

CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE MATERIALES REGIONALES DE CACAO COLOMBIANO

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF REGIONAL MATERIALS OF COCOA COLOMBIAN

CARACTERIZAÇÃO FISCOQUIMICA DE MATERIAIS REGIONAIS DO CACAO COLOMBIANO

JANETH AIDÉ PEREA¹, OLGA LUCIA RAMIREZ², ARLEY RENE VILLAMIZAR³

PALABRAS CLAVE:

Cacao, Índices físicos, Características químicas, Ácidos grasos, Calidad.

KEY WORDS:

Cocoa, Physical indexes, Chemicals characteristics, Fatty acid, quality

PALAVRAS CHAVE:

Cacau, Características físico-químicas, Ácidos graxos, Qualidade

RESUMEN

El cacao es un producto con grandes ventajas derivadas de la necesidad de suplir la demanda interna y de incrementar las exportaciones de productos de chocolatería; no obstante, la baja productividad de las plantaciones híbridas de cacao, ha afectado el desarrollo económico del sector, por lo cual, la investigación en el país está enfocada en la búsqueda de materiales productivos, resistentes a enfermedades y con calidades de grano aceptables en mercados nacionales e internacionales. En este proyecto se evaluaron dos materiales universales, un cacao criollo y nueve materiales clonales, seleccionados por Corpoica y Fedecacao, en cuanto a sus características fisicoquímicas. Se prevé que estas servir como ser parámetros diferenciadores. Se determinaron los principales macronutrientes (grasa y composición de ácidos grasos, proteína, ceniza y fibra) y los microelementos potasio, magnesio, fósforo, hierro y zinc, además de los parámetros físicos cascarilla, pH y acidez. Se encontró que los doce materiales presentan diferencias significativas entre sí, pero destacan los materiales Selección Colombia Corpoica (SCC41) y Fedecacao El Carmen (FEC-2) por presentar niveles altos de todas las variables evaluadas. Respecto al contenido de micronutrientes, se confirma que el cacao es fuente significativa de potasio, magnesio y fósforo, pero es pobre en hierro y zinc.

Recibido para evaluación: 26 de Noviembre de 2010. **Aprobado para publicación:** 31 de Enero de 2011

1 Química, Magíster en Química, Doctora en Química, Directora Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Escuela de

2 Química, Universidad Industrial de Santander, Sede UIS Guatiguará, Vía al Refugio, Piedecuesta - Colombia.

3 Estudiantes de Química, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga

ABSTRACT

Cocoa is a product with great advantages derived from the necessity to replace the internal demand and to increase the chocolate factory product exports; however, the low productivity of the hybrid plantations of cocoa, has affected the economic development of the sector, thus, the investigation in the country is focused in the search of productive, resistant materials to diseases and with acceptable qualities of grain in national and international markets. In this project two universal materials, a Creole cocoa and nine clon materials were evaluated as far as their physical and chemical characteristics. It is anticipated that these to serve like being differentiating parameters. The main macronutrients (fat and fatty acid composition, protein, ash and fiber) and the microelements potassium, magnesium, phosphorus, iron and zinc were determined, in addition to the physical parameters husk, pH and acidity. It was found that the twelve materials present significant differences to each other, but emphasize the materials Selección Colombia Corpoica (SCC41) and Fedecacao El Carmen (FEC-2) to present high levels of all the evaluated variables. With respect to the content of micronutrients, it is confirmed that the cocoa is significant source of potassium, magnesium and phosphorus, but is poor in iron and zinc

