



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

***“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE CACAO Y CHOCOLATES
ARTESANALES PROVENIENTES DE TABASCO”.***

TESÍS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:
MARISOL COLIN RINCON**

Asesores:

**M en C. Selene Pascual Bustamante
M. en M. Josefina Moreno Lara**

Cuatitlán Izcalli, Estado de México

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Evaluación de la calidad de cacao y chocolates artesanales provenientes de Tabasco

Que presenta la pasante: Marisol Colín Rincón

Con número de cuenta: 409016846 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de octubre de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Carolina Moreno Ramos	
VOCAL	QFB. Luis Alberto Parra Oaxaca	
SECRETARIO	M. en C. Selene Pascual Bustamante	
1er. SUPLENTE	IA. Miriam Álvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	Dr. Omar Reyes Martínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/iac

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis padres, Leodegario Colín y Juana Ríncon; porque creyeron en mí y me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre me han impulsado para lograr mis objetivos y porque el orgullo que sienten por mí fue lo que me hizo ir hasta el final. Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.



AGRADECIMIENTOS

A mí hermosa **Universidad Nacional Autónoma de México** la cual llevo en el corazón siempre, que me dio todo y abrió sus puertas del conocimiento para mí.

Gracias a Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (**COMECYT**) por la beca a estudiantes destacados en ciencia y tecnología, haciendo posible la participación en el 5to encuentro latinoamericano y del caribe de cacao y chocolate.

A la **Ing. Químico Nayeli Pascual Bustamante**, por su ayuda en la obtención de las muestras de cacao y chocolate.

A mis sinodales: **Dra. Carolina Moreno, Q.F.B. José Luis Parra, I.A. Miriam Álvarez, Dr. Omar Reyes** y **M.C Selene Pascual** gracias por el tiempo que le prestaron a este trabajo, porque sus comentarios enriquecieron y mejoraron esta tesis, Gracias...

AGRADECIMIENTOS

Gracias a **Díos** porque gracias a tí he podido cerrar un ciclo maravilloso y muy grande en mí vida, gracias por todo lo que me has dado y por lo que ahora soy.

A **mí papá y mí mamá** por su cariño, su apoyo, su dedicación y empeño por ayudarme a ser una persona mejor cada día. Por tanto esfuerzo para que yo alcanzara este triunfo...A mis hermanos, **Jonathan y Armando**, por ser parte de mí vida, por su apoyo, por siempre estar conmigo en todo momento, por su cariño, simplemente los amo.

Saúl, mí amigo querido del alma, gracias por tu amistad, cariño, por compartir tan bellos momentos, porque sin tí no hubiera sido lo mismo la carrera, por estar conmigo en buenos y malos momentos. Te quiero.

Zaira, mí amiguísima, que a pesar de la distancia siempre me has apoyado, dado ánimos para seguir y terminar este trabajo, porque en estos años se ha fortalecido nuestra amistad, y lo seremos hasta que seas pasita, te quiero amiga.

A mis amigas de la carrera, **Estefany, Karla, Laura, Analí, Ana Lesli**, Las quiero mucho, gracias por compartir conmigo la carrera. Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos complicados.

Víctor Iván, gracias por el apoyo, por tu tiempo, porque estar en esta etapa de mí vida, por desvelarte conmigo, escucharme, por hacerme pasar lindos momentos, simplemente gracias, te quiero mucho $\rightarrow\infty$.

A mí compañero del taller de frutos, **Betty, Karla, Ahtzíri, Mauricio, Rodrigo**, por hacer placentera la estancia en el laboratorio; y **Jonhy** gracias por hacerme pasar divertidos momentos en el lab.

A mis profesoras, **Dra. Andrea Trejo**, gracias por su apoyo, por sus enseñanzas, por motivarnos a siempre a dar lo mejor de nosotros, a **M.C. Alma Adela Lira**, gracias por ayudarme a formar este trabajo, por el tiempo que le dedicaste para enriquecer esta tesis, a **M.C. Selene Pascual**, gracias por ser mi asesora, por guiarme, por tu amabilidad, buena disposición, paciencia, por el tiempo que me dedicaste para que este trabajo culminara exitosamente, mi agradecimiento sincero. **M.M. Josefina Moreno** por todo el tiempo dedicado a esta tesis, por su disposición y apoyo para la formación de este trabajo, gracias.

A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

*Sí caes es para levantarte, sí te levantas es para seguir, sí
sígues es para llegar a donde quieres ir y sí llegas es para
saber que lo mejor esta por venir...*

Elbano Mendoza

CICTA-12

5^o Encuentro Latinoamericano y del Caribe sobre Cacao y Chocolate

17 de mayo de 2013
La Habana, Cuba

El Comité Organizador del Evento hace constar que el trabajo "Evaluación de la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y aflatoxinas en cacao y chocolates artesanales provenientes de Tabasco, México de los autores Marisol Colin, Ma. Andrea Trejo, Alma A. Lira, Selene Pascual y Josefina Moreno de la Universidad Nacional Autónoma de México fue seleccionado como **Mejor Trabajo** en temática de Chocolate del 5to Encuentro Latinoamericano y del Caribe sobre Cacao y Chocolate

Para que así conste se emite este documento.

Cordialmente,


Dra. María Cristina Jorge Cabrera
Organizadora del 5to Encuentro Latinoamericano
y del Caribe sobre Cacao y Chocolate



Instituto
de Investigaciones para la
Industria Alimenticia



ESCUELA
LATINOAMERICANA
Y DEL CARIBE
DE CHOCOLATERÍA



Índice	Pag.
1 .Antecedentes _____	5
1.1 Cacao _____	6
1.1.1 Historia y origen _____	6
1.1.2 Morfología y taxonomía del cacao. _____	8
1.1.3 Composición química. _____	11
1.1.4 Variedades de cacao. _____	12
1.1.5 Producción mundial y nacional de cacao. _____	13
1.1.6 Procesamiento de la semilla de cacao. _____	16
1.1.7 Productos del cacao _____	18
1.2 Chocolate. _____	19
1.2.1 Historia y origen del chocolate. _____	19
1.2.2 Proceso de elaboración del chocolate. _____	21
1.2.3 Tipos de chocolates _____	25
1.2.4 Composición nutricional del chocolate. _____	26
1.2.5 Cacao y chocolate como fuente de polifenoles. _____	28
1.2.6 Importancia económica del chocolate. _____	32
1.2.7 La calidad del chocolate. _____	32
1.3 Micotoxinas. _____	33
1.3.1 Aflatoxinas. _____	35
1.3.2 Ocratoxina. _____	38
1.3.3 Métodos de detección de micotoxinas. _____	41
1.3.4 Legislación de micotoxinas. _____	43
2 Objetivos _____	45
2.1 Objetivo general: _____	46
2.2 Objetivos particulares: _____	46
3 Materiales y métodos. _____	47
3.1 Cuadro metodológico _____	48
3.2 Material Biológico. _____	49
3.3 Tratamiento de las muestras _____	50
3.4 Parámetros de calidad _____	51
3.4.1 Determinación de Color. _____	51



3.4.2	Humedad, gravimetría.	51
3.4.3	Grasa (lípidos combinados).	52
3.5	Determinación de fenoles totales.	53
3.6	Determinación de capacidad antioxidante.	54
3.6.1	Determinación de materia extraña para chocolate.	55
3.6.2	Determinación de coliformes totales.	56
3.7	Cuantificación de micotoxinas.	57
3.7.1	Aflatoxinas	57
3.7.2	Ocratoxinas.	58
3.8	Análisis estadístico	58
4	. Resultados y Discusión	59
4.1	Evaluación del grano de cacao procedente de Tabasco, en distintas etapas de su procesamiento.	60
4.1.1	Evaluación de los parámetros de color en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao.	60
4.1.2	Contenido de grasa en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao.	63
4.1.3	Evaluación del contenido de fenoles en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao.	64
4.1.4	Determinación de capacidad antioxidante en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento.	66
4.2	Evaluación de los chocolates artesanales provenientes de Tabasco.	68
4.2.1	Color en chocolates artesanales.	68
4.2.2	Contenido de humedad en chocolates artesanales del estado de Tabasco.	74
4.2.1	Contenido de grasa en chocolates artesanales del estado de Tabasco.	76
4.2.2	Contenido de Polifenoles en chocolates artesanales procedentes del estado de Tabasco.	78
4.2.3	Capacidad Antioxidante de chocolates artesanales provenientes del estado de Tabasco.	81
4.2.4	Contenido de materia extraña en chocolates artesanales con diferentes porcentajes de cacao provenientes del estado de Tabasco.	83
4.2.5	Conteo de Coliformes totales en chocolates artesanales del estado de Tabasco.	85
4.3	Evaluación de la presencia de micotoxinas (Aflatoxinas y Ocratoxinas) en cacao con diferentes etapas de proceso procedente del estado de Tabasco.	87
4.3.1	Contenido de Aflatoxinas en grano de cacao en distintas etapas de procesamiento.	87



Cacao y Chocolate

4.3.2	Contenido de ocratoxina en grano de cacao en distintas etapas de procesamiento. _	87
4.3.3	Contenido de aflatoxinas en chocolates provenientes del estado de Tabasco _____	89
4.3.4	Contenido de ocratoxina A en chocolates provenientes del estado de Tabasco ____	90
5	Conclusiones y recomendaciones _____	94
5.1	Conclusiones. _____	95
5.2	Recomendaciones. _____	97
6	Referencias _____	98

Índice de figuras

Figura 1. Almendra de cacao. _____	6
------------------------------------	---



Figura 2. Glifo del cacao. Códice maya Dresde. _____	6
Figura 3. Vasija funeraria para chocolate, con el glifo del kakaw inscrito en la tapa. _____	7
Figura 4. Distribución mundial del cultivo de cacao. _____	8
Figura 5. Estructura del cacao _____	10
Figura 6. Gráfico comparativo de la producción de cacao por continente. _____	13
Figura 7. Comparativo de las importaciones de cacao, por región _____	14
Figura 8. A) Estados productores de cacao, B) Producción _____	14
Figura 9. Beneficio del cacao _____	16
Figura 10. Chocolate en barra. _____	19
Figura 11 . Vasija para bebidas de cacao. _____	20
Figura 12. Cronología del Chocolate. _____	21
Figura 13. Diagrama de proceso del chocolate _____	22
Figura 14. Estructura básica de flavonoides. _____	28
Figura 15. Neutralización del radical libre por un antioxidante _____	29
Figura 16. Algunos beneficios del consumo de cacao y chocolate: _____	31
Figura 17. Fases del crecimiento fúngico y localización de la síntesis de micotoxinas. ____	34
Figura 18. Estructuras de aflatoxinas. _____	36
Figura 19. Estructura de la Ocratoxina A. _____	39
Figura 20. Medición de color en chocolates. _____	51
Figura 21. Estufa de aire caliente. _____	52
Figura 22. Extracción de grasa: A) Hidrolisis acida, B) Filtrado de la muestra. _____	52
Figura 23: Extracción de grasa por soxhlet. _____	53



Figura 24. A) Espectrofotómetro Genesys 10uv utilizado en la determinación de polifenoles; B) Curva estándar de Ácido gálico. _____	54
Figura 25: Radical ABTS. _____	54
Figura 26. Extracción de materia extraña (Lavado con solución detergente). _____	55
Figura 27. Determinación de coliformes totales. _____	56
Figura 28 . Extracción de Aflatoxinas: Filtrado del extracto. _____	57
Figura 29. Extracción de ocratoxina por el método de columna de inmunoafinidad. ____	58
Figura 30. Luminosidad del grano de cacao en distintas etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. _____	60
Figura 31. Croma del grano de cacao en distintas etapas de proceso, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. _____	62
Figura 32. Contenido de grasa en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. _____	63
Figura 33. Contenido de polifenoles totales en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. _____	65
Figura 34. Capacidad antioxidante en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. _____	66
Figura 35. Luminosidad de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco.. _____	69
Figura 36. Croma de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. _____	71
Figura 37. Contenido de humedad de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco.. _____	74
Figura 38. Contenido de grasa de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. _____	77
Figura 39. Contenido de polifenoles totales de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco.. _____	79



Figura 40. Capacidad antioxidante de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco.	82
Figura 41. Insecto encontrado en chocolate.	85
Figura 42. Chocolate con presencia de coliformes totales.	86
Figura 43. Presencia de Ocratoxina A de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco.	91

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica del cacao	8
---	---



Tabla 2. Descripción de las características morfológicas del cacao. _____	9
Tabla 3 . Elementos de la semilla de cacao _____	10
Tabla 4. Composición química de la semilla de cacao. _____	11
Tabla 5. Características de las variedades de cacao. _____	12
Tabla 6. Beneficio o procesamiento del cacao _____	17
Tabla 7. Productos derivados del cacao. _____	18
Tabla 8: Descripción del proceso de elaboración de chocolate. _____	23
Tabla 9 . Tipos de chocolates _____	25
Tabla 10. Composición de macro y micronutrientes en chocolates. _____	27
Tabla 11. Micotoxinas comúnmente encontradas como contaminantes de los alimentos. _____	35
Tabla 12. Valores de DL ₅₀ dependiendo de la especie animal. _____	38
Tabla 13. Métodos y técnicas de detección de micotoxinas. _____	42
Tabla 14. Límite de Ocratoxina A, en Unión Europea. _____	44
Tabla 15. Material biológico (cacao) utilizado durante la experimentación. _____	49
Tabla 16. Material biológico (chocolates) utilizado en la experimentación. _____	49
Tabla 17. Ángulo Hue o de tono para chocolates artesanales. _____	73
Tabla 18. Contenido de materia extraña en 50 g de chocolate. _____	84
Tabla 19. Presencia de Ocratoxina A en grano de cacao procedente de Tabasco, en distintas etapas de proceso. _____	88
Tabla 20. Contenido de aflatoxinas en chocolates artesanales de Tabasco. _____	90



Resumen

El cacao es la almendra con la cual se prepara el chocolate, placer universal, domesticado en las tierras bajas y presente en contextos arqueológicos al menos desde hace 4000 años. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de distintas etapas del procesamiento y tipo de cultivar en la calidad de la semilla de cacao (*Theobroma cacao L.*) que se utiliza en la elaboración de chocolates, así como determinar el efecto de diferentes porcentajes de cacao (70, 80, 100%).

Las semillas de cacao fueron evaluadas en diferentes etapas del procesamiento: sin fermentar, fermentado y tostado, así como los chocolates de cinco casas productoras; mediante los cambios del contenido de polifenoles totales (PT), capacidad antioxidante, parámetros de calidad (color, contenido de grasa, humedad, coliformes totales, materia extraña, aflatoxinas y ocratoxina).

Los polifenoles fueron determinados luego de su extracción en solución metanólica. La muestra de cacao fermentado presentó una disminución del 67% respecto a la muestra sin fermentar. Los chocolates artesanales mostraron hasta 4 veces más contenido de polifenoles a lo reportado por otros autores. La actividad antioxidante fue destaca para el chocolate de la casa 3 con 80% de cacao con 312.71 TE μ mo/g, seguida por la casa 5 con 100 % de cacao con 277.099 TE μ mo/g, siendo la muestra de la casa 5 con 70%, la que presentó la menor capacidad antioxidante con 46.37 TE μ mo/g. La luminosidad de los chocolates tuvo tendencia a aumentar según su contenido de sólidos de cacao además se encontró presencia de insectos y pelos de roedor en algunas casas productoras al igual que coliformes totales (720 UFC/g), lo que sugiere malas prácticas de manufactura. En cuanto al contenido de aflatoxinas, se encontraron niveles de 1 a 2 μ g/kg en chocolates con 70% de cacao, cumpliendo con la norma de calidad mexicana. Se presentó Ocratoxina A en todos los chocolates evaluados, encontrándose hasta 7 μ g/kg, así como, en el cacao tostado, de ambos cultivares, considerando que la Ocratoxina A no se encuentra regulada por las normas mexicanas es difícil concluir sobre el aspecto de calidad e inocuidad de estos chocolates haciendo énfasis en la necesidad de una legislación que incluya los límites



máximos permisibles de esta micotoxina en este tipo de alimentos. Sin embargo, presentaron calidad, cumpliendo lo establecido por la norma oficial mexicana (NOM-186-22^a/SCFI-2002) por lo que pueden competir con productos comerciales.



Introducción

El cacao o cacaotero (*Theobroma cacao*) es un grano con alto contenido en grasa, se clasifica en tres variedades principales; criollo, reconocido por su calidad y utilizado en la elaboración de los chocolates más finos, el forastero, que es el más cultivado en el mundo, debido a su facilidad de cultivo y manejo y el trinitario, cruce entre criollo y forastero, crece en las zonas tropicales cerca de la línea del Ecuador (Avendaño *et al.*, 2011).

Los principales países productores en el mundo son Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria y Brasil. México no juega un papel preponderante entre los países productores de cacao ocupando apenas el décimo primer lugar, aunque diversos historiadores lo dan como origen de esta especie (FAOSTAT, 2012; Kakaw, 2012).

En el mercado internacional el cacao es el grano que más se comercializa, y se clasifica en dos categorías: cacao corriente, que proviene de los árboles de forastero, y el cacao fino de aroma, que se produce a partir del árbol criollo (ICCO, 2012).

México cuenta con estas variedades de cacao, lamentablemente la producción apenas supera las 21, 300 ton esto a causa de las enfermedades que presenta el cacao y que han destruido gran parte de los cultivos mexicanos; pese a las diversas enfermedades, constituye una alternativa económica y sostenible para el desarrollo rural, y puede representar una oportunidad para diversificar, consolidar y/o asegurar nuevos mercados (FAOSTAT, 2012).

El consumo de los productos a base de cacao, principalmente el chocolate, no ha sido considerado como una práctica de estilo de vida saludable por su alto valor calórico; además de que los granos de cacao utilizados para la elaboración de chocolate pueden contaminarse con mohos que, en ocasiones, producen unas toxinas llamadas micotoxinas como las aflatoxinas y la ocratoxina que mantienen una cierta estabilidad durante la



Cacao y Chocolate

mayoría de las etapas de procesamiento térmico del chocolate, siendo estos metabolitos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, hepatotóxicos, neurotóxicos, inmunosupresores, genotóxicos (Copetti *et al.*, 2012).

No obstante durante el procesamiento industrial, el cacao se somete a pasos esenciales para completar la formación de los compuestos responsables del sabor de chocolate y al mismo tiempo, esta tecnología contribuye para la reducción de contaminantes presentes (Copetti *et al.*, 2012).

Por otro lado, estudios recientes señalan que el cacao y sus derivados presentan múltiples beneficios para la salud debido a que son una fuente rica en polifenoles, capaces de modular eventos oxidativos vinculados con la aparición de enfermedades cerebro vasculares, cáncer, la artritis reumatoide, Alzheimer, aterosclerosis, diabetes; flavonoides del cacao han mostrado tener efecto modulador sobre la función plaquetaria, reduciendo el riesgo de trombosis, se relaciona con la disminución de la presión arterial y la vasodilatación periférica. Estudios metabólico-epidemiológicos indican que el consumo regular de productos derivados del cacao incrementan el nivel plasmático de antioxidantes, los que pueden prevenir la oxidación del LDL-colesterol (Arlorio *et al.*, 2005, Gómez-Juaristi *et al.*; 2011).

Por lo mencionado anteriormente es importante evaluar el efecto de distintas etapas del procesamiento en la calidad del grano de cacao (*Theobroma cacao L.*) que será utilizada en la elaboración de chocolates, así como determinar el efecto de diferentes porcentajes de cacao (70, 80, 100%), en los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de los productos elaborados artesanalmente en el estado de Tabasco, México.



1. Antecedentes





1.1 Cacao

1.1.1 Historia y origen

El cacao es la almendra con la cual se prepara el chocolate, placer universal, domesticado en las tierras bajas y presente en contextos arqueológicos al menos desde hace 4000 años (Figura 1). Versátil en sus características culturales, alimenticias y medicinales, el cacao tuvo una importancia simbólica, social, religiosa, política y económica en las culturas del México prehispánico (Attolini, 2011).



Figura 1. Almendra de cacao.
Fuente: Elaboración propia.

Se presume que la palabra “cacao” tuvo su origen en las palabras mayas “Kaj” que significa “amargo” y “Kab” cuyo significado es “jugo” (Figura 2). La fusión de estas dos palabras dio como resultado “Kajkab” y luego “Kajkabal”, de la que deriva “Kakuatl”. Esta última expresión cambió para “Cacauatl” para finalmente transformarse en “cacao” por facilidad de expresión (Instituto Nacional de Ciencias Agropecuarias, 1993).

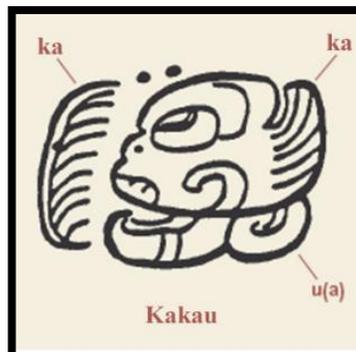


Figura 2. Glifo del cacao. Códice maya Dresde.
Fuente: Attolini (2011).



El árbol del cacao, fue clasificado por Linneo como *Theobroma cacao L.* (en latín literalmente “cacao, alimento de dioses”), de la familia *Esterculiáceas* (Rusconi y Conti 2010). Las primeras plantaciones conocidas de cacao eran las que establecieron los Mayas en las tierras bajas del sur de Yucatán alrededor del 600 después de Cristo; son famosos los vasos mayas del clásico, que tienen representadas escenas ceremoniales donde el chocolate aparece como parte de las costumbres reales (Figura 3). Los árboles de cacao eran cultivados por los Aztecas en México, y los Incas en el Perú (Beckett, 2002; Coe, 2000).

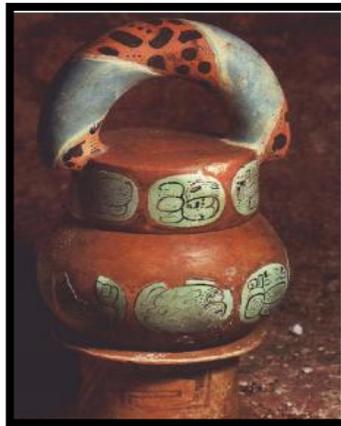


Figura 3. Vasija funeraria para chocolate, con el glifo del kakaw inscrito en la tapa.
Fuente: Attolini (2011).

El árbol de cacao se cultiva en su continente nativo, América del Sur, donde todavía forma parte de la flora natural. Se cultiva hoy en todas las regiones de la selva tropical húmeda, principalmente dentro de los 17 grados de latitud del Ecuador (Figura 4). Estas áreas tienen una temperatura media elevada ($> 27^{\circ}\text{C}$) a lo largo de todo el año y una alta y constante humedad relativa originada por bastantes precipitaciones (1500- 25000 mm). El suelo debe ser rico y profundo, debe estar bien drenado y normalmente la altitud debe ser inferior a los 700 metros sobre el nivel del mar (Beckett, 1988; Beckett, 2002).



Figura 4. Distribución mundial del cultivo de cacao.
Fuente: Negociosgt (2006).

1.1.2 Morfología y taxonomía del cacao.

El cacao es un árbol relativamente pequeño, de entre 12-15 metros de altura y crecen de modo natural en el inferior de la selva tropical perenne. A menudo se encuentra parapetado entre otros árboles productores, como cocoteros y babaneros. Estos comienzan a producir mazorcas tras 2 o 3 años, pero el rendimiento pleno no lo alcanza hasta los 6-7 años (Beckett, 2002).

El cacao es una especie diploide ($2n=20$ cromosomas), Linneo en 1753, primero ubicó el género *Theobroma* en la familia *Tiliaceae*. Después considero que podría ser incluido en la familia *Esterculiaceae*, y actualmente es incluido en la familia *Malvaceae*. La clasificación taxonómica se observa en la siguiente Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del cacao

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Malvales</i>
Familia	<i>Malvaceae</i>
Género	<i>Theobroma</i>

Fuente: Avendaño *et al.* (2011).

El género *Theobroma L.* está constituido por unas 30 especies. Son arboles de varios portes y tamaños (Hardy, 1961). En la Tabla 2 se describe la morfología del cacao.



Tabla 2. Descripción de las características morfológicas del cacao.

	Descripción
Árbol 	<ul style="list-style-type: none"> • Presenta un tronco recto que se puede desarrollar de formas muy variadas. Principalmente en horquetas, formando varios pisos que provoca una baja producción y dificulta la recolección de los frutos. • Emite su primera ramificación entre los 0.80 m a 1.20 m de tres a seis ramas.
Raíz 	<ul style="list-style-type: none"> • Raíz pivotante principal, que puede crecer entre 1.20 m y 1.50 m dependiendo de las características del suelo. • En los primeros 20- 25 cm de la raíz se desarrollan una gran cantidad de raíces laterales o secundarias.
Hoja 	<ul style="list-style-type: none"> • Las hojas tienen características propias dependiendo del tipo de tallo en que se originan. • El tamaño está influenciado por el ambiente donde se desarrolla la planta a menos luz más grande la hoja y viceversa • Las hojas del tronco ortotrópico comúnmente poseen un pecíolo largo (7 cm a 9 cm).
Flor 	<ul style="list-style-type: none"> • Nacen en grupos pequeños llamados <i>cojines florales</i> y se desarrollan en el tronco y ramas principales. • Siempre nacen en el mismo lugar. • De las flores se desarrollan los frutos o mazorcas. • Es una flor pequeña, mide de 1 a 2 cm de diámetro. es hermafrodita, pentámera y de ovario súpero.
Fruto 	<ul style="list-style-type: none"> • Forma variable (oblonga, elíptica, ovada, esférica y oblata); de superficie lisa o rugosa, y de color rojo o verde en estado inmaduro, característica que depende de los genotipos. • Con tamaños que oscilan de 10 cm a 42 cm. • Contiene entre 20 o 40 semillas. • La pulpa puede ser blanca, rosada o café, olorosa y con sabor variado entre ácido y dulce.

Fuente: Avendaño *et al.* (2011); Enriquez y Paredes (1989); Navarro y Mendoza (2006).

Las semillas de cacao se encuentran dentro de las cinco celdas del fruto o mazorca; rodeadas de una pulpa mucilaginosa; una vez que han llegado a su madurez fisiológica son blancas o moradas, dulces o amargas, con un contenido de humedad aproximadamente 50% base húmeda (Figura 5) (Ospina, 2002).

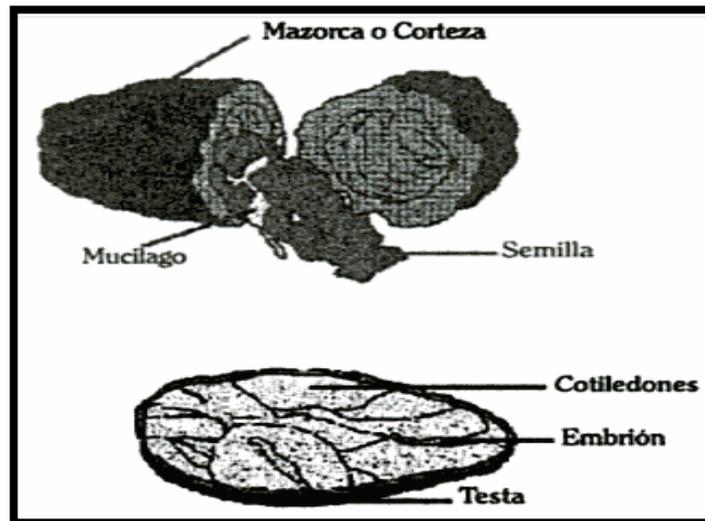


Figura 5. Estructura del cacao
Fuente: Ospina (2002)

La semilla de cacao, está constituida por los elementos que se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3 . Elementos de la semilla de cacao

Elemento	Descripción	% En un grano con 6.5 % de humedad
Cotiledón 	Aspecto brillante graso, gris. Castaño oscuro y violeta. Se encuentran dos cotiledones en cada grano	87.1 %
Testa 	Recubre los cotiledones, tiene forma plana y es quebradiza de apariencia rojo pardo.	12.0%
Germen o Embrión	Es la parte que le da origen a la nueva planta	0.9 %
Tegumento	Es una membrana transparente incolora que se encuentra entre los pliegues del cotiledón.	-

Fuente: Gavilánez y Sarmiento (2001).



