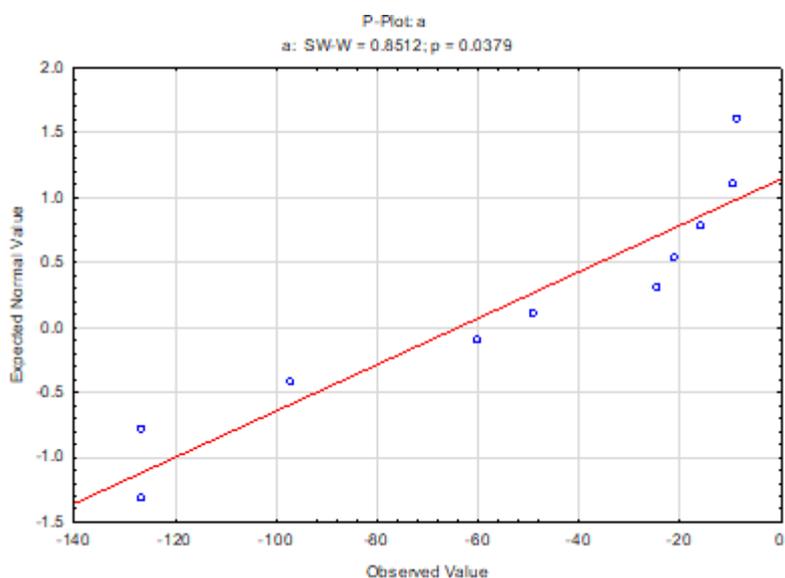
Anexo 9.2 Análisis de varianza para luminosidad de cacao tostado a 25 min

Effect	Degr. of	Univariate Results for Each DV (kinetic cacao.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				P
		SS	MS	F		
Intercept	1	3087.090	3087.090	213.5608	0.000000	
Tratamientos	3	89.556	29.852	2.0651	0.183352	
Error	8	115.643	14.455			
Total	11	205.199				

Anexo 9.3 Test de Tukey para luminosidad a los 25 min

Tukey HSD test; variable L (kinetic cacao.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 14.455, df = 8.0000					
Cell No.	Tratamientos	{1} 19.932	{2} 17.214	{3} 13.996	{4} 13.015
1	100 °C		0.817562	0.295592	0.195372
2	120 °C	0.817562		0.734141	0.558790
3	140 °C	0.295592	0.734141		0.988346
4	160 °C	0.195372	0.558790	0.988346	

Anexo 10 Grafico de normalidad para a* de cacao tostado a 25 min



Anexo 10.1 Homogeneidad de varianzas para a* de cacao tostado a 25 min

Levene's Test for Homogeneity of Variances (kinetic cacao.sta) Effect: "Tratamientos" Degrees of freedom for all F's: 3, 8

MS Effect	MS Error	F	p
937.7648	91.32005	10.26899	0.004061

Anexo 10.2 Cuadro de prueba de kruskal – wallis para a* de cacao tostado a 25 mi (a*vs. Tratamientos)

Tratamientos	Clasificación			Z
	N	Mediana	del promedio	
100 °C	3	-15.73	10.0	1.94
120 °C	3	-49.03	7.0	0.28
140 °C	3	-97.21	7.0	0.28
160 °C	3	-126.73	2.0	-2.50
General	12		6.5	

H = 7.62 GL = 3 P = 0.055
H = 7.67 GL = 3 P = 0.053 (ajustados para los vínculos)

Anexo 10.3 Cuadro de ANOVA para a* de cacao tostado a 25 min

Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks; a (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable: Tratamientos Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =7.669014 p =.0534

Depend.: a	Code	Valid N	Sum of Ranks	Mean Rank
100 °C	102	3	30.00000	10.00000
120 °C	103	3	21.00000	7.00000
140 °C	104	3	21.00000	7.00000
160 °C	105	3	6.00000	2.00000

Anexo 10.4 Comparación múltiple para a * de caco tostado a 25 min

Multiple Comparisons z' values; a (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable: Tratamientos Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =7.669014 p =.0534