RESUMO

Cacau é um produto com grandes benefícios derivados da necessidade de atender à demanda doméstica e aumento das exportações de chocolate, no entanto, a baixa produtividade das plantações de cacau híbrido, tem afectado o desenvolvimento económico do sector, de modo que as pesquisas no país se concentra na busca por materiais de produção, resistência a doenças e qualidade de grãos aceitável mercados nacional e internacional. Este projeto avaliou dois materiais universal, um cacau crioulo e nove material clonal, e FEDECACAO CORPOICA seleccionadas em termos de suas características físico-químicas. Espera-se que esses parâmetros sejam usados como diferenciadores. Identificado principais macronutrientes (gordura e composição de ácidos graxos, proteína, cinzas e fibras) e micronutrientes de potássio, magnésio, fósforo, ferro e zinco, além de os parâmetros pH escala física, e acidez. Verificou-se que os doze materiais apresentaram diferenças significativas entre eles, mas destacar a seleção de materiais CORPOICA Colômbia (SCC41) e FEDECACAO El Carmen (FEC-2) para ter níveis elevados de todas as variáveis. Em relação ao conteúdo de micronutrientes, confirma-se que o cacau é uma importante fonte de potássio, magnésio e fósforo, mas pobre em ferro e zinco.

INTRODUCCIÓN

El cacao es una fuente importante de proteína, grasa y fibra; la grasa es además rica en ácido esteárico, un ácido graso neutro no aterogénico y en ácido linoleico, un ácido graso esencial. La semilla de cacao contiene asimismo varios de los minerales (potasio, magnesio, fósforo) primordiales en la dieta [1], además de cantidades apreciables de polifenoles especialmente de flavonoides, sustancias con alto potencial antioxidante [2, 3, 4].

La composición química del grano de cacao seco y fermentado ha sido evaluada en diferentes variedades, encontrándose que la grasa es el componente mayoritario con contenidos que oscilan entre 49% y 56%. Algunos autores [5, 6] establecieron que la composición

en ácidos grasos no presenta variaciones apreciables entre cacao tipo Criollo, Forastero y Trinitario aún cuando la grasa del cacao Trinitario, presentó el más alto contenido de ácido palmítico (28%) y el más bajo de ácido esteárico (33%). Otros autores [7, 8, 9] usando cacao proveniente de Brasil, Ghana, Costa de Marfil, Indonesia y Ecuador encontraron que el contenido de grasa y la composición en ácidos grasos de la manteca de cacao, sí varía con el genotipo, las condiciones climáticas y la época de cosecha.

Para cacao proveniente del Banco de Germoplasma de Venezuela denominado por los agricultores "cacao fino de primera" se obtuvieron valores de humedad de 2,5%-3,1%; cenizas 3,2%-3,9%; proteínas 11,4%-13,8% y grasa 52%-54% [10], similares a los reportados por Fececacao [11] y Cote et al. [12] para cacaos cultivados

en Colombia. Estos autores encontraron también que la cantidad de micronutrientes varía con la fertilización de los suelos [12].

En este trabajo se plantea como hipótesis que las características fisicoquímicas, varían con el tipo de material, por lo que pueden usarse como parámetros diferenciadores de los mismos y para evaluarla se caracterizan (9) materiales donales y tres materiales universales seleccionados por Corpoica y Fedecacao. Se pretende así contribuir a la selección de los materiales cuya propagación permitirá renovar los cultivos de cacao del país.

MÉTODO

Muestreo y transporte

Las muestras de cacao fermentadas (cajón, seis días) y secas (casa elba, cinco días), correspondientes a tres muestreos tomados en diferentes épocas del año, fueron suministradas por Fedecacao y Corpoica y enviadas al laboratorio de alimentos de la Universidad Industrial de Santander. Una vez allí, se realizó un cuarteo y se tomaron al azar 100 granos y se descascarillaron. La muestra descascarillada, se molió, se empacó al vacío y se almacenó en cajas plásticas con tapa, hasta su evaluación.

En la Tabla 1, se relacionan los materiales evaluados y su procedencia.