1.1.3 Composición química.

El grano de cacao está formado por la semilla, que supone del 78 al 82% del peso del grano de cacao, y por la cáscara (10-16%) que la envuelve y la protege. La composición química (Tabla 4) de la semilla del cacao depende de factores como el genotipo o las condiciones de crecimiento del árbol (características del suelo, clima, horas de insolación, entre otros) (Tabla 4) (Kattenberg y Kemmink 1993).

Aproximadamente del 48 al 57% del peso de la semilla descascarillada y seca del grano de cacao corresponde a su contenido en lípidos.

Tabla 4. Composición química de la semilla de cacao.

Compuesto	Porcentaje
Grasa	48-57
Agua	2-5
Proteína	11-16
Carbohidratos	6-9
Cenizas	2.4-4.2
Fibra	2.1-3.3

Fuente: Parra *et al.* (2003).

La fracción lipídica del cacao se conoce como la manteca de cacao y es la responsable de buena parte de las tan apreciadas propiedades sensoriales del chocolate. En la fracción grasa de la semilla de cacao, los ácidos grasos (AG) predominantes son mayoritariamente saturados (AGS), esteárico (C18:0 - 35%) y palmítico (C16:0 - 25%), pero también contiene una alta proporción de AG monoinsaturados (AGMI) representados casi exclusivamente por el ácido oleico (C18:1 - 35%) y también una pequeña cantidad de poliinsaturados (AGPI) en forma de linoléico (C18:2 - 3%) (Parra *et al.*, 2003).



1.1.4 Variedades de cacao.

Existen diferentes variedades de cacao entre las que destacan 3 principales; criollo, forastero, trinitario. A continuación se muestran (Tabla 5) las características de estas variedades de cacao.

Tabla 5. Características de las variedades de cacao.

Variedad	Características
<p>Criollo (<i>Theobroma cacao</i> L. ssp. <i>cacao</i> Cuat)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Se produce en el Centro y Sur de América. • Cacao fino. • Fruto aromático, afrutado, dulce. • Es alargado, con una punta pronunciada, doblada y aguda. • La superficie es generalmente rugosa. • La almendra es grande, gruesa, de sección casi redonda con los cotiledones blancos o muy ligeramente pigmentados.
<p>Forastero (<i>Theobroma cacao</i> L. ssp. <i>sphaerocarpum</i> Cuat.)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Se encuentra en África, y Centro y Sur de América. • Fruto de cáscara dura y lisa. • Almendra aplanada de color morado. • Sabor amarga.
<p>Trinitario</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Esta variedad se encuentra en África, Asia, Centro y Sur de América. • Variedad obtenida del cruce del criollo y forastero • Sabor: condimentado. • Aroma: Floral.

Fuente: Beckett, (1988); Kakaw, (2012).



1.1.5 Producción mundial y nacional de cacao.

El cacao se cultiva principalmente en África del Oeste, América Central y Sur América y Asia (Monografía del cacao, 2009). Siendo África el mayor productor de cacao en el mundo, con una producción superior a las 2,300,000 toneladas (Figura 6) (FAOSTAT, 2012).

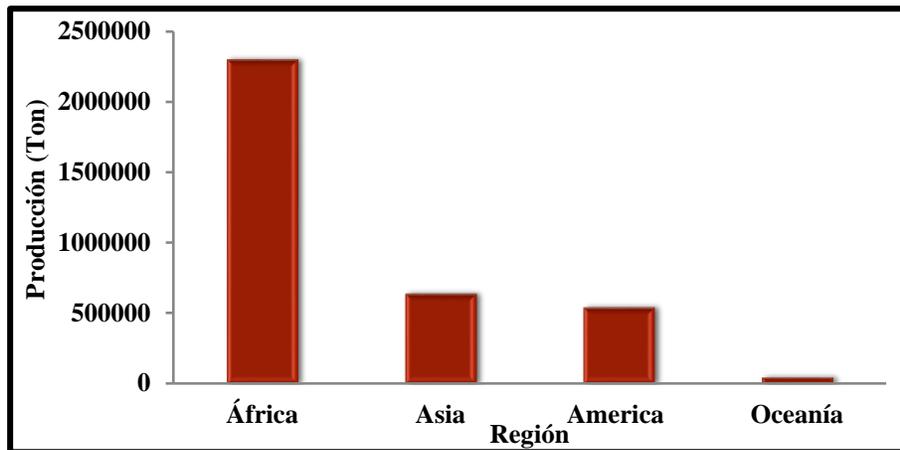


Figura 6. Gráfico comparativo de la producción de cacao por continente.
Fuente: FAOSTAT (2012).

La producción de África se ha incrementado en una media del 3.7% anual, mientras que la producción de cacao en América creció a un ritmo medio inferior del 3.1% anual, y su cuota de la producción mundial se quedó estancada en el 14% (Canacacao, 2012). Con el incremento de la producción de cacao en África las exportaciones netas de cacao en grano y productos de cacao en términos de equivalente de grano demuestran que esta región, representa el 77% de las exportaciones netas mundiales de cacao, es el mayor proveedor de cacao en los mercados mundiales, seguida de Asia, Oceanía (16%) y América (6%) (Canacacao, 2012; FAOSTAT, 2012).

Los datos sobre importaciones netas de cacao para el período de cinco años que finalizó en 2010/2011, demuestran que los países europeos representaban el 58% de las importaciones netas de cacao, seguido de América (27%), Asia (14%) y África (2%) (Figura 7). Estados Unidos es el primer importador mundial de cacao, con un 20% de las importaciones netas globales, seguido de Alemania (13%), Bélgica (7%) y Francia y la Federación de Rusia



(6% en ambos casos). Aunque los Países Bajos importan una cantidad considerable de cacao en grano, gran parte de sus importaciones se destinan a la fabricación de productos de cacao que posteriormente son re exportados (Canacacao, 2012).

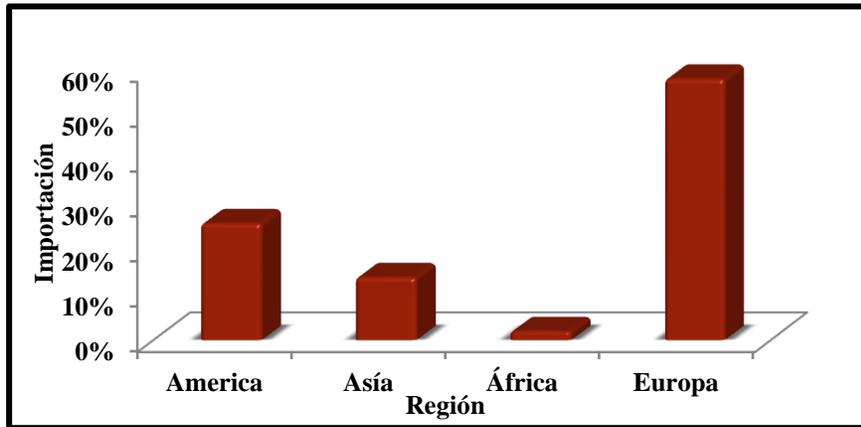


Figura 7. Comparativo de las importaciones de cacao, por región
Fuente: Canacacao (2012).

En México, la producción de cacao se encuentra concentrada en 4 estados: Tabasco (61 %), Chiapas (38%), Oaxaca (0%) y Guerrero (1.0%) (Figura 8) (SIAP, 2012).



Figura 8. A) Estados productores de cacao, B) Producción
Fuente: SIAP (2012).

Tabasco produjo 26,993 toneladas anuales en promedio entre el año 2002 y 2008; sin embargo, para el 2009 la producción total fue de 13,155.66 toneladas. El año de 1993 fue el año en que se registró la mayor producción de cacao para este estado, ya que se produjeron 39,924 toneladas (Monografía del cacao, 2009). En Tabasco la variedad de cacao que se cultiva de manera preponderante es el forastero, ya que es resistente a las enfermedades y



tiene mayor rendimiento. Los municipios de Tabasco donde se produce cacao son: Huimanguillo, Paraíso, Cárdenas, Tacotalpa, Balancán, Nacajuca, Comalcalco, Cunduacán de Méndez y Teapa (SIAP, 2009).

Chiapas como segundo estado productor de cacao entre 2002 y 2008 produjo en promedio 11,687 ton por año, y para el cierre de 2011, la producción total fue de 8,025.05 toneladas, cifra -7.78 % menor a la producción de 2010. En 2003, Chiapas alcanzó una producción récord de 16,746.4 toneladas; sin embargo, a partir de ese año, su producción presenta una tendencia a la baja y de igual manera que para los otros estados (Monografía del cacao, 2009).

A nivel nacional la producción total en 2011 fue de 21,387.52 toneladas, lo que representó una disminución del 21.29 % respecto al año anterior (SIAP, 2012).

Tres son los problemas principales que enfrenta esta industria en el sureste de México (Kakaw, 2012).

- El bajo costo del grano, lo cual desincentiva a los agricultores a mejorar su producción.
- La antigüedad de las plantaciones que en promedio alcanzan los cincuenta años, lo que facilita las infecciones sanitarias.
- La llegada a México de la enfermedad agrícola de la Monilia que ataca directamente a los frutos del cacao.

Ante este panorama, los terrenos cacaoteros van desapareciendo cediendo su lugar a plantaciones de monocultivos como la palma africana o la jatropha, así como a pastos ganaderos, cultivos que en nada contribuyen a la ecología y el paisaje (Kakaw, 2012). Por otro lado México exportó 781,258 toneladas de cacao durante el periodo 2002-2007 y productos derivados, que representa 1,255,216 miles de dólares. Las exportaciones de productos derivados de cacao en dicho periodo han tenido un comportamiento inestable (SIAP, 2009).



Cabe mencionar que México es un país con grandes variedades de productos, y el cacao no es la excepción, ya que ofrece derivados como la manteca, grasa y aceite de cacao; cacao en polvo con adición de azúcar; cacao en grano, entero o partido, crudo o tostado, y por otro lado los preparados (SIAP, 2012).

1.1.6 Procesamiento de la semilla de cacao.

La demanda de granos de calidad por parte de los industriales aunado al desconocimiento de los agricultores en prácticas de beneficio plantean la necesidad de capacitar a estos últimos en técnicas básicas que les permitan obtener un producto de buena calidad que satisfagan los requerimientos exigidos por los compradores. Granos mal fermentados, humedad elevada, mezcla de almendras sanas con enfermas, demasiada impurezas son factores negativos que afectan la calidad (Ministerio de Agricultura, 2004).

En términos esquemáticos, el beneficio del cacao consiste en lo siguiente (Figura 9 y Tabla 6):

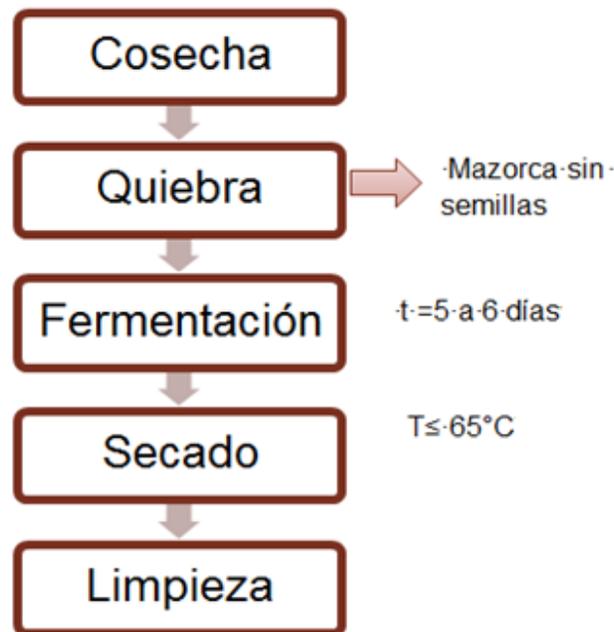


Figura 9. Beneficio del cacao

Fuente: Beckett (1988)



A continuación se muestra las etapas del procesamiento o beneficio del cacao.

Tabla 6. Beneficio o procesamiento del cacao

Proceso	Descripción
<p>Cosecha o recolección</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicia cuando el fruto o mazorca está maduro, este cambio es indicado por el cambio de verde a amarillo o a rojo. • Se utilizan herramientas como: tijeras de podar, el podón, escaleras tipo "A", estas deberán estar afiladas y desinfectadas. • La mazorca se cortará por el pedúnculo, evitando el daño al cojín floral.
<p>Quiebra</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Consiste en partir la mazorca y extraer las almendras o semillas del mucilago, para su después fermentación; el tiempo entre estos procesos no deberá exceder las 24 h. • Se realiza con un mazo de madera con el cual se rompe la mazorca, procurando no dañar las semillas
<p>Fermentación</p> 	<p>También llamada "cura" del cacao o "avinagrada". Es el proceso más importante por los procesos bioquímicos internos y externos de la semilla. Consiste :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Descomposición y remoción del mucilago. • Elevar la temperatura y matar el embrión, desarrollándose el sabor a chocolate. Esta etapa es llamada hidrolisis o fase alcohólica. • Cambios de pigmentación interna. • Transformación de sabor de los cotiledones. • Desarrollo de sabor y aroma a chocolate • El tiempo de fermentación debe ser de 5 a 6 días, o mejor, de 120 a 144 horas contadas a partir del depósito del grano en los recipientes.
<p>Secado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducir la humedad de un 60 a 7 %. • Se extienden los granos en el suelo exponiéndolos al sol, si se trata de pequeñas cantidades, o exponiéndolos a calor artificial o utilizando cámaras de secado si se trata de una gran producción. • No se deberá exceder los 65 °C durante una semana • Se remueve el cacao frecuentemente para la distribución uniforme del calor y el secado.
<p>Limpieza y selección</p> 	<p>Limpiar el cacao de cuerpos extraños, separando los granos buenos de los malos y lograr un producto homogéneo de tamaño.</p> <ul style="list-style-type: none"> • El tamaño mínimo permitido de grano es de 1 gramo por grano.

Fuente: Beckett, (1988); Canacacao, (2012); Moreno y Sánchez (1989); Oliveras, (2007).



1.1.7 Productos del cacao

A partir de las semillas del cacao se obtiene el cacao en grano, los cuatros productos intermedios (licor de cacao, manteca de cacao, pasta de cacao y cacao en polvo) y el chocolate (Tabla 7).

Tabla 7. Productos derivados del cacao.

Producto	Definición	Aplicaciones
Manteca de cacao 	Es el producto graso extraído de la pasta o licor del cacao, mediante la prensa hidráulica, expeler u otro procedimiento mecánico y con o sin ayuda de disolventes.	Elaboración de chocolate y confitería, y también puede ser usado en la industria cosmética y la industria farmacéutica
Pulpa de cacao 	También llamado mucilago es una sustancia vegetal viscosa que cubre la semilla de cacao.	Producción de bebidas alcohólicas y no alcohólicas
Cáscara	Es la capa protectora del fruto.	Utilizado como alimento para animales
Cenizas de cáscara de cacao	Es el producto de la combustión de la cáscara de cacao.	Puede ser utilizado para elaboración de jabón y como fertilizante de cacao, vegetales y otros cultivos.
Polvo de cacao 	Se obtiene por la molienda y pulverización de la torta de cacao parcialmente desgrasado, de color propio de las variedades de cacao y de la técnica de proceso empleada, la cual puede haber sido o no tratada químicamente.	Utilizado como ingrediente en casi cualquier alimento: bebidas chocolatadas, postres de chocolate como helados y mousse, salsas, tortas y galletas.
Pasta o licor de cacao 	Es el producto que se prepara con las semillas de planta de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L. y su variedades) sanas, limpias, libres de impurezas desgerminadas o no, fermentadas o no, secas, tostadas, descascarilladas y molidas.	Elaboración chocolates

Fuente: NMX-F-343-1983; NOM-186-SSA1/SCFI-2002; Minicetur (2012).



A pesar de que el mercado de chocolate es el mayor consumidor de cacao en términos de equivalente en grano, productos intermedios tales como el cacao en polvo y la manteca de cacao son utilizados en diversas áreas (Micentur, 2012).

1.2 Chocolate.

El chocolate se define como una suspensión semisólida de partículas sólidas muy finas de azúcar y cacao, dispersas en una fase continua de grasa (Figura 10) (Khampius, 2010).



Figura 10. Chocolate en barra.
Fuente: Elaboración propia.

También se define por chocolate al producto homogéneo elaborado a partir de la mezcla de dos o más de los siguientes ingredientes: pasta de cacao, manteca de cacao, cocoa, adicionado de azúcares u otros edulcorantes, así como de otros ingredientes opcionales, tales como productos lácteos y aditivos para alimentos, encontrándose dentro de éste diferentes variedades (NOM-186-SSA1/SCFI-2002).

1.2.1 Historia y origen del chocolate.

La palabra chocolate representa un neologismo, quizá un hibridismo maya-náhuatl, debido a que su mención en las fuentes coloniales del centro de México es muy tardía. Para la palabra chocolate postulan la forma /cikola:tl/, que quiere decir “bebida de batidor” en náhuatl. Con independencia de cuál sea el origen, se prestaron al español y de éste a las



demás lenguas europeas. En todo caso, como la planta es nativa de la región sur de Mesoamérica y no se cultivaba en los altiplanos centrales, tanto los lingüistas como los etnohistoriadores y arqueólogos, han esperado encontrar el origen y el centro de difusión de las palabras en los grupos no yutonahuas del límite meridional de esta zona (Attolini, 2011).

Las semillas de cacao eran muy valoradas en la época prehispánica, se utilizaban como dinero así como para elaborar una bebida denominada *chocolatl* las habas eran tostadas en recipientes de barro y se trituraban entre dos piedras a veces empleando mesas decoradas a fuego y piedras para moler, luego se ponía a amasarse para dar una torta, que podía mezclarse con agua caliente para obtener una bebida (Figura 11) (Beckett, 2002).

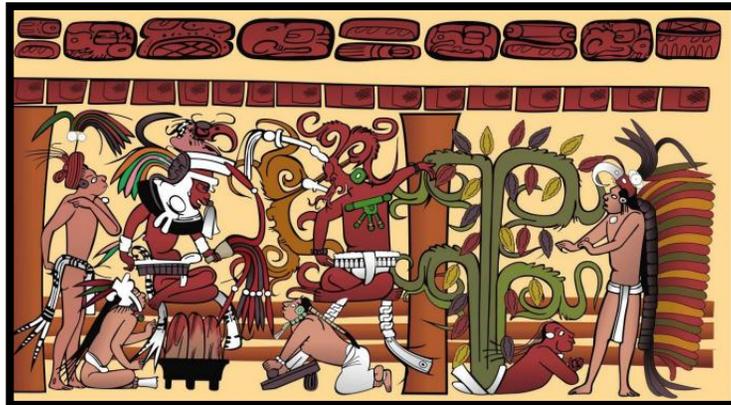


Figura 11 . Vasija para bebidas de cacao, 4 seres humanos, uno de ellos mujer con metate y 3 deidades en una escena palaciega con un árbol con varios frutos de cacao. Cerámica Maya Clásica.

Fuente: Kakaw (2012).

A la bebida se le añadía vainilla o miel y se batía para hacerla espumosa, se decía que el emperador Moctezuma tomaba más de 50 vasos de esta bebida cada día (Beckett, 2002).

A la llegada de los españoles el emperador azteca Moctezuma ofreció el chocolatl a Hernán Cortes en 1519. Ya que gracias a una profecía, lo confundió con el enviado divino que anunciaba el regreso de Quetzalcoalt. A pesar de su extraño sabor, los españoles pronto se dieron cuenta de su utilidad como bebida energética (García, 2011).



Una vez realizada la conquista de México-Tenochtitlan por Cortés, el cacao se integró de inmediato a la cocina colonial de la Nueva España, mezclándose con leche en vez de agua; agregándosele azúcar de caña y condimentos familiares al paladar español, como la canela, la almendra y el anís, convirtiéndose en una bebida de gran agrado también para el gusto indígena (Attolini, 2011).

La Nueva España se convirtió en el centro de comercio para la exportación del cacao americano a la península Ibérica y de allí al resto del mundo, que quedó seducido por su sabor (Figura 12) (Attolini, 2011).

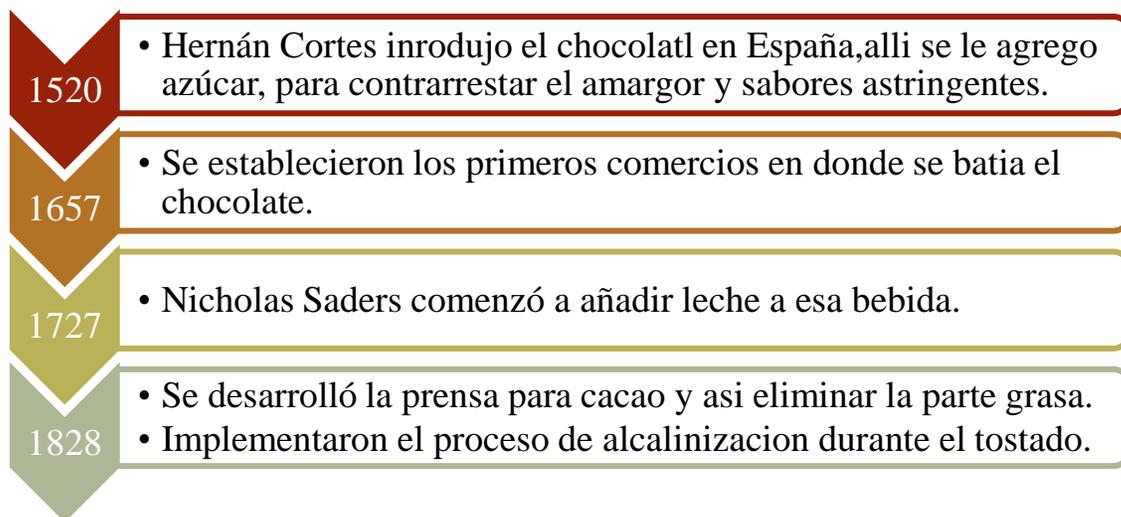


Figura 12. Cronología del Chocolate.
Fuente: Beckett (2002).

1.2.2 Proceso de elaboración del chocolate.

En el procesado industrial del cacao para la obtención del chocolate distintas etapas son comunes entre los fabricantes (Afoakwa, 2010).

En la Figura 13 se muestra el diagrama de proceso global de fabricación de chocolate.

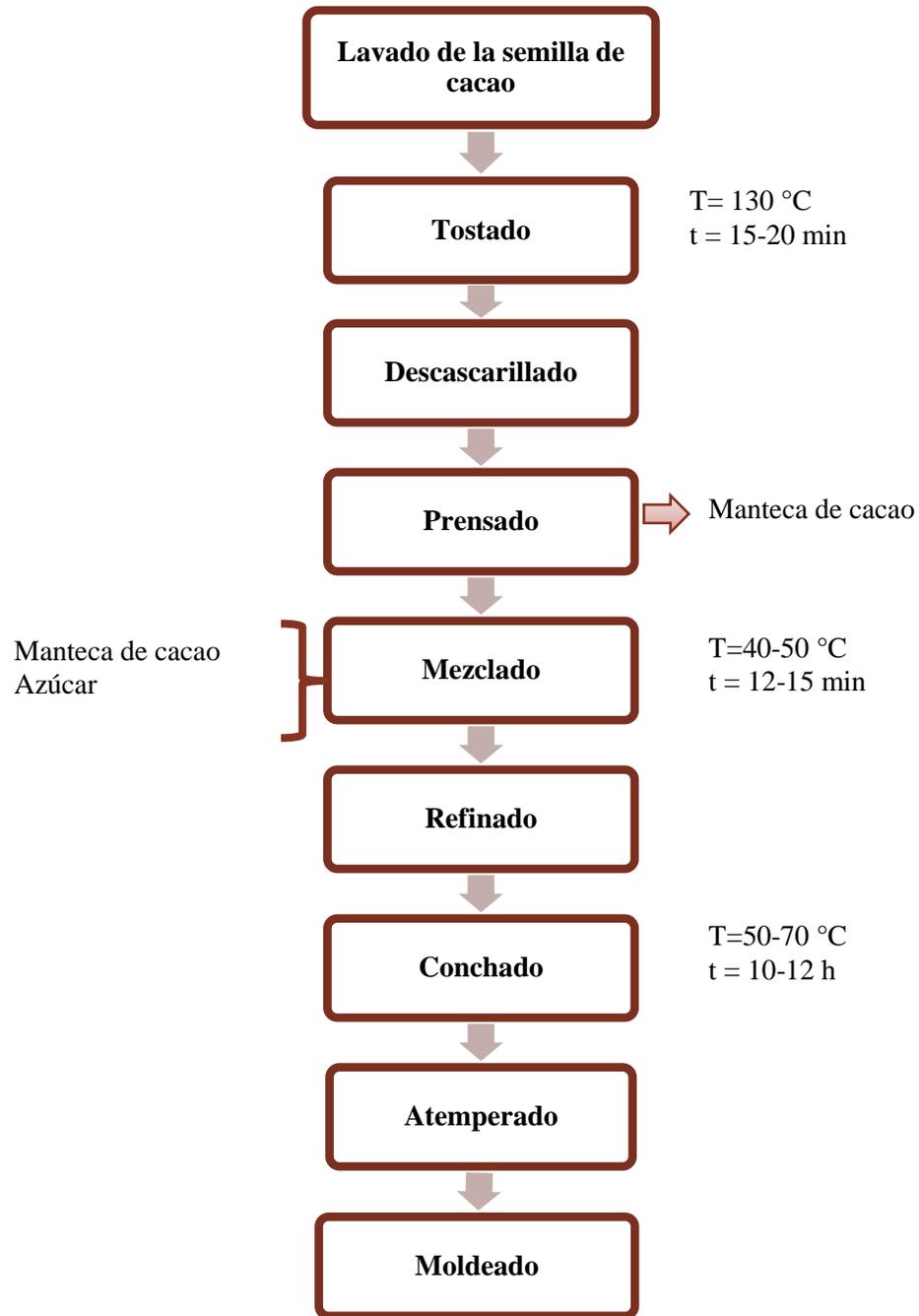


Figura 13. Diagrama de proceso del chocolate

En la Tabla 8 se describe el proceso del chocolate, desde el grano hasta la obtención del chocolate.



Tabla 8: Descripción del proceso de elaboración de chocolate.

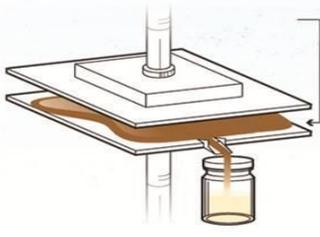
Etapa de proceso	Descripción
<p>Lavado de grano</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Antes de iniciar el procesado del chocolate los granos de cacao son lavados para eliminar la suciedad y los cuerpos extraños.
<p>Tostado de los granos de cacao.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Se desarrolla el aroma original del cacao que existe en forma de precursores generados durante el proceso de fermentación y secado de los mismos. • Los granos se vuelven más frágiles y generalmente más oscuros de color. • Reducción del número de microorganismos presentes en los granos de cacao. • Desnaturalización proteica. • Reacción de Maillard entre grupos amino y grupos carbonilo de azúcares.
<p>Descascarillado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Con la finalidad de eliminar las cáscaras de los granos de cacao y dejar al grano libre, se utiliza una máquina que los descascarilla.
<p>Molienda</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Los granos sin cáscara son molidos hasta obtener una masa denominada licor de cacao que servirá para hacer chocolates o cacao en polvo.
<p>Prensado del licor de cacao.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • El licor de cacao es prensado mediante prensas hidráulicas con el fin de desengrasarlo y obtener así la manteca de cacao, quedando una masa sólida llamada torta de cacao prensada.



