



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

**TEMA**

---

**ESTUDIO DEL CONTENIDO DE GRASA, ALCALOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN ALMENDRAS DE CACAO NACIONAL FINO DE AROMA EN ZONAS DEL LITORAL ECUATORIANO PARA COMPARAR SU CALIDAD Y FACILITAR SU COMERCIALIZACIÓN.**

---

Informe de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI). Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico.

Este trabajo es parte del Proyecto SENESCYT/PIC-12-INIAP-003, convenio 20120316, actividad 539-022, que se ejecuta en el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Nutrición y Calidad.

**AUTOR** : Camino Castillo Carlos Eduardo

**TUTOR** : Ing. Cecilia Carpio

AMBATO-ECUADOR

2014

## APROBACIÓN POR EL TUTOR

En calidad de Tutor del trabajo de investigación: **“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE GRASA, ALCALOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN ALMENDRAS DE CACAO NACIONAL FINO DE AROMA EN ZONAS DEL LITORAL ECUATORIANO PARA COMPARAR SU CALIDAD Y FACILITAR SU COMERCIALIZACIÓN”**, realizado por el Ego. Camino Castillo Carlos Eduardo, certifico que el trabajo fue realizado por la persona indicada. Considero que dicho informe investigativo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del Tribunal de Grado, que el Honorable Consejo Directivo designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Ambato, 24 de marzo del 2014

-----

Ing. Cecilia Carpio  
**TUTOR DE TESIS**

## **AUTORÍA DE LA TESIS**

El presente trabajo de investigación: **“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE GRASA, ALCALOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN ALMENDRAS DE CACAO NACIONAL FINO DE AROMA EN ZONAS DEL LITORAL ECUATORIANO PARA COMPARAR SU CALIDAD Y FACILITAR SU COMERCIALIZACIÓN”**, es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido, efectos legales y académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ambato, 24 de marzo del 2014

-----  
Camino Castillo Carlos Eduardo  
**180396117-4**

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**

**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

Los miembros del tribunal de grado aprueban el presente trabajo de graduación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Mayo del 2014

Para constancia firman:

---

**Presidenta Tribunal**  
**Ing. Gladys Navas**

---

**Miembro del Tribunal**  
**Ing. William Teneda**

---

**Miembro del Tribunal**  
**Ing. Liliana Acurio**

## **DEDICATORIA**

A mi familia; Victoria Castillo, Rolando Pilataxi y Karen Castillo que con su apoyo he logrado completar un objetivo más en mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Departamento de Nutrición y Calidad, Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos, a su directora la Dra. Susana Espín quien dirigió este proyecto.

Al Dr. Iván Samaniego quien me guio en el desarrollo del presente trabajo investigativo, por la transferencia de sus conocimientos que fueron de mucha ayuda en mi formación como profesional.

Al Programa Nacional del Cacao Estación Experimental Litoral Sur, por su gran ayuda en el proceso de beneficio de las muestras de cacao recolectadas en el Litoral Ecuatoriano.

A la Ing. Cecilia Carpio, por su tutoría de tesis, y sus conocimientos impartidos en clases.

A la Ing. Beatriz Brito por su constante colaboración en el proyecto.

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, por formar parte de mi trayectoria como profesional.

A todos los “chéveres”, por su amistad y apoyo durante todos estos años.

A todos mis amigos del Departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, que me brindaron su ayuda durante el desarrollo de mi tesis e hicieron de ésta etapa de mi vida un momento inolvidable.

A la Secretaria de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT, por el financiamiento al Proyecto SENESCYT-PIC-12-INIAP-003, del cual el presente estudio forma parte.

## ÍNDICE

1	EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.1	Tema de Investigación.....	1
1.2	Planteamiento del problema .....	1
1.2.1	Contextualización.....	1
1.2.2	Análisis crítico .....	4
1.2.3	Prognosis.....	5
1.2.4	Formulación del problema.....	5
1.2.5	Preguntas directrices.....	5
1.2.6	Delimitación .....	5
1.3	Justificación.....	6
1.4	Objetivos .....	6
1.4.1	Objetivo General .....	6
1.4.2	Objetivos Específicos.....	6
2	MARCO TEÓRICO .....	8
2.1	Antecedentes investigativos .....	8
2.2	Fundamentación filosófica .....	11
2.3	Fundamentación legal .....	11
2.4	Categorías fundamentales.....	12
2.5	Introducción.....	13
2.5.1	Origen del Cacao .....	13
2.5.2	Botánica del cacao.....	13
2.5.3	Tipos de cacao.....	14
2.5.4	Beneficio del cacao .....	15
2.5.4.1	Fermentación .....	16
2.5.4.2	Métodos de fermentación.....	18
2.5.4.3	Secado.....	20
2.5.5	Marco teórico de la variable independiente .....	22
2.5.5.1	Zonas cacaoteras del Ecuador.....	22
2.5.6	Marco teórico de la variable dependiente.....	23
2.5.6.1	Compuestos químicos no volátiles en almendras de cacao .....	23
2.6	Hipótesis.....	30
2.7	Señalamiento de variables.....	30

2.7.1	Variable Independiente .....	30
2.7.2	Variable Dependiente.....	31
3	METODOLOGÍA .....	32
3.1	Enfoque .....	32
3.2	Modalidad básica de la investigación.....	32
3.3	Nivel o tipo de investigación .....	32
3.4	Población y muestra .....	32
3.4.1	Muestras de cacao.....	32
3.4.2	Técnica de muestreo.....	33
3.4.3	Tamaño de la muestra .....	33
3.4.4	Procedimiento de muestreo.....	34
3.4.5	Proceso de fermentación y secado .....	35
3.4.6	Codificación y preparación de muestras en el laboratorio .....	35
3.4.7	Métodos de análisis .....	35
3.5	Operacionalización de variables .....	37
3.6	Recolección de información.....	37
3.6.1	Factores en estudio.....	37
3.6.2	Tratamientos .....	38
3.6.3	Unidad experimental .....	39
3.6.4	Análisis estadístico.....	39
3.6.4.1	Diseño experimental .....	39
4	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	40
4.1	Análisis de los resultados .....	40
4.1.1	Polifenoles .....	40
4.1.2	Grasa .....	42
4.1.3	Teobromina.....	44
4.1.4	Cafeína .....	47
4.1.5	Relación teobromina/cafeína (T/C).....	49
4.1.6	Correlación teobromina/cafeína vs grasa. ....	52
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	53
5.1	Conclusiones .....	53
5.2	Recomendaciones .....	55
6	PROPUESTA .....	56
6.1	Datos informativos .....	56



6.1.1	Título.....	56
6.1.2	Ejecutor.....	56
6.1.3	Ubicación .....	56
6.1.4	Beneficiarios .....	56
6.1.5	Tiempo estimado para la ejecución .....	56
6.1.6	Equipo técnico responsable .....	57
6.2	Antecedentes de la propuesta .....	57
6.3	Justificación.....	58
6.3.1	Objetivo general .....	58
6.3.2	Objetivos específicos .....	58
6.4	Análisis de factibilidad .....	59
6.5	Fundamentación.....	59
6.6	Metodología.....	59
6.7	Administración .....	60
6.8	Previsión de la evaluación .....	61
	Bibliografía.....	62

## **DATOS EXPERIMENTALES**

### **ANEXO A**

Tabla A 1 Resultados de los análisis de teobromina (%) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos. ....	70
Tabla A 2 Resultados de los análisis de cafeína (%) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos. ....	72
Tabla A 3 Resultados de los análisis de polifenoles totales (mg ácido gálico/ g muestra desengrasada) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos. ....	74
Tabla A 4 Resultados de los análisis de grasa (%) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos. ....	76

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

### **ANEXO B**

Tabla B 1 Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas). ....	79
Tabla B 2 Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en muestras de cacao secas y fermentadas de la provincia de Manabí. ....	79
Tabla B 3 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Manabí. ....	79
Tabla B 4 Análisis de varianza en el contenido de polifenoles totales para el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	79
Tabla B 5 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	79
Tabla B 6 Análisis de varianza en el contenido de polifenoles totales para cacao de la provincia de Guayas. ....	80
Tabla B 7 Análisis de varianza del contenido de grasa en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas). ....	80
Tabla B 8 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de grasa en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	80
Tabla B 9 Análisis de varianza para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	80
Tabla B 10 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	81

Tabla B 11 Análisis de varianza para contenido de grasa en el cacao de la provincia de Manabí. ....	81
Tabla B 12 Análisis de varianza para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Guayas. ....	81
Tabla B 13 Análisis de varianza del contenido de teobromina en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas). ....	81
Tabla B 14 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de teobromina en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	81
Tabla B 15 Análisis de varianza para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	82
Tabla B 16 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	82
Tabla B 17 Análisis de varianza para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Manabí. ....	82
Tabla B 18 Análisis de varianza para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Guayas. ....	82
Tabla B 19 Análisis de varianza del contenido de cafeína en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas). ....	83
Tabla B 20 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de cafeína en cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	83
Tabla B 21 Análisis de varianza para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	83
Tabla B 22 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	83
Tabla B 23 Análisis de varianza para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Manabí. ....	83
Tabla B 24 Análisis de varianza para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Guayas. ....	84
Tabla B 25 Análisis de varianza de la relación teobromina/cafeína en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas). ....	84
Tabla B 26 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para la relación T/C en cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). ....	84
Tabla B 27 Análisis de varianza para la relación T/C en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	84

Tabla B 28 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para la relación T/C en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	84
Tabla B 29 Análisis de varianza para la relación T/C en el cacao de la provincia de Manabí. ....	85
Tabla B 30 Análisis de varianza para la relación T/C en el cacao de la provincia de Guayas. ....	85

## **FIGURAS**

### **ANEXO C**

Figura C 1 Contenido promedio de polifenoles totales (mg ácido gálico/g cacao desengrasado) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	87
Figura C 2 Histograma de frecuencia para polifenoles totales (mg ácido gálico/g cacao desengrasado) en una población de cacao Nacional de tres provincias del litoral ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	87
Figura C 3 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Manabí. ....	88
Figura C 4 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	88
Figura C 5 Contenido promedio de grasa (%) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	89
Figura C 6 Histograma de frecuencia para el contenido graso en una población de cacao Nacional en tres provincias del Litoral Ecuatoriano. ....	89
Figura C 7 Contenido de grasa (%) promedio en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). ....	90
Figura C 8 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	90
Figura C 9 Contenido promedio de teobromina % en muestras de cacao desengrasado en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). ....	91
Figura C 10 Histograma de frecuencia para el contenido de teobromina (%) en una población de cacao Nacional de tres provincias productoras del Litoral Ecuatoriano. ....	91
Figura C 11 Contenido de teobromina (%) promedio en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). ....	92