Tabla 1. Origen y selección de los materiales evaluados

MATERIALES	ORIGEN	SELECCIÓN
ICS-95	Trinidad	Universal
CCN51	Ecuador	Universal
CRIOLLO	Valledupar (Cesar)	Fedecacao
SCC-41	Rionegro (Santander)	Corpoica
SCC-52	San Vicente (Santander)	Corpoica
SCC-55	Rionegro(Santander)	Corpoica
SCC-80	Rionegro(Santander)	Corpoica
FEC-2	El Carmen (Santander)	Fedecacao
FSA-12	Saravena (Arauca)	Fedecacao
FSV-41	San Vicente (Santander)	Fedecacao
FLE-3	Lebrija (Santander)	Fedecacao
FEAR-5	Arauquita (Arauca)	Fedecacao

Análisis Físico

Se midió el contenido de cascarilla del grano y el pH del cotiledón. El contenido de cascarilla se expresó como porcentaje de cascarilla. La determinación del pH del cotiledón se basó en el método descrito por Holm y Aston [13].

Análisis Químico

La acidez titulable evaluó siguiendo el procedimiento descrito por Moreno et al., [14] y se expresó como porcentaje de ácido acético. Los demás parámetros se midieron usando los métodos descritos en la AOAC [15]: Humedad 931.04, cenizas 972.15, proteína 970.22, fibra cruda 930.20 y grasa 963.15. Los micronutrientes se determinaron por absorción atómica según los métodos analíticos de Standard Methods 3111B. [15] Para el análisis del fósforo se utilizó el método colorimétrico del fosfomolibdato de vanadio [16].

Extracción, Identificación y Cuantificación de Ácidos Grasos

La extracción de la grasa se realizó usando hexano. De la grasa extraída se tomaron entre 0.3 - 0.5 g de muestra, para preparar los metil ésteres de los ácidos grasos usando el método del KOH en metanol [17].

La composición en ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases, con un equipo Agilent Technologies 6890 Series GC System (Palo Alto, EE.UU.), acoplado a un detector de ionización de llama y una columna capilar DB-WAX (32mm, D.I. x 0.25µm, d). La temperatura del horno se varió desde 50 °C (2 min) hasta 250 °C (10 min) a 12 °C/min. La temperatura del detector fue 300 °C. El gas de arrastre empleado fue helio (99,995%), a un flujo de 40 cm/s y el gas make up nitrógeno a 30 mL/min. El inyector Split (10:1) se mantuvo en 250 °C y el volumen de inyección fue 1.0 µL. La identificación de los metilésteres de ácidos grasos se realizó por comparación directa de sus tiempos de retención con un patrón de FAME (Fatty Acid Methyl Ester Mix SUPELCO Cat. Nº 18918-1). La cuantificación se realizó por el método del estándar interno, utilizando tridecano.

Todos los análisis se realizaron por duplicado, teniendo al final un total de seis resultados por material de cacao analizado.

Análisis Estadístico

Los resultados experimentales fueron normalizados y evaluados mediante el programa estadístico SPSS para WINDOWS versión 10.0, basado en la aplicación de un análisis de varianza ANOVA que reparte la variación total de las observaciones en dos componentes, la variación entre las diferentes muestras y la variación adentro de las muestras.

La estadística de la prueba es la razón de las varianzas entre y adentro de las muestras o F a partir de cuyo valor se determina el valor de probabilidad P. Para este estudio las hipótesis a evaluar fueron: (1) Hipótesis Nula: el valor de una variable medida es la misma en cada uno de los doce materiales de cacao evaluados. (2) Hipótesis Alternativa: el valor de una variable medida difiere para cada uno de los doce materiales de cacao evaluados. Si el valor de P es menor de < 0.05 , se rechaza la hipótesis nula y se aplica la prueba Tukey como test a posteriori que compara las diferencias entre los promedios de las muestras [18]. La aplicación de este test permitió clasificar los materiales en tres grupos: grupo b que involucra aquellos materiales que tienen mayor contenido de la variable analizada, grupo ab que presenta valores intermedios y el grupo a que presenta los menores valores.