Tabla 8: Descripción de proceso de elaboración de chocolate (continuación).

<p>Mezclado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • En esta etapa del proceso se adicionan los ingredientes correspondientes a cada una de las fórmulas del chocolate, en base a: torta de cacao, azúcar, manteca de cacao y/o leche en polvo. • Estos ingredientes se mezclan en un mezclador continuo o discontinuo, utilizando combinaciones estándar de tiempo-temperatura (normalmente 12-15 minutos a 40-50°C).
<p>Refinado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Se reduce el tamaño del cacao y azúcar a unas 25 micras. • El tamaño final de partícula tiene una influencia sustancial sobre las características reológicas y sensoriales que tendrá el producto acabado.
<p>Conchado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Se agita y amasa la pasta de cacao con potentes agitadores mecánicos, con objeto de obtener las propiedades necesarias. • En esta fase se produce las reacciones de caramelización, evaporándose la humedad y eliminando los ácidos volátiles que queden en el chocolate excluyendo así los sabores indeseados y obteniendo una emulsión perfecta. • Temperatura entre los 50 y 70 °C durante 10-12h. • Se puede añadir manteca de cacao y lecitina, normalmente de soya, antes de la finalización de esta etapa
<p>Atemperado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Consiste en la reducción de temperatura que con el conchado alcanzo entre 70 y 80°C. • Las 4 fases clave del atemperado son: fusión (a 50°C), enfriamiento hasta el punto de cristalización (a 32°C), cristalización (a 27°C) y conversión de los cristales inestables existentes (a 29-31°C)
<p>Moldeado</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • El moldeado del chocolate es la última etapa del proceso en la que según el producto deseado, los productores dan forma al chocolate utilizando diferentes envases.

Fuente: Liendo (2003); Oliveras (2007); Torres (2012).



1.2.3 Tipos de chocolates

Aunque existen muchísimos tipos de chocolates, con multitud de ingredientes añadidos, los más importantes se pueden resumir en cuatro tipos diferentes (negro, con leche, blanco y de cobertura), que son la base de todos los demás (Tabla 9) (García, 2011).

Tabla 9 . Tipos de chocolates

Tipo de chocolate	Características
<p>Chocolate con leche</p> 	<p>Deberá contener en relación con el extracto seco, no menos del 25% de extracto seco de cacao y un mínimo especificado de extracto seco de leche del 12%. Y un alto contenido de azúcar a menudo de hasta 50%.</p>
<p>Chocolate negro</p> 	<p>Cuanto mayor es la porción de cacao mejor es el chocolate (70 -80 %, o más). Tiene poca cantidad de azúcar.</p>
<p>Chocolate blanco</p> 	<p>Este chocolate es básicamente manteca de cacao que determina su calidad, sin pasta de cacao, pero con azúcar y leche añadidos. La manteca varía desde un mínimo del 20 hasta el 45 % mientras que la leche en polvo no debe ser inferior al 14 %.</p>
<p>Chocolate de cobertura</p> 	<p>Deberá contener, en extracto seco, no menos del 35% de extracto seco total de cacao, del cual no menos del 31% será manteca de cacao y el 2,5%, por lo menos, extracto seco magro de cacao.</p>

Fuente: CODEX STAN 87-1981; García (2011)



1.2.4 Composición nutricional del chocolate.

A nivel dietético el chocolate se considera un alimento innecesario por su elevado contenido en energía y azúcares; y es por ello, que algunos autores lo han denominado “junk food” (comida basura) (ICCO 2012).

La composición nutricional del chocolate depende del contenido de sólidos de cacao, de azúcar y de otros ingredientes, como por ejemplo la leche o los frutos secos. Se trata de un alimento de elevado contenido calórico ya que todos los chocolates que han sido reportados contienen más de 500 kcal por cada 100 g de producto. Concretamente, en el caso del chocolate negro, a mayor contenido de cacao mayor aporte energético. Ello se debe, a que al aumentar el contenido de sólidos de cacao aumenta el contenido total de grasa y disminuye el de azúcar, y cada gramo de grasa aporta más del doble de kilocalorías que un gramo de azúcar (9 kcal/g y 4 kcal/g respectivamente) (Afoakwa 2010).

Los hidratos de carbono son la fracción mayoritaria en cuanto a macronutrientes de la mayor parte de derivados del cacao. El contenido total en hidratos de carbono varía entre el 45 y el 65% del aporte calórico total en función del tipo de chocolate (Afoakwa 2010).

La fracción proteica del chocolate resulta baja comparativamente con la de hidratos de carbono o la de lípidos, variando de un 4-8% según el tipo de producto. En el caso del chocolate con leche la biodisponibilidad y el valor biológico de las proteínas lácteas es superior, ya que de por sí, la proteína del cacao es de bajo valor biológico (Torres, 2012).

En la Tabla 10 se muestra la composición de macro y micronutrientes en distintos tipos de chocolate (gramos de nutrientes/100 g de alimento).



Tabla 10. Composición de macro y micronutrientes en chocolates.

Compuestos	Chocolate negro 45-59 % cacao	Chocolate negro 69-69 % cacao	Chocolate negro 70-85 % cacao	Chocolate blanco	Chocolate con leche
Energía (kcal)	546	579	598	539	535
Proteína (g)	4.9	6.1	7.8	5.9	77
Lípidos (g)	31.3	38.3	42.6	32.1	29.7
AG Saturados (g)	18.5	22	24.5	19.4	18.5
AG monoinsaturados (g)	9.5	11.5	12.8	9.1	7.2
AG poliinsaturados (g)	1.1	1.2	1.3	1	1.4
Carbohidratos (g)	61.2	52.4	45.9	59.2	59.4
Fibra (g)	7	8	10.9	0.2	3.4
Calcio (mg)	56	62	73	199	189
Hierro (mg)	8	6.3	11.9	0.2	2.4
Magnesio (mg)	146	176	228	12	63
Fosforo (mg)	206	260	308	176	208
Potasio (mg)	559	567	715	286	372
Sodio (mg)	24	10	20	90	79
Zinc (mg)	2	2.7	3.3	0.7	2.3
Cobre (mg)	1	1.3	1.8	0.1	0.5
Manganeso (mg)	1.4	1.3	2	0	0.5
Selenio (µg)	3	8.4	6.8	4.5	4.5
Niacina (mg)	0.7	0.8	1.1	0.7	0.4
Vit. A (UI)	50	50	39	30	195
Vit. E (mg)	0.5	0.6	0.6	1	0.5
Cafeína (mg)	43	86	80	0	20
Teobromina (mg)	493	632	802	0	205

Fuente: Torres (2012).

El contenido de minerales varía en función del resto de los ingredientes, siendo el potasio el elemento mayoritario. También destaca el aporte de magnesio y fósforo. En el chocolate con leche se produce una modificación importante frente a la materia prima (cacao), debido al aporte de calcio y otros elementos como selenio y fósforo (Gil, 2010).



El contenido de vitaminas está afectado por el resto de los componentes del chocolates; el cacao contiene ácido fólico y la vitamina B, en el chocolate con leche se incrementan los niveles de vitamina A (Gil, 2010). Además, cabe destacar la presencia de pequeñas cantidades de algunos compuestos que presentan importantes efectos sobre el organismo. Entre los más significativos destacan: los compuestos fenólicos, los fitoesteroles o los alcaloides de tipo metilxantinas, como la teobromina (Torres, 2012).

1.2.5 Cacao y chocolate como fuente de polifenoles.

Los compuestos fenólicos o polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas y son importantes para la fisiología de las plantas pues contribuyen a la resistencia a los microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad debido a su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y relativamente altas temperaturas (Gutiérrez, 2002).

Todos poseen una estructura de 3 anillos consistentes en 2 centros aromáticos (anillos A y B) y un heterociclo oxigenado central (anillo C) y están típicamente conjugados a azúcares clasificándose en 6 subgrupos: flavonoides, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianinas y catequinas (Figura 14) (Lean *et al.*, 1999).

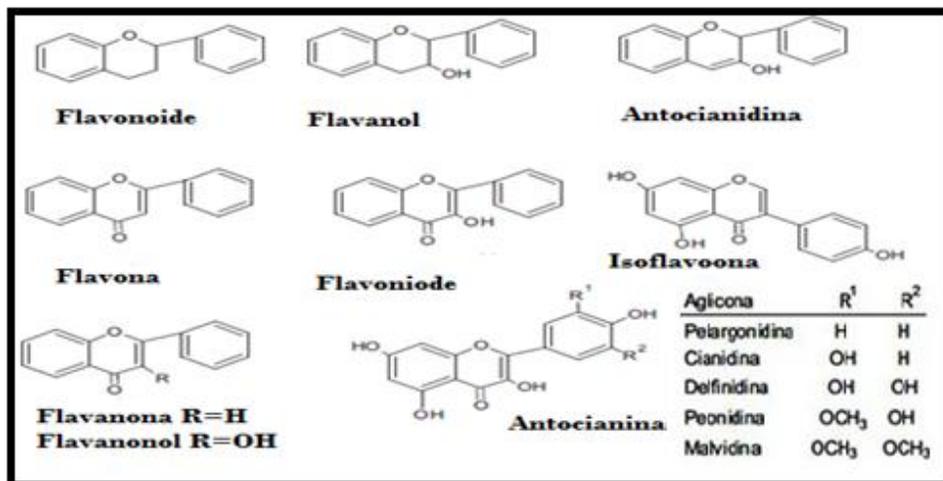


Figura 14. Estructura básica de flavonoides.

Fuente: Sotero *et al.*, (2011).



Los flavonoides son los polifenoles más abundantes en el cacao, su contenido representa del 6-8% de su peso seco. El chocolate es rico en flavonoides con la estructura de las catequinas y epicatequinas y sobre todo de los polímeros tipo procianicidas que se forman durante el procesamiento del grano de cacao por unión desde 2 a 10 monómeros de epicatequina debido a la acción en esas condiciones de la enzima polifenol oxidasa (Lean *et al.*, 1999; Ferrazzano *et al.*, 2009).

Los polifenoles encontrados en el grano de cacao se almacenan en las células pigmentadoras de los cotiledones y dependiendo del contenido de antiocianinas estas células pueden llegar a tener una tonalidad púrpura oscura (Gil, 2012).

Abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado poseer importante actividad antioxidante. El organismo humano no los produce pero representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana (Sotero *et al.*, 2011).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre (Figura 15) y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático (Duthie *et al.*, 2003).

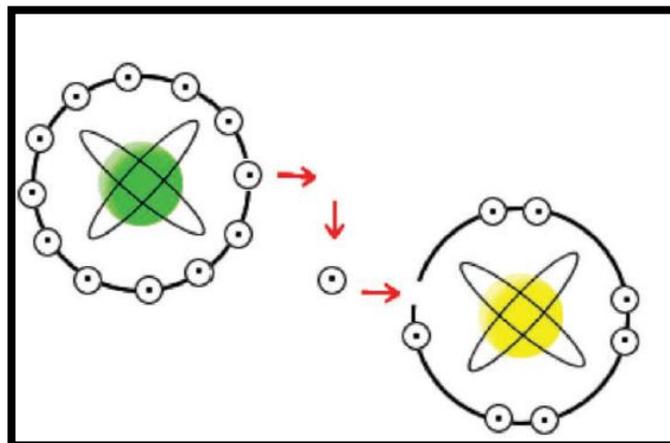


Figura 15. Neutralización del radical libre por un antioxidante
Fuente: Criado y Moya (2009)



Cacao y Chocolate

Un antioxidante se puede definir como una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación (daño en su estructura química) de otras moléculas. Las reacciones de oxidación pueden producir compuestos que en química se conocen como radicales libres, moléculas con una alta capacidad para reaccionar con otras moléculas, ya sean lípidos, proteínas o carbohidratos, lo que puede conducir a dañar las células y provocar enfermedades. Nuestro organismo produce de forma natural radicales libres y éstos son controlados por los antioxidantes, eliminándolos, desactivando, minimizando o anulando los efectos perjudiciales en las células. Debido a lo anterior, el consumo de alimentos con alto contenido en antioxidantes favorece el sano mantenimiento del organismo (Castro y García, 2009; Manthur *et al.*, 2002).

Estudios metabólicos epidemiológicos indican que el consumo regular de productos derivados del cacao incrementan el nivel plasmático de antioxidantes, los que pueden prevenir la oxidación del LDL-colesterol y contribuir a la protección contra enfermedades cardiovasculares (Gutiérrez, 2002)

Los mecanismos fundamentales relacionados con la patología del cáncer incluyen a las especies reactivas de oxígeno y el daño secundario al ADN, por lo que hay consenso de que los antioxidantes ya sean naturales o sintéticos tienen un efecto oncoprotector (Gutiérrez, 2002).

Se ha confirmado el efecto benéfico del chocolate sobre la función plaquetaria mostrando una reducción de la agregación, una disminución del volumen plaquetario y una reducción de la degranulación de las plaquetas (medida como liberación de ADP) tras el consumo de chocolate negro (Murphy *et al.* , 2003).

Se ha demostrado que las porcianidinas del cacao estimulan la formación o las prostaciclina e inhiben la formación de los leucotrienos, lo cual se traduce en un efecto que produce una mayor fluidez de la sangre por los diferentes vasos, evitando la formación de trombos y el riesgo de un accidente vascular (Schramm *et al.*, 2001).



En la figura siguiente se muestra algunos de los beneficios que proporciona el consumo de cacao y chocolate.

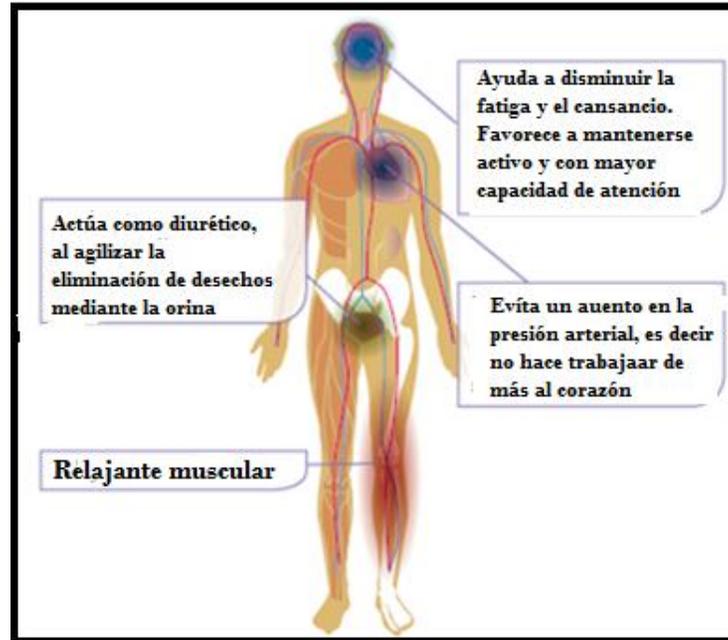


Figura 16. Algunos beneficios del consumo de cacao y chocolate:
Fuente: Nestlé, (2010).

Entre los componentes del bagazo de cacao se han encontrado 2 tipos de sustancias cariostáticas que en ratas inhiben la producción de caries, una de ellas es una epicatequina polimérica con enlaces C4→C8 con acción antiglicosiltransferasa, de la que depende su acción antibacteriana y cariostática (Gutiérrez, 2002).

En general, se estima que es más conveniente consumir chocolate oscuro, ya que contiene casi 24 mg de antioxidantes por gramo. El cacao en polvo, al ser una fuente concentrada, contiene unos 42.5 mg por g de cacao. Una manera de apreciar estos datos es sabiendo que en lo que a consumo de polifenoles se trata, una taza de té negro de unos 180 ml, contribuye con unos 630 mg; un vaso de vino tinto de 100 mL, con 190 mg; un vaso de jugo de naranja de 240 mL con 54 mg, y una ración de unos 70 g de moras azules, con 180mg (López-Munguía, 2011).



Los polifenoles presentes en el cacao desempeñan un papel importante en la calidad de alimentos derivados, ya que intervienen en su apariencia, color, olor, acidez, e incluso en sus propiedades potencialmente beneficiosas para la salud humana. Estos parámetros son de particular importancia en la cadena de producción de chocolate, ya que muchos de ellos pueden ser evaluados y tenidos en cuenta por los transformadores de cacao en el mercado, dando lugar a su elección o rechazo (Gil, 2012).

1.2.6 Importancia económica del chocolate.

El consumo de productos de confitería de chocolate aumentó en un 10% entre 2002 y 2010 en un grupo de países seleccionados, entre los que figuran los principales países europeos, Estados Unidos, Brasil, Japón y Australia, tratándose de una tasa anual de crecimiento del 1,2%. Este hecho subraya el descenso del consumo de chocolate en la mayoría de los países seleccionados en 2009, en el peor momento de la crisis económica mundial. Sin embargo, el consumo empezó pronto a recuperarse en 2010, aumentando en 2,8%, para alcanzar un nivel récord de alrededor de 5,54 millones de toneladas (Canacacao, 2012).

El mercado de chocolate es el mayor consumidor de cacao en grano (FAO, 2010)

- Productos intermedios como cacao en polvo y manteca son utilizados en diversas áreas
- El consumo per cápita lidera Suiza, Alemania, Bélgica, Francia, Reino Unido, Alemania y EEUU.
- En conclusión, el cacao se produce en los países en desarrollo y se consume principalmente en países desarrollados.

1.2.7 La calidad del chocolate.

El procesado industrial del chocolate resulta un proceso complejo en el que la manipulación de las distintas operaciones y los distintos ingredientes influirán en sus características, especialmente en los atributos sensoriales y en consecuencia, en la calidad del producto final que se obtenga. El término calidad es muy utilizado y, en muy diversos contextos,



tiene un significado que es poco claro, ya que cuando se analiza detenidamente tiene significados distintos en diferentes categorías y personas (Torres, 2012).

La norma ISO 9000:2000 da una definición bastante amplia: «la calidad es el conjunto de propiedades y características de un producto, de un proceso o de un servicio que le confieren su capacidad de satisfacer necesidades implícitas o explícitas».

La evaluación de los atributos intrínsecos (físico-químicos, nutricionales y seguridad microbiológica y toxicológica) conlleva la selección de los parámetros a analizar y la selección de los métodos más adecuados para realizar dicho análisis. Estos análisis se llevarán a cabo por el instrumento de medida idóneo. (Torres, 2012).

1.3 Micotoxinas.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios, producidos por ciertos hongos pertenecientes principalmente a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Suelen encontrarse en una gran variedad de productos agrícolas, y son los contaminantes naturales de los alimentos más extendidos a nivel mundial. Son altamente tóxicos, producen mutaciones (mutágenos), producen cáncer (cancerígenos), malformaciones en los fetos (teratógenos) y disminuyen la inmunidad (inmunosupresores). Debido a su gran variedad de efectos tóxicos, y sobre todo a su extrema resistencia al calor (termorresistencia), la presencia de las micotoxinas en los alimentos es considerada de alto riesgo para la salud humana y de los animales (Méndez-Albores y Moreno-Martínez, 2009).

Estos metabolitos son producidos al final de la fase de crecimiento exponencial de los hongos y carecen de importancia aparente para el microorganismo que los produce con respecto a su crecimiento o a su metabolismo (Figura 17) (Smith *et al.*, 1994, Jay, 1994).

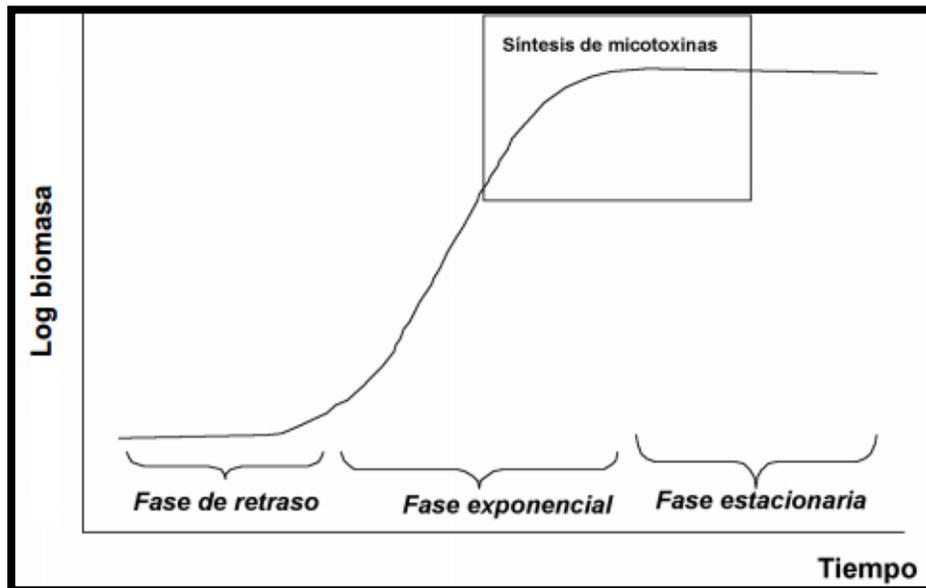


Figura 17. Fases del crecimiento fúngico y localización de la síntesis de micotoxinas.
Fuente: Soriano del Castillo (2007).

Dentro de las principales condiciones que favorecen el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas se encuentran: la humedad, actividad de agua, temperatura, pH, composición del sustrato y presencia de parásitos (Sanchis *et al.*, 2007).

Debe pensarse en las micotoxinas como agentes causales cuando una enfermedad afecta a varias personas sin querer que exista una relación evidente con un agente etiológico conocido, como microorganismos. Dadas las características de comercio actual, puede producirse micotoxicosis por alimentos contaminados, cultivados localmente o importados, tanto en países desarrollados como no desarrollados (Peraica *et al.*, 1999).

La información en México respecto a la incidencia y los niveles de contaminación por micotoxinas en los alimentos está limitada por muchos factores, entre ellos los recursos disponibles para realizar investigaciones, las facilidades de los laboratorios para llevar a cabo los análisis, lo adecuado de los procedimientos de muestreo y la sensibilidad de los métodos de cuantificación utilizados. De la extensa variedad de micotoxinas, alrededor de una veintena han sido particularmente investigadas y seis se consideran importantes desde el punto de vista alimentario (Tabla 11).



Tabla 11. Micotoxinas comúnmente encontradas como contaminantes de los alimentos.

Micotoxina	Efectos	Hongo productor	Límite de tolerancia
Ocratoxina A	Nefrotóxicas Nefrocancerígenas	<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>	3 µg/kg (Cereales)
Zearelenona (F-2 o ZEN)	Estrógenas Genotóxicas	<i>Fusarium graminearum</i> <i>F. culmorum</i>	1 µg/kg (cereales)
Patulina	Poca evidencia experimental o clínica, de sus efectos en humanos.	<i>Penicillium expansum</i>	50 µg /L (jugo de manzana)
Tricotecenos Deoxinivalenol (DON)	Citotóxicas Inmunosupresoras	<i>Fusarium graminearum</i> <i>F. verticilliodes</i> <i>F. culmorum</i>	0.5 µg/kg (cereales). 0.75 µg/kg (harinas).
Fumonisin FB₁, FB₂ y FB₃	Leucoencefalomalacia en equinos. Edema pulmonar en porcinos. Cáncer en humanos.	<i>Fusarium verticilliodes</i> <i>F. proliferatum</i>	1 µg/ kg para FB ₁ , FB ₂ (maíz).
Aflatoxinas AFB₁, AFB₂ y AFG₁, AFG₂	Cancerígenas Mutágenas Teratógenas	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	20 µg/kg para Aflatoxinas totales

Fuente: Méndez-Albores y Moreno-Martínez, (2009).

1.3.1 Aflatoxinas.

El nombre de aflatoxina hace referencia al hecho de ser biosintetizadas por el hongo *Aspergillus flavus*; el crecimiento de este hongo y la producción de toxinas dependen de muchos factores como puede ser el alimento, el grado de acidez, la temperatura o humedad ambiental y la presencia de microflora competidora; en cuanto al tipo de aflatoxina B y G, (Figura 18) se le denomina así por el color de fluorescencia que emiten bajo la luz UV. azul (*Blue*) y verde (*Green*) respectivamente (Soriano del Castillo, 2007).

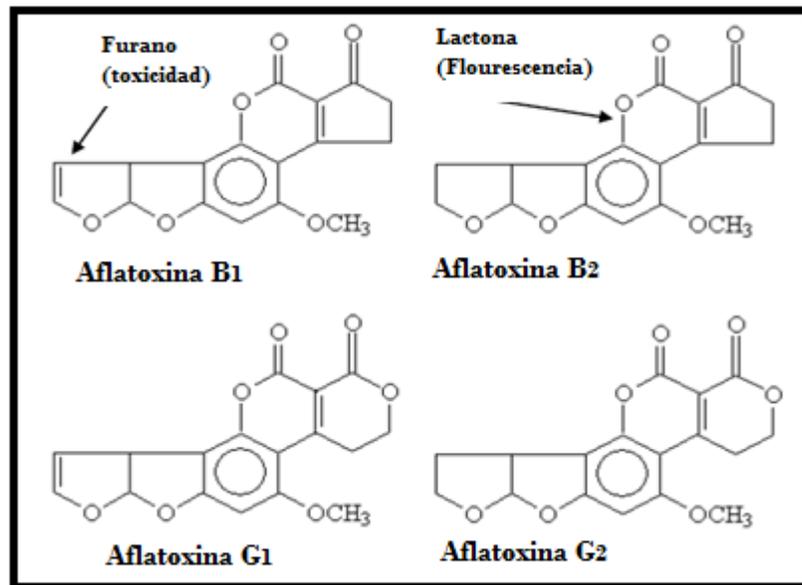


Figura 18. Estructuras de aflatoxinas.
Fuente: Ellis *et al.*, (1991).

Son sustancias biogénicas y están estructuralmente relacionadas. Químicamente son cumarinas sustituidas, conteniendo anillos de bifurano y configuración tipo lactona, comunes a todas ellas; son estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos térmicos. Es difícil eliminarlas una vez que se producen (Soriano del Castillo, 2007; Urrego y Díaz, 2006).

Los alimentos considerados más susceptibles a la contaminación fúngica y la consiguiente producción de aflatoxinas incluyen típicamente al maíz, cacahuates, pistachos, nueces del Brasil. También se han encontrado aflatoxinas en otras semillas oleaginosas como el girasol y la soya, en los aceites vegetales sin refinar, en otros frutos secos como las almendras, avellanas y las nueces, así como también en las frutas desecadas como los higos, las pasas, el café y el cacao (Soriano del Castillo, 2007).

El Mecanismo de acción

La aflatoxina B₁ se considera la más importante de toda la serie, normalmente aparece con mayor frecuencia y a mayor concentración que las restantes aflatoxinas. Esta es absorbida



en el intestino delgado y transportada por los glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas hasta el hígado (Soriano del Castillo, 2007).

Toxicología.

La IARC (International Agency Research Cancer) ha clasificado a la AFB₁ dentro de la categoría de sustancias de tipo 1 en base a la existencia de suficientes evidencias acerca de su carácter carcinogénico para el hombre. La exposición humana a aflatoxinas se produce principalmente por ingestión de comidas contaminadas. La inhalación de estas toxinas también puede suceder ocasionalmente debido a exposición de tipo laboral o profesional (Soriano del Castillo, 2007; Urrego y Díaz, 2006).