Figura C 12 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Los Ríos.....	92
Figura C 13 Contenido promedio de cafeína (%) en cacao desengrasado en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). .....	93
Figura C 14 Histograma de frecuencias para el contenido de cafeína en una población de cacao Nacional en tres provincias del Litoral Ecuatoriano. ....	93
Figura C 15 Contenido de cafeína (%) promedio en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). .....	94
Figura C 16 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Los Ríos. ....	94
Figura C 17 Promedios de la relación teobromina/cafeína en muestras de cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos). .....	95
Figura C 18 Histograma de frecuencia para la relación teobromina/cafeína en una población de cacao Nacional de tres provincias del Litoral Ecuatoriano. ....	95
Figura C 19 Relación Teobromina/Cafeína vs Cafeína en muestras de cacao Nacional en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). ....	96
Figura C 20 Relación T/C promedio en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). .....	96
Figura C 21 Intervalo de confianza al 95% para la relación T/C en la provincia de Los Ríos.....	97
Figura C 22 Correlación T/C vs Grasa. ....	97

## **ASOCIACIONES PRODUCTORAS**

### **ANEXO D**

Tabla D 1 Asociaciones productoras de cacao en la provincia del Guayas.....	99
Tabla D 2 Asociaciones productoras de cacao en la provincia de Manabí. ....	101
Tabla D 3 Asociaciones productoras de cacao en la provincia de Los Ríos.....	102

## RESUMEN

La finalidad del presente estudio fue evaluar el contenido de los componentes químicos no volátiles (polifenoles, grasa y alcaloides) en almendras de cacao nacional recolectadas en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, las mismas que fueron fermentadas por cuatro días y secadas al sol. Las muestras de cacao fueron analizadas utilizando las metodologías vigentes en el Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos LSAIA del INIAP. Los resultados obtenidos mostraron que el contenido de polifenoles totales varió en un rango de 33.55 a 62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado, los alcaloides presentaron contenidos que varían entre 1.52 a 2.29% para el caso de la teobromina y de 0.20 a 0.40% para la cafeína. El contenido de grasa promedio obtenido en las muestras analizadas fue del 45.2%. La relación teobromina/cafeína (T/C) permitió establecer al cacao nacional de estas provincias dentro de la clasificación de los cacaos Trinitarios con valores que varían entre 5.56 y 7.86; respaldando la calidad del cacao ecuatoriano como fino de aroma y su prestigio en la industria chocolatera. Los resultados de los análisis estadísticos al 95% de confianza demostraron que existe un efecto significativo del ambiente sobre el contenido de grasa y alcaloides, mientras que el contenido de polifenoles no presentó diferencia estadística en función del origen de las muestras de cacao utilizadas en este estudio.

# CAPÍTULO I

## 1 EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Tema de Investigación

Estudio del contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma en zonas del Litoral ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización.

### 1.2 Planteamiento del problema

En los últimos años el Ecuador ha venido perdiendo competitividad en el mercado de exportación del cacao, debido a los cruzamientos genéticos y al mal manejo post-cosecha que se realiza. Los cruzamientos naturales que se han ido formando a través de los años han hecho muy difícil definir sus características químicas y morfológicas para diferenciarlo del resto de cacaos, creando incertidumbre y desconfianza entre los operadores internacionales sobre el origen de los cacaos finos que se ofertan en el mercado, a esto se suma la falta de herramientas objetivas para su certificación y adecuada diferenciación que dificulta este proceso de valorización. Así, tanto productores como manufactureros corren el riesgo de sentirse afectados por el costo del cacao que se está negociando. Por esta razón se requiere caracterizar químicamente la población de cacao ecuatoriano para proporcionar información cuantitativa que permita diferenciar el cacao ecuatoriano.

#### 1.2.1 Contextualización

Durante las últimas décadas en el contexto de la globalización económica surgen una serie de reformas orientadas a una mayor apertura comercial y liberación de la economía, lo cual exige mejorar la competitividad. En este sentido, se puede decir que una de las aristas de la competitividad se vincula con una mejor calidad del producto (Quintero y Díaz, 2004).

En el caso del cacao, la calidad final depende de varios factores, tales como el tipo de cacao, el ambiente, el manejo de la plantación, y el manejo post-cosecha. Todos estos

factores deben ser considerados para cumplir con los estándares internacionales del cacao, en los que se toma en cuenta: el tamaño y el peso de la almendra; porcentaje de fermentación; contenido de cascarilla; contenido de humedad y defectos (Quintero y Díaz, 2004; Enríquez, 1998; Rodríguez et al., 2010). El cacao proveniente de Ghana en general recibe un buen tratamiento post-cosecha, por esa razón este cacao es utilizado como estándar mundial y es el referente al momento de negociar y fijar precios para otros orígenes de cacao (Lastra, 2004).

Los mercados internacionales clasifican los granos de cacao en dos categorías: el cacao básico u ordinario y el cacao fino o de aroma. De éstos, alrededor del 95% de la producción mundial puede considerarse como cacao básico u ordinario, el cual procede en su mayoría de África, Asia y Brasil, en especial del tipo forastero. El restante de la producción, corresponde a cacao fino o de aroma, procedente de los cacaos criollos y trinitarios cuyas características distintivas de aroma y sabor son buscadas principalmente por los fabricantes de chocolates finos. Los mayores productores de cacao fino son Ecuador, Indonesia, Papúa Nueva Guinea, Colombia, Venezuela y Trinidad (Pérez, 2009; Lastra, 2004).

Pero el problema está en la existencia de mucha ambigüedad en el criterio utilizado para la distinción de los tipos de cacao, porque no se ha podido establecer parámetros de calidad químicos y sensoriales que sean aceptados y estandarizados por todos para permitir diferenciar y establecer precios a los cacaos, debido a que la mayoría de los componentes químicos en las almendras varían durante la fermentación y secado. Además, el beneficiado del cacao no es uniforme en ninguna parte del mundo, sin embargo, se ha determinado que la relación teobromina/cafeína (T/C) tiene muy buena capacidad de discriminación para diferenciar el cacao fino del ordinario (Amores et al., 2007). Y por otro lado, los compuestos aromáticos también han demostrado estar dotados de una gran capacidad para discriminar entre muestras de cacao fino y cacao ordinario tanto en las almendras fermentadas sin tostar como fermentadas y tostadas (Álvarez, 2008; Amores et al., s.f).

Además de la problemática para diferenciar los cacaos, existe otros problemas en el manejo post-cosecha y manejo del cultivo, en este punto los cacaos ordinarios tienen una ventaja competitiva que son más productivos y resistentes a las enfermedades, mientras

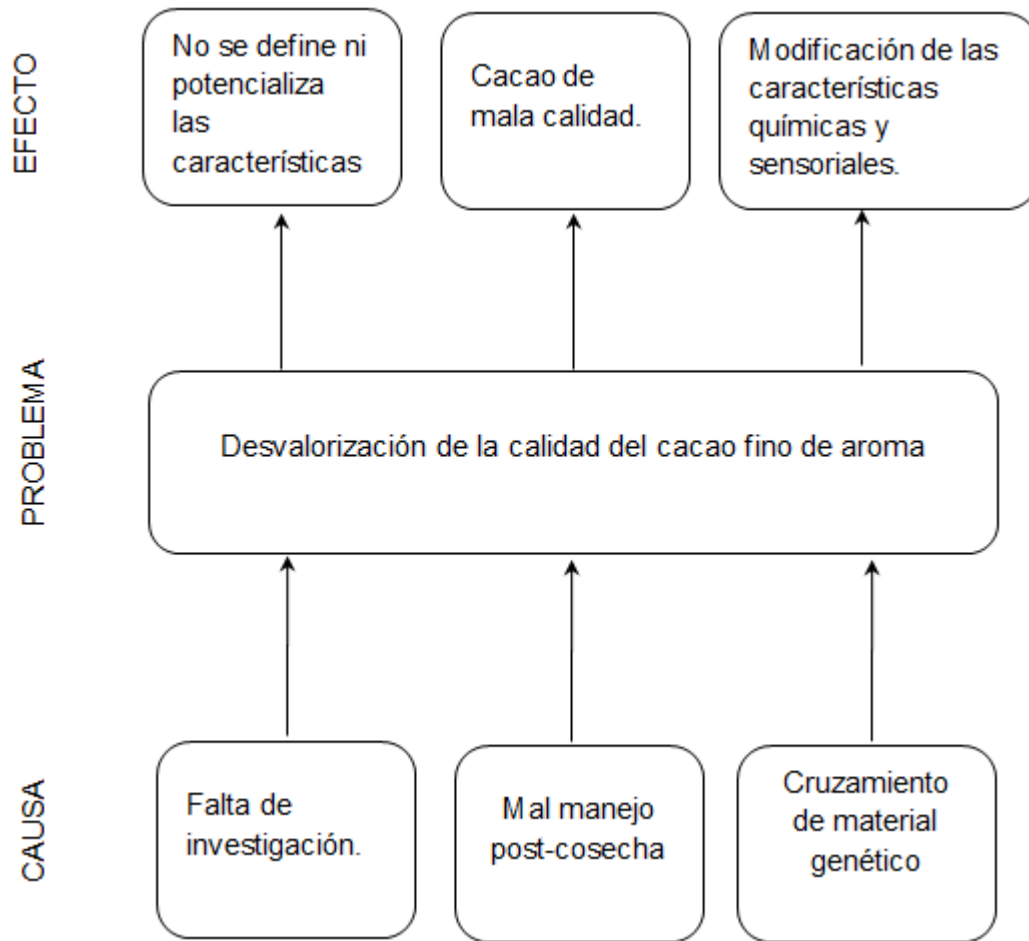


los cacaos finos destacan por sus características sensoriales, pero mantienen bajos rendimientos y son más sensibles a enfermedades. Estos factores han influenciado a que los países productores de América Central, del Sur y el Caribe pierdan la supremacía de ser los mayores exportadores de cacao, sitial gradualmente arrebatado por África Occidental, que ha mantenido su posición predominante durante los últimos treinta años. Esto no quiere decir que se deba reemplazar el cacao fino por los cacaos ordinarios, sino más bien se debe potencializar y conservar las cualidades de los cacaos finos (Urquhart, 1963; Enríquez, 1998; Quintero y Díaz, 2004). Actualmente África sigue manteniendo su posición de principal región productora de cacao, con una cuota del 68% de la producción cacaotera mundial en 2009/2010, seguida de Asia y Oceanía, con un 18%, y América con un 14% (ICCO, 2010).