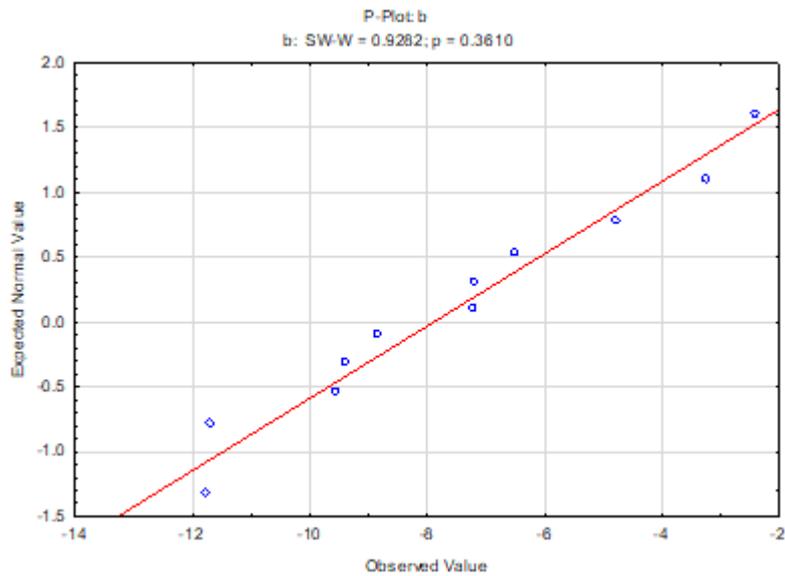
Depend.: a	100 °C R:10.000	120 °C R:7.0000	140 °C R:7.0000	160 °C R:2.0000
100 °C		1.019049	1.019049	2.717465
120 °C	1.019049		0.000000	1.698416
140 °C	1.019049	0.000000		1.698416
160 °C	2.717465	1.698416	1.698416	

Anexo 10.5 Comparación múltiple de p - valor para a^* de cacao tostado a 25 min

Multiple Comparisons p values (2-tailed); a (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable:
Tratamientos Kruskal-Wallis test: $H(3, N=12) = 7.669014$ $p = .0534$

Depend.: a	100 °C R:10.000	120 °C R:7.0000	140 °C R:7.0000	160 °C R:2.0000
100 °C		1.000000	1.000000	0.039470
120 °C	1.000000		1.000000	0.536576
140 °C	1.000000	1.000000		0.536576
160 °C	0.039470	0.536576	0.536576	

Anexo 9 Grafico de normalidad para b^* de cacao tostado a 25 min



Anexo 10 Tabla de varianzas para b^* de cacao tostado a 25 min

MS Effect	MS Error	F	p
1.630688	0.228934	7.122948	0.011978

Anexo 11.2 Cuadro de prueba de kruskal – wallis para b* de cacao tostado a 25 mi (b*vs. Tratamientos)

Tratamientos	Clasificación			
	N	Mediana	del promedio	Z
100 °C	3	-3.241	10.7	2.31
120 °C	3	-7.194	8.3	1.02
140 °C	3	-9.411	5.0	-0.83
160 °C	3	-11.771	2.0	-2.50
General	12		6.5	

H = 9.97 GL = 3 P = 0.019

H = 10.01 GL = 3 P = 0.018 (ajustados para los vínculos)

Anexo 11.3 Tabla de ANOVA b * de caco tostado a 25 min

Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks; b (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable: Tratamientos
Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =10.00936 p =.0185

Depe nd.: b	Code	Valid N	Sum of Ranks	Mean Rank
100 °C	102	3	32.00000	10.66667
120 °C	103	3	25.00000	8.33333
140 °C	104	3	15.00000	5.00000
160 °C	105	3	6.00000	2.00000

Anexo 11.4 Comparación múltiple para b * de caco tostado a 25 min

Multiple Comparisons z' values; b (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable: Tratamientos
Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =10.00936 p =.0185

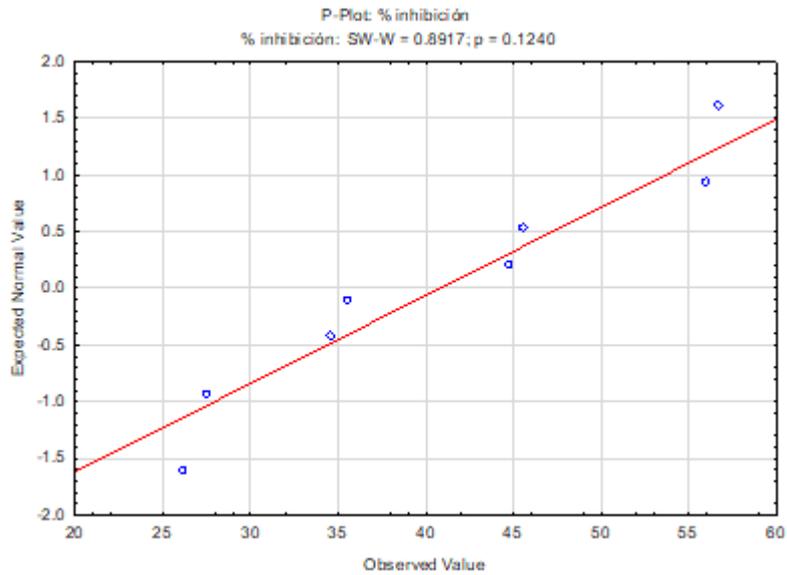
Depe nd.: b	100 °C R:10.667	120 °C R:8.3333	140 °C R:5.0000	160 °C R:2.0000
100 °C		0.792594	1.924871	2.943920
120 °C	0.792594		1.132277	2.151326
140 °C	1.924871	1.132277		1.019049
160 °C	2.943920	2.151326	1.019049	