Las aflatoxinas son compuestos con efectos tóxicos inmediatos. El principal órgano diana de los efectos tóxicos y carcinogénicos es el hígado; dentro de los efectos agudos por micotoxinas se hallan: hepatitis aguda, los síndromes de Reye y de Kwashiorkor especialmente en niños de los trópicos el cuadro clínico incluye hígado graso y edema cerebral severo; a largo plazo se presentan efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, estrogénicos, inmunotóxicos, nefrotóxicos y neurotóxicos (Urrego y Díaz, 2006; Peraica *et al.*, 1999).

Las aflatoxinas pueden reaccionar directamente con las membranas de las células, con ácidos nucleicos o con proteínas y provocar una interferencia del metabolismo energético, de la síntesis del ARN, de proteína y de las purinas, por lo cual se afecta el ciclo celular, la mitosis de las células y gran cantidad de funciones orgánicas. Las alfatoxinas alteran el metabolismo del calcio, del fosforo y de la vitamina D, también se ha demostrado un efecto negativo sobre la integridad del riñón (Peraica *et al.*, 1999)

El comité mixto FAO/WHO de Expertos en Aditivos alimentarios (JECFA) evaluó las Aflatoxinas, y consideró que el riesgo de intoxicación aguda es entre moderado y bajo. En la Tabla 12 se muestran los valores de DL₅₀ (Soriano del Castillo, 2007).

Tabla 12. Valores de DL₅₀ dependiendo de la especie animal.

Especies	DL ₅₀ (mg/Kg)
Conejo	0.30
Pato	0.43
Cerdo	0.60
Trucha	0.80
Oveja	1-2
Pollo	6.30
Rata	5.50-17.90

Fuente: Soriano del Castillo (2007).

Los efectos tóxicos dependen de las dosis y de la duración de la ingestión, de la edad, especie, el sexo y sobre todo del estado de nutrición de la persona o del animal.

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), estableció en 1977 un límite permisible de 20 microgramos por kilogramo para las aflatoxinas totales en los alimentos destinados al consumo humano. Sin embargo, en algunos países europeos se han establecido límites de tolerancia más estrictos, específicamente para la AFB1, reglamentando 5 microgramos por kilogramo para los alimentos destinados tanto al consumo humano como animal (Méndez-Albores y Moreno-Martínez, 2009).

1.3.2 Ocratoxina.

Las ocratoxinas (Figura 19) son micotoxinas producidas por algunas especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, el primero dominante en climas tropicales y el segundo en climas fríos o templados. Fue aislada por primera vez en 1965 de un cultivo de *Aspergillus ochraceus* de donde deriva su nombre. La mayoría de los hongos producen principalmente ocratoxina y raras veces ocratoxina B (Frazier y Westhoff, 1993; Soriano del Castillo, 2007; Ravelo *et al.*, 2011).

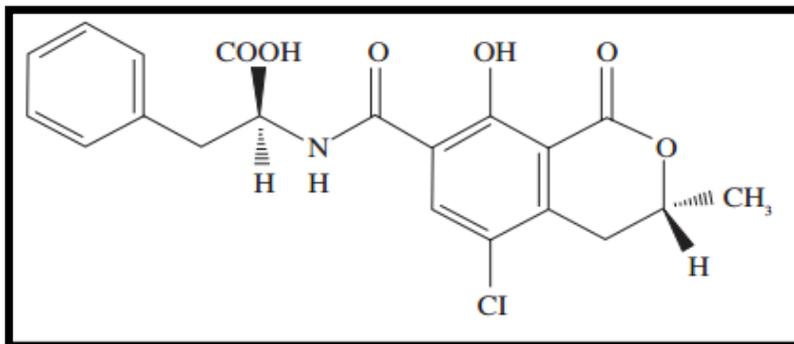


Figura 19. Estructura de la Ocratoxina A.
Fuente: Ravelo *et al.*, (2011)

Químicamente la Ocratoxina A es una molécula formada por un anillo de 3-4 dihidro metil isocumarina unido por medio de un grupo carboxilo y a través de un enlace tipo amida, a una molécula de fenilalanina. Es muy estable, incolora, soluble en disolventes orgánicos polares, poco soluble en agua, con características de ácido débil y capaz de emitir fluorescencia al ser excitada con luz UV (Monaci y Palmisano, 2004).

La ocratoxina A (OTA) se puede encontrar como contaminante natural en los cereales, especialmente en la cebada, harinas y turto de maní y en una serie de alimentos como granos de café, legumbres, frutas, quesos, carnes ahumadas como jamón, tocino y embutidos, cerveza, especias, vino y frutos de la vid (Quintana *et al.*, 2007)

Manifestaciones clínicas.

Las principales manifestaciones de la Ocratoxina A mediante los cuales ejerce su toxicidad son:

- Alteración sobre la respiración celular.
- Alteración de la síntesis de proteínas.
- Secuestro de calcio microsomal.



Toxicocinética.

En todas las especies estudiadas la OTA (ocratoxina A) se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, y pasa a la circulación sistémica, detectándose en sangre y tejidos, se elimina lentamente, y su biodisponibilidad en especies de mamíferos es superior al 50%. Las concentraciones más altas se detectan en los órganos de mayor actividad metabólica como riñón, hígado, músculos y grasa (Soriano del Castillo, 2007; Ravelo *et al.*, 2011)

La OTA tiene una alta capacidad de fijación a las proteínas plasmáticas, y presenta una semivida de eliminación larga, con valores en el cerdo de 72-120 horas y en el hombre de 840 horas siendo la fracción libre de la toxina <0.2 %. (Studer-Rohr *et al.*, 2000).

Toxicidad.

La OTA es nefrotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena, teratogénica y neurotóxica, hepatotóxica. Respecto a su actividad carcinogénica, la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) ha clasificado a esta micotoxina en la categoría 2B, es decir como posible carcinógeno humano, ya que produce tumores renales en animales de experimentación y se ha relacionado con evidencias epidemiológicas de cáncer testicular (Arbillaga *et al.*, 2004; Peraica *et al.*, 1999, Ravelo *et al.*, 2011).

En cuanto a sus efectos nefrotóxicos, estudios epidemiológicos se han asociado al consumo crónico de OTA con el desarrollo de ciertas enfermedades endémicas, tanto en animales como en el hombre (Arbillaga *et al.*, 2004; Ravelo *et al.*, 2011).

La toxicidad aguda de la OTA presenta variaciones interespecificas. La DL₅₀ por vía oral presenta un intervalo entre 20-50 mg/kg en ratas y ratones, y hasta 0.2-1 mg/kg en perros, cerdos y pollos, que son especies más sensibles (Ravelo *et al.*, 2011).



El comité del CODEX sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos señala que es conveniente reducir todo lo posible la exposición a la ocratoxina A, situando la exposición de ingesta diaria tolerable de 1.2-1.4 ng/kg de peso corporal y un límite máximo de 5 µg/kg para cereales sin transformar, no obstante la Comunidad Europea indican la fijación de un límite inferior para esta micotoxina en cereales transformados con el fin de proteger la salud pública (CODEX, 2000).

1.3.3 Métodos de detección de micotoxinas.

La importancia del análisis de micotoxinas en alimentos reside en el cumplimiento de las reglamentaciones y en la verificación de los sistemas de control de seguridad alimentaria con el fin de preservar la salud de la población. Se puede encontrar alrededor de cuarenta métodos validados para análisis de micotoxinas pertenecientes a diferentes familias químicas, mientras que el comité Europeo de Normalización ha publicado un documento con criterios específicos para varios métodos del análisis de micotoxinas, estos análisis requieren un alto grado de exactitud, precisión, y reproducibilidad, por esta razón se recomienda el uso de procedimientos de garantía de calidad incluidos los materiales de referencia certificados y las comparaciones inter-laboratorio (Soriano del Castillo, 2007).

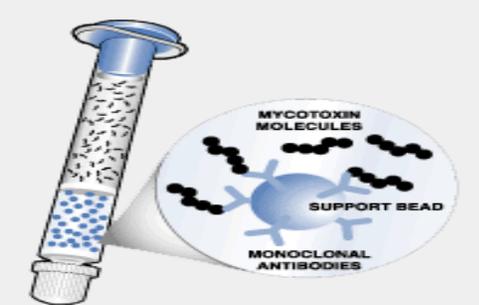
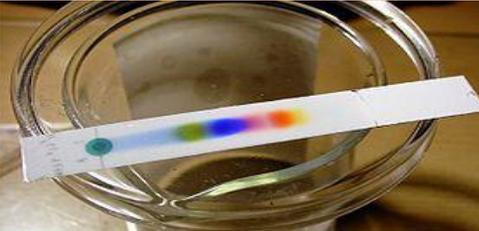
La determinación físico-química de las micotoxinas y de su concentración lleva consigo las siguientes operaciones (Bourgeors *et al.*, 1994):

- Extracción
- Eliminación de impurezas (purificación).
- Separación
- Cuantificación, generalmente por flurodensitometría.

En la Tabla 13 se presentan algunos de los métodos y técnicas para la detección de micotoxinas.



Tabla 13. Métodos y técnicas de detección de micotoxinas.

Método/técnica	
<p>Lámpara ultravioleta</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Método rápido que detecta la fluorescencia. • Permite inspeccionar un gran volumen de granos.
<p>Anticuerpos monoclonales</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • La micotoxina problema se une a los anticuerpos monoclonales fijados en la columna de inmunoafinidad.
<p>Cromatografía de capa delgada</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Herramienta basada en un análisis semi cuantitativo
<p>Cromatografía de Alta precisión</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatografía.
<p>ELISA (Enzyme- Linked Immunosorbent Assay).</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable.

Fuente: Requena *et al.* (2005)



1.3.4 Legislación de micotoxinas.

La necesidad de establecer una legislación para fijar límites en la concentración de micotoxinas en alimentos para humanos y para animales está generalmente reconocida en varios países del mundo. Prácticamente, todos los países que tienen una economía de mercado bien desarrollada, tienen reglamentaciones en lo que respecta a las micotoxinas. Por el contrario, muchos de los países que están en fase de desarrollo y donde la agricultura tiene una gran importancia, no tienen reglamentaciones para micotoxinas. Los fundamentos que influyen para la reglamentación de las micotoxinas están sujetos a varios factores principales, tales como (Gallego, 2010):

- Disponibilidad de datos toxicológicos
- Disponibilidad de datos respecto a la incidencia de micotoxinas en varios alimentos.
- Homogeneidad de la micotoxina en la masa alimentaria.
- Disponibilidad de métodos analíticos de control
- Legislación en otros países con los que contactos comerciales
- La necesidad en algunos países de ser abastecidos suficientemente en cuanto a alimentos.

El desarrollo de cada uno de los puntos anteriores muestra una gran dificultad para establecer directrices en cuanto a fijar las concentraciones máximas de micotoxinas permitidas en alimentos (Gallego, 2010).

En los últimos años la creciente preocupación que, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, ha supuesto la presencia de micotoxinas en los alimentos, se ha traducido en el marco legislativo en un incremento del número de normativas que regulan no solo los límites máximos admitidos para cada micotoxina en diferentes alimentos sino también los protocolos de tomas de muestras y especificaciones requeridas (Soriano del Castillo, 2007).



Mundialmente, hasta el año 2003 al menos 99 países poseían reglamentos para las micotoxinas, de hecho, todos los países con reglamentos tenían hasta este año al menos límites reglamentados para la aflatoxina B1 o para aflatoxinas totales (FAO, 2004)

En lo que se refiere a la ocratoxina A (OTA) se aprecia un incremento significativo en el número de países que imponen límites a los alimentos principalmente para los cereales y los productos a base de cereales considerados como la fuente de exposición principal para los seres humanos de esta micotoxina. La Unión Europea establece un nivel máximo de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para cereales sin procesar (Tabla 14) (FAO, 2004).

En el establece que se examinará el dictamen científico de la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) con el fin de establecer límites máximos en productos como lo son: Frutos secos distintos a las pasas de uva y pasas de higo, cacao y productos del cacao, especias, productos cárnicos, entre otros.

Tabla 14. Límite de Ocratoxina A, en Unión Europea.

Matriz	Nivel máximo ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Cereales sin procesar.	5
Todos los productos derivados de los cereales sin procesar.	3
Pasas de uva.	10
Pasas de higo.	8-10**
Frutos secos distintos a las pasas de uva y pasas de higo.	1-2 **
Café en grano	5
Café soluble	10
Productos de cacao	0.5-2 **
Vino	2
Cerveza	0.2**
Alimentos para bebés	0.5

Nota: Los niveles no están fijados o están actualmente en discusión (**).

Fuente: R-Biopharm (2011).



2 Objetivos





2.1 Objetivo general:

Evaluar el efecto de distintas etapas del procesamiento en la calidad del grano de cacao (*Theobroma cacao L.*) que será utilizada en la elaboración de chocolates, así como determinar el efecto de diferentes porcentajes de cacao (70, 80, 100%), en los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de los productos elaborados artesanalmente en el estado de Tabasco, México.

2.2 Objetivos particulares:

Objetivo particular 1:

Establecer el efecto de los cambios producidos en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao (sin fermentar, fermentado y tostado) mediante el contenido total de polifenoles, capacidad antioxidante y coliformes totales para conocer las propiedades del mismo como materia prima para la elaboración de chocolate.

Objetivo particular 2:

Evaluar el efecto de distintos porcentajes de cacao en chocolates artesanales (70, 80, 100%) en parámetros de calidad (color, materia extraña, grasa, humedad, coliformes totales), contenido de polifenoles y capacidad antioxidante que permita relacionarlos con su calidad.

Objetivos particular 3:

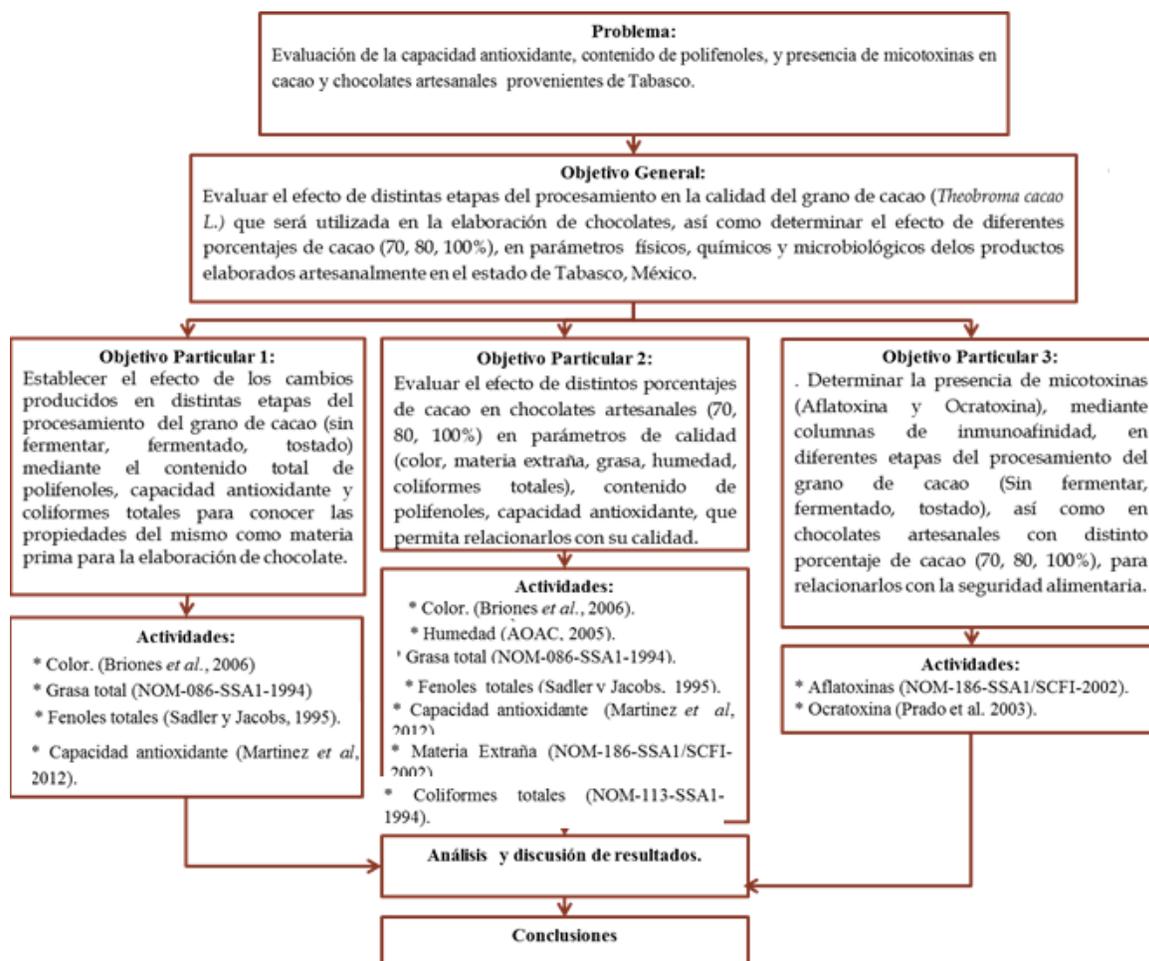
Determinar la presencia de micotoxinas (Aflatoxina y Ocratoxina) mediante columnas de inmunoafinidad, en diferentes etapas del procesamiento del grano de cacao (sin fermentar, fermentado, tostado), así como en chocolates artesanales con distinto porcentaje de cacao (70, 80, 100%), para relacionarlos con la seguridad alimentaria



3 Materiales y métodos.



3.1 Cuadro metodológico





3.2 Material Biológico.

El Cacao (*Theobroma cacao*) empleado fue procedente de Comalcalco, Tabasco, en diferentes etapas de procesamiento de dos huertos distintos, las muestras analizadas fueron: Cacao sin fermentar, fermentado y tostado (Tabla 15).

Tabla 15. Material biológico (cacao) utilizado durante la experimentación.

	Cacao sin fermentar	Cacao fermentado	Cacao tostado
Huerta 1			
Huerta 2			

También se adquirieron chocolates artesanales provenientes del Estado de Tabasco, de cinco casas productoras con diferentes porcentajes de cacao (100, 80, 70%) (Tabla 16).

Tabla 16. Material biológico (chocolates) utilizado en la experimentación.

Casas productoras	Casa 1	Casa 2	Casa 3	Casa 4	Casa 5
					



3.3 Tratamiento de las muestras

Las muestras fueron conservadas a temperatura ambiente, en envases con bajos niveles de oxígeno hasta su análisis.

Efecto en los parámetros de calidad y actividad antioxidante de las etapas de procesamiento en granos de cacao

Una vez obtenidos los granos de cacao de dos huertas con diferentes etapas de procesamiento (sin fermentar, fermentado y tostado), se evaluaron parámetros de calidad (humedad y contenido de grasa), también se cuantificó el contenido de fenoles totales, así como la actividad antioxidante, los métodos se describen en el apartado 3.4 al 3.6.

Evaluación de los parámetros de calidad y capacidad antioxidante de chocolates artesanales con diferentes porcentajes de cacao.

La caracterización de los chocolates artesanales con distintos porcentajes de cacao (70, 80, 100 %), fue llevada a cabo mediante parámetros de calidad (humedad, contenido de grasa, color, materia extraña, coliformes totales), y se cuantificó el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante, describiéndose los métodos en el apartado 3.4 al 3.6.

Determinación de la presencia de micotoxinas (Aflatoxina y Ocratoxina) en granos de cacao y chocolates artesanales.

Se evaluó la presencia y contenido de micotoxinas (Aflatoxina y Ocratoxina) en el cacao en diferentes etapas de su procesamiento (Sin Fermentar, Fermentado y Tostado), así como chocolates artesanales con distintos porcentajes de contenido de cacao (70, 80, 100%), utilizando el método de columnas de inmunoafinidad que se describe en el apartado 3.7



3.4 Parámetros de calidad

3.4.1 Determinación de Color.

La determinación del color se llevó a cabo con un colorímetro (Minolta), se realizaron seis lecturas (Figura 20). El color puede ser evaluado mediante L , a , y b que son los parámetros del sistema color CIELAB. El parámetro L proporciona un valor de la Luminosidad de la muestra. El parámetro a indica la zona de variación entre el rojo y el verde del espectro. El parámetro b se refiere a la zona de variación entre el amarillo y el azul del espectro. (Briones *et al.*, 2006).



Figura 20. Medición de color en chocolates.
Fuente: Elaboración propia.

3.4.2 Humedad, gravimetría.

La determinación de humedad se realizó por el método de la estufa de aire caliente marca Quincy Lab (Figura 21), que se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa de la muestra desecada hasta masa constante en estufa de aire caliente. Para lo cual se utilizaron cajas de aluminio a peso constante, con aproximadamente 2 g de muestra colocándolas en una estufa de convección a 100° C. Los resultados se expresaron en porcentaje de humedad (AOAC, 2005).



Figura 21. Estufa de aire caliente.
Fuente: Elaboración propia.

3.4.3 Grasa (lípidos combinados).

El contenido de grasa se realizó por el método mencionado en la norma oficial mexicana NOM-086-SSA1-1994, para la extracción de lípidos combinados, donde se utilizó el medio ácido, para hidrolizar la muestra y disolver las proteínas que permitirán la separación de la grasa.

Dentro de un matraz Erlenmeyer de 250 mL se pesó 2 g de muestra finamente molida de cacao y chocolate respectivamente, a la cual se agregó 50 mL de HCl 33%, se colocaron en un baño maría durante una hora manteniendo el volumen constante con adición de agua (Figura 22). Una vez concluido se procedió a filtrar la muestra y a realizar lavados con agua caliente hasta que esta quedara libre de ácido; la muestra se secó a 60°C por toda la noche.

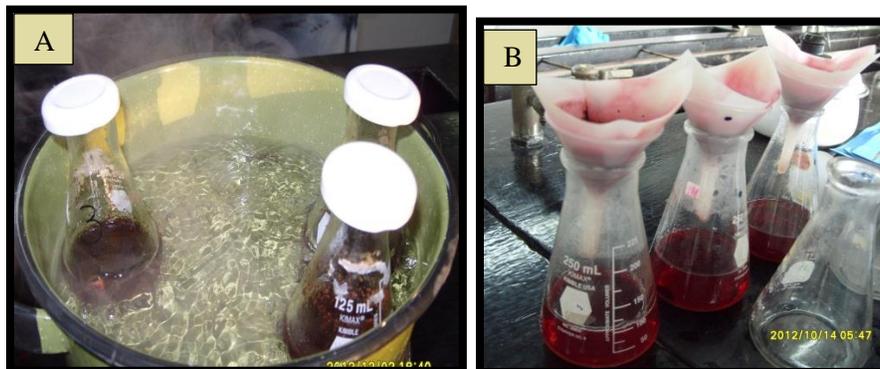


Figura 22. Extracción de grasa: A) Hidrolisis acida, B) Filtrado de la muestra.
Fuente: Elaboración propia.



La muestra ya seca, se colocó en el extractor Soxhlet (Figura 23) utilizando éter de petróleo como disolvente, efectuándose la extracción durante 4 horas; finalmente se procedió a evaporar el disolvente y llevar a peso constante. Los resultados se reportaron como porcentaje de grasa.



Figura 23: Extracción de grasa por soxhlet.
Fuente: Elaboración propia.

3.5 Determinación de Fenoles Totales.

El contenido de polifenoles totales de los extractos se determinó por el método de Folin-Ciocalteu el cual se fundamenta en el carácter reductor de los polifenoles; midiendo la cantidad de sustancia analizada que se necesita para inhibir la oxidación del reactivo. Se mezclaron 1500 μ l de agua con 200 μ l de la muestra, 200 μ l de una solución de carbonato de sodio 20% y 100 μ l de reactivo de Folin-Ciocalteu 2N, la mezcla se incubó 30 min a temperatura ambiente y protegida por la luz, transcurrido el tiempo se registró la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Genesys 10uv (Figura 24). La cuantificación se realizó por medio de una curva estándar de ácido gálico con el fin de expresar los resultados en equivalentes de ácido gálico (GAE) (Sadler y Jacobs, 1995).



Figura 24. A) Espectrofotómetro Genesys 10uv utilizado en la determinación de polifenoles; B) Curva estándar de Ácido gálico.

Fuente: Elaboración propia.

3.6 Determinación de Capacidad Antioxidante.

La actividad antioxidante se realizó por reducción del 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) (ABTS) con lecturas de la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm. Se obtienen los extractos de las muestras con metanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 100 μL de la muestra con 1900 μL de dilución del radical ABTS $\bullet+$ (Figura 25). La absorbancia se mide transcurridos 7 minutos. La cuantificación se realizó por medio de una curva estándar de trolox, con el fin de expresar los resultados en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) (Martínez *et al.*, 2012).

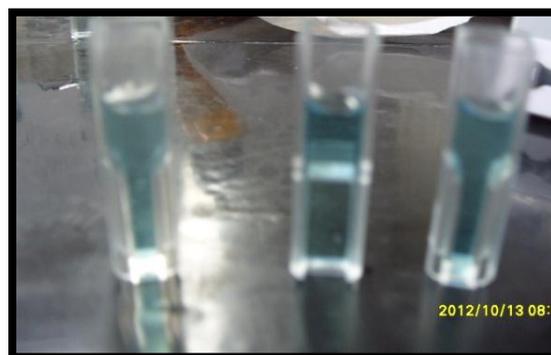


Figura 25: Radical ABTS.



3.6.1 Determinación de materia extraña para chocolate.

Para la determinación de materia extraña se tomaron 50 g de muestra de chocolate, el cual se mezcló en una solución detergente de lauril sulfato de sodio al 2% a una temperatura de entre 50 y 70°C durante 3 horas (Figura 26). Posteriormente se vertió en una malla de 0.06 mm y se lavó con agua caliente (70°C), se eliminó la grasa y materiales finos, el residuo se pasa a un matraz en el cual se vertió 500 mL de agua y se dejó hervir por 10 min, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se añadió agua para completar 1 L; se añadió 50 mL de heptano con agitación constante, se dejó reposar durante 30 min. Posteriormente se decantó los líquidos sobre un vaso de precipitado. Seguido a esto, se añadieron 35 mL de heptano, para hacer una segunda extracción, la cual dejó reposar por un periodo de 15 min, finalmente se juntaron las dos extracciones.

Se colocó papel filtro rayado para conteo dentro de un embudo de succión y se vertió uniformemente en él, el contenido del vaso de precipitado. El papel filtro se pasó a una caja Petri, que se observó al microscopio y se realizó el conteo de material extraño. Los resultados fueron expresados como el promedio de insectos enteros o sus fragmentos, así como pelos de roedor contenidos en 50g de muestra (NOM-186-SSA1/SCFI-2002).



Figura 26. Extracción de materia extraña (Lavado con solución detergente).
Fuente: Elaboración propia.



3.6.2 Determinación de coliformes totales.

El método para determinar coliformes totales permite determinar el número de microorganismos presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (Agar Mc Conkey modificación de la NOM-113-SSA1-1994) Se procedió a esterilizar el material y el medio de cultivo en una autoclave a 121°C durante 15 minutos (NOM-113-SSA1-1994).

Posteriormente se prepararon las diluciones a utilizar en el sembrado, para lo cual se tomó 10 g de muestra que se diluyó en 90 mL de agua previamente esterilizada, una vez homogeneizada esta solución, se tomó 1 mL y se diluyó en 9 mL, se repitió esta operación hasta obtener una dilución de 10^{-3} (Figura 27) Terminadas las diluciones se procedió a sembrar por superficie en la cajas petri con agar. Se rotularon las muestras y se incubaron por 24 horas a 35 ± 2 °C.