En el caso específico de Ecuador, en las últimas décadas se ha venido descuidando la calidad y la limpieza física del grano, por lo que fue castigado en los mercados tradicionales del cacao de Ecuador. Esto ha generado la pérdida de su condición de productor absoluto de cacao fino (con el 25% de su producción) catalogada ahora como cacao ordinario, contrariamente a lo que sucedía en los años 1910 donde el producto era uniforme, sin defectos y no tenía rival en el mundo. Todo esto fue cambiando debido a la expansión del clon CCN-51 en las fincas de los productores que generan cruzamientos entre los cacaos (Enríquez, 1998; Quiroz, 2010).

### 1.2.2 Análisis crítico

Figura 1 Diagrama de causa-efecto



Elaborado por: Carlos Camino

### **1.2.3 Prognosis**

Al no realizarse la presente investigación, permanecería el desconocimiento de las características químicas del Cacao Nacional en zonas productoras de la costa ecuatoriana, lo que no permitiría mejorar los precios del cacao y las condiciones socio económicas de las personas involucradas en esta actividad.

### **1.2.4 Formulación del problema**

¿El contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales de las almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma en zonas del Litoral Ecuatoriano son parámetros comparativos de calidad que permitan facilitar su comercialización?

### **1.2.5 Preguntas directrices**

¿Existe diferencia significativa en el contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales del Cacao Fino de Aroma producido en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos)?

¿Existe diferencia significativa en la relación teobromina/cafeína respecto a las zonas de estudio?

¿La elaboración de una base de datos referenciales a nivel de país para productores e industriales permite obtener la calificación de origen y mejorar las condiciones socio-económicas de los productores?

### **1.2.6 Delimitación**

Área : Calidad de los alimentos

Sub-área : Química Analítica

Sector : Cacao

Sub-sector : Componentes químicos no volátiles asociados a la calidad.

Temporal : Marzo a Diciembre del 2013

Espacial : Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos LSAIA, Departamento de Nutrición y Calidad, Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria.

### **1.3 Justificación**

La presente investigación se realiza con el propósito de dar a conocer las características químicas presentadas por el Cacao Nacional Fino de Aroma de las principales zonas productoras del Litoral Ecuatoriano, a través de la cuantificación de componentes químicos no volátiles que le confieren al cacao nacional ciertas características de sabor y aroma, que le permiten tener una calidad superior y mejor precio. De esta manera se pretende generar en un futuro un valor agregado al producto, y crear una base de datos que le servirá de referencia a las empresas productoras de chocolate.

La caracterización de estos componentes químicos (grasa, alcaloides y polifenoles) permitirá diferenciar el Cacao Nacional Fino de Aroma con respecto a los cacaos comunes (CCN 51) y proporcionar datos experimentales para evaluar la calidad del cacao y disminuir la incertidumbre y variabilidad en los precios. Por otra parte se estaría apoyando con un respaldo científico a la certificación de origen del cacao ecuatoriano.

### **1.4 Objetivos**

#### **1.4.1 Objetivo General**

- Estudiar el contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma de las principales zonas productoras del Litoral Ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización.

#### **1.4.2 Objetivos Específicos**

- Determinar si existe diferencia significativa en el contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en Cacao Fino de Aroma producido en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos).

- Identificar si existe diferencia significativa respecto a las zonas de estudio en base a la relación teobromina/cafeína.
- Elaborar una base de datos referenciales a nivel de país que permita obtener la certificación de origen y mejorar las condiciones socio-económicas de los productores.

## **CAPÍTULO II**

### **2 MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Antecedentes investigativos**

El cacao se cultiva desde finales del siglo XVI a lo largo de las zonas tropicales de América del Sur, Central y del Caribe. Ecuador está situado entre los 10 principales productores a nivel mundial y alcanza un promedio anual de 85000 toneladas métricas, constituyendo el 4% de las exportaciones mundiales. A pesar de que durante las últimas décadas ha venido perdiendo su mercado de calidad, el cultivo del cacao continúa siendo uno de los productos agrícolas importantes para la exportación. Las exportaciones de cacao entre enero y noviembre del 2011 llegaron a 147787 toneladas métricas en grano y 18356 toneladas métricas en semi-elaborados, y juntas representaron 494 millones de dólares de divisas para el país (ANECACAO, 2011).

A nivel mundial se conocen cacaos tipo: Criollo, Forastero Amazónico, Trinitario y Nacional del Ecuador denominado Fino de Aroma. Ecuador es el líder mundial en la producción y exportación de Cacao Fino de Aroma aportando con el 61%, este cacao posee una calidad única en el mundo debido a sus características aromáticas particulares (con aromas florales muy perceptivas) y es conocido como el cacao de “Arriba”. Actualmente hay pocas plantaciones de cacao Nacional puro, predominan las de cruzamientos naturales entre el Nacional y el Trinitario conocido como complejo Nacional x Trinitario, este cacao es muy apetecido por la industria chocolatera, especialmente en Europa (Rodríguez et al., 2010; Ramírez y Paredes, 2010).

El proceso post-cosecha del cacao es el factor de mayor influencia en el desarrollo del sabor y aroma a chocolate, sea cual sea su condición genética; por tanto, constituye un factor fundamental para la obtención de un grano de alta calidad, que permita su correcta comercialización en el mercado internacional. Este proceso incluye dos fases: la fermentación y el secado (Calderón, 2002).

La fermentación es el paso fundamental en el beneficio del cacao puesto que en este proceso se desarrolla el sabor y aroma del producto. Para la fermentación se coloca los

granos recién extraídos de las mazorcas en recipientes o montones adecuados, los cuales deben cubrirse para crear un ambiente semi-cerrado que permita una serie de cambios bioquímicos y físicos en todas las estructuras del grano, tanto en la testa o cascarilla como en el mucílago que la cubre y en el interior del cotiledón, el embrión debe morir y reabsorberse (Rodríguez et al, 2010).

La fermentación puede realizarse de diferentes formas, las más comunes utilizadas en nuestro medio son: cajas de madera, sacos de cabuya, montones y marquesinas. El proceso dura generalmente entre 3 y 6 días. Esta etapa es afectada por el tipo de cacao, tiempo de almacenamiento del fruto o mazorca antes de la apertura y el desgrane así como por el método de fermentación empleado. Actualmente se ha establecido que el mejor método de fermentación es el realizado en cajas de madera y el tiempo de fermentación para cacao nacional (complejo Nacional por Trinitario) es de 4 días (Rodríguez et al, 2010).

Durante la fermentación se producen una serie de reacciones enzimáticas y bioquímicas en el interior del cotiledón, estas reacciones degradan las células y producen la muerte del embrión, conduciendo a la transformación de los compuestos químicos de reserva de los granos en compuestos más simples conocidos como precursores del aroma a chocolate; en estas reacciones las proteínas son transformadas en aminoácidos, los azúcares complejos (polisacáridos) en azúcares simples y los polifenoles son polimerizados formando polímeros de alto peso molecular (la mayor parte de tipo taninos insolubles) (Samaniego, 2012).

Después de la fermentación, las almendras tienen alrededor del 55% de humedad y debe reducirse al 7% para poder almacenarlas, por esta razón las almendras fermentadas deben ser sometidas a un proceso de secado, ya sea de forma natural, al sol o de manera artificial en secadores. Es importante remarcar que durante el proceso de secado del grano continúan algunos procesos de transformación física y química que no llegaron a completarse mientras el producto está en la etapa de fermentación y contribuyen en la generación de las características organolépticas deseadas (Rodríguez et al, 2010).

La composición química de los granos de cacao depende de varios factores entre los cuales se puede citar: tipo de cacao, origen geográfico, grado de madurez, calidad de la

fermentación y secado. Después del proceso de beneficio, las almendras de cacao contienen esencialmente manteca de cacao (48-57%), compuestos fenólicos (8-20 %), proteínas (9%), agua (5-7%), teobromina (1.3-2.0%), cafeína (0.1-0.7%). Además, aminoácidos libres (0.8%), almidón (4.5-7.0%), pectinas (4.1%), celulosa (9%), ácidos orgánicos (0.05-0.50 % por cada ácido), minerales (2.6 a 4.2%), azúcares: glucosa (0.1%), fructosa (0.4-0.6%) (Álvarez, 2008; Amores et al, 2009). En resumen, las almendras de cacao fermentadas contienen fundamentalmente manteca de cacao, compuestos fenólicos y proteínas.

La manteca de cacao es uno de los constituyentes de importancia que define la calidad del grano según el tipo o la variedad, este tipo de manteca posee características físicas y químicas muy convenientes en la manufactura de una gran variedad de productos en la industria chocolatera, cosmética y farmacéutica. Estudios realizados mostraron que el contenido de grasa no es afectado significativamente durante la fermentación y que el contenido promedio de grasa en almendras fermentadas y secas de 6 clones de cacao nacional fue de  $48.8\% \pm 3.21\%$  (Espín, 2006, Amores et al., 2007; Álvarez, 2008).

El cacao es extraordinariamente rico en polifenoles, estos compuestos son almacenados en las células pigmentarias del cotiledón, y según la cantidad de antocianinas presentes en estas células los granos de cacao son de color blanco a violeta. Durante la fermentación los polifenoles disminuyen su concentración por efectos de difusión en los lixiviados de la fermentación, por oxidación y polimerización de los compuestos fenólicos con las proteínas. Este fenómeno es de gran importancia puesto que los polifenoles son los responsables del gusto astringente y amargo, por tanto influyen directamente sobre la calidad final del grano usado fundamentalmente para la elaboración de chocolates. Trabajos de investigación realizados en diferentes proyectos del INIAP con muestras de cacao nacional muestran que el contenido de polifenoles en las almendras disminuye en un rango del 44-51% durante la fermentación (Espín, 2006; Amores et al., 2007; Samaniego, 2012).