Anexo 11.5 Comparación múltiple de p – valor para a^* de cacao tostado a 25 min

Multiple Comparisons p values (2-tailed); b (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable:
 Tratamientos Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =10.00936 p =.0185

Depend. variable:	100 °C R:10.667	120 °C R:8.3333	140 °C R:5.0000	160 °C R:2.0000
100 °C		1.000000	0.325473	0.019445
120 °C	1.000000		1.000000	0.188703
140 °C	0.325473	1.000000		1.000000
160 °C	0.019445	0.188703	1.000000	

Anexo 12 Grafico de normalidad para % de inhibición de cacao tostado a 25 min



Anexo 12.1 Varianzas para % inhibición de cacao tostado a 25 min

MS Effect	MS Error	F	p
0.046764	0.037436	1.249151	0.354639

Anexo 12.2 Análisis de varianza para % inhibición de cacao tostado a 25 min

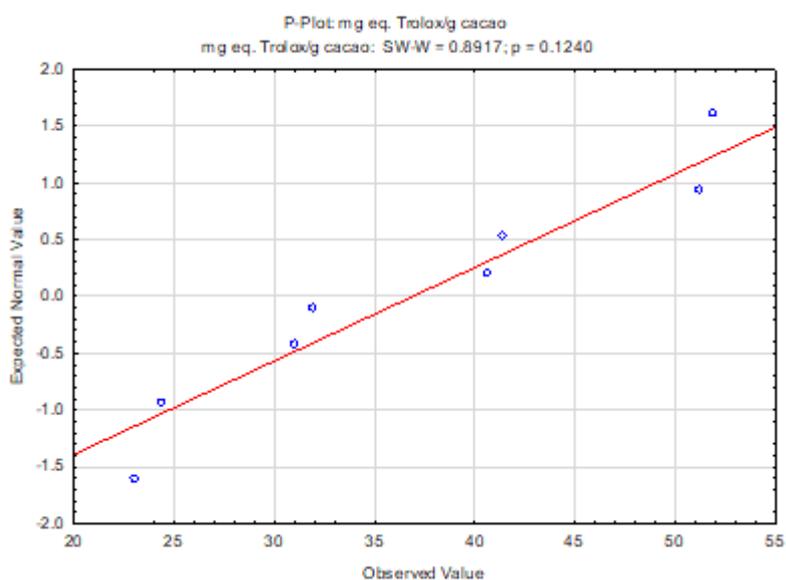
Effect	Degr. of	Univariate Results for Each DV (kinetic cacao.sta)			
		SS	MS	F	P
Intercept	1	19972.78	19972.78	59279.07	0.000000
Tratamientos	3	1439.58	479.86	1424.22	0.000000
Error	8	2.70	0.34		
Total	11	1442.28			

Anexo 12.3 Test de Tukey para % inhibición a los 25 min

Tukey HSD test; variable % inhibición (kinetic cacao.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = .33693, df = 8.0000

Cell No.	Tratamientos	{1}	{2}	{3}	{4}
		27.042	34.906	45.009	56.231
1	100 °C		0.000231	0.000231	0.000231
2	120 °C	0.000231		0.000231	0.000231
3	140 °C	0.000231	0.000231		0.000231
4	160 °C	0.000231	0.000231	0.000231	

Anexo 13 Grafico de normalidad para capacidad antioxidante de cacao tostado a 25 min