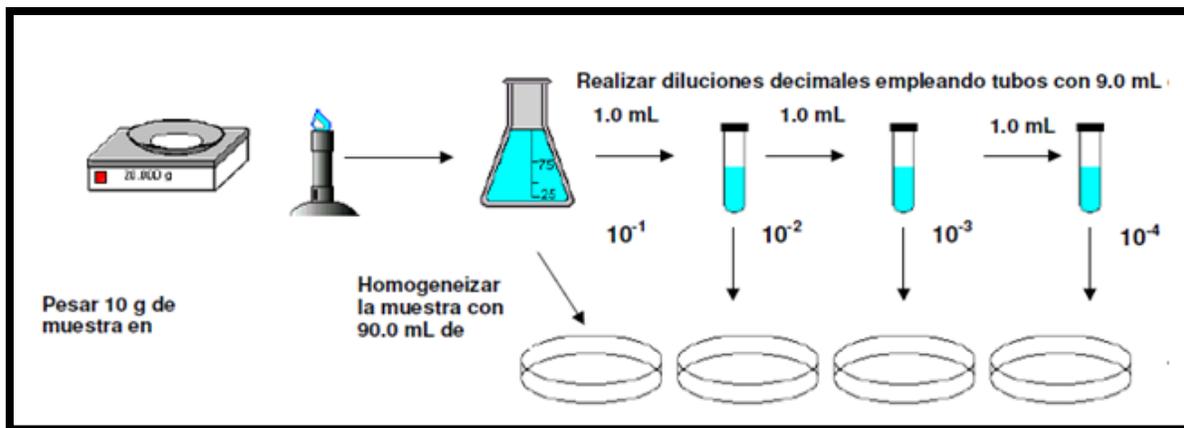


Figura 27. Determinación de coliformes totales.

Fuente: Camacho *et al.* (2009)

Después del tiempo de incubación se procedió a hacer el conteo de las colonias. Los resultados se expresaron según el número de colonias encontradas, si estas fueron menores a 15, solo se reporta el número de colonias seguido de la dilución, pero cuando la cantidad de colonias superaba las 15, el resultado se expresa como la cantidad de colonias por el inverso de la dilución.



3.7 Cuantificación de micotoxinas.

3.7.1 Aflatoxinas

El contenido de aflatoxinas se determinó de acuerdo al método descrito en la norma oficial mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2002, utilizando columnas de anticuerpos monoclonal para aflatoxinas. La extracción se realizó mediante la molienda de 25g de muestra con 5 g de cloruro de sodio y 100 mL de metanol. La mezcla se filtró a través de un papel filtro Whatman N° 1 pre-doblado, del filtrado se tomaron 10 mL y se diluyó en una solución de 40 ml de acetato de zinc/ cloruro de aluminio, la preparación diluida se pasó por un segundo filtrado con papel filtro de fibra de vidrio. Del filtrado se tomaron 10 mL y fueron transferidos a una columna de inmunoafinidad (Aflatest). Posteriormente, la columna se lavó dos veces con 10 mL de una solución de metanol- agua (20-80 v/v) (Figura 28). Finalmente se pasó por una columna de inmunoafinidad con 1 ml de metanol grado HPLC recolectándose en un vial, consecutivamente se adicionó a este eluido 1 mL de solución reveladora (solución de bromo al 0.002%), se agitó y se cuantificó el contenido de aflatoxinas en un fluorómetro VICAM serie 4.



Figura 28 . Extracción de Aflatoxinas: Filtrado del extracto.
Fuente: Elaboración propia.



3.7.2 Ocratoxinas.

La extracción se realizó mediante la molienda de 25g de muestra con 50 mL de metanol: 1% NaHCO₃ (70:30 v/v). La mezcla se filtró a través de un papel filtro Whatman pre-doblado, del filtrado se tomaron 10 mL y se diluyeron en una solución de 40 mL de PBS/ 2% Tween 20, la preparación diluida se pasó por un segundo filtrado con papel microfibra. Del filtrado se tomaron 10 mL y fueron transferidos a una columna de inmunoafinidad (Ochratest). Posteriormente, la columna se lavó dos veces, la primera con 10 mL de PBS/ 2% Tween-20, el segundo lavado se llevó a cabo con agua destilada. Las toxinas se eluyeron con 1.5 mL de la solución de elución Ochratest, se agitó y se cuantificó el contenido de ocratoxinas en un fluorómetro VICAM serie 4 (Prado *et al.*, 2003) (Figura 29).



Figura 29. Extracción de ocratoxina por el método de columna de inmunoafinidad.
Fuente: Elaboración propia.

3.8 Análisis estadístico

Para el tratamiento de resultados se realizó mediante análisis estadístico de varianza (ANOVA) y se aplicaron pruebas de rango múltiple (Tukey) para establecer diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre diferentes tratamientos, utilizando el programa estadístico SPSS versión 18



4. Resultados y Discusión





4.1 Evaluación del grano de cacao proveniente de Tabasco, en distintas etapas de su procesamiento.

4.1.1 Evaluación de los parámetros de color en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao.

El color es una propiedad de la materia directamente relacionada con el espectro de luz; con base al color se pueden identificar muchas de las propiedades de los alimentos, además de ser el primer contacto que tiene el consumidor con el producto (Badui, 1993), dada la importancia del color en los alimentos se evaluó en el grano de cacao.

En la Figura 30 se muestra la luminosidad de la semilla de cacao en distintas etapas de su procesamiento sin fermentar, fermentado y tostado provenientes de dos huertos del estado de Tabasco, mostrando diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre huertos.

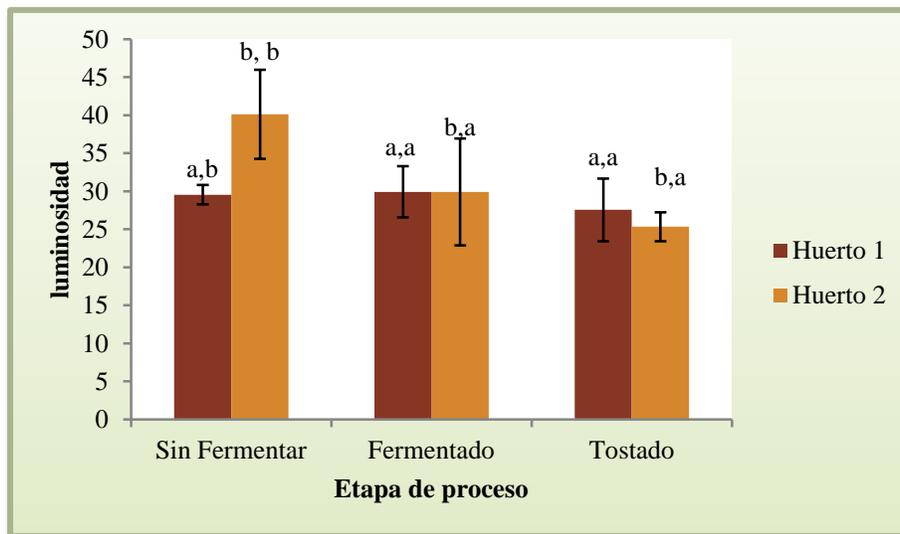


Figura 30. Luminosidad del grano de cacao en distintas etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia significativa, la primera letra corresponde a la diferencia por huerto, mientras la segunda concierne a la etapa de proceso ($p \leq 0.05$).



La luminosidad en los granos de cacao se vio afectada por la etapa de proceso; presentando mayor luminosidad en el cacao sin fermentar; de alrededor de 29.53 para la huerta 1, y de 40.12 unidades de luminosidad para la huerta 2. Observando que la luminosidad es menor en el cacao fermentado seguido del cacao tostado.

La luminosidad del grano de cacao sin fermentar de la huerta 2 tuvo una disminución de 37.87 % en comparación al cacao tostado de la misma huerta, existiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$); estos resultados pueden deberse a que el cacao sin fermentar contiene pigmentos polifenólicos, que cuando son perturbados y dependiendo del contenido de antocianina, el rango de pigmentos en las células de almacenamiento de polifenoles, le confieren un color morado oscuro a los cotiledones frescos de cacao forastero (Nazaruddin *et al.*, 2001); posteriormente para el desarrollo del aroma a partir de los precursores de los granos de cacao continúa durante el secado con el desarrollo de un color marrón característico. Las principales reacciones de oxidación de los polifenoles son catalizadas por polifenol oxidasas, dando lugar a nuevos componentes del aroma, y la pérdida de la integridad de la membrana, induce la formación del color marrón (González *et al.* 2012).

Mientras que en el proceso de tostado, el cacao sufre un pardeamiento adicional al observado durante etapas previas de fermentación y secado, en este proceso participan múltiples reacciones como son oxidaciones y polimerizaciones de polifenoles, degradación de proteínas, y reacciones de Maillard (Ramli *et al.*, 2006). Debido a estas reacciones producidas en el cacao durante el tostado se encuentra diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto al cacao que no ha sido fermentado, en cambio no se presentan diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre el cacao sin fermentar y fermentado. Los resultados obtenidos son menores a los obtenidos por Nogales *et al.* (2006) en cacao fermentado durante el secado solar, la diferencia puede radicar en la variedad de cacao utilizado así como las condiciones de proceso a las que es sometido el grano de cacao.

En la Figura 31 se aprecia la pureza del color, también llamado croma, se observa que existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por el huertos, siendo el huerto 2 el que mayor



croma presenta en cada una de las etapas de proceso, excepto en el cacao sin fermentar, en dicha etapa el huerto 1 presenta mayor pureza del color, durante la etapa de tostado el huerto 2 se encuentra en un 36% por encima del huerto 1.

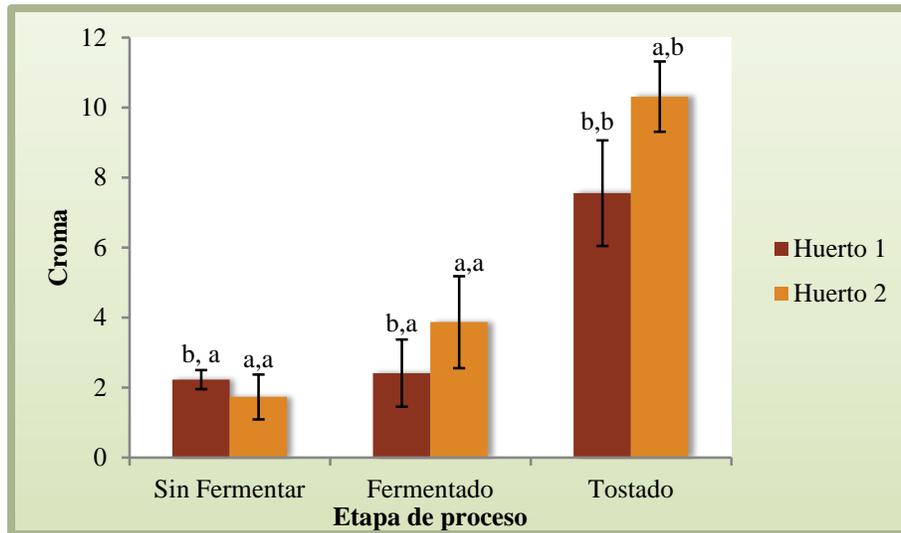


Figura 31. Croma del grano de cacao en distintas etapas de proceso, procedentes de dos huertos del estado de Tabasco. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde a la diferencia por huerto, mientras la segunda concierne a la etapa de proceso. ($p \leq 0.05$).

Los mayores valores de croma que se obtuvieron fue en el cacao tostado, los valores son 7.5 y 10.31 (Huerto 1 y 2, respectivamente), seguidos del cacao fermentado 2.41 y 3.86 por último el cacao sin fermentar 2.22 y 1.73, indicando que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el cacao tostado respecto al cacao que no ha sido fermentado y el que ya sufrió este proceso. No obstante las unidades presentadas de cromaticidad son bajas, ubicando al cacao según la escala CIELAB en la zona de grises, lo cual indica una baja pureza de color para este producto, sin importar el huerto utilizado o la etapa de proceso en la cual se tome la lectura de color.



4.1.2 Contenido de grasa en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao.

La grasa de cacao históricamente es de todas las grasas la más utilizada e importante en la confitería, no sólo por ser un constituyente natural del chocolate, sino también por disfrutar de la calificación de estándar de referencia que por muchos años se ha tratado de imitar (Liendo, 2004).

Dada la importancia de la grasa de cacao se evaluó su contenido; la Figura 32 muestra la variación del contenido de grasa en las etapas del procesamiento de cacao.

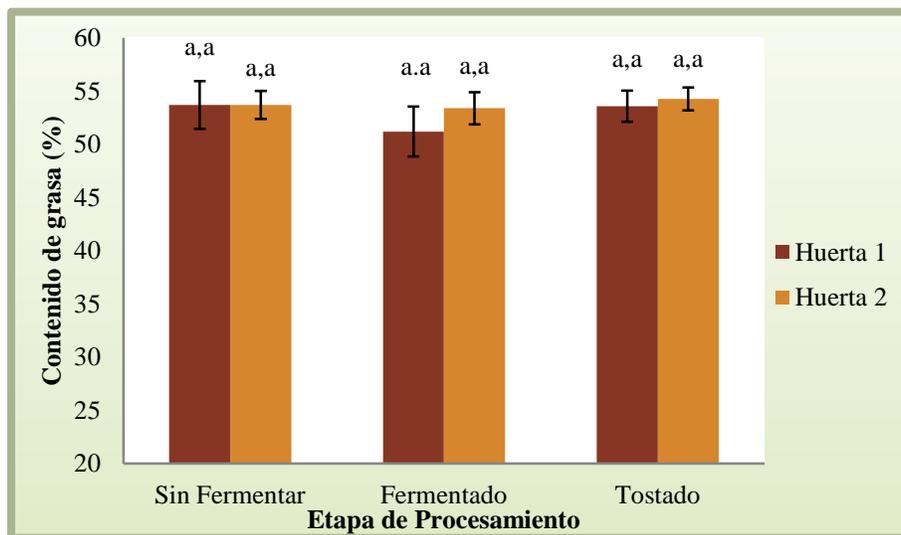


Figura 32. Contenido de grasa en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde a la diferencia por huerto, mientras la segunda concierne a la etapa de proceso ($p \leq 0.05$).

El contenido de grasa osciló entre 51.18 a 54.25%, estadísticamente no mostraron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) tanto por etapa de proceso como por huerto utilizado; lo que indica que el contenido de grasa no se ve modificado por el proceso del cacao, la fermentación que es un proceso fundamental del beneficio de cacao, no modifica en nada el contenido de grasa del grano de cacao, como lo hace con otros componentes. En cuanto la



evaluación por huerto, no existió variación debido a que fue cosechado durante la misma época, además de ser de la misma variedad, esto es similar a lo reportado por Reyes *et al.* (1999) que indico que el contenido de grasa puede variar entre 48 y 60% según su genotipo, además de que depende del nivel de precipitaciones recibidas por la planta. Los valores obtenidos concuerdan con lo reportado por Perea-Villamil *et al.* (2011) quienes evaluaron el cacao distintas regiones de Colombia reportando contenidos entre 51-56 %, mientras que en el cacao de Venezuela, Alvares *et al.* (2007) registro valores de 54-56 %.

En México no existe alguna norma que establezca los factores de calidad del cacao, como en otros países, como lo es Cuba, el cual establece que para un cacao de grado 1, siendo este el de mayor calidad, el contenido graso debe ser mayor a 50% de su composición, en base a este parámetro se puede establecer que el cacao de Tabasco pertenece al grado 1 según la normativa Cubana.

4.1.3 Evaluación del contenido de fenoles en distintas etapas del procesamiento del grano de cacao.

Recientemente ha habido un gran interés en polifenoles, en particular de flavonoides, como antioxidantes. Los flavonoides son sintetizados por todas las plantas vasculares. Como resultado, las frutas, verduras, frutos secos, semillas, hierbas, especias y granos enteros son fuentes de flavonoides en la dieta (Miller *et al.*, 2006), los flavonoides son los polifenoles más abundantes en el cacao, y fue evaluada la concentración de compuestos fenólicos totales en diferentes muestras del grano de cacao, los resultados se muestran en la Figura 33, en la cual se observa que respecto al huerto utilizado no presenta diferencia significativa, esto atribuido a que el grano utilizado procede de la misma variedad de cacao.

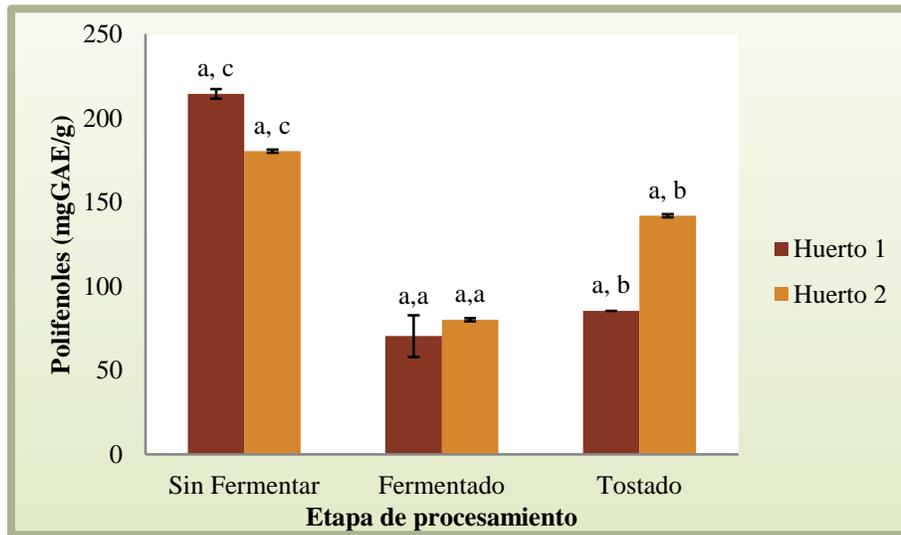


Figura 33. Contenido de polifenoles totales en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento, procedentes de dos huertas del estado de Tabasco. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde a la diferencia por huerto, mientras la segunda concierne a la etapa de proceso. ($p \leq 0.05$).

En cuanto a las etapas de proceso del grano de cacao; el cacao sin fermentar presentó el mayor contenido de fenoles 214.42 mgGAE/g para el huerto 1, seguido del cacao tostado del huerto 2 con 141.96 mgGAE/g y por último el cacao fermentado del huerto 1 con 70.27 mgGAE/g. El contenido de fenoles totales decrece en el cacao fermentado, siendo 67% menor en comparación con el cacao sin fermentar mostrando diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Esto concuerda con Amores *et al.* (2006) y Verdesoto (2009); quienes observaron que el contenido de polifenoles totales en muestras de grano de cacao no fermentado fue mayor que en muestras después de ser sometidas al proceso de fermentación, encontrándose una disminución hasta del 80 % durante esta etapa (Wollgast *et al.*, 2000). Esto se debe a que la fermentación, al ser el tratamiento post-cosecha esencial, permite desarrollar sabores adecuados y/o precursores de aromas, variando en gran medida el contenido de polifenoles totales, debido a que las paredes celulares se hacen más permeables y se producen fenómenos oxidativos, predominando las reacciones de oxidación y condensación de los compuestos fenólicos (Brito *et al.*, 2002).



Se observó un ligero incremento en el contenido de fenoles en los granos tostados de alrededor de 77.5% en comparación con los granos de cacao fermentados del huerto 2 y 21.43% para el huerto 1, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los granos fermentados y tostados, esto concuerda con lo reportado por Suazo (2012), el cual describe que en granos de cacao en condiciones de tostado de 150°C/45 min, hay un ligero incremento de contenido de fenoles, debido a la posible formación de otros compuestos en la reacción de Maillard y a la formación de nuevos compuestos polifenólicos provenientes de reacciones de epimerización y condensación, los cuales pueden presentar respuesta positiva al reactivo de Folin-Ciocalteu.

4.1.4 Determinación de capacidad antioxidante en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento.

La actividad antioxidante, consecuencia de la presencia y estructura química de los polifenoles, ha centrado interés en los posibles efectos beneficiosos para la salud de los alimentos y bebidas ricos en polifenoles (Scalbert y Williamson, 2000), el grano de cacao cuenta con altas concentraciones de polifenoles y a su vez con actividad antioxidante, la cual fue evaluada mediante el ensayo ABTS, los resultados se presentan en la Figura 34.

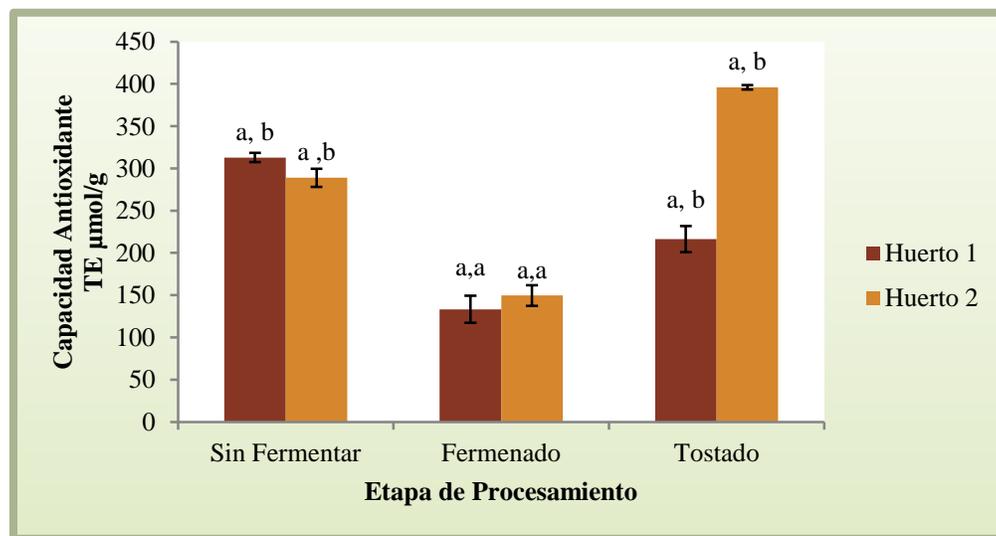


Figura 34. Capacidad antioxidante en granos de cacao en diferentes etapas de procesamiento, procedentes de dos huertos del estado de Tabasco. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra



corresponde a la diferencia por huerto, mientras la segunda concierne a la etapa de proceso. ($p \leq 0.05$).

Los resultados de capacidad antioxidante por medio del ensayo ABTS mostraron que no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los huertos evaluados, presentando 220.87 TE $\mu\text{mol/g}$ para el huerto 1, y de 278.14 TE $\mu\text{mol/g}$ para el huerto dos, debido a que el grano de cacao procede de la misma región en Tabasco, además de ser de la misma variedad de cacao.

Sin embargo la capacidad antioxidante se ve afectada por el proceso; se observa que el cacao no fermentado cuenta con un gran potencial antioxidante, y este potencial se ve reducido en la etapa de fermentación, esto concuerda con lo encontrado en el contenido de fenoles totales debido a la disminución de los compuestos fenólicos como lo son. catequinas, epicatequinas, antocianinas, pro-antocianidinas, ácidos fenólicos, taninos condensados, flavonoides y algunos otros compuestos minoritarios (Sánchez-Rabaneda *et al.*, 2003), estos y otros compuestos otorgan la actividad antioxidante al cacao; para la muestra del huerto de cacao 1, se aprecia que la reducción en la etapa de fermentación es de 57% de la capacidad antioxidante, mientras la muestra del huerto 2, presentó una disminución de 49%, por lo que existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre estas etapas de procesamiento.

Se observó (Figura 34) un aumento de la capacidad antioxidante en la etapa de tostado de 0.5 veces aproximadamente para el huerto 1 (216.39 TE $\mu\text{mol/g}$), mientras que en el huerto 2 la capacidad antioxidante fue de 395.98 TE $\mu\text{mol/g}$ lo que equivale a 1.5 veces el aumento en la reducción del radical, respecto al grano de cacao fermentado. Esto no parece concordar con lo descrito en la bibliografía donde se han observado descensos de la actividad antioxidante durante el tostado de cacao a temperaturas moderadas de 100-130°C (Arlorio *et al.*, 2007). No obstante las temperaturas altas pueden promover la formación de compuestos con actividad antioxidante como los productos de la reacción de Maillard (melanoidinas). Durante la última etapa de la reacción de Maillard, se forman estos compuestos poliméricos de color café. Las melanoidinas influyen en el color, sabor y



textura de los alimentos sometidos a temperaturas altas. Entre algunas actividades biológicas importantes de las melanoidinas se encuentran la actividad antioxidante y la quelante (Tagliazucchi *et al.*, 2010). El incremento de la capacidad antioxidante después del tostado se puede deber a que a pesar de que se pierden compuestos con capacidad antioxidante durante el proceso, la capacidad antioxidante se puede mantener o incrementar debido a la formación de estos nuevos compuestos señala Pérez *et al.* (2013) en estudios realizados en café.

Aunado a esto, estudios realizados por Kofink *et al.* (2007), quienes pretendieron evidenciar el efecto de los tratamientos industriales sobre la epimerización de catequinas en cacao, lograron demostrar que los granos no fermentados, secos, pero no tostados, contienen principalmente (+)-catequina y (-)-epicatequina; adicionalmente, en granos de cacao tostado también encontraron (-) catequina, lo cual atribuyeron a los procesos térmicos que contribuyen a la conversión de (-)-epicatequina a (-)- catequina. De igual manera En estudios realizados por Payne *et al.* (2010), encontraron que cuando se sometieron granos de cacao no fermentados a un proceso de tostado a 120°C, hallaban un incremento de hasta casi 7 veces en el contenido de catequina. Por lo que se puede atribuir el aumento de la capacidad antioxidante a un posible incremento de catequina en los granos de cacao tostados.

4.2 Evaluación de los chocolates artesanales provenientes de Tabasco.

4.2.1 Color en chocolates artesanales.

En 1986, la *Commission Internationale de L'éclairage* (CIE) estableció uno de los métodos de evaluación del color de más amplio uso en alimentos, conocido como CIELab, basándose en la determinación de valores triestimulo que permiten definir cada color a partir de unas coordenadas denominadas L*, a* y b*. El eje vertical L* es una medida de la luminosidad, y varía desde completamente opaco (0) a completamente transparente (100). En los ejes de tonalidad, a es una medida de la intensidad de color rojo (+) o verde (-), y b



de la intensidad del color amarillo (+) o azul (-) (C. I.E., 1986). A continuación se muestran los resultados obtenidos de luminosidad en chocolates con diferentes porcentajes de cacao procedente del estado de Tabasco.