RESULTADOS

Los doce (12) materiales de cacao fueron evaluados en cuanto a sus características físicas y químicas y composición de ácidos grasos de la manteca de cacao. Los resultados se analizaron inicialmente aplicando el test de normalidad Kolmogorov-Smirnov (K-S) y se estableció que todos los datos obtenidos experimentalmente corresponden a una población normal. Posteriormente, se aplicó el análisis de ANOVA y se observó que todos los materiales de cacao presentan diferencias significativas entre sí, como se deduce de los valores de F y P obtenidos (Tabla 2). En consecuencia se procedió a aplicar la prueba de Tukey, la cual permitió clasificar los materiales en tres grupos: grupo a, grupo b y grupo ab. A continuación se analizan los resultados obtenidos de acuerdo al análisis aplicado.

Análisis físico

Para la variable cascarilla, los materiales evaluados se

Tabla 2. Resultados del Tratamiento ANOVA a las variables evaluadas en los doce materiales de cacao.

VARIABLE	F	Significancia
pH	4,1	P < 0,05
Acidez	53,2	P < 0,05
Cascarilla	103,9	P < 0,05
Grasa	3,3	P < 0,05
Proteína	5,1	P < 0,05
Ceniza	42,2	P < 0,05
Fibra	47,9	P < 0,05
Magnesio	104,4	P < 0,05
Potasio	572,4	P < 0,05
Fósforo	17,4	P < 0,05
Hierro	138,0	P < 0,05
Zinc	300,7	P < 0,05

Los tratamientos con P < 0,05 difieren significativamente

distribuyeron entre los tres grupos fijados por la prueba de Tukey, así los materiales FSV-41, SCC-55, FEAR-5 y SCC-41 se ubicaron en el grupo a con menor contenido de cascarilla (11%-13%); los materiales CCN-51, SCC-52, SCC-80, ICS-95 con contenidos de cascarilla del 15% se situaron en el grupo b; y los restantes materiales con contenido intermedio en el grupo ab. De estos materiales sólo el FEAR-5 y el Criollo presentaron contenidos de cascarilla normales, según los parámetros del Departamento de Fomento de la Compañía Nacional de Chocolates, los demás se catalogan como granos con alto contenido de cascarilla.

Para la variable pH, los materiales Criollo e ICS-95 con pH alto se clasificaron en el grupo b y los materiales SCC-55 y SCC-80 con pH bajo en el grupo a. Los demás materiales se ubicaron en el grupo ab y tienen valores entre 5,3 y 5,6 que corresponden también a los valores normales de pH, aceptados por la industria.

Análisis Químico

Los materiales FSA-12, FEAR-5 y SCC-41 registraron niveles bajos de acidez, entre 0.3% - 0.4% (grupo a) y los materiales CCN-51, SCC-52 y FLE-3 niveles altos entre 0.8%-0.9% (grupo b). Estos resultados son similares a los obtenidos por Nazarudin y Seng, [19] quienes evaluaron cacao originario de Malasia, pero difieren de los obtenidos por Moreno et al [14] que encontraron valores de acidez superiores al 1% para cacao híbridos. Los niveles de acidez en el grano de cacao, dependen

de la forma como se realiza el proceso de fermentación y de secado, pero también pueden verse afectados por la variedad del grano y su contenido de mucilago.

En la Tabla 3, se relacionan los resultados experimentales obtenidos para grasa, proteína, fibra y ceniza. Se observó que el cacao Criollo y los materiales SCC-55, FLE-3, ICS-95 SCC-41, CCN-51, FEC-2, poseen un contenido de proteína similar (alrededor de 14,2%) y se clasificaron en el grupo b; mientras que el material FEAR-5 se situó en el grupo a (11,8%). Con valores intermedios se ubicaron en el grupo ab, 8 de los 12 clones de cacao evaluados (Gráfica 1).

El contenido de fibra presentó los valores más dispersos aunque los materiales en su mayoría se ubicaron en niveles altos (grupo b) e intermedios (grupo ab). De todos, el clon SCC-52 tiene el mayor contenido de fibra (4,2%). En todos los casos sin embargo, los valores de proteína y fibra encontrados se ajustan a los parámetros fijados por la norma NTC 793 para el cacao en grano.

En el caso de la ceniza, salvo los materiales SCC-41 y el cacao Criollo (nivel > 4%) los demás materiales cumplen la norma mencionada.