La teobromina y la cafeína pertenecen a la familia de las purinas, y representan más del 99% de los alcaloides presentes en el cacao. Estos compuestos sufren una disminución de su concentración en el transcurso de la fermentación equivalente al 20-25%. Investigaciones realizadas describen a la relación teobromina/cafeína como un parámetro



con el cual se puede discriminar el cacao por su origen, encontrándose valores que van desde 2.2 a 6.9 para genotipos de cacao producidos en el Ecuador (Espín et al., 2007).

## **2.2 Fundamentación filosófica**

La presente investigación se basa en el paradigma positivista el cual sostiene que la experimentación es el método por excelencia de la investigación científica; por lo tanto la investigación experimental es la verdadera investigación, mientras que el conocimiento generado por la misma es el conocimiento realmente válido y científico (César, 2006).

## **2.3 Fundamentación legal**

En el Ecuador la calidad del grano que se exporta está regulada por las siguientes normas:

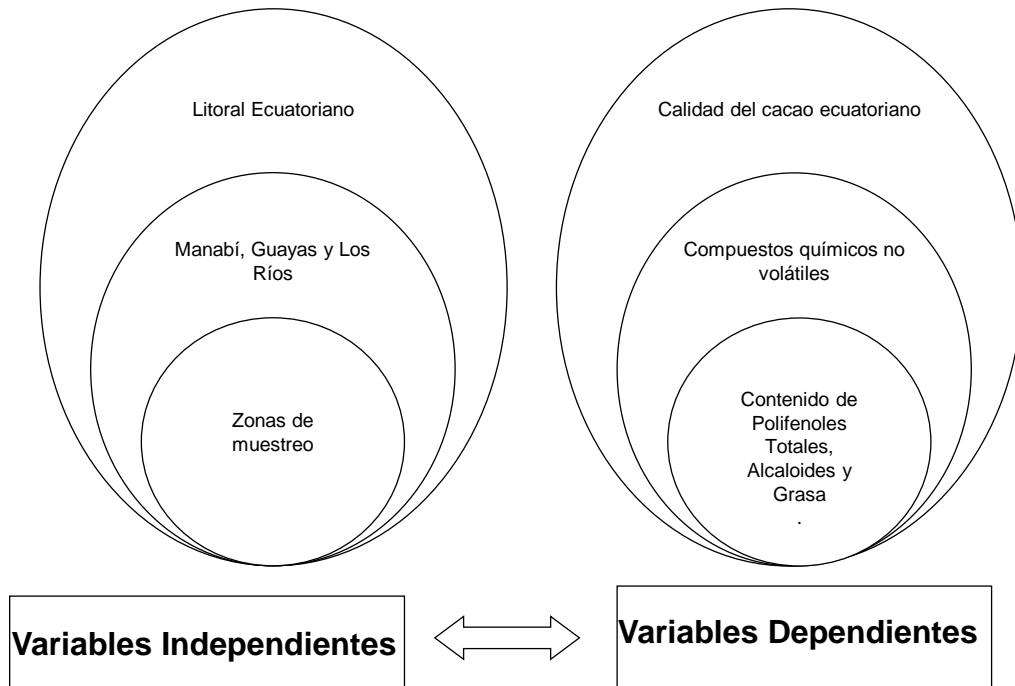
INEN 175: Cacao en grano – Ensayo de corte

INEN 176: Cacao en grano – Requisitos

INEN 177: Cacao en grano – Muestreo

Fuente: (ANECACAO, 2014)

## 2.4 Categorías fundamentales



Elaborado por: Carlos Camino

## **2.5 Introducción**

### **2.5.1 Origen del Cacao**

El cacao es originario de América y muy especialmente de la Amazonía, su domesticación, cultivo y consumo se inició en Centroamérica en tiempos precolombinos. *Theobroma cacao* L. fue cultivado por primera vez en los años 250-900 D.C. por las antiguas civilizaciones de los Mayas y los Aztecas de la región mesoamericana. Los Toltecas, Aztecas y Mayas procesaban esta pepa y producían una bebida llamada “xocoatl”. En forma acelerada los europeos incorporarían en su dieta el consumo de cacao bajo la forma de chocolate, añadiendo azúcar a la mezcla. Desde sus orígenes divinos, el cacao se introdujo en la corte española a mediados de la década de 1550. El cacao ha tenido muchos usos, que van desde la medicina a la moneda, en las primeras culturas mesoamericanas. Más de 100 usos medicinales del cacao se han documentado en Europa y Nueva España (Jiyoung et al., 2011; Pérez, 2009).

### **2.5.2 Botánica del cacao**

La planta de cacao obtuvo por primera vez su nombre botánico gracias al científico naturalista sueco Carl Linnaeus, que lo llamó *Theobroma* ("alimento de los dioses"), cacao. El cacao, es un árbol de hoja perenne que alcanza una altura de 6-12 m y crece en una zona geográfica limitada aproximadamente entre 20° al Norte a 20° al Sur de la línea ecuatorial. *Theobroma cacao* pertenece al género *Theobroma* y la familia Sterculiaceae, alternativamente Malvaceae. El cacao es una especie altamente alógama, sus frutos crecen en el troco del árbol y son de formas variables con tamaños entre 15-30 cm. La semilla de cacao está rodeada por una pulpa dulce y mucilaginoso, dentro del fruto de cacao se encierra de 25-75 semillas (Figura 2). El color de los cotiledones es un carácter genético asociado al tipo de cacao (Jiyoung et al., 2011; Enríquez, 2004; Álvarez, 2008).

**Figura 2 Mazorca de cacao, almendras fermentadas y secas**



Elaborado por: Carlos Camino

### **2.5.3 Tipos de cacao**

A nivel mundial se conocen cacaos tipo: criollo, forastero amazónico, trinitario y nacional del Ecuador denominado fino de aroma (Rodríguez et al., 2010). A continuación se describe las principales características de cada tipo de cacao.

#### **- Criollo**

El término criollo (indígena) originalmente fue asignado por los conquistadores españoles al cacao cultivado en ese entonces en Venezuela (Suárez et al., 1998). Este cacao es considerado como fino, se caracteriza por sus árboles bajos, poco robustos, de hojas grandes verde oscuro, sus mazorcas son de superficie rugosa, tienen forma alargada con o sin depresión en el cuello y con terminación en punta recta o curva, el color de la mazorca tiene gran variabilidad con tonos casi blanco a verde oscuro y de rojo a rosado. Los criollos producen semillas con tonalidades claras, muy aromáticas y de un ligero amargor (Rodríguez et al., 2010; Enríquez, 1985).

#### **- Forastero Amazónico**

Se llaman Amazónicos, porque están distribuidos en forma natural en la cuenca de ese río y sus afluentes (Suárez et al., 1998). Son considerados como cacao ordinario, los árboles son robustos y muy grandes, sus hojas pequeñas de color verde claro, sus mazorcas son

de forma amelonada y a veces con un pequeño cuello de botella en la base, con una superficie lisa o ligeramente rugosa; inmaduras son verdes y amarillas al madurar, las almendras son pequeñas, aplanadas y de color morado (Rodríguez et al., 2010; Enríquez, 1985).

#### - **Trinitario**

Constituyen las poblaciones híbridas de cruzamientos espontáneos de criollos y forasteros, que se formó en la Isla de Trinidad de ahí su nombre, siendo su calidad intermedia. Tienen características de mazorcas y semillas intermedias entre los dos grupos que le dieron origen (Enríquez, 1985).

#### - **Nacional**

Fue cultivado exclusivamente en Ecuador hasta 1920, cuando llegaron las enfermedades conocidas como “monilia” (*Moniliaroreri*) en 1918 y escoba de bruja (*Crinipellis perniciososa*) en 1922, las cuales destruyeron las plantaciones de cacao Nacional, el cruce espontáneo del cacao Trinitario conocido como venezolano se incrementó continuamente, por cuanto se suponía que era más resistente (Vera y Díaz, 1984). Tiene sus características propias y constantes parecidas al forastero, pero muy diferentes en su sabor y aroma, actualmente hay pocas plantaciones con nacional puro predominan las de cruzamientos naturales entre el nacional con trinitario conocido como “complejo nacional x trinitario” (Rodríguez et al., 2010).

### **2.5.4 Beneficio del cacao**

El proceso de beneficiado incluye las etapas de fermentación y secado de las almendras. Este proceso se inicia con la recolección de las mazorcas, las que se clasifican para separar las enfermas, evitando recolectar las que no tengan un grado de madurez adecuado para garantizar que solo se beneficien los frutos maduros y sanos. Posteriormente se realiza la apertura de las mazorcas y la extracción de las almendras que conformarán la masa para la fermentación (Rodríguez et al., 2010).

#### 2.5.4.1 Fermentación

La fermentación es un proceso microbiológico y bioquímico que conduce a la eliminación de la pulpa o mucílago, provoca la muerte del embrión, activa las reacciones bioquímicas en el interior de los cotiledones e intensifica el desarrollo de los precursores del aroma térmico del chocolate (Álvarez, 2008).

El proceso inicia con la proliferación de las levaduras, debido al bajo pH (3.4 a 4.0) de la pulpa por la presencia de ácido cítrico (2%), el alto contenido de glucosa (12-15%), pectinas (5-7%) y la baja tensión de oxígeno que favorecen su crecimiento. Las levaduras dominan la fermentación entre 24 y 36 h después de iniciado el proceso (IICA, 1989), consumen los azúcares de la pulpa para transformarlos en alcohol y dióxido de carbono, en esta fase se consume el ácido cítrico, el pH aumenta a 4.5 y la temperatura se incrementa medianamente. Las especies de levaduras más frecuentemente encontradas durante ésta etapa son: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida Krusei*, *Kloeckera apiculata*, esta microflora es la responsable de la formación de numerosos compuestos volátiles (Álvarez, 2008).