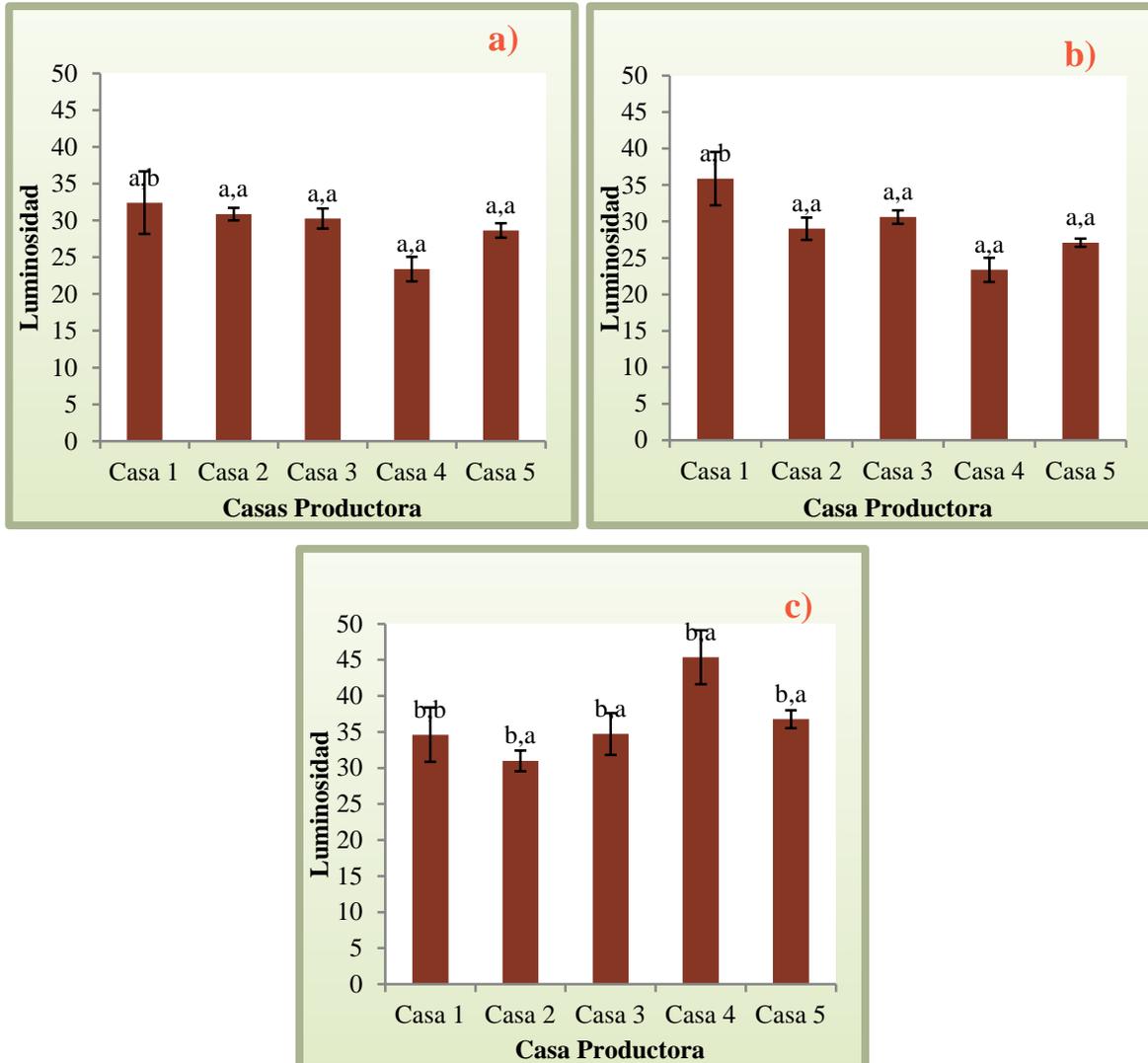


Figura 35. Luminosidad de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).



En la Figura 35 se muestran los resultados obtenidos de luminosidad en chocolates artesanales con 70, 80 y 100 % de cacao, se observa que la Casa 1 es estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) a otras casas productoras de chocolates artesanales.

Los chocolates que exhibieron mayor luminosidad fueron los provenientes de la casa 1 y casa 4, estos presentaron el fenómeno denominado Bloom de grasa, donde la grasa tiende a emigrar hacia la superficie y recrystalizarse en ella, formando manchas pálidas; este fenómeno es presentado debido a las fluctuaciones de temperatura y condiciones inapropiadas de templado que pudieron darse en el proceso de elaboración (Briones y Aguilera, 2004), por lo que al medir la luminosidad, se estaría midiendo también la de la grasa expuesta; sabiendo que la luminosidad es 0 para el negro y 100 para el blanco, y la grasa tiene una coloración grisácea en la superficie (González *et al.*, 2012), que es más cercana al color blanco, tiende a existir un aumento en la luminosidad de los chocolates.

Briones y Aguilera (2006) señalan luminosidades en chocolate en un rango de 25 a 45, por lo que todos los chocolates evaluados en este trabajo se encuentran en este intervalo.

La luminosidad de los chocolates con 100% de cacao (Figura 35C) fue mayor en comparación con los otros chocolates estudiados (Figura 35A) presentando un aumento en su luminosidad de 25.32 % con respecto a aquellos que contienen 70% de sólidos de cacao, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$), de igual manera presenta diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con aquellos que contienen 80% de cacao.

Los resultados obtenidos del croma evaluado en los chocolates con diferentes porcentajes de cacao se muestran en la Figura 36 A; representa el croma en chocolates con 70% de cacao, presentado la menor pureza de color la casa 2 con solo 4.21 unidades, mientras que el mayor croma está dado por las casas 1, y 3, con 7.9 unidades de croma.

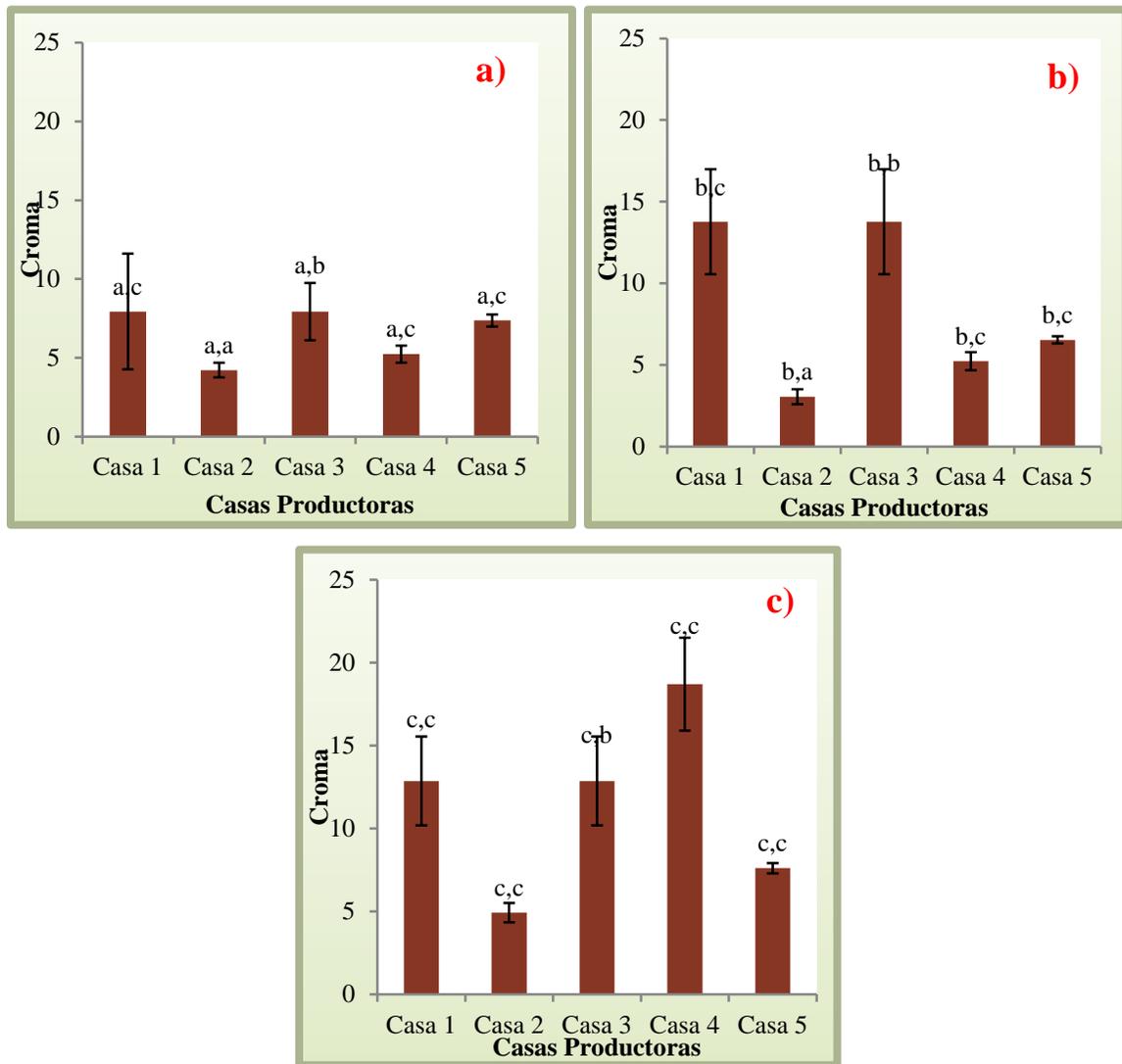


Figura 36. Croma de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

En la Figura 36B se presentan los resultados para chocolates con 80% de cacao, apreciándose una tendencia a aumentar la cromaticidad respecto a los chocolates evaluados con 70% de cacao, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) debido al contenido de sólidos de cacao en los chocolates, de igual forma los chocolates que presentan mayor cromaticidad son aquellos que pertenecen a las casa 1 y 3, aumentando la cromaticidad en



Cacao y Chocolate

73.64% en ambas casas, respecto a los chocolates con 70% de cacao (Figura 36A); no obstante, la casa 2 siguió manteniéndose con la de menor cromaticidad (3.04 unidades de croma), presentando una reducción de 27.79% unidades de croma respecto al chocolate de la casa 2 con 70% de cacao (4.21 unidades de croma).

En cuanto a los chocolates con 100% de cacao (Figura 36C), se mantiene la tendencia de aumentar la cromaticidad según los sólidos de cacao confiriendo mayor pureza al color del chocolate presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Respecto a los chocolates con 70 y 80% de cacao; de los chocolates que presentan mayor pureza de color fueron aquellos pertenecientes a la casa 4, el cual, aumentó aproximadamente 3 veces en comparación a la casa 4 con 70% de cacao (Figura 38).

El grado Hue (tono) (Tabla 17) para los chocolates con 70% de sólidos de cacao tuvo variaciones (29° - 49°) entre casas, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$), con este valor en la escala CIELAB indica la zona de colores rojos, tomando en cuenta la pureza de color, no pasó las 10 unidades, se puede decir que el chocolate con 70% de cacao se encontraron en la zona de tonos grises, esto significa que el rojo está muy mezclado con el gris, lo que indica un color de baja pureza.



Tabla 17. Ángulo Hue o de tono para chocolates artesanales.

Casa productora	Contenido de cacao	Angulo Hue (°)
C1	70	49.15± 9.22 a, c
	80	60.63± 4.34 a, c
	100	56.95± 5.26 b, c
C2	70	33.83± 2.07 a, a
	80	30.76± 2.00 a, a
	100	38.65± 2.61 b, a
C3	70	29.61± 4.81 a, b
	80	32.88± 7.22 a, b
	100	63.96± 12.25 b, b
C4	70	30.44± 4.89 a, b
	80	30.44± 4.89 a, b
	100	65.04± 3.71 b, b
C5	70	34.74± 1.37 a, b
	80	29.16± 1.02 a, b
	100	56.70±2.37 b, b

Nota. Las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

En el caso de los chocolates con 80% de sólidos de cacao, el ángulo Hue (tono) no tuvo variaciones, encontrándose dentro de los 30°, excepto en la casa 1, la cual tuvo 60° mostrando diferencia significativas respecto a las otras casas ($p \leq 0.05$). En los chocolates con 100% de sólidos de cacao, se observa que en 4 de las 5 casa evaluadas, presentaron un ángulo de tono que oscila entre 56 y 60° aproximándose a la zona de amarillos según la escala CIELAB, excepto la casa 2, presentando 38° , ubicada en la zona de colores rojos.

Los resultados del ángulo Hue o tono, muestran un ascenso respecto al contenido de cacao, siendo de 70% a 80% no significativo ($p \geq 0.05$), mientras que los chocolates con 100% muestran diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a los otros porcentajes de sólidos de cacao en chocolates, con un ascenso del 56.74% en relación a el chocolate con 80% de cacao.



4.2.2 Contenido de Humedad en chocolates artesanales del estado de Tabasco.

El contenido de humedad es un parámetro importante en los chocolates, pues este además de ayudar a disminuir el riesgo microbiológico, nos dará ese sonido característico del chocolate al mordelo. A continuación se muestran los resultados obtenidos para los chocolates con diferentes porcentajes de cacao.

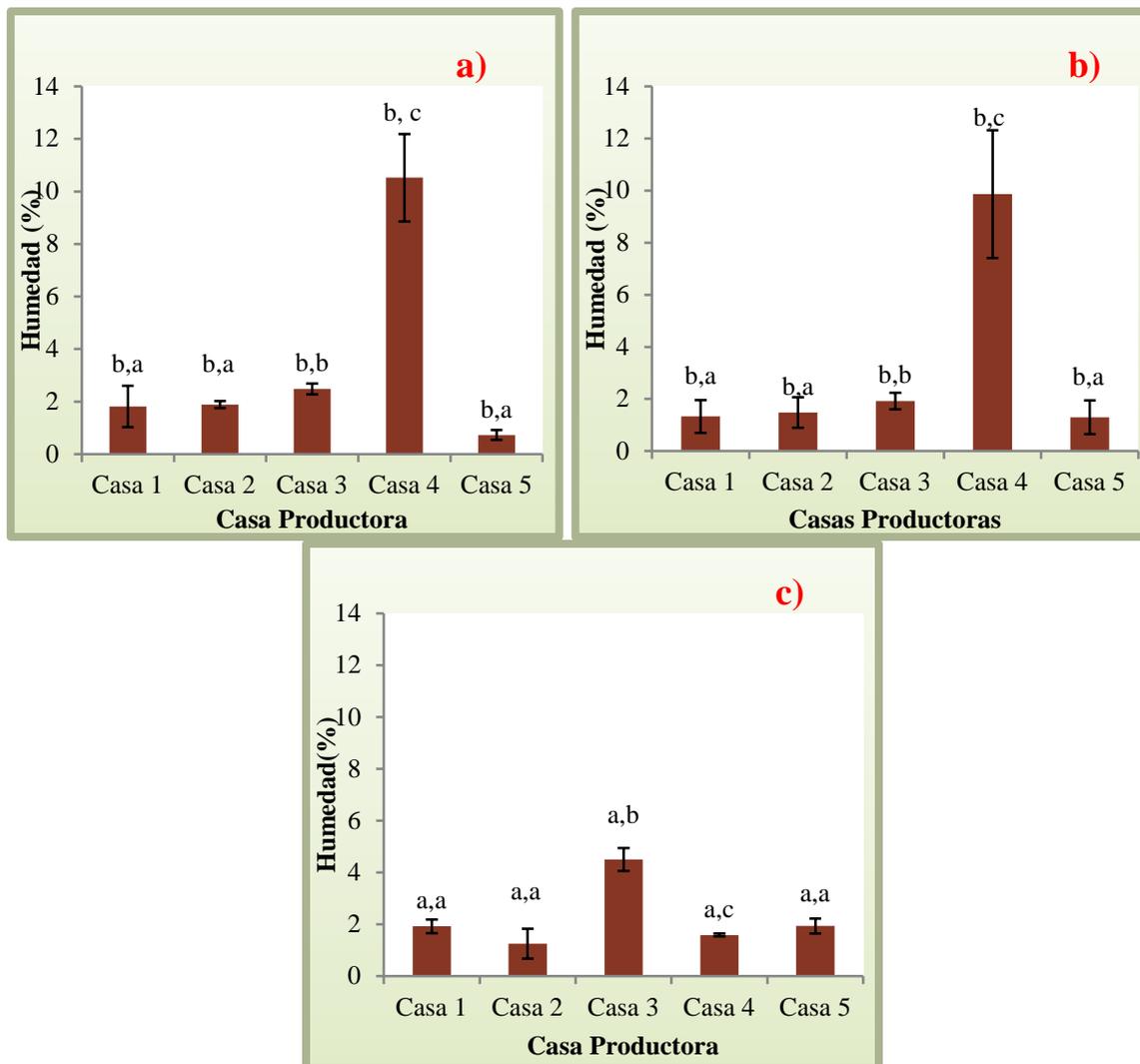


Figura 37. Contenido de humedad de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen



diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

Los chocolates con 70 % de cacao (Figura 37A) presentaron un contenido de humedad de alrededor del 2%, a excepción de los chocolates de la casa 4 que presentó el mayor contenido de humedad 10.5%, presentado diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a las otras casas, mostrando un 93.16% más humedad con respecto al resto de las casas, esto es debido a las características de estos chocolates, dado que el chocolate de la casa 4, fue elaborado con miel, esta le proporcionó mayor humedad al chocolate aportándole diferentes características, además que al ser chocolates artesanales son elaborados bajo distintas condiciones de proceso; Mércia de Freitas y Suzana (2004) hacen referencia a que la humedad de los chocolates depende directamente de la humedad de los ingredientes y/o de procesamiento del chocolate, ellos evaluaron distintos chocolates del mercado brasileño, reportando un intervalo de humedad de 0.37-4.04 %.

Con respecto a los chocolates con 80% de cacao (Figura 37B), la menor humedad concierne a los chocolates pertenecientes a la casa 5 con 1.29% de humedad, sin embargo, no presenta diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a la casa 1 y 2; la casa 4 al igual que en los chocolates con 70% de cacao (Figura 38A) es la que presenta el mayor contenido de humedad (9.86%).

En los chocolates con 100% de cacao la casa 4 mostró un descenso de 87.35% de humedad (Figura 37C), mientras que las otras casas mantuvieron la humedad aproximadamente al 2%. Siendo la casa 3 la que presentó mayor humedad con 4.50%.

El efecto presentado por el porcentaje de sólidos de cacao, muestra un descenso de humedad a mayor contenido de cacao; los chocolates con 70 y 80% de cacao muestran humedades similares, por lo cual estadísticamente no presentan diferencia significativa ($p \geq 0.05$), pero al compararlos con aquellos con 100% sólidos de cacao, se observa una notable diferencia



Estudios anteriores han reportado contenido de humedad en intervalos de 1.5% a 2% en chocolates con leche y con almendras. (INCAP, 2012); para chocolates de mesa del 0.63-1.02 % (Caldrona y Osorio, 2003); mientras que Romanchick (2002) reportó valores de 6-8.5 % de humedad, por lo que los chocolates artesanales se encuentran dentro de los datos reportados para distintos chocolates.

4.2.1 Contenido de grasa en chocolates artesanales del estado de Tabasco.

El contenido de grasa de un chocolate depende en gran medida de la variedad de cacao empleado para su elaboración, en estas muestras osciló de 39 a 55% (Figura 38), no viéndose afectado por el contenido de cacao en el chocolate, no representa diferencia significativa ($p \geq 0.05$). El contenido de materia grasa debe ser superior al 25%, especifica la norma NMX-F-061-1964 para chocolates amargos, todos los chocolates evaluados superaron lo establecido por esta norma.

El contenido de grasa para los chocolates con 70% de cacao se observa en la Figura 38, mostrándose que la casa productora 1 es la que mayor contenido de grasa tiene en sus chocolates, con 52% para este porcentaje de cacao, mientras que la casa 3 contiene 39.41% de grasa, presentando una disminución de 25.46 % respecto a la casa 1, exhibiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

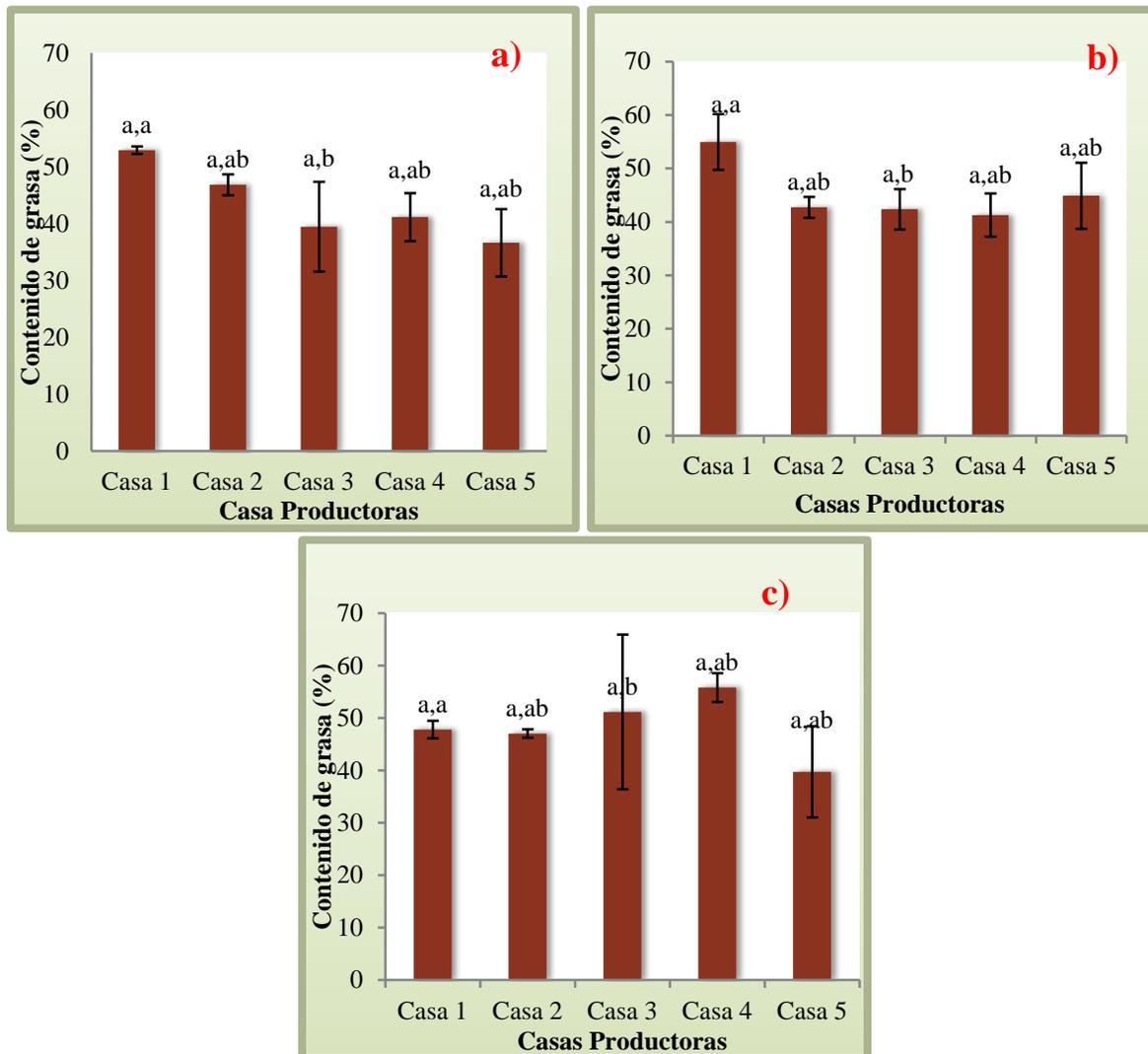


Figura 38. Contenido de grasa de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

Resultados similares se pueden observar en los chocolates de 80% y 100% de cacao (Figura 38 B y C respectivamente). En el caso de los chocolates con 80%, 4 de las 5 casas evaluadas presentaron un contenido graso menor al 45%; mientras que la casa 5 presentó un contenido de grasa del 54.94%, sin embargo, no existe diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a la casa 1, 2 y 4.



El mayor contenido de grasa se da en los chocolates con 100% de cacao (Figura 38C), sobresaliendo el chocolate de la casa 4 100% de cacao, con un contenido de 55% de grasa; mientras que el chocolate que pertenece a la casa 5 obtuvo 39.72 % de grasa, siendo de los chocolates con 100% de cacao con el menor contenido de grasa; las otras casas de chocolates el contenido de grasa se presentó en un intervalo de 47-51%.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Naranjo (2011) en chocolates de Tabasco, obteniendo resultados de 23-48% de grasa.

La importancia del contenido de grasa en los chocolates radica en un 60% de la grasa de chocolate es saturada, rica en ácidos grasos como el esteárico (34%) o el palmítico (28%), motivo por el cual es difícil que un chocolate adquiera un sabor rancio. Pero contiene también ácidos grasos insaturados como el oléico (35%) (de ese que abunda en el aceite de oliva y en el aguacate) y juega un papel preponderante en la protección vascular al disminuir el colesterol y las LDL (Lipoproteínas de Baja Densidad) y aumentar las HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad o colesterol bueno) (López-Munguía, 2011).

4.2.2 Contenido de Polifenoles en chocolates artesanales procedentes del estado de Tabasco.

El consumo de alimentos con alto contenido de antioxidantes como los polifenoles es cada día más trascendente por sus beneficios sobre la salud. A continuación se muestran los resultados obtenidos para los chocolates artesanales provenientes del estado de Tabasco.

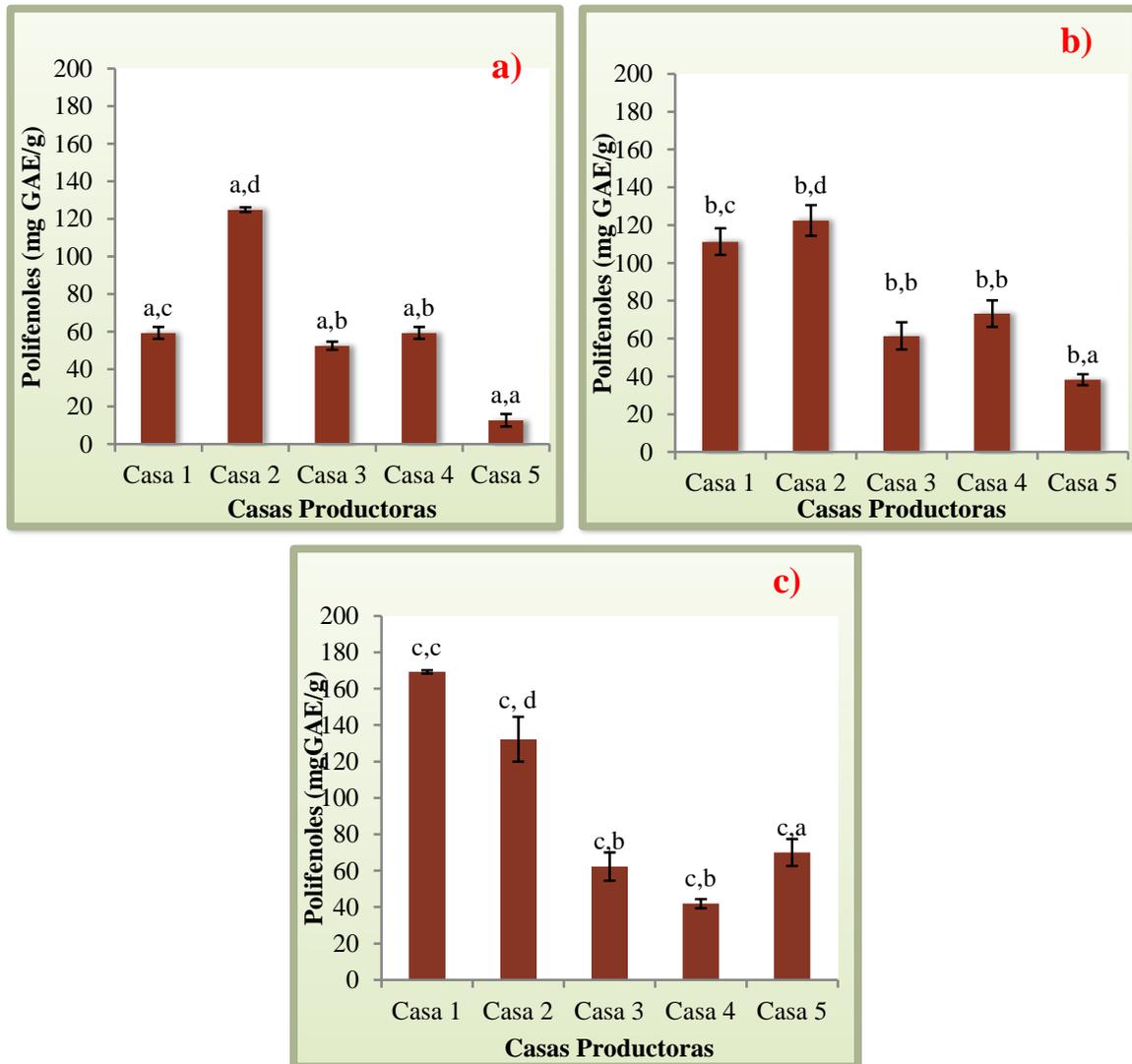


Figura 39. Contenido de polifenoles totales de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

Los chocolates con 70% de cacao (Figura 39A) presentaron contenidos de fenoles alrededor de 12.5-124.83 mg GAE/g, los chocolates de la casa 2 presentaron el mayor cantidad de fenoles 124.83 mg GAE/g seguida de la casa 4 con 59.26 mg GAE/g mientras que la casa 5 presentó 12.5 mg GAE/g, por lo cual existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$), esto puede deberse a que al ser chocolates artesanales no tienen un proceso estandarizado, y cada



productor elabora los chocolates según sus propias tradiciones, y es posible que los chocolates de la casa 2 tuvieran una mayor exposición al calor por lo cual puede haber disminuido los niveles de polifenoles; no obstante, este intervalo es superior al reportado para el té verde (46,46 mgGAE/g) así como mayor contenido de polifenoles que la manzana (3,6-5,3 mg GAE/g), la pera (3,3-4,6 mg GAE/g) y el kiwi (3,0 mg GAE/g), lo cual posiciona al chocolate como un alimento funcional (Imeh y Khokhar, 2002).