Tabla 3. Contenido de macronutrientes (%) de los materiales regionales de cacao

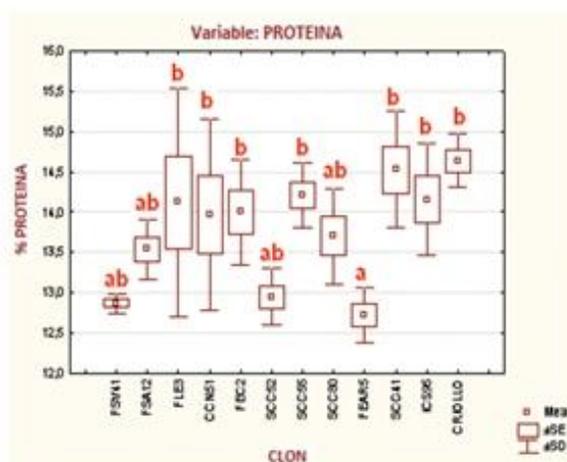
MATERIAL	GRASA ± SE	PROTEINAS ± SE	FIBRA ± SE	CENIZA ± SE
FSV41	53,9±0,5	12,9 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,8 ± 0,0
FSA12	55,1 ± 0,2	13,5 ± 0,2	2,9 ± 0,2	3,2 ± 0,1
FLE3	54,9 ± 0,7	14,1 ± 0,6	2,9 ± 0,1	3,2 ± 0,1
CCN51	53,9 ± 0,5	14,0 ± 0,3	2,2 ± 0,1	2,7 ± 0,1
FEC2	55,7 ± 0,7	14,1 ± 0,3	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,0
SCC52	57,7 ± 0,4	12,9 ± 0,1	4,1±0,1	3,1 ± 0,1
SCC55	55,9 ± 1,2	14,2 ± 0,2	3,3 ± 0,2	3.1 ± 0,1
SCC80	56,3 ± 0,6	13,7 ± 0,2	2,6 ± 0,0	3,0 ± 0,3
FEAR5	53,9 ± 1,2	11,8 ± 0,14	3,7 ± 0,2	3,2 ± 0,3
CRIOLLO	54,9 ± 0,3	14,6 ± 0,1	2,5 ± 0,1	4,2 ± 0,2
SCC41	56,8 ± 0,2	14,5 ± 0,3	3,8 ± 0,0	4,2 ± 0,0
ICS95	53,7 ± 0,5	14,2 ± 0,3	1,6 ± 0,1	3,3 ± 0,1
SCC23	51,4 ± 1.0	13,3 ± 0,3	3,6 ± 0,3	4,0 ± 0,0

*** Significancia estadística, P < 0.05, SE, error estándar

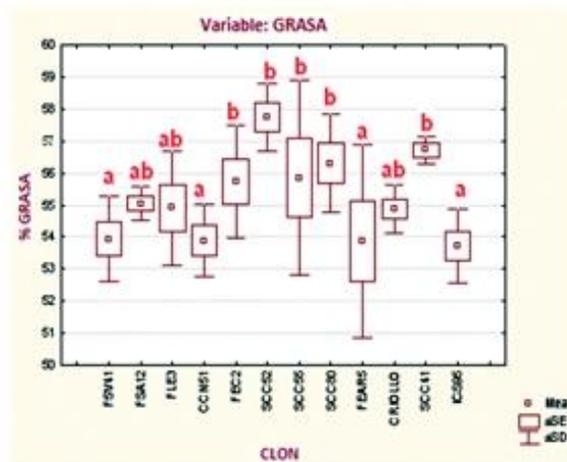
Con respecto al contenido de grasa los materiales FSV-41, CCN-51, FEAR-5, ICS-95 conformaron el grupo a con valores alrededor de 53,0 % y los materiales SCC-52, SCC-41, SCC-80, SCC-55, FEC-2 el grupo b, con valores entre 55,7% - 57,7 %; los demás se clasificaron en el grupo ab (Gráfica 2). Se destacan los materiales SCC que se ubican todos en el grupo b, presentando altos contenidos de grasa.