Posteriormente los cambios de pH y de la estructura de la pulpa permiten la entrada de pequeñas cantidades de aire que favorecen el establecimiento de una flora láctica: *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*. Después de la primera remoción, la presencia de oxígeno en la masa de cacao favorece el establecimiento de una flora acética: *Acetobacter rancens*, *A. ascendes*, *A. xylinum*, *A. lovaniensis*, *A. aceti* y *Gluconobacter oxydans*, éstas aprovechan el etanol para producir ácido acético. Este es un punto clave del proceso, el ácido acético provoca una baja del pH que junto con el calor de la fermentación (50°C) causan la muerte de las almendras durante el segundo día de fermentación. La muerte de las almendras está acompañada de un aumento en la permeabilidad de las paredes celulares, lo cual permite la interdifusión de los componentes del jugo celular, en esa forma las enzimas se ponen en contacto con los polifenoles y las proteínas (Álvarez, 2008; Enríquez, 1985).

Tan pronto se muere la semilla, la enzima glicosidasa se activa hidrolizando las antocianinas (3-β-D-galactosidil cianidina y la 3-α- L- arabinosidil cianidina) responsables del color púrpura de las almendras, que gradualmente van perdiendo su color debido a la

descomposición de azúcares y antocianidinas, éste último luego será oxidado a compuestos quinónicos que contribuyen al color pardo característico del cacao fermentado (IICA, 1989; Bertorelli et al., 2009).

Las proteínas son hidrolizadas por dos proteasas específicas que conducen a la formación de más de 80 oligopéptidos y aminoácidos libres diferentes. La especificidad de las enzimas en estas reacciones depende del pH. Las proteínas son hidrolizadas por una endoproteasa aspártica (pH óptimo 3.5) formando oligopéptidos. La hidrólisis de estos sustratos por una carboxipeptidasa (pH óptimo 5.5-5.8) produce la formación de oligopéptidos hidrófilos y de aminoácidos libres hidrófobos (Álvarez, 2008).

Posteriormente, las procianidinas y las proteínas o los productos de su degradación se combinan durante esta etapa. Ninguna de estas reacciones incluye oxígeno. Durante la fase de fermentación debe mantenerse una aireación que no sea muy escasa, porque impediría la multiplicación de las levaduras y bacterias acéticas, que estaría acompañada de una reducción de ácido acético y del calor generado, ni tampoco excesiva, por cuanto en este caso no solamente daría lugar al desarrollo de mohos, sino que también impediría la formación del precursor del sabor (Enríquez, 1985).

A medida que el oxígeno se difunde dentro de los tejidos, la oxidasa se activa y las condiciones aeróbicas, así como los productos de oxidación de los polifenoles, progresivamente inhiben las enzimas que estaban activas durante la fase anaeróbica. Las antocianidinas y los complejos fenol-proteína que se formaron durante la fase anaeróbica sufren reacciones oxidativas (IICA, 1989). Las antocianidinas son polimerizadas junto con catequinas presentes en el cacao, por la enzima polifenol oxidasa formando taninos complejos insolubles, pero esta disminución en el contenido de polifenoles no es debido solo a los procesos de oxidación sino también es causado por el pardeamiento y la difusión de estos componentes en los exudados de la fermentación (Wollgast y Anklam, 2000).

En resumen, durante la fermentación habrá un aumento de los contenidos en azúcares reductores y aminoácidos libres hidrófobos, precursores del aroma térmico, y una disminución de las purinas y compuestos fenólicos que ayudan a que el cacao sea menos amargo y astringente.

Dependiendo de cómo se haya llevado la fermentación, la calidad del cacao se verá reflejada en el aspecto físico de las almendras Figura 3.

**Figura 3 Comparación de almendra mal, regular y bien fermentada, respectivamente**



Fuente: (Moreno y Sánchez, 1989)

#### **2.5.4.2 Métodos de fermentación**

##### **- Cajas de madera**

Los mejores resultados se obtienen mediante este método, los cajones son construidos de maderas blancas y sin sustancias como taninos o resinas, un buen material es el laurel (Figura 4) (Enríquez, 2004; Rodríguez et al., 2010). Este método consiste en colocar las almendras frescas en cajas de madera fuerte con fondo perforado para el drenaje de las exudaciones. Después de permanecer en una caja por uno o dos días, las almendras se trasladan a una segunda caja; durante esta operación, que se efectúa con palas de madera, hay escape de anhídrido carbónico y la temperatura desciende apreciablemente. La temperatura vuelve a subir pronto y prosigue la cura. Después de unos dos o tres días más, las almendras se ponen en una tercera caja y se mantiene allí hasta completar 6 días, generalmente no más de 8 días (Enríquez, 1985).



**Figura 4 Cajón para fermentar cacao.**



Elaborado por: Carlos Camino

**- Montones**

Es quizás el método mayormente utilizado por los pequeños y medianos agricultores (Figura 5); consiste en colocar cacao en baba sobre un tendal de caña guadua picada o de madera, preferentemente elevado al menos 15 cm del suelo para proteger las almendras de encharcamientos causados por los líquidos o excesos de humedad. La masa en fermentación se debe cubrir con hojas de plátano para conservar la temperatura y evitar contaminación por hongos. Esos montones deben removerse de un lugar a otro, para obtener una mejor fermentación (Rodríguez et al., 2010).

**Figura 5 Fermentación en montones**



Fuente: (Rodríguez et al., 2010).

## - Sacos

En este método, los granos frescos de cacao se colocan en un saco (Figura 6), de preferencia nuevo o exclusivo para cacao y de tejido ralo para permitir el exudado de la baba. En la fermentación por saquillos generalmente las personas no realizan remociones de la masa motivo por el cual el grado de fermentación no es uniforme. Además, cuando los saquillos plásticos tienen un tejido muy tupido, el cacao tiende a quedar con cierto sabor a “ahogado” o podrido. Por lo tanto este es el método menos adecuado para fermentar cacao, debido al bajo porcentaje de fermentación y calidad inferior obtenida (Pérez, 2009).

**Figura 6 Fermentación en saco**



Fuente: (Rodríguez et al., 2010).

### 2.5.4.3 Secado

Es la etapa que complementa la fermentación, puesto que un secado correcto, permite seguir desarrollando los precursores del sabor y del aroma (Rodríguez et al., 2010). Durante ésta etapa se elimina el exceso de agua del interior del grano hasta quedar en un 7% de humedad para evitar que se dañe o pudra durante su almacenamiento (Pérez, 2009).

Existen dos tipos de secadores tanto naturales (calor del sol) como artificiales. Los más comunes en nuestro medio utilizan madera, caña guadua y cemento como superficie de secado (Figura 7); los artificiales utilizan algunos tipos de combustibles para generar calor y acelerar el secado, también existen secadores eléctricos, cuya energía es más barata que la de los combustibles (Rodríguez et al., 2010).

Durante este proceso de secado se pone en evidencia la aparición de nuevos compuestos y la desaparición de otros inicialmente presentes. Estos nuevos compuestos pueden ser de origen bioquímico (ésteres, aldehídos y cetonas) o térmico (aldehídos, pirazinas, pirroles y fenoles). Entre los componentes que más disminuyen están los alcoholes y los ácidos. Así mismo, las familias de los aldehídos, cetonas, ésteres, pirazinas, pirroles y compuestos azufrados aumentan durante el secado. Los fenoles disminuyen a partir del tercero y cuarto día.

Con respecto al resto de los compuestos de cada una de las familias, está claramente estudiado que muchos de ellos tienen importancia en las características aromáticas del cacao y por ende se relacionan con la calidad sensorial del chocolate. Tal es el caso del linalol perteneciente a la familia de los terpenos asociado al sabor floral del chocolate, éste es un compuesto clave que permite la clasificación de los cacaos en función de su origen, se encuentra mayoritariamente en los cacao finos, las almendras de cacao bien fermentadas y secas de Ecuador, Trinidad y Venezuela mostraron contener hasta 8 veces más linalol que los cacaos ordinarios de Ghana, Costa de Marfil y Brasil. En el caso de los aldehídos y ésteres se relacionan con el sabor a fruta y floral. (Portillo et al., 2009).

**Figura 7 Secado natural sobre tendales de cemento**



Elaborado por: Carlos Camino

## **2.5.5 Marco teórico de la variable independiente**

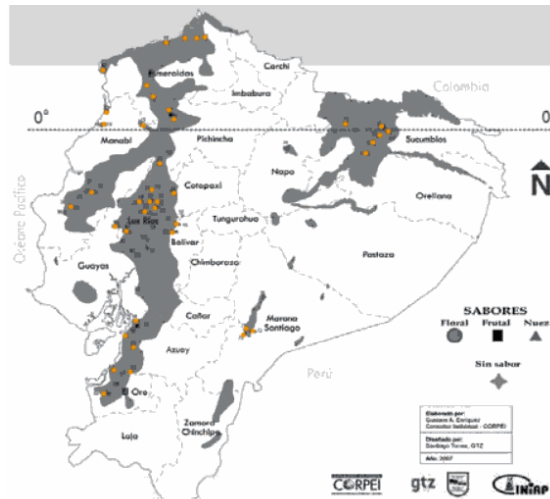
### **2.5.5.1 Zonas cacaoteras del Ecuador**

La zona cacaotera del Litoral Ecuatoriano comprende desde el oeste de la Cordilla de Los Andes hasta el Océano Pacífico en toda su extensión como se muestra en la Figura 8 (Riveros, 2008).

Estas extensiones dedicadas al cultivo de cacao se formaron durante la época de La Colonia, el cacao en el Ecuador se expandió principalmente en 4 zonas ecológicas: 1) la zona denominada como “Arriba” que comprende la zona de la cuenca baja del río Guayas, básicamente las actuales provincias de Los Ríos y Guayas; se lo llamó el cacao de “Arriba”, debido a que venía de río arriba; 2) la zona de Manabí, con el cacao llamado de Bahía, que corresponde a la zona húmeda de la provincia de Manabí; 3) la zona de Naranjal, hacia el sur, que comprende una pequeña parte de la provincia del Guayas y la provincia de El Oro; 4) la zona de Esmeraldas, que tenía un cacao acriollado muy especial, al que se le denominaba esmeraldas (Enríquez, 2004).