Anexo 13.1 Varianzas para capacidad antioxidante de cacao tostado a 25 min

MS Effect	MS Error	F	p
0.041738	0.033413	1.249151	0.354639

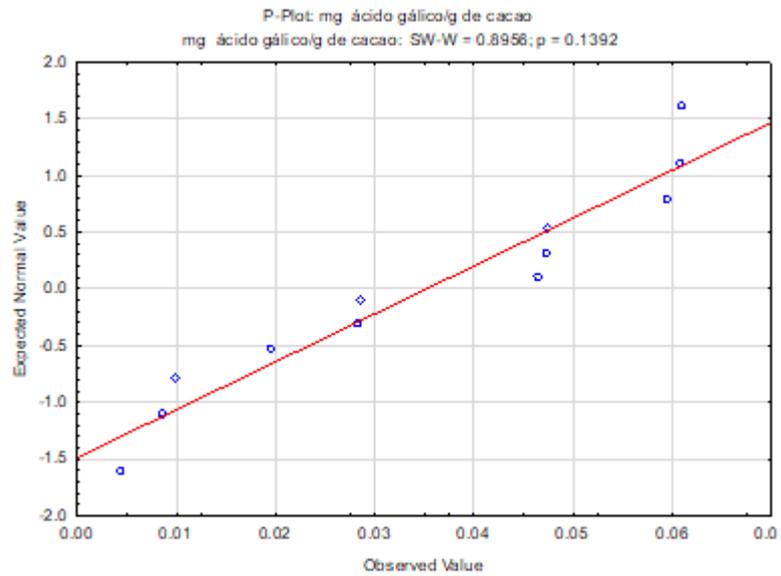
Anexo 13.2 Análisis de varianza para capacidad antioxidante de cacao tostado a 25 min

	Degr. of	MS	MS	F	P
Intercept	1	16327.85	16327.85	54296.72	0.000000
Tratamientos	3	1284.86	428.29	1424.22	0.000000
Error	8	2.41	0.30		
Total	11	1287.26			

Anexo 13.3 Test de Tukey para capacidad antioxidante de cacao tostado a los 25 min

Tukey HSD test; variable % inhibición (kinetic cacao.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .33693, df = 8.0000					
Cell No.	Tratamientos	{1} 27.042	{2} 34.906	{3} 45.009	{4} 56.231
1	100 °C		0.000231	0.000231	0.000231
2	120 °C	0.000231		0.000231	0.000231
3	140 °C	0.000231	0.000231		0.000231
4	160 °C	0.000231	0.000231	0.000231	

Anexo 14 Grafico de normalidad para fenoles totales de cacao tostado a 25 min



Anexo 14.1 Varianzas para fenoles totales (mg eq ácido gálico/g de cacao) de cacao tostado a 25 min

MS Effect	MS Error	F	p
0.000008	0.000001	7.524776	0.010254

Anexo 14.2 Cuadro de prueba de kruskal – wallis para fenoles totales (ácido gálico/g de cacao) de cacao tostado a 25 min

Tratamientos	N	Clasificación		Z
		Mediana	del promedio	
100 °C	3	0.060837	11.0	2.50
120 °C	3	0.047279	8.0	0.83
140 °C	3	0.028299	5.0	-0.83
160 °C	3	0.008595	2.0	-2.50
General	12		6.5	

H = 10.38 GL = 3 P = 0.016

Anexo 11 Comparación múltiple para fenoles totales (mg ácido gálico/g de cacao) de caco tostado a 25 min

Depend.: mg ácido gálico/g de cacao	Multiple Comparisons z' values; mg ácido gálico/g de cacao (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable: Tratamientos Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =10.38462 p =.0156			
	100 °C R:11.000	120 °C R:8.0000	140 °C R:5.0000	160 °C R:2.0000
100 °C		1.019049	2.038099	3.057148
120 °C	1.019049		1.019049	2.038099
140 °C	2.038099	1.019049		1.019049
160 °C	3.057148	2.038099	1.019049	

Anexo 12 Comparación múltiple de p – valor para fenoles totales (mg ácido gálico/g de cacao de caco tostado a 25 min

Depend.: mg ácido gálico/g de cacao	Multiple Comparisons p values (2-tailed); mg ácido gálico/g de cacao (kinetic cacao.sta) Independent (grouping) variable: Tratamientos Kruskal-Wallis test: H (3, N= 12) =10.38462 p =.0156			
	100 °C R:11.000	120 °C R:8.0000	140 °C R:5.0000	160 °C R:2.0000
100 °C		1.000000	0.249240	0.013407
120 °C	1.000000		1.000000	0.249240
140 °C	0.249240	1.000000		1.000000
160 °C	0.013407	0.249240	1.000000	

Anexo 15 ANOVA para capacidad antioxidante

	Degr. of	MS	MS	F	P
Intercept	68601.82	1	68601.82	113211.3	0.000000
Temperatura (°C)	6265.89	3	2088.63	3446.8	0.000000
Tiempo (min)	280.93	4	70.23	115.9	0.000000
Temperatura (°C)*Tiempo (min)	18.14	12	1.51	2.5	0.015133
Error	24.24	40	0.61		

Anexo 15.1 ANOVA para polifenoles totales

	Degr. of	MS	MS	F	P
Intercept	0.104137	1	0.104137	21356.89	0.000000
Temperatura (°C)	0.023626	3	0.007875	1615.12	0.000000
Tiempo (min)	0.001170	4	0.000292	59.98	0.000000
Temperatura (°C)*Tiempo (min)	0.000310	12	0.000026	5.29	0.000030
Error	0.000195	40	0.000005		