El contenido de grasa de los doce materiales evaluados se ajustó a lo dispuesto en la NTC 793 (mínimo 48%) y fue similar al reportado a nivel nacional por Cote et al [12] y por Fedecacao [14] (50% - 57 %) pero difiere de los logrados a nivel internacional (40%-50%) [1, 20].

Gráfica 1. Agrupación de los contenidos de proteína de los materiales de cacao



Gráfica 2. Agrupación de los contenidos de Grasa de los materiales de cacao



La composición de ácidos grasos de la manteca de cacao también presentó diferencias significativas entre los materiales, por consiguiente, se aplicó la prueba de Tukey para los ácidos más abundantes: ácido palmítico, esteárico, oleico y linoleico. El contenido de ácido palmítico osciló entre 29% - 32% encontrándose en mayor proporción en el material FSV-41 con 32% (Gráfico 3). De ácido esteárico, los materiales de cacao contienen entre 31,9 y 36,6%, destacándose el clon FLE-3 con una abundancia del 36,6% (Gráfica 4). Para el ácido oleico, un ácido graso monoinsaturado, los materiales FEAR-5, SCC-41, SCC-80, ICS-95 y Criollo mostraron los mayores contenidos (grupo b) con valores entre 33,1% -33,9%; mientras que el ácido linoleico se encontró en mayor proporción en los materiales SCC-80 y SCC-55.

La relación ácidos grasos saturados e insaturados, permitió clasificar las mantecas como mantecas duras, aspecto que se corroboró al medir la curva de sólidos de las grasas obtenidas (datos no mostrados). Las mantecas de cacao duras son las más apetecidas por la industria.

En la Tabla 4, se relacionan los resultados obtenidos en los análisis potasio, magnesio, hierro, zinc y fósforo.

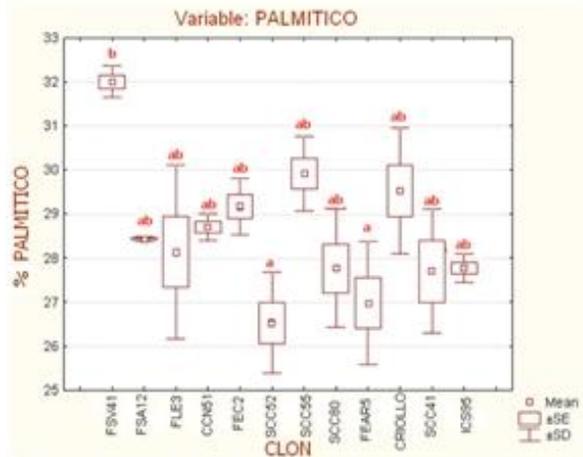
El Potasio fue el mineral más abundante destacándose en el grupo b los materiales SCC-41, Criollo y FSA-12 con contenidos entre 1000 y 1300 ppm y en el grupo a los materiales ICS-95, SCC-52, SCC-55 y FSV-41 con valores entre 690 y 790 ppm. Siguió en orden decreciente el Magnesio que en los materiales Criollo, SCC-55, SCC-41, SCC-52 y FEAR-5 alcanzó los mayores valores (250 - 300 ppm).

En el caso del hierro los materiales SCC-55, FSA-12, FEC-2 y SCC-52 se ubican el grupo b, con concentraciones que oscilan entre 1,6 y 2,7 ppm, los demás presentan valores que oscilan entre 1,5-0,5 ppm.