Actualmente las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos agrupan por sí solas más del 77% de la superficie cacaotera plantada a nivel nacional. En el Ecuador la producción de cacao en grano en la provincia del Guayas representa el 57% de toneladas métricas cosechadas, le sigue Los Ríos con el 17% y Manabí con el 9.4% aproximadamente (CORPEI, 2008). Del total de cacao cultivado en el país el 50% proviene de pequeños productores con superficies menores a 10 hectáreas de cacao (Riveros, 2008).

**Figura 8 Área geográfica donde se cultiva y produce cacao en el Ecuador**



Fuente: (Riveros, 2008)

## 2.5.6 Marco teórico de la variable dependiente

### 2.5.6.1 Compuestos químicos no volátiles en almendras de cacao

#### - Grasa

La manteca de cacao representa entre el 50 a 57% de peso seco de la almendra de cacao y, es responsable de la propiedades de fusión del chocolate (Jahurul et al., 2012). Una de las propiedades típicas de la manteca de cacao es la aparición de cantidades sustanciales de glicerol-1,3-dipalmitato-2-oleato (POP), glicerol-1-palmitato-2-oleato-3-estearato (POS) y glicerol-1,3-diestearato-2-oleato (SOS), que son los tres principales triglicéridos que representan el 92-96 % de la composición de lípidos totales de la manteca de cacao. Estos triglicéridos son los principales responsables de proporcionar la cristalización y el derretir característico del chocolate a temperatura corporal. Este comportamiento de fusión particular proporciona un efecto refrescante en la boca, la típica "sensación en la boca" mientras se come un chocolate de alta calidad (Lipp y Adam, 1997).

Entre estos tres triglicéridos, POS es el principal líder de componentes de triglicéridos presentes en la manteca de cacao con 42.5-46.4 %, seguido de SOS (27.8-33.0 %) y POP (18.9-22.6 %) (Jahurul et al., 2012).

La nomenclatura utilizada para los ácidos grasos que componen los triglicéridos analizados en el cacao de varios países se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1 Nomenclatura de ácidos grasos**

Símbolo	Nombre	Número de carbonos: doble enlace
P	Ácido palmítico	16:0
O	Ácido oleico	18:1
L	Ácido laúrico	12:0
M	Ácido mirístico	14:0
S	Ácido esteárico	18:0
A	Ácido araquídico	20:0

Todas las mantecas de cacao mantienen una relativa homogeneidad, excepto la manteca de cacao de Bahía (Brasil) (Tabla 2). Esta manteca de cacao contiene una cantidad significativamente menor de triglicéridos monoinsaturados (por ejemplo, POP, POS) y una mayor cantidad de triglicéridos diinsaturados (por ejemplo, SOO, POO), lo que podría explicar su insatisfactorio comportamiento de cristalización (Lipp et al., 1997).

**Tabla 2 Composición de triglicéridos Típica (%) de la manteca de cacao.**

País de origen	Samoa	Costa de Marfil	Ecuador	Malasia	Ghana	Nigeria	Bahía
POL	0.8	0.6	0.7	0.6	0.6	0.8	1.1
MOO, MMP	0.3	0.2	0.3	0.5	0.2	0.2	0.2
PPL	1.6	1.9	1.9	1.5	1.9	1.9	1.7
OOO	0.2	0.8	0.8	0.8	0.5	0.4	0.9
SOL	0.5	0.9	0.8	0.7	0.4	0.8	1.0
POO	2.2	4.4	3.5	2.7	2.6	3.2	5.5
PSL	2.8	3.6	2.8	2.8	3.2	3.4	3.4
PPO	16.4	15.9	15.3	13.8	15.2	14.8	14
SOO, PPP	3.7	6.0	4.8	3.8	4.5	5.1	8.4
SSL	2.1	1.8	1.5	2	2.1	1.9	2.1
PSO	38.3	36.6	36.3	36.6	37.3	37.4	34.6
OOA	1.6	1.0	1.2	1.6	1.4	1.2	1.5
PPS	0.4	0.4	0.3	0.6		0.7	0.3
SSO	26.8	23.8	26.9	28.4	26.8	26.4	23.7
SSP	0.7	0.8	0.9	1.0	1.3	0.4	0.2
SOA	2.2	1.6	2.1	2.5	2.2	1.9	1.6

Fuente: (Lipp et al., 1997).

Los principales ácidos grasos de la manteca de cacao son el ácido palmítico (C16) 25.0-33.7 %, ácido esteárico (C18:0) 33.7-40.2 %, ácido oleico (C18:1) 26.3-35.0 % y ácido linoleico (C18:2) 1.7-3.0 %, que aportan alrededor del 98 % del total de ácidos grasos. La composición de ácidos grasos de la manteca de cacao se diferencia en función del país de origen. Las composiciones principales de ácidos grasos de la manteca de cacao de diferentes países se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3 Composición de ácidos grasos (%) de manteca de cacao para algunos países de origen**

País de origen	Ecuador	Brasil	Ghana	Costa de marfil	Malasia	Java
Ácido palmítico	25.6	25.1	25.3	25.8	24.9	24.1
Ácido esteárico	36.0	33.3	37.6	36.9	37.4	37.3
Ácido oleico	34.6	36.5	32.7	32.9	33.5	34.3
Ácido linoleico	2.6	3.5	2.8	2.8	2.6	2.7
Ácido linolénico	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Ácido araquídico	1.0	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Ácido behénico	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

Fuente: (Lipp et al., 1997).

#### - **Evolución de la grasa durante la fermentación**

El contenido de grasa no varía durante la fermentación, pero si se evidencia una diferencia en el porcentaje de grasa entre los cacaos finos de aroma y los ordinarios. Sin embargo, este no es un parámetro contundente para diferenciar entre los tipos de cacao (Espín, 2006, Amores et al., 2007).

#### - **Polifenoles**

Los polifenoles son productos del metabolismo secundario de las plantas. Surgen biogenéticamente a partir de dos principales vías: la vía de síntesis del shikimato y la vía del acetato. Tanto el ácido acético y el ácido shikímico se derivan del metabolismo de la glucosa (Wollgast y Anklam, 2000). Las principales estructuras de los polifenoles presentes en el cacao se observan en la Figura 10.

Los polifenoles se caracterizan por su capacidad antioxidante, sus anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos les brindan una estructura especialmente adecuada para ejercer

una acción antioxidante al poder actuar como donadores de hidrógenos o electrones o servir como atrapadores de radicales libres. Esta característica hace que el cacao y sus productos derivados llamen la atención de los consumidores ya que se ha comprobado sus efectos beneficiosos en la salud, tales como la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer, por su capacidad de controlar reacciones claves implicadas en la oxidación de las LDL o de daños oxidativos al ADN (Buenaventura, 2002).

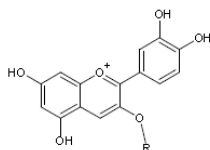
Estos compuestos fenólicos constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, y abarcan a más de 8000 compuestos distintos (Sotero et al., 2011). Entre estos, los flavonoides, están presentes en alto porcentaje en las almendras de cacao, y particularmente un subgrupo de flavonoides llamados flavanoles (Gasser et al., 2008).

La concentración de polifenoles en las semillas de cacao secas y libres de grasa oscila entre el 15-20% (p/p) (Pereal et al., 2009). Tres grupos de polifenoles pueden ser distinguidos: las antocianinas (aprox. 4%), catequinas o flavan-3-oles (aprox. 37%), y procianidinas (aprox. 58%) (Wollgast y Anklam, 2000).

#### - Antocianinas

Son pigmentos hidrosolubles con características de glicósidos, están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glicosídico, y en algunos casos por un enlace  $\alpha$ -glicosídico, las principales antocianinas de las almendras del cacao se observan en la Figura 9. El color de las antocianinas está distribuido en una gama de tonalidades que va desde el rojo hasta el azul dependiendo de la estructura de la molécula y el pH del medio (Ocampo et al., 2008).

**Figura 9 Principales antocianinas en las almendras de cacao.**



	R
Cianidin 3- $\alpha$ -L-arabinosida	L-arabinosa
Cianidin 3- $\beta$ -D-galactosida	D-galactosa

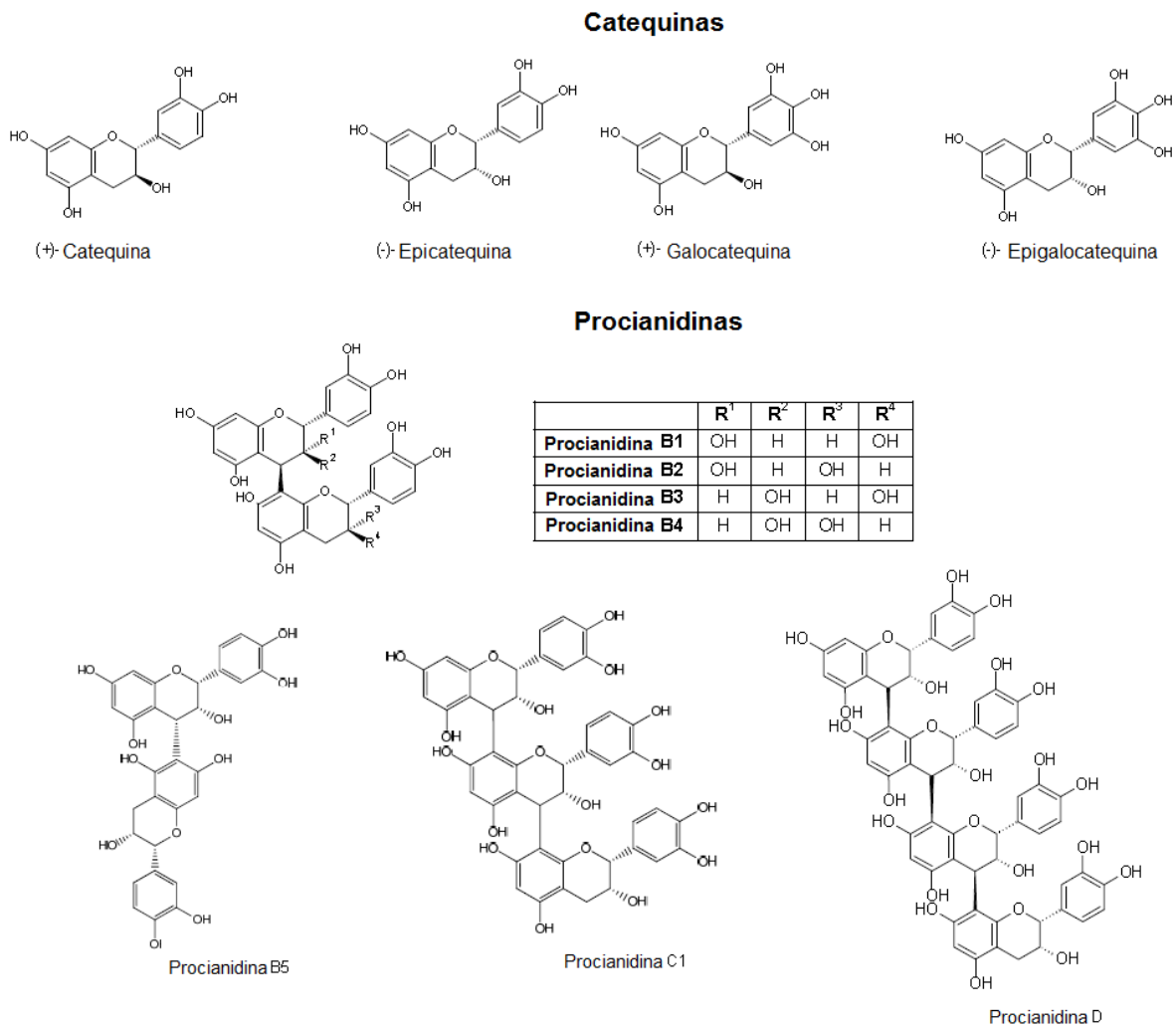
Fuente: (Rimbach et al., 2009)