Cabe destacar que los resultados de fenoles obtenidos son mayores a los expresados por Miller *et al.*, (2006), quienes evaluaron chocolates comerciales con 70% de cacao procedentes de Estados Unidos, encontrando valores de apenas de 11 a 15 mg GAE/g, por lo que el contenido de polifenoles de los chocolates artesanales es aproximadamente 8 veces más que los comerciales con el mismo contenido de cacao. En un estudio realizado en 2009 por Perea-Villamil *et al.* señalan un contenido de 33.98 mg GAE/g para chocolates de mesa amargos de Colombia, y nuevamente los elaborados por los artesanos de Tabasco cuentan con mayor contenido de polifenoles, la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el cacao y por lo tanto en el chocolate depende las características genéticas, el clima (temperatura y humedad), propiedades del suelo, la región de crecimiento, entre otros aspectos (Jalil e Ismail, 2008)

Los chocolates con 80% de cacao (Figura 39 B) presentaron un incremento en el contenido de polifenoles con respecto a los que contenían 70% de sólidos de cacao por lo que presentan diferencia significativa ($p \leq 0.05$). En cuanto a las casas productoras el mayor contenido de polifenoles se presenta en la casa 2 con 122.48 mgGAE/g seguida de la casa 1 con 111.24 mg GAE/g y el menor contenido se da en la casa 5 con 38.24 mgGAE/g.

La cantidad de polifenoles presentes en chocolates con 100% cacao, mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con los chocolates de 70 y 80% de cacao (Figura 39C), esto debido a que existió una tendencia a aumentar según el contenido de cacao. En los chocolates con 100% de cacao el mayor contenido se dio en la casa 1 con 169.21 mg GAE/g, seguido de la



casa 2 con 132.18 mg GAE/g y el menor fue del chocolate de la casa 4 con 41.92 mg GAE/g. La casa 4 y 3 no presentan diferencia significativa ($p \geq 0.05$).

Borchers *et al.* (2000) menciona que estos chocolates contienen catequina y epicatequina, flavonoles como la quercetina y antocianidinas como las cianidinas y sustancias estimulantes como las metilxantinas (teobromina y cafeína), pese a los beneficios que conlleva el consumo de chocolates con 100% de cacao no son consumidos directamente debido a que son muy amargos y astringentes.

4.2.3 Capacidad Antioxidante de chocolates artesanales provenientes del estado de Tabasco.

La capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él. El contenido de los principales antioxidantes en los alimentos varía de un alimento a otro. El hecho que los alimentos difieran en su poder antioxidante explica que también difieran en su capacidad para prevenir las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) asociadas al estrés oxidativo (Morillas y Delgado, 2012).

Debido a un alto contenido de procianidinas oligoméricas que presentan mayor capacidad antioxidante que polifenoles monoméricos, el cacao y productos derivados de cacao poseen excelentes propiedades antioxidantes Komes *et al.* (2013), dicha propiedad se puede observar en la Figura 42 donde se exhibe la capacidad de los chocolates para eliminar el catión radical ABTS⁺ presente en el medio de reacción.

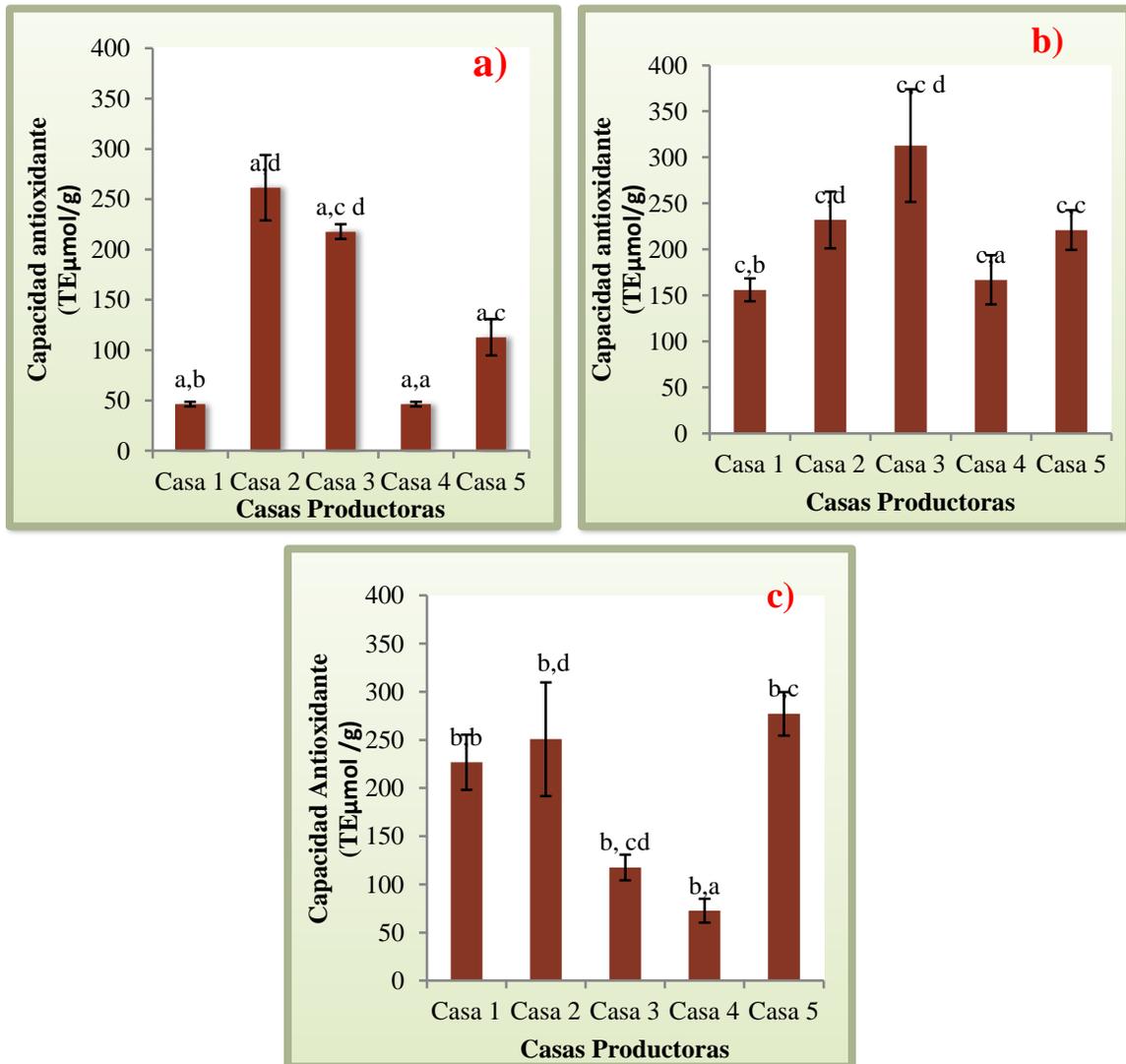


Figura 40. Capacidad antioxidante de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

En la Figura 40 A donde se observa el potencial antioxidante de los chocolates con 70% de cacao señala a los chocolates provenientes de la casa 2 como los que mayor capacidad antioxidante (261.45 TEμmol/g) y la casa 4 la que menor reducción del radical ABTS presenta con 46.37 TEμmol/g, existiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre estas casas, sin embargo la casa 2 y 3 no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), presentando



valores similares de capacidad antioxidante; los resultados obtenidos, son superiores a los reportados por Viluzca *et al.* (2012) quienes estudiaron chocolates de Venezuela con 70% de cacao reportando capacidad antioxidante de 3.06 TE μ mol/g. Taberero *et al.* (2006), evaluaron la capacidad antioxidante en chocolates amargos obteniendo como resultado 78.80 TE μ mol/g y en chocolates con leche 42.72 TE μ mol/g

En la Figura 40 B se observan los resultados de chocolates con 80% de cacao, destacando el chocolate de la casa 3, la cual mostró las mejores propiedades de depuración de radicales ABTS (312.71 TE μ mol/g), este resultado es superior a lo presentado por Perea-Villamil *et al.* (2009) con 270.11 TE μ mol/g en chocolates amargos. Respecto a los chocolates de 100% (Figura 40 C) las casas 1, 2, y 5 superan los 200 TE μ mol/g, destacando las casa 5 con 100% de cacao con la mejor capacidad antioxidante (277.00 TE μ mol/g), estos resultados sobresalen a los chocolates venezolanos reportados por Viluzca *et al.* (2012) el cual presentó de 1.93 TE μ mol/g de inhibición del radical ABTS.

Un ascenso en la capacidad antioxidante se observó según la cantidad de sólidos de cacao que contenían los chocolates de la casa 1, Casa 5, sin embargo, no todos presentaron esta tendencia, existiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las muestras según su contenido de cacao. La diferencias que existen entre cada una de las casas que fueron estudiadas puede atribuirse a los granos utilizados así como al proceso de manufactura del producto, causando alteraciones químicas en el contenido de antioxidantes.

4.2.4 Contenido de materia extraña en chocolates artesanales con diferentes porcentajes de cacao provenientes del estado de Tabasco.

A diferencia de contaminantes como los químicos y los microbiológicos, la contaminación física es macroscópica, es decir, en la mayoría de los casos se aprecia a simple vista. Sin embargo, no por ello deja de ser una contaminación alimentaria que debe evitarse ya que, al igual que ocurre con otros contaminantes, pone en peligro la seguridad del alimento. Se



relaciona con la presencia de cualquier elemento diferente a éste, que ha llegado hasta él de forma accidental (Eroski Consumer, 2011)

La materia extraña es una sustancia, resto o desecho orgánico o no, que se presenta en un producto por contaminación o por manejo poco higiénico del mismo durante su elaboración, considerándose entre otros. Excretas y pelos de cualquier especie, fragmentos de hueso e insectos, que resultan perjudiciales para la salud (NOM-186-SSA1/SCFI-2002), debido a esto, se realizó la evaluación de materia extraña en chocolates artesanales. La Tabla 18 presenta el contenido de materia extraña en chocolates artesanales.

Tabla 18. Contenido de materia extraña en 50 g de chocolate.

Muestras	Porcentaje de cacao (%)	Contenido de Pelos de Roedor en 50 g	Contenido de Fragmentos de insectos en 50 g
Casa 1	70	5.5	NP
	80	16.5	3.5
	100	5	NP
Casa 2	70	0.5	8
	80	1.5	6
	100	1	7.5
Casa 3	70	2	0.5
	80	NP	NP
	100	NP	1
Casa 4	70	NP	NP
	80	NP	NP
	100	NP	NP
Casa 5	70	NP	NP
	80	NP	NP
	100	NP	NP

*NP= No presente

El 46.6 % de las muestras presentó pelos de roedor, siendo el chocolate con 80% cacao de la casa 1 el que presentó mayor contenido de pelos de roedor, con 16.5 pelos presentando 3 veces más pelos de roedor que lo permitido por la norma NOM- 186- SSA1/SCFI-2002 la cual establece un máximo de 5 pelos de roedor por 50g de muestra, mientras que las casas 4



y 5 no presentaron materia extraña, esto sugiere una mayor higiene y control en el proceso de elaboración de los chocolates artesanales en la casa 4 y 5.

La presencia de fragmentos de insecto se da en el 40% de las muestras analizadas, obteniéndose hasta 8 fragmentos de insecto en el chocolate de la casa 2 con 70% de cacao. La norma oficial mexicana (NOM- 186- SSA1/SCFI-2002) indica como límite máximo 70 fragmentos de insectos, sin embargo ninguna de las muestras analizadas presentó tal cantidad, por lo que cumplen con lo establecido por la norma para la presencia de insectos podemos considerarlos como chocolates de calidad aptos para el consumo, excepto los chocolates pertenecientes a la casa 1 con 70 y 80 % de cacao, por su elevado contenido de pelo de roedor.



Figura 41. Insecto encontrado en chocolate.

4.2.5 Conteo de Coliformes totales en chocolates artesanales del estado de Tabasco.

La seguridad es solamente un aspecto que domina la calidad de un alimento. Al contrario de otros aspectos de la calidad, es un hecho que el consumidor solamente lo note por su ausencia, normalmente los consumidores dan por hecho que todos los alimentos que consumen son necesariamente seguros (Canacacao, 2012).

Las especificaciones microbiológicas para chocolates y pasta de cacao, se muestran en la norma mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2002, la cual establece como máximo un total de 10 UFC/g de muestra.



La muestra de chocolate de la casa 4 con 100% de contenido de cacao (Figura 42) obtuvo un total de 720 UFC/g el cual supera 72 veces la cantidad permitida por la norma antes mencionada. Las etapas del procesado que siguen al tostado de los granos, cotiledones o licor de cacao, tales como el molido, refinado, conchado, atemperado tienen poco efecto sobre la flora final del chocolate, incluso si alcanzan temperaturas de 60-80°C, pues los microorganismos están protegidos por su baja actividad de agua y su alto contenido de grasa (ICMSF,1998). La presencia de bacterias se debe a la carga inicial en los granos de cacao, al tipo de tostado aplicado, adición de ingredientes o a las malas prácticas de manufactura que está relacionado con el lavado de manos y sanitización de los utensilios utilizados en el proceso (Bravo Martinez, 2004).



Figura 42. Chocolate con presencia de coliformes totales.

Los chocolates de las otras casas, representando el 93% de las muestras analizadas, cumplieron con la norma mexicana, al no contener coliformes totales mostrando en general condiciones de higiene adecuadas, lo cual es un aspecto positivo, ya que se ha demostrado en algunos estudios la clara significancia estadística en las características higiénicas de los establecimientos y la aparición de bacterias coliformes (Carrascal *et al.*, 2002).



4.3 Evaluación de la presencia de micotoxinas (Aflatoxinas y Ocratoxinas) en cacao con diferentes etapas de proceso procedente del estado de Tabasco.

El aseguramiento de la inocuidad de los alimentos se ha constituido en los últimos años en una meta importante de acción internacional. Resultan preocupantes tanto los peligros microbiológicos como los químicos. Entre los peligros químicos la Organización Mundial de la Salud ha caracterizado recientemente la contaminación de los alimentos y de las raciones con micotoxinas (OMS, 2002). En varias partes del mundo, las micotoxinas actualmente representan un tema de la mayor importancia relacionado con la inocuidad de los alimentos.

4.3.1 Contenido de aflatoxinas en grano de cacao en distintas etapas de procesamiento.

Se evaluó el contenido de aflatoxina en el grano de cacao sin fermentar, fermentado y tostado de dos huertos de Tabasco, sin embargo, no se detectó la presencia de esta micotoxina en ninguna de las muestras de grano de cacao, esto puede ser debido a que fue almacenado bajo condiciones apropiadas de humedad y temperatura, de esta manera es bastante estable y su deterioro muy lento (Doyle *et al.* 1997). En estudios recientes se ha estudiado la acción de los polifenoles en la síntesis y acumulación de aflatoxinas en los alimentos ha sido observado por Molyneux *et al.* (2007). Ellos evaluaron el efecto de diferentes constituyentes fenólicos comúnmente presentes en las semillas oleaginosas (nueces, almendras y pistachos) en la producción de micotoxinas y la inhibición encontrada entre 59,5 y 99,8% de la síntesis de aflatoxinas. Se sabe que el cacao es un producto rico en polifenoles los cuales podrían actuar como inhibidores de las aflatoxinas en este producto

4.3.2 Contenido de ocratoxina A en grano de cacao en distintas etapas de procesamiento.

En la Tabla 19 se puede observar la presencia de la micotoxina Ocratoxina A (OTA) en etapas del procesamiento de cacao, para dos huertos, los resultados revelan que no existe



presencia de la toxina en el grano de cacao que no sufrió el proceso de fermentación, sin embargo se muestra la existencia de 0.7 µg/kg en el grano fermentado del huerto 2, tal concentración disminuyó en un 50% durante la etapa de tostado para este huerto, ya que el tostado del cacao contribuye a la reducción de contaminantes presentes. Este tratamiento se considera suficiente para eliminar las células vegetativas de microorganismos, pero por otro lado, se sabe que algunas micotoxinas, como las aflatoxinas y la ocratoxina mantienen una cierta estabilidad durante la mayoría de las etapas de procesamiento térmico de los alimentos (ICMSF, 2005; Ferraz *et al.*, 2010; Manda *et al.*, 2009).

Tabla 19. Presencia de Ocratoxina A en grano de cacao procedente de Tabasco, en distintas etapas de proceso.

Huerto	Etapas de proceso	Contenido de ocratoxina (µg/kg)
Huerto 1	Sin Fermentar	NP
	Fermentado	NP
	Tostado	0.6
Huerto 2	Sin Fermentar	NP
	Fermentado	0.7
	Tostado	0.35

*NP= No presentó.

En cuanto al cacao del huerto 1, la ocratoxina A, se hace presente hasta la etapa de tostado, esto puede ser debido a la producción de micotoxinas durante el secado, proceso siguiente a la fermentación del cacao, ya que durante esta etapa hay suficiente agua para sostener el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas.

La comisión del CODEX ALIMENTARIUS en el documento de debate sobre la ocratoxina en el cacao, reportaron estudios por contaminación de OTA en el 17,6% de 56 muestras de granos de cacao, en concentraciones de 100 a 500 µg/kg. En el análisis de granos de cacao tostados, 3 de las 19 muestras analizadas en busca de OTA resultaron contaminadas (100 µg/kg), en este mismo documento se señala que a partir de 1999 la industria europea ha



analizado muestras del grano de cacao importados, de distinto orígenes, encontrando contaminación en todos las regiones productoras (aunque no se incluyeron todos los países productores) (CX/CF 07/1/19).

De igual manera Mounjouenpou *et al.* (2008) evaluaron el contenido de Ocratoxina A en cacao fermentado y seco de la región de Kumba, Camerún, encontrando una contaminación de 0.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hasta 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (límite para café tostado), y asocio la contaminación al *A. niger*.

4.3.3 Contenido de Aflatoxinas en chocolates provenientes del estado de Tabasco

La Tabla 20 se presentan los resultados obtenidos del contenido de aflatoxinas totales realizado en chocolates artesanales. Del total de muestras solamente el 33% presentó contaminación por esta micotoxina, presentando mayor incidencia en chocolates con 70% de cacao; se muestra que de las 5 casas productoras de chocolates evaluadas las muestras de la casa 5 presentaron aflatoxinas, esto sugiere que el cacao utilizado para la elaboración de sus chocolates pudo estar contaminado con aflatoxinas, debido a una mala o nula fermentación, que impidió la distribución de la cafeína de cacao, en la cual se encuentran metilxantinas que inhiben la producción de aflatoxinas, provocando la falta de disponibilidad del zinc, que es esencial para el desarrollo de esta micotoxina (Stevenson *et al.*, 1993).

Sin embargo, todos los chocolates evaluados cumplieron con el límite establecido por la norma oficial mexicana (NOM- 186- SSA1/SCFI-2002), la cual indica que para consumo humano los alimentos deberán contener un máximo de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.



Tabla 20. Contenido de aflatoxinas en chocolates artesanales de Tabasco.

Chocolate	Contenido de Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Casa1-70	2
Casa 1-80	2
Casa 1-100	1
Casa 2- 70	1
Casa 3-70	2

El contenido de aflatoxinas en las muestras evaluadas de chocolate fue mayor a los reportado por Copetti *et al.* (2012) quienes en Brasil detectaron en chocolates negros de $0.43\mu\text{g}/\text{kg}$ y en chocolates amargos $0.66\mu\text{g}/\text{kg}$; mientras que en Japón (Kumagai *et al.*, 2008) detectaron la presencia de aflatoxina en 22 de 42 productos, con un mínimo de contaminación de $0.18\mu\text{g}/\text{kg}$ y máximo de $0.60\mu\text{g}/\text{kg}$.

4.3.4 Contenido de Ocratoxina A en chocolates provenientes del estado de Tabasco

La Ocratoxina A (OTA) es una micotoxina neurotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena y teratogénica de gran actualidad que contamina alimentos de consumo humano, principalmente cereales y derivados, bebidas alcohólicas y productos de molienda (café, cacao). Dada la importancia de esta micotoxina, fue evaluada en los chocolates artesanales, los resultados se muestran en la Figura 43.

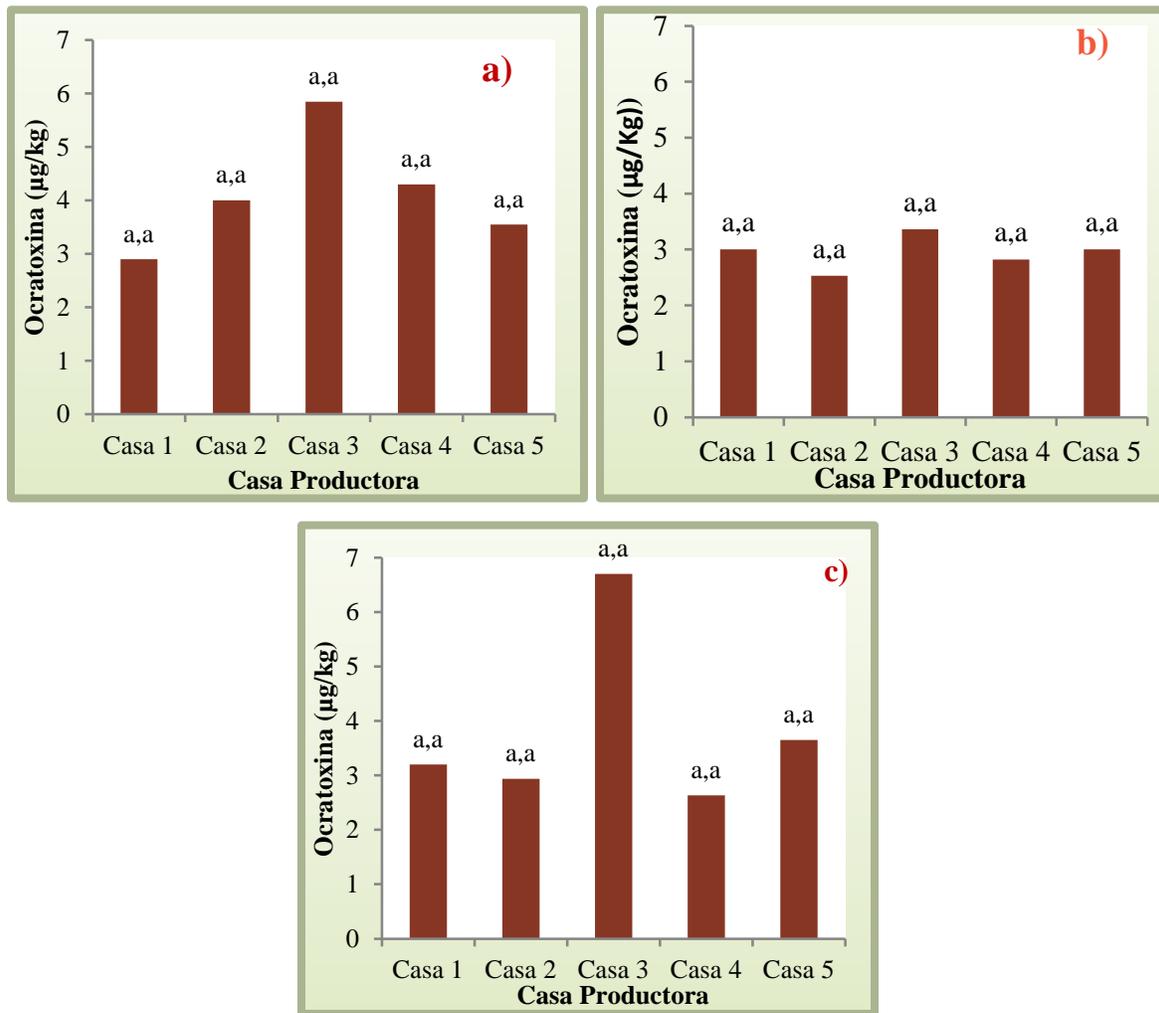


Figura 43. Presencia de Ocratoxina A de distintos chocolates artesanales procedentes de diferentes casas productoras de Tabasco. A) Chocolates artesanales con 70% de cacao, B) chocolates artesanales con 80% de cacao, C) Chocolates artesanales con 100% de cacao. Las barras verticales representan la \pm D.E. las medias con la misma letra no tienen diferencia, la primera letra corresponde al porcentaje de cacao, mientras la segunda concierne a la diferencia por casa ($p \leq 0.05$).

La Figura 43A se observa el contenido de Ocratoxina A en los chocolates con 70% de sólidos de cacao; la muestra con mayor presencia fue aquella que corresponde a la casa 3 con un contenido de ocratoxina de 5.85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y la casa 1 fue la que presentó menor contenido (2.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$), sin embargo, estos resultados son superiores a los mostrados por Copetti *et al.* (2012) en chocolates de Brasil, con 70% de cacao aproximadamente, los cuales presentaban 0.31 hasta 0.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de ocratoxina A.



La presencia de Ocratoxina en los chocolates con 80% de cacao se observa en la Figura 43B, el contenido de ocratoxina A en el chocolate está por debajo de los 4 μ g/kg en todas las muestras; la casa productora 3, presentó 3.36 μ g/kg, mientras que la casa 2, presentó el menor contenido de OTA para chocolates con 80% cacao, sin embargo, no existe diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre cada una de las casas productoras.

En el caso de la Figura 43C, muestra la presencia de la OTA en chocolates con 100% de cacao, se observa que no existe diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre casas que producen los chocolates, sin embargo, la casa 3 presenta el mayor contenido de OTA alrededor de 7 μ g/kg; no obstante, la comisión del CODEX ALIMENTARIUS en el documento de debate sobre la ocratoxina en el cacao señala un estudio realizado en 2005 con 41 chocolates en venta minorista en Japón, todas las muestras mostraron alguna concentración de contaminación por OTA. Las concentraciones de 14/41 muestras fueron inferiores al límite de cuantificación (0,10 μ g/kg), las restantes muestras sus concentraciones fueron superiores a 0,20 μ g/kg, todas en el rango de <0,10 a 0,94 μ g/kg (CX/CF 07/1/19). Mientras que Brera *et al.*(2011) evaluó el contenido de OTA en diversos chocolates del mercado italiano, encontrando en chocolates negros contaminación de 0.74 μ g/kg, en otro estudio que fue realizado en España, se analizaron 296 muestras de distintos tipos de chocolate y cacao en polvo de España, de 13 países europeos, Argentina y Japón reportando resultados de contaminación por OTA de 0.268 μ g/kg en chocolates negros Burdaspal y Legarda (2003); estos resultados son menores a los encontrados en los chocolates artesanales de Tabasco, por lo cual se puede atribuir presencia de la toxina al cacao con el que fue elaborado los chocolates, pues como señala Coppetti *et al.* (2012) la presencia de micotoxinas en los productos tales como chocolate, que no tiene suficiente agua para apoyar el crecimiento microbiano y producción de micotoxinas, se produce debido a la proliferación de hongos toxigénicos en pasos previos de procesamiento de la materia prima . Un ejemplo de esto es el almacenamiento de los granos de cacao en las zonas tropicales y generalmente no son las más óptimas, sobre todo debido a la alta humedad, ya que el grano de cacao la absorbe, si la humedad es alta. Si el contenido de humedad se eleva por encima del 8%, el moho se puede



Cacao y Chocolate

desarrollar en el interior del grano. En 8% de humedad, los granos de cacao están en equilibrio con la humedad relativa ambiente (aproximadamente 70% y las temperaturas normales en la trópicos). Cuando la humedad relativa supera este nivel durante períodos prolongados existe el peligro de desarrollo del moho y a su vez de la producción de micotoxinas (CX/CF 12/6/15).