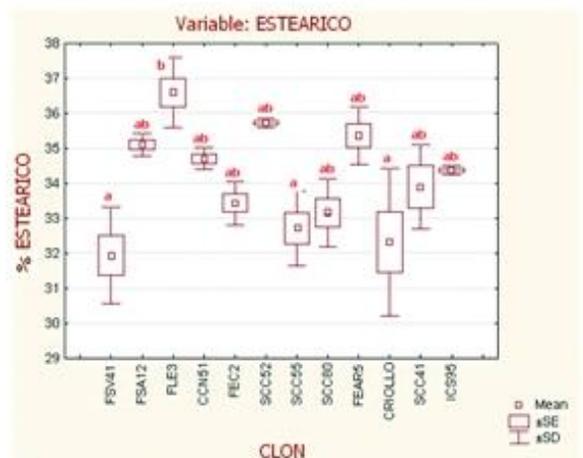
Con respecto al contenido de Fósforo los clones FEC-2 y FSA-12 se destacan en la agrupación b con concentraciones alrededor de 500 ppm y los materiales SCC-52, FSV-41, SCC-80 y Criollo en el grupo a con concentraciones menores a 350 ppm.

De acuerdo con los resultados anteriores se establece que la composición en micronutrientes presenta un

Gráfica 3. Agrupación del ácido palmítico en los materiales de cacao



Gráfica 4. Agrupación del ácido esteárico en los materiales de cacao



alto nivel de heterogeneidad. Sin embargo, el cacao es una fuente importante de potasio, magnesio y fósforo. En estudios realizados por Cheveaux et al., [1] usando cacao cultivado en Panamá se encontraron resultados similares.

CONCLUSIONES

Al evaluar las características físicas y químicas de los materiales seleccionados por Corpoica (SCC-41, SCC-52, SCC-55, SCC-80), por Fedecacao (FLE-3, FSV-41, FSA-12, FEC-2, FEAR-5), y los materiales ICS-95, CCN-51, CRIOLLO, se estableció que todos presentan diferencias significativas entre sí por lo las características fisicoquímicas pueden servir como parámetros diferenciadores de la calidad.

Tabla 4. Contenido de micronutrientes (ppm) de los materiales regionales de cacao

MATERIAL	POTASIO ± SE	MAGNESIO ± SE	FOSFORO ± SE	ZINC ± SE	HIERRO ± SE
FSV41	786, ± 1,1	198,6 ± 1,7	322 ± 10,2	3,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0
FSA12	1019,6 ± 1,9	225,1 ± 8,4	450 ± 8,3	5,7 ± 0,1	2,1 ± 0,1
FLE3	868,6 ± 1,6	229,8 ± 2,9	377 ± 9,6	12,2 ± 0,2	1,2 ± 0,0
CCN51	859,3 ± 1,7	209,9 ± 4,1	428 ± 10,1	7,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1
FEC2	90,1 ± 2,2	229,4 ± 1,6	450 ± 3,2	7,3 ± 0,1	1,9 ± 0,0
SCC52	747,5 ± 1,2	258,6 ± 0,6	297 ± 9,2	6,8 ± 0,0	1,6 ± 0,1
SCC55	691,4 ± 1,2	268,8 ± 0,8	423 ± 3,6	5,3 ± 0,0	2,7 ± 0,0
SCC80	830,2 ± 0,6	162,6 ± 0,3	340 ± 5,6	6,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0
FEAR5	859,0 ± 1,2	254,1 ± 1,6	365 ± 9,0	2,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0
CRIOLLO	1307,5 ± 5,3	299,4 ± 1,0	342 ± 7,7	4,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0
SCC41	996,5 ± 3,2	277,5 ± 2,2	441 ± 6,8	4,1 ± 0,4	0,6 ± 0,0
ICS95	750,2 ± 6,6	180,9 ± 8,4	405 ± 4,2	5,2 ± 0,4	1,0 ± 0,0
SCC23	894,5 ± 3,6	173,5 ± 3,5	335 ± 4,2	6,1 ± 0,3	0,6 ± 0,1

*** Significancia estadística, P < 0.05, SE, error estándar

Los clones SCC-41 y FEC-2 se destacan por su ubicación en el grupo b que involucra aquellos materiales que tienen mayor contenido de las variables analizadas.

AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, por la financiación del proyecto "Evaluación del potencial adaptativo y productivo de clones regionales promisorios de cacao en las zonas productoras de Colombia" desarrollado por la Unión Temporal 1 Fedecacao - Corpoica - Universidad Industrial de Santander y la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Al Biólogo Diego Rincón por su apoyo en el tratamiento y análisis estadístico de los resultados. Al Dr. Fabio Aranzazu de Fedecacao Regional Santander.

REFERENCIAS

[1] CHEVAUX, K; JAKSON, L and VILLAR M. Proximate, mineral and procyanidin content of certain

foods and beverages consumed by the Kuna Amerinds of Panama. *Journal of food composition and analysis*. 14, 553-563, 2001.

[2] WOLLGAST, J and ANKLAM, E. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufactured of chocolate methodology for identification and quantification. *Food Research International*. 33, 423-447, 2000. [3]

DREOSTY, L. Antioxidant Polyphenols in tea, cocoa and wine. *Nutrition*. 16, 7-8, 2000.

[4] MILLER, M et al. Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4062-4068, 2006.

[5] LIENDO, R; PADILLA, F and QUINTANA, A. Characterization of Cocoa Butter Extracted From Criollo Cultivars of Theobroma Cacao I. Venezuela. *Food Research of Technology*. 30, 727-731, 2006. [6]

ACOSTA, R et al. Estudio de Algunas Características Físicas y Químicas de la Grasa de los Cotiledones de Tres Tipos de Cacao de la Localidad

- de Cumbotó. *Agronomía Tropical*. 51, 119-131, 2001.
- [7] TUCCI, M; ABREU, M and SAES, L. Cocoa Butter Content and Fatty Acid Composition of Fruits Developing under Different Climatic Conditions, *Brazilian Journal of Food Technology*. 2, 103-110, 1999.
- [8] SPANGENBERG, J and DIONISI, F. Characterization of Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents by Bulk and Molecular Carbon Isotope Analyses : Implications for Vegetable Fat Quantification in Chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4271-4277, 2001.
- [9] ASEP, E et al. The Effects of Particle Size, Fermentation and Roasting of Cocoa Nibs on Supercritical Fluid Extraction of Cocoa Butter. *Journal of Food Engineering*. 85, 450-458, 2008.
- [10] PEREZ, E; ALVAREZ, C y LARES, M.. Caracterización Física y Química de Granos de Cacao Fermentados, Secos y Tostados de la Región del Chuao. *Agronomía Tropical*. 52, 161-172, 2002.
- [11] FEDECACAO. El Beneficio y Características Físico Químicas del Cacao, (*Theobroma Cacao L.*). Programa de Comercialización. 1, 33, 2004.
- [12] COTE, M; JIMENEZ, J y PEREA, J. Caracterización de clones de cacao promisorios con énfasis en el contenido de micronutrientes. Tesis de Pregrado, (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Bucaramanga. 2005.
- [13] HOLM, C; ASTON, J and DOUGLAS, K. The effects of the organic acids in cocoa on the flavour of chocolate. *Journal of Agricultural and Food Science*. 61, 55-71, 1993.
- [14] MORENO, N; DURAN, T y PEREA, J. Evaluación de la variación del perfil ácido del grano de cacao durante los procesos de fermentación y secado. Trabajo de pregrado (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Bucaramanga. 1999
- [15] A.O.A.C. The official and recommended practices of the American Lo Chesmest's Society. 1987.
- [16] BERNAL, L. Análisis de Alimentos. Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional, Bogotá. 1990. 140p.
- [17] IUPAC Methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 7 ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1987.
- [18] ZAR J. *Biostatistical Analysis*. 4 ed. New. Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.
- [19] NAZARUDDIN, R and SENG, L. Effect of Pulp Preconditioning on the Content of Polyphenols in Cocoa Beans During Fermentation. *Industrial Crops and Products*. 24, 87-94, 2006.
- [20] RAHOMA, M; MARLENYD, A and MAZZAFERA, P. Extraction of Cocoa Butter from Brazilian Cocoa Beans and Ethane Using Supercritical CO₂. *Fluid Phase Equilibra*. 194, 885-889, 2001.