## - Procianidinas

Las procianidinas (Figura 10) son en su mayoría flavan-3,4-dioles, que forman dímeros, trímeros condensados u oligómeros de epicatequina como la extensión principal (Wollgastet y Anklam, 2000). Se caracterizan por ser sustancias capaces de dar combinaciones estables con las proteínas y con otros polímeros como los polisacáridos, ésto afecta también a las enzimas pudiendo inhibir su actividad (López, s/f).

**Figura 10 Estructura química de los polifenoles del cacao**

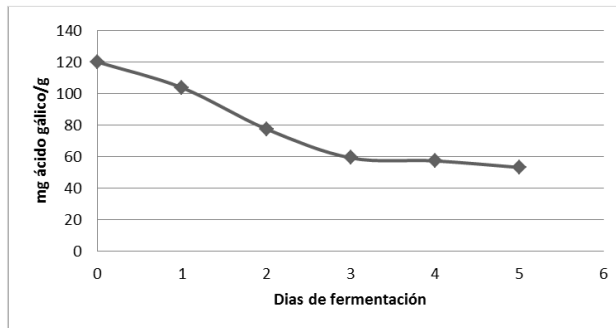


Fuente: (Rimbach et al., 2009)

- **Evolución de los polifenoles durante la fermentación.**

Según Amores et al. (2009), si la fermentación es bien realizada, la concentración de polifenoles totales en los granos de cacao, se reduce en un 40% o más. Las concentraciones de polifenoles disminuyen hasta el segundo día de fermentación a partir del cual se mantienen constantes en cacaos nacionales, como se aprecia en la Figura 11.

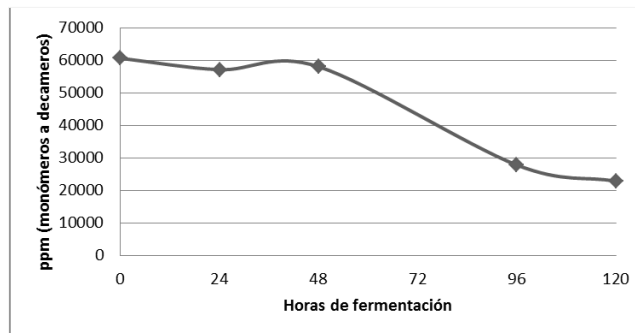
**Figura 11 Evolución de los polifenoles totales durante la fermentación**



Fuente: (Espín, 2006)

Las procianidinas desde las formas monómeras hasta los decámeros disminuyen durante la fermentación, su mayor decrecimiento se produce a partir del segundo día de fermentación y llegan a disminuirse en un 54% hasta el cuarto día de fermentación (Figura. 12).

**Figura. 12 Evolución de las procianidinas durante la fermentación**



Fuente: (Wollgast y Anklam, 2000)

Las antocianinas suelen desaparecer rápidamente durante el proceso de fermentación que se evidencia por la pérdida del color púrpura, el cual disminuye en un 93% después de 4 días (Wollgast y Anklam, 2000).

#### - Purinas

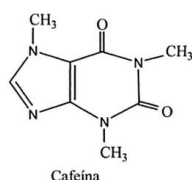
La teobromina y la cafeína pertenecen a la familia de las purinas. La concentración final de ambos, está determinada por el genotipo, el grado de maduración de las almendras y el nivel de fermentación (Amores et al., 2009).

La teobromina es el alcaloide purínico dominante en las semillas de cacao (*T. cacao*). Los cotiledones de granos maduros contienen 2.2-2.7% de peso en base seca y 0.6-0.8% de cafeína, mientras que las cáscaras contienen 0.6-0.7% de teobromina y 0.5-0.6% de cafeína (Ashihara et al., 2007).

#### - Cafeína (1,3,7-trimetilxantina)

La cafeína (Figura 13) es un polvo blanco de sabor amargo soluble en agua (Guarnizo y Martínez, s/f); tiene efectos estimulantes sobre el sistema nervioso autónomo, provocando el estado de vigilia y la resistencia al cansancio; actúa sobre el corazón comportándose como vasodilatador.

**Figura 13 Estructura química de la cafeína**

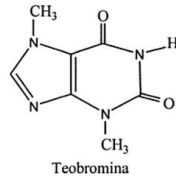


Fuente: (Climent et al., 2005)

#### - Teobromina (3,7-dimetilxantina)

La teobromina (Figura 14) es una xantina, soluble en agua caliente y en alcohol, de sabor amargo que se encuentra presente en el cacao, muestra un menor efecto sobre el sistema nervioso central. Sin embargo, es un fuerte diurético (Hardy, 1961).

**Figura 14 Estructura química de la Teobromina**



Fuente: (Climent et al., 2005)

### - Evolución de las purinas durante la fermentación

Las purinas no revelan transformaciones químicas durante la fermentación, pero estos componentes se pierden por efectos de difusión, alrededor del 17% de teobromina y un 13% de cafeína para cacao fino de Ecuador.

El comportamiento de la teobromina y de la cafeína observado por separado no permite utilizarlo como un parámetro para diferenciar a los cacaos, debido a que su evolución en la fermentación no es constante, pero al establecerse la relación teobromina/cafeína se ha evidenciado que ésta permanece constante durante la fermentación, motivo por el cual se ha venido utilizando esta herramienta para discriminar cacaos (Espín et al., 2007).

## 2.6 Hipótesis

- H<sub>0</sub>: No existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales, alcaloides y grasa en el Cacao Fino de Aroma de tres zonas productoras.
- H<sub>1</sub>: Existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales, alcaloides y grasa en el Cacao Fino de Aroma de tres zonas productoras.

## 2.7 Señalamiento de variables

### 2.7.1 Variable Independiente

Cacao Nacional Fino de Aroma producido en el Litoral Ecuatoriano; provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos.

### **2.7.2 Variable Dependiente**

Contenido de compuestos químicos no volátiles: grasa, alcaloides y polifenoles en almendras de cacao fermentadas y secas.

## **CAPÍTULO III**

### **3 METODOLOGÍA**

#### **3.1 Enfoque**

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, en el que se plantearon hipótesis y se definieron variables que permitirán evaluar de forma objetiva a las poblaciones de cacao ecuatoriano, valiéndose de herramientas estadísticas y gráficas que permitan sustentar los resultados.

#### **3.2 Modalidad básica de la investigación**

La presente investigación se enmarca en la modalidad de investigación documental, con el fin de obtener el conocimiento necesario para sustentar y entender el problema investigado, y la modalidad experimental que permitirá estructurar la investigación de forma tal que garantice la validez de los resultados.

#### **3.3 Nivel o tipo de investigación**

Esta investigación es de tipo descriptivo, pretende mostrar las características de las poblaciones de cacao Nacional en el Litoral Ecuatoriano.

#### **3.4 Población y muestra**

##### **3.4.1 Muestras de cacao**

Para el presente estudio, en colaboración con los técnicos de los programas de Cacao y Café de las Estaciones Experimentales de Portoviejo y Litoral Sur del INIAP, se colectaron muestras de Cacao Fino de Aroma directamente en las fincas de los productores, en las provincias de mayor superficie cosechada del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos, Tabla 4).

**Tabla 4 Zonas de mayor producción de Cacao Nacional Fino de Aroma en Ecuador**

PROVINCIAS	Cacao Nacional		
	Superficie Cosechada (ha)	Producción (toneladas métricas)	%
Manabí	90621	14882	25
Los Ríos	94135	28476	26
Guayas	71636	39626	20
Azuay	3069	1140	1
Bolívar	8945	7886	2
Cañar	4132	3214	1
Cotopaxi	13566	1876	4
El Oro	2816	633	1
Esmeraldas	52929	17841	15
Sto. Domingo	7625	989	2
Nororiente	11672	8293	3
<b>TOTAL</b>	<b>361147</b>	<b>124856</b>	<b>100</b>

Fuente: (CORPEI, 2008)

### **3.4.2 Técnica de muestreo**

Para los fines de la presente investigación, las muestras se determinaron aplicando la técnica del muestreo aleatorio estratificado con una distribución de Neyman, que consiste en dividir a la población en subconjuntos homogéneos llamados estratos, porque permite hacer inferencia sobre el universo, debido a que la muestra está compuesta por unidades de todos y cada uno de los estratos de interés (Unda, 1993). Estos estratos se definieron en función del listado de productores de cacao proporcionado por la Asociación Coordinadora Ecuatoriana de Productores de Cacao Nacional Fino de Aroma (ACEPROCACAO) detallado en el Anexo D (Reyes, 2012).

### **3.4.3 Tamaño de la muestra**

Mediante la técnica de muestreo aleatorio estratificado con distribución de Neyman; se calculó el tamaño de muestra, con este propósito se agrupó a los productores de Cacao Nacional Fino de Aroma de cada provincia productora en 2 estratos, y se utilizó la Ecuación 1.