5 Conclusiones y recomendaciones





5.1 Conclusiones.

Con base a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- El proceso de fermentación de los granos de cacao afectó el contenido de fenoles y capacidad antioxidante; mientras que la operación de tostado provocó un aumento en estos compuestos.
- Las casas productoras de chocolates artesanales presentó diferencias en el contenido de grasa, humedad, contenido de fenoles y capacidad antioxidante de los productos, esto ocasionado por el proceso de elaboración. Además se presentó diferencia en el color, debido al efecto llamado “Bloom de grasa” que exhibieron algunos chocolates producidos en las diferentes casas.
- El porcentaje de cacao en los chocolates artesanales, influyó en el contenido de fenoles y capacidad antioxidante, presentando los valores mayores para ambos parámetros los chocolates con 100% de cacao comparados con los de 70 y 80%.
- Los diferentes granos de cacao (no fermentado, fermentado y tostado) no presentaron Aflatoxinas, sin embargo, en los granos fermentados procedente de la huerta 2 se registró presencia de Ocratoxina A, así como en el grano tostado de ambos huertos.
- En el 75% de las casas productoras de chocolates artesanales estudiadas, se detectó presencia de aflatoxinas, sin embargo, todas cumplieron con lo establecido por la norma oficial mexicana.
- En el 100% de los chocolates artesanales evaluados se presentó Ocratoxina A, siendo los chocolates de la casa 3 la que presentó la mayor concentración de esta micotoxina. La presencia de micotoxinas no fue influenciada por la cantidad de cacao presente en los chocolates.
- Considerando que la Ocratoxina A no se encuentra regulada por las normas mexicanas e internacionales es difícil concluir sobre el aspecto de calidad e inocuidad de estos chocolates haciendo énfasis en la necesidad de una legislación



que incluya los límites máximos permisibles de esta micotoxina en este tipo de alimentos.

- Los chocolates elaborados artesanalmente en el estado de Tabasco, presentaron buena calidad cumpliendo con lo establecido en la norma de oficial mexicana, por lo que pueden competir con productos comerciales



5.2 Recomendaciones.

- Estudiar otras variedades de granos de cacao como lo son el cacao criollo y trinitario.
- Realizar el mismo estudio a granos de cacao procedente de los distintos estados productores de México, así como, de los mayores productores mundiales.
- Determinar el contenido de otros compuestos de importancia en el cacao, como lo son la teobromina y cafeína.
- Realizar un estudio comparativo entre chocolates comerciales y los producidos artesanalmente.
- Identificar los compuestos fenólicos presentes en los chocolates estudiados
- Se recomienda realizar mayores estudios sobre la presencia de la Ocratoxina A en chocolates, cacao y café, para poder sustentar la importancia de esta micotoxina y la necesidad de una norma mexicana que incluya los límites máximos permisibles.



6 Referencias





- Afoakwa, E.O. (2010) *Chocolate Science and Technology*. Estados Unidos:Wiley-Blackwell.
- Álvarez C; Pérez E; Lares M.C. (2007). Caracterización Física y Química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, Estado de Aragua. *Agronomía Tropical* 57(4):249-256.
- Amores, F; Espín, S; Jiménez, J; Saltos, A. (2006). La aplicación de la Relación Teobromina/Cafeína para diferenciar las almendras de cacao Nacional, CCN-51 y Ghana. Conferencia Internacional de Investigación sobre el cultivo del cacao. San José-Costa Rica.
- AOAC, (2005). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, food composition, additives, natural contaminants*. The association of official analytical chemist. Virginia, USA.
- Arlorio, M; Coïson J.D; Travaglia, F; Versaldi, F; Miglio, G; Lombardi, G; Martelli, A. (2005). Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. *Food Research International*. 38(2005): 1009-1014.
- Arlorio, M; Locatelli, M; Travaglia, F; Coïsson, J; Grosso, E; Minassi, A; Appendino, G; Martelli, A. (2007) Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the Antioxidant Activity of cocoa beans. *Food Chemistry*. 106 (2008): 967-975.
- Attolini L. A. "Cuentas, Dares Y Tomares Del Cacao: Delicia, Convite, Rito Mesoamericano. Aspectos Antropológicos" *Revista Digital Universitaria [En Línea]*. 1 De Abril De 2011, Vol. 12, No.4. Consultada: 2 de Febrero de 2013. Disponible En: <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art38/index.html>
- Arbillaga, L; Ezpeleta, O; López de Cerain, A. (2004). ¿Es la Ocratoxina A una micotoxina mutagénica? *Revista de Toxicología* (21): 1-10.
- Avendaño, C. H; Villareal, J.M.I; Campos, E. (2011). *Diagnostico del cacao en Mexico*. Universidad Autonoma de Chapingo, México.
- Badui, S. (1993). *Química de los alimentos*. 3ra ed. Alhambra Mexicana. México.



- Beckett, S. T. (1988). Fabricación y utilización industrial del chocolate” Acribia. Zaragoza, España.
- Beckett, S. T. (2002). La ciencia del chocolate. Acribia, Zaragoza, España.
- Borchers, A.T; Keen, C.L; Hannum, S.M; Gershwin, M.E. (2000). Cocoa and chocolate: composition, bioavailability, and health implications. Medicinal Food; 3(2): 77-105.
- Bourgeors C.M; Zucca D; Mescle. J.R. (1994). Microbiología Alimentaria: Aspectos Microbiológicos de la Seguridad Alimentaria. Acribia. Zaragoza, España.
- Bravo Martinez, F. (2004). El manejo higiénico de los alimentos. Limusa, México.
- Brera, C; Iafrate, I; Debegnach, F; De Santis, B; Pannunzi, E; Berdini, C; Prantera, E; Gregori, E; Miraglia, M. (2011). Ochratoxin A in cocoa and chocolate products from the Italian market: occurrence and exposure assessment, 22(10): 1663-1667.
- Briones, V; Aguilera, J. (2004) Image analysis of changes in surface color of chocolate. Food Research International 38(1): 87-94
- Briones, V; Aguilera J; Brown, C. (2006.) Image analysis of changes in surface color of chocolate. Journal Food Engineering, 77(4):776-783
- Brito, E. S; García, N; Horacio P. y Amancio A. C. (2002).Effect Of Polyphenol Oxidase (Ppo) And Air Treatments On Total Phenol And Tannin Content Of Cocoa Nibs. Ciencia y Tecnología de Alimentos. 22(1):45-48.
- Burdaspal, P. A, y Legarda, T. M. (2003). Ochratoxin A in samples of different types of chocolate and cacao powder, marketed in Spain and fifteen foreign countries. Alimentaria 40(347): 143-153.
- Camacho, A; Giles, M; Ortegón, A; Palao, M; Serrano, B. y Velázquez, O.(2009). Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México
- Canacacao (2012) Asociación, Camara Nacional de Cacao Fino de Costa Rica.Consultado 19 de septiembre de 2012 Disponible en <http://www.canacacao.org>
- Cardona, B;A. y Osorio, S. (2003). Determinación de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azúcar en una película de polipropileno.Tesis previa a la obtención del



- titulo de Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Nacional de Colombia.
- Carrascal, A; Arrieta G. y Máttar S. (2002). Estudio preliminar de la calidad microbiológica de los alimentos en la Costa Atlántica Colombiana. Informe Quincenal Epidemiología Nacional 7(11): 163-169.
 - Castro M.E; y García P. E. (2009) Chocolate: alimento y medicina *Ciencia y Desarrollo*, 35 (233), Consulta: 7 de Febrero 2013, Disponible en: <http://www.conacyt.gob.mx/comunicacion/Revista/233/Articulos/Elchocolate/Elchocolate1.html>
 - C.I.E. Commission Internationale de l'Eclairage (1986). Colorimetry. Segunda edición.
 - Coe, S. D., Coe, M. (2000). La verdadera historia del chocolate. Fondo de Cultura Económica.
 - Copetti M. V; Iamanaka B.Y.; Pereira J.L.; Lemes D.P., Nakano F. (2012). Co-occurrence of ochratoxin A and aflatoxins in chocolate marketed in Brazil. *Food Control*. 26(1): 36-41
 - CODEX, Comité sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos. (2000). Anteproyecto de niveles máximos para ocratoxina A en los cereales y productos de cereales. Consulta: 20 mayo 2013, Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/ifsi/eupositions/ccfac/archives/ccfac-cx-18-ec-comments-130300final_es.pdf
 - CODEX STAN 87-1981. Norma para el chocolate y los productos del chocolate.
 - CX/CF 07/1/19. Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias Comité Del Codex Sobre Contaminantes De Los Alimentos: Documento de debate sobre la ocratoxina en cacao.
 - CX/CF 12/6/15 Joint Fao/Who Food Standards Programme Codex Committee On Contaminants In Foods, Sixth Session. Discussion Paper On Ochratoxin A In Cocoa
 - Criado D. C. y Moya M., M.S. (2009). Vitaminas y antioxidantes. Grupo Saned. Madrid-España.
 - Doyle, M.P; Beuclat, L. R; Montiville, T.J. (1997) Microbiología de los alimentos. Acribia. Zaragoza, España.



- Duthie, G.G; Gardner P.T; Kyle A.M. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society* 62(3):599-603.
- Ellis, W.O; Smith, J.P; Simpson, B.K.; Oldham, J.H. (1991). Aflatoxins in food: Occurrence, Biosynthesis, Effects on Organisms. *Detection and Methods of Control. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 30 (3), 403-439.
- Enriquez, G. y Paredes, A.(1989) *El cultivo de Cacao.* San Jose, Costa Rica: Departamento de Publicaciones de la UNED.
- Eroski Consumer (2011). Consultado el 5 de Agosto de 2013. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridadalimentaria/sociedadconsumo/2011/02/24/199074.php>
- FAO. (2004). Consultado el 26 de Enero de 2014. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/y5499s/y5499s07.htm#TopOfPage>
- FAOSTAT. (2012). Consultado el 14 de Septiembre de 2012. Disponible en: http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#VISUALIZE
- Ferrazzano, G. F; Amat, I; Ingenito, A; De Natale, A; Pollio, A. (2009). Anticariogenic effects of polyphenols Fromm plan stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia* 80(5): 255-262
- Ferraz, M. M; Farah, A; Iamanaka, B; Perrone, D; Copetti, M. V; Marques, V. X. (2010). Kinetics of ochratoxin destruction during coffee roasting. *Food Control,* 21(6):872-877.
- Frazier, W. y Westhoff, D. (1993) *Microbiología de los alimentos.* Acribia. Zaragoza, España.
- Gallego B, L.M. (2010). *Micotoxinas.* Consultado 25 de Abril de 2013. Disponible: <http://www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm>
- García P.J. (2011). *La Cultura del chocolate.* Consultado 2 de Febrero de 2013. Disponible en :<http://www.um.es/lafe/Actividades/CursoBiologia/MaterialAyuda/2011-03-22.paco.pdf>
- Gavilán L. y Sarmiento S. (2001); *Diseño y Construcción de un Prototipo de Molino de Rodillos para Cacao: Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Mecánico; Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.*



- Gil, Á. (2010). Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Médica Panamericana. España.
- Gil, Q. J. A. (2012) Estabilidad y Actividad antioxidante de catequinas presentes en cacaos colombianos durante los procesos de pre e industrialización. Tesis para obtener el título de magister en Ciencias Farmacéutica Universidad de Antioquia, Medellín.
- Gómez-Juaristi, M; González-Torres, L; Bravo, L; Vaquero, M. P; Bastida, S; Sánchez-Muniz, F. J. (2011). Efectos beneficiosos del chocolate en la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 26(2):289-292
- González, M.Y; Pérez, S.E; Palomino, C.C. (2012). Factores que inciden en la calidad sensorial del chocolate. *Nutrición*. 12(4): 314-331.
- Gutiérrez, M; Buenaventura, A. (2002). Chocolate, Polifenoles y protección a la salud. *Acta Farm. Bonaerense* 21 (2): 149-52
- Hardy, F. (1961).. Manual del cacao. Costa Rica: Antonio Lehmann.
- ICCO. International Cocoa Organization (2012). Consultado el 13 de Septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.icco.org>.
- ICMSF – The International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (2005). Cocoa, chocolate, and confectionery. In *Microbial ecology of food commodities, Microorganisms in food*, New York: Blackie Academic and Professional.
- ICMSF. The International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the international. (1998). *Microorganismos de los alimentos: Ecología microbiana de los productos alimentarios*. Acribia. Zaragoza, España.
- Imeh, U; y Khokhar, S. (2002) Distribution of Conjugated and Free Phenols in Fruits: Antioxidant Activity and Cultivar Variations. *Agricultural and Food chemistry*; 50(22): 6301-6306.
- INCAP. (2012). Tabla de composición de los alimentos de centro America. Serviprensa, Guatemala.
- Instituto de Nacional Ciencias Agropecuarias, (1993), Manual del cultivo de cacao No. 25, Ecuador.
- Kakaw. (2012). Museo de cacao y chocolatería. Consultado el 4 de Noviembre de 2012. Disponible en <http://www.kakaw.org/historia-y-origenes-del-cacao.html>.



- Kattenberg, H. R., Kemmink, A. (1993). The flavor of cocoa in relation to the origin and processing of the cocoa beans. In G. Charalambous Food Flavors Ingredients and Composition .
- Khampuis, H. J. (2010). Production and quality standards of cocoa mass, cocoa butter and cocoa powder. In S. T. Beckett, Industrial chocolate manufacture and use. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Kofink, M; Papagiannopoulos, M; Galensa, R. (2007). (–)-Catechin in Cocoa and chocolate: Occurrence and Analysis of an Atypical Flavan-3-ol Enantiomer. *Molecules*, 12 (7): 1274–1288.
- Komes, D; Belscak, C.A; Svjetlana, S; Vojvodic, A; Basic, A. (2013). The influence of dried enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT-Food Science and Technology*. 53(1): 360-369.
- Kumagai, S; Nakajima, M; Tabata, S. E; Ishikuro, E; Tanaka, T; Norizuki, H. (2008). Aflatoxin and ochratoxin A contamination of retail food and intake of these mycotoxins in Japan. *Food Additives and Contaminants*, 25(9), 1101e1106.
- Jalil, A.M.M; Ismail, A. (2008) Polyphenols in cocoa and cocoa products: Is there a link between antioxidant properties and health? *Molecules*.13(9):2190-2219
- Jay, J. (1994). *Microbiología moderna de los alimentos*.. Acribia. España.
- Lean, M. E.J; Noroozi, I. K; Burns, J; Talwar, D; Sattar, N; Crozier, A. (1999) Dietary flavonols protect diabetic human Lymphocytes against oxidative damage to DNA. *Diabetes* 48(1): 176-181
- Liendo, R. (2003). Origen del aroma del Cacao. *Revista Digital. CENIAP HOY no. 1.*, Maracay, Aragua, Venezuela. Consultado: 3 de Febrero de 2013 Disponible: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n1/texto/rliendo.htm
- Liendo, R. (2004). Manteca de cacao. *Revista Digital CENIAP HOY N° 5*, Maracay, Aragua, Venezuela. Consultado: 10 de Junio, 2013. Disponible: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n5/arti/rliendo.htm



- López-Munguía, C. A. (2011): El chocolate: un arsenal de sustancias químicas. Revista Digital Universitaria. 1 De Abril De 2011, Vol. 12, No.4. Consultada: 2 de Febrero de 2013. Disponible En: <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art38/index.html>
- Manda, P; Dano, D.S; Kouadio, J.H; Diakitie, A; Sangare-Tigori, B; Ezoulin, M.J; (2009). Impact of Industrial treatments on ochratoxin A content in artificially contaminated cocoa beans. Food Additives and Contaminants, 26 (7): 1081-1088
- Mathur S; Devaraj S; Grundy S.M; Jialal I.(2002) Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. Journal of Nutrition; 132(12): 3663-3667.
- Martínez, R; Torres, P; Meneses, M.A; Figueroa, J. G; Pérez-Álvarez, J.A; Viuda-Martos, M.(2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao L.*) co-products. Food Research International, 49(1): 39-45.
- Méndez-Albores, A. y Moreno-Martínez, E. (2009). Las micotoxinas: contaminantes naturales de los alimentos. Ciencia. 60(3): 1-7.
- Mércia de Freitas, E; y Suzana Caetano da Silva, L (2004). Achocolatados: análise química. Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 40: 405-412. Consultado: 4 de Julio de 2013 Disponible: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322004000300017&lang=pt
- Mincetur, Ministerio de Comercio Exterior y Turismo, Perú. (2012). Consultado; 15 Noviembre de 2012. Disponible en : <http://www.mincetur.gob.pe/comercio/otros/penx/pdfs/Cacao.pdf>
- Ministerio de Agricultura. (2004). Manual del cultivo de cacao. Perú
- Miller, K.B; Stuart, D.A; Smith, N.L; Lee, C.Y; McHale, N.L; Flanagan. J.A (2006). Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. Agricultural and Food Chemistry. 54(11): 4064-4068
- Molyneux, R.J; Mahoney, N; Kim, J.H; Campbell, B.C. (2007) Mycotoxins in edible tree nuts. International Journal of Food Microbiology 119(1-2), 72–78.
- Monaci L. y Palmisano F. (2004). Determination of Ochratoxin A in foods: state of the art and analytical challenges. Analytical Bioanalytical Chemistry 378(1): 96-103.



- Monografía del cacao (2009). Dirección Adjunta De planeación y estrategia y análisis sectorial. México.
- Moreno, L. J. y Sánchez A. J. (1989). Beneficio del cacao. Honduras: ICCA.
- Morillas, J.M; y Delgado, J.M. (2012) Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutrición clínica y Dietética Hospitalaria* 32(2):8-20.
- Mounjouenpou, P; Gueule, D; Fontana-Tachon, A; Guyot, B; Tondje, P. R; Guiraud, J.P. (2008). Filamentous fungi producing ochratoxin A during cocoa in Cameroon. *Food Microbiology* 121(2): 234-241.
- Murphy K. J; Chronopoulos A.K; Singh I. (2003). Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *Am Journal of Clinical Nutrition* 77(6): 1466-1473.
- Naranjo, J.A. (2011). Caracterización de productos tradicionales y no tradicionales derivados de cacao (*Theobroma cacao*.) En el estado de Tabasco, México. Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencias. Colegio de Posgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas.
- Navarro Prado, M. y Mendoza Alonso, I. (2006). Cultivo de cacao en Sistemas Agroforestales, Rio San Juan, Nicaragua.
- Nazaruddin R; Ayub M.Y; Mamot, S; Heng, C.H. (2001). HPLC Determination of methylxanthines and polyphenols levels in cocoa and chocolate products, Malaysian. *Analytical Science*, 7(2):377-386.
- Nestlé (2010). Boletín No.4 de nutrición Nestlé profesional.
- Negociosgt (2006). Consultado: 9 de Marzo de 2013. Disponible en: http://www.negociosgt.com/main.php?id=310&show_item=1&id_area=157
- NMX-F-061-1964. Alimentos. Chocolate para mesa. Foods. Chocolate For table. Normas Mexicanas. Dirección general de normas. Consultado 20 junio de 2013. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-061-1964.PDF>
- NMX-F-343-1983. Alimentos. Productos del cacao. Manteca de cacao. Foods. Cacao seeds products. Cacao butter. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.



Consultado: 31 de Enero de 2013 Disponible en:

<http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-343-1983.PDF>

- Nogales, J; Graziani de Fariñas, L; Ortiz de Bertorelli, L. (2006) Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. *Agronomía Tropical*. 56(1) 5-20
- NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales. Norma Oficial Mexicana. Consultado el 20 de Octubre de 2012. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/086ssa14.html>.
- NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Norma Oficial Mexicana. Consultado el 27 de Septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>,
- NOM-186-SSA1/SCFI-2002 Productos y servicios. Cacao, productos y derivados. I Cacao. II Chocolate. III Derivados. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Norma Oficial Mexicana. Consultado el 25 de Septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/186ssa12.html>.
- Oliveras J.M. (2007); La elaboración del chocolate, una técnica dulce y ecológica. *Técnica Industrial* 268: 46-51.
- Ospina Machado J. E. (2002), Características Físico Mecánicas y Análisis de calidad de los granos. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (2002). Estrategia Mundial de la OMS para la Inocuidad de los Alimentos: alimentos más seguros para una mejor salud. Programa 2002 de Inocuidad de los Alimentos., Ginebra, Suiza.
- Peraica, M; Radic, B; Lucic, A. y Pavlovic, M. (1999). Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. *Bulletin of the world health organization*, 77(9), 754-766.
- Parra, P; Ortiz de Bertorelli, L; Graziani de Fariñas, L. (2003). Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua. *Agronomía Tropical*, 53(2), 133-144.



- Payne, M.J; Hurst, W.J; Miller, K.B; Rank, C; Stuart, D.A. (2010) Impact of fermentation, drying, roasting, and dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *Agricultural Food Chemistry*. 58(19): 10518-10527.
- Perea-Villamil, J. A; Cadena-Cala, T; Y Herrera-Ardila, J. (2009), El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Revista de la Universidad. Industrial. Santander. Salud* [online]. 2009, vol.41, n.2 pp.128-134. Consultado: 3 de Julio 2013 Disponible: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072009000200003&lng=en&nrm=iso>.
- Perea-Villamil, J.A; Ramírez O.L; Villamizar A.R, (2011). Caracterización Físicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 9(1): 35-42.
- Pérez, L.M; Chávez, Q. K.; Medina, J. L.A.; Gámez, M. N. (2013). Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *coffea arabica* y *coffea canephora*. *Biotecnia* 15(1):51-56.
- Prado, G; Oliveira, M. S; Carvalho, E. P; Lima, L. C. O; Veloso, T; Souza, L. A. F; y Cardoso, A. C. F; (2003). Ochratoxin A determination in beer by immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*, 23(suplemento): 58-61
- Quintana G., E.M; Antillón G., F; Azofetfa C.J. (2007). Determinacion de ocratoxina A en plasma humano y en café de Costa Rica por un método de ELISA. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 57(2): 168-172.
- Ramli, N; Hassan, O; Said, M; Samsudin, W; Idris, N. (2006) Influence of roasting condition on volatile flavour of roasted Malaysian cocoa beans. *Food Processing and Preservation*. 30 (3):280–298.
- Ravelo, A; Rubio, C; Gutiérrez, A.J; Hardisson de la Torre, A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutrición Hospitalaria*. 26 (6): 1215-1226.
- R-Biopharm Latinoamerica (2011). Legislación de la CE, sobre micotoxinas. Consultado 20 enero 2014. Disponible en:



[http://www.jla.com.ar/PDF/Legislation%20Poster%20\(GB03%20-%20Mar%2010\)%20-%20SP%20email%20version.pdf](http://www.jla.com.ar/PDF/Legislation%20Poster%20(GB03%20-%20Mar%2010)%20-%20SP%20email%20version.pdf)

- Reglamento (CE) n° **1881/2006** (2006) Comisión contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Consultado el 23 de Enero de 2014 Disponible en: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:ES:PDF>
- Requena, F; Saume, E; León, A. (2005). Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical* 23(4): 393-410.
- Reyes, H; Vivas, J; Romero A. (1999) La Calidad en el Cacao: Factores determinantes de la calidad. Fonaiap Divulga 61. Consultado: 19 de Junio 2013. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd61/calicac.html.
- Romanchik, J; Tilmon, R. W; Baldree, K.A. (2002) Moisture retention and consumer acceptability of chocolate bar cookies prepared with okra gum as a fat ingredient substitute. *The American Dietetic Association*. 102(9): 1301-1303.
- Rusconi, M. y Conti, A. (2010). *Theobroma cacao L.*. The Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, 61, 5-13.
- Scalbert A. y Williamson G. (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols; *The Journal of Nutrition*. 130(8):2073S-2085S.
- Sadler, N.P. and Jacobs, H. (1995). Application of the folin-ciocalteau reagent to the determination of salbutamol in pharmaceutical preparations. *Talanta*, 42(10):1385-1388.
- Sánchez-Rabaneda, F; Jáuregui, O; Casals, I; Andrés-Lacueva, C; Izquierdo-Pulido, M; Lamuel Raventós, R. M; (2003). Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). *Journal of Mass Spectrometry*, 38(1): 35–42
- Sanchis V; Marín S; Ramos A.J. (2007). Factores determinantes en la producción de micotoxinas. En: Soriano del Castillo JM, eds. *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos, España.



- Schramm, D; Wang, J; Holt, R. (2001). Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. *The American Journal of Clinical Nutrition*; 73(1): 36-40.
- SIAP, (2009). Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado 20 de Septiembre de 2012:.. Disponible en : <http://w4.siap.gob.mx/sispro/portales/agricolas/cacao/descripcion2009.pdf>
- SIAP, (2012). Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado 20 de Septiembre de 2012: Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=184
- Smith, E.; Phullips T. D.; Ellis J.A.; Harvey R.B.; Kubena L.F.; Thompson J.; Newton G. (1994). Dietary hydrated sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxins M1 residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. *Journal of Animal Science* 72(3): 677-682.
- Sotero, Víctor; Maco, Martha; Vela, Jorge; Merino, Claudia; Dávila, Ericka, García, Dora; (2011). Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en la pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia Sterculiaceae. *Soc Quím Perú*. 77 (1): 66-74
- Soriano del Castillo, J.M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Ediciones Diaz de Santos, España.
- Stevenson, C., Corven, J., y Villanueva, G. (1993). *Manual para el análisis de cacao en el laboratorio*. San José-Costa Rica: IICA.
- Studer-Rohr I; Dietrich D.R; Schlatter C. (2000). Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of Ochratoxin A plasma levels in humans. *Archives of Toxicology* 74(9): 499-510.
- Suazo, M. Y.S. (2012). Efecto de la fermentación y el tostado sobre la concentración polifenólica y actividad antioxidante de cacao nicaragüense. Tesis de Master. Universidad Pública de Navarra, España.
- Taberero, M; Serrano, J; y Saura-Calixto, F. (2006). The antioxidant capacity of cocoa products: contribution to the Spanish diet. *Food Technology* 41(suplemento): 28-32.



- Tagliazucchi, D; Verzelloni, E. y Conte, A. (2010). Effect of Dietary Melanoidins on Lipid Peroxidation during Simulated Gastric Digestion: Their Possible Role in the Prevention of Oxidative Damage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(4): 2513–2519
- Torres M. (2012). Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro. Tesis previa a la obtención del título de Doctora. Universidad Rovira I Virgili
- Urrego N, J.R.; Diaz, G.J., (2006). Aflatoxinas: mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. *Revista de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia* 54(2): 108-116.
- Verdesoto E.P; (2009). Caracterización química preliminar de cacao (*Theobroma cacao*) de los municipios de Omoa y La Masica, Honduras. Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
- Viluzca, F; Yee, A; Sulbarán, B; Berradre, M.N. (2012). Actividad antioxidante de chocolates comerciales venezolanos. *Vitae* 19 (1):S448-S450.
- Wollgast, J; Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33(6): 423-447