### Para n global

$$\text{Ecuación 1: } n = \frac{\left( \sum_{i=1}^k N_i * S_i \right)^2}{N^2 D^2 + \sum_{i=1}^k N_i * S_i^2}$$

### Para n<sub>i</sub> a nivel de estratos

$$\text{Ecuación 2: } n = \frac{N_i * S_i}{\sum_{i=1}^k N_i * S_i} \quad \text{Ecuación 3: } S^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$$

Donde:

n = número de unidades de la muestra

k = número de estratos

n<sub>i</sub> = número total de unidades en el i-ésimo estrato

S = desviación estándar

S<sub>i</sub><sup>2</sup> = varianza en el i-ésimo estrato

$$\text{Ecuación 4: } D^2 = \frac{d^2}{z^2_{\alpha/2}}$$

Donde:

D<sup>2</sup> = precisión/confiabilidad

d<sup>2</sup> = precisión (Corresponde al 10% del valor de la media)

z<sup>2</sup> = confiabilidad (valor de z<sub>α/2</sub> al 95% de confianza)

Para el cálculo se establecieron dos estratos de productores de cacao en base a la superficie con la cual participan, determinándose así los siguientes estratos.

Estratos:

- I Productores de Cacao Nacional que participan con 1a 6 hectáreas.
- II Productores de Cacao Nacional que participan con 6.1 a 12.0 hectáreas.

### 3.4.4 Procedimiento de muestreo

Se seleccionaron dentro de cada provincia 3 cantones productores de Cacao Nacional Fino de Aroma en función del Mapa Cacaotero Nacional. En cada cantón se identificaron



al azar 5 fincas de productores de acuerdo al listado de ACEPROCACAO en función de los estratos establecidos donde se procedió a la toma de muestras. Las muestras estuvieron constituidas por 20 frutos de cacao por duplicado es decir un total de 40 frutos requeridos para obtener 1kg de muestra, para el muestreo se escogió al azar 20 árboles de cacao Nacional (Complejo Nacional x Trinitario) y se colectó 2 frutos por árbol, con la finalidad de obtener una muestra representativa de la finca.

#### **3.4.5 Proceso de fermentación y secado**

Las almendras de las muestras de cacao colectadas en fruto de las diferentes provincias productoras se fermentaron en la Estación Experimental Litoral Sur, aplicando la técnica de micro fermentación en cajas de madera de laurel de 120x120x80 cm (alto x ancho x profundidad) con capacidad de 120 kg de masa. Se colocaron 12 muestras por cajón, con una remoción a las 48 horas y un tiempo de fermentación establecido para cacao nacional (Complejo Nacional x Trinitario) de cuatro días. Posteriormente, se realizó un proceso de secado al sol en tendales de cemento. Las muestras fermentadas y secas se transportaron al Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos LSAIA del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina.

#### **3.4.6 Codificación y preparación de muestras en el laboratorio**

Las muestras de almendras de cacao fermentadas y secas, se codificaron y registraron en el laboratorio. Mediante la técnica de cuarteo se tomó una sub-muestra de 250 g para los análisis químicos definidos en este estudio. El resto de las muestras se almacenaron en recipientes herméticos en un congelador a -25 °C para trabajos complementarios previstos en el proyecto. Las almendras de cacao fermentadas y secas fueron molidas en un molino ultra centrífugo RETCH Zm 200 y tamizadas con un tamaño de partícula de 355µm, para asegurar la homogenización y toma de muestra para el análisis en el laboratorio.

#### **3.4.7 Métodos de análisis**

El contenido de polifenoles totales, alcaloides y grasa de las muestras de cacao fermentadas y secas se analizó utilizando los métodos descritos en el Anexo E. El

Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos está acreditado por la norma ISO 17025, y los principios de los métodos se describen a continuación:

a. Extracción de grasa de las almendras de cacao

Principio del método

La materia grasa del polvo de cacao es extraída con éter de petróleo mediante extracción continua en Soxhlet por 12 horas, se recupera el solvente del extracto etéreo y a continuación se seca la grasa en una estufa a 105°C por dos horas, la grasa seca se pasa a un desecador a enfriar y se pesa (AOAC, 1997; ICCO, 1996).

b. Determinación de polifenoles totales

Principio del método

Los polifenoles totales del polvo de cacao son extraídos con una solución acuosa de metanol al 70%, mediante agitación magnética continua por 45 minutos, el extracto obtenido se filtra, se toma una alícuota del mismo y se realiza una reacción colorimétrica con el reactivo de Folin&Ciocalteu con el cual se obtiene una coloración azul, la misma que es cuantificada en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 760 nm (Cross, 1982).

c. Alcaloides (teobromina y cafeína)

Principio del método

El polvo de cacao es desengrasado mediante extracción Soxhlet por 12 horas con éter de petróleo, los alcaloides de cacao teobromina y cafeína son extraídos del polvo de cacao desengrasado con agua bidestilada en ebullición, el extracto obtenido es filtrado en un balón volumétrico y se afora con agua bidestilada a 100 ml, una alícuota del extracto se pasa por membrana Millipore de 0.22 µm y se analiza por HPLC, utilizando columna cromatográfica ODS II, con detector UV - VIS (273 nm) (AOAC, 1998).

### 3.5 Operacionalización de variables

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES				
VARIABLES	CATEGORÍAS	INDICADORES	ÍNDICES	INSTRUMENTOS
<b>VI:</b> Zonas productoras de Cacao Nacional Fino de Aroma en el Litoral Ecuatoriano.	Provincias de mayor producción de cacao en el litoral Ecuatoriano. (Guayas, Los Ríos, Manabí)	Listado de Asociaciones de productoras de cacao (ACEPROCACAO)	Superficie de cacao cosechado (ha)	Estadísticas agropecuarias.
<b>VD:</b> Contenido de compuestos químicos no volátiles en almendras de cacao fermentadas y secas.	Análisis de polifenoles totales, grasa y alcaloides en muestras de cacao secas y fermentadas	Contenido de alcaloides, grasa y polifenoles totales por zona de producción de cacao	Miligramos de ácido gálico/g desengrasado  % Grasa  %Teobromina y Cafeína.	Espectrofotómetro UV-VIS.  Equipo Soxhlet.  HPLC.

Elaborado por: Carlos Camino

### 3.6 Recolección de información

#### 3.6.1 Factores en estudio

Para la presente investigación se consideran como factores en estudio a las provincias de mayor producción de Cacao Fino de Aroma del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos) como se muestra en la Tabla 5.

**Tabla 5 Criterios utilizados en la caracterización de Cacao Nacional Fino de Aroma de las zonas de mayor producción del Litoral Ecuatoriano.**

Provincia	Zona	Finca/Productor	Respuestas Experimentales								
			Grasa	Polifenoles	Alcaloides	T/C					
P1	Manabí	C1 Chone	F1	F2	F3	F4	F5				
		C2 Portoviejo	F1	F2	F3	F4	F5				
		C3 Santa A.	F1	F2	F3	F4	F5				
P2	Guayas	C1 Durán	F1	F2	F3	F4	F5				
		C2 Milagro	F1	F2	F3	F4	F5				
		C3 Yaguachi	F1	F2	F3	F4	F5				
P3	Los Ríos	C1 Vinces	F1	F2	F3	F4	F5				
		C2 Montalvo	F1	F2	F3	F4	F5				
		C3 Pichilingue	F1	F2	F3	F4	F5				

### 3.6.2 Tratamientos

La definición de los tratamientos se realizó de manera individual para cada una de las provincias productoras de Cacao Nacional seleccionadas: Manabí, Guayas y Los Ríos (Tabla 6). En los tratamientos se considera que en cada cantón se elija al azar 5 productores/fincas (F1, F2 F3, F4, F5) en función de los estratos establecidos en la lista de productores de ACEPROCACAO, para la toma de muestras (Anexo D).

**Tabla 6 Tratamientos para cada una de las provincias productoras de Cacao Nacional en el litoral ecuatoriano.**

Manabí (P1)		Guayas (P2)		Los Ríos (P3)	
Nº	Tratamientos	Nº	Tratamientos	Nº	Tratamientos
1	P1C1F1	1	P2C1F1	1	P3C1F1
2	P1C1F2	2	P2C1F2	2	P3C1F2
3	P1C1F3	3	P2C1F3	3	P3C1F3
4	P1C1F4	4	P2C1F4	4	P3C1F4
5	P1C1F5	5	P2C1F5	5	P3C1F5
6	P1C2F1	6	P2C2F1	6	P3C2F1
7	P1C2F2	7	P2C2F2	7	P3C2F2
8	P1C2F3	8	P2C2F3	8	P3C2F3
9	P1C2F4	9	P2C2F4	9	P3C2F4
10	P1C2F5	10	P2C2F5	10	P3C2F5
11	P1C3F1	11	P2C3F1	11	P3C3F1
12	P1C3F2	12	P2C3F2	12	P3C3F2
13	P1C3F3	13	P2C3F3	13	P3C3F3
14	P1C3F4	14	P2C3F4	14	P3C3F4
15	P1C3F5	15	P2C3F5	15	P3C3F5

### 3.6.3 Unidad experimental

La unidad experimental estuvo constituida por 1 kg de cacao fermentado y seco.

### 3.6.4 Análisis estadístico

#### 3.6.4.1 Diseño experimental

- a. En la primera etapa de análisis se utilizó un diseño jerárquico para determinar si existe diferencia significativa entre provincias, considerando como factor principal a las provincias y las fincas como un anidamiento dentro de cantón (Tabla 7). El efecto de las medias por nivel de cada factor se evaluó mediante la prueba de Tukey con  $\alpha=0.05$ .

**Tabla 7 Análisis de varianza para el diseño jerárquico.**

Fuente de variación		Grados de Libertad
Provincias	(a-1)	2
Cantón	a(b-1)	6
Finca en Cantón	b(c-1)	36
Error		45
Total	(a.b.c.r)-1	89

- b. En la segunda etapa de análisis se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) para determinar si existe diferencia significativa dentro de cada provincia (Tabla 8). El efecto de las medias por nivel de cada factor se evaluó por medio de la prueba de Tukey con  $\alpha=0.05$ .

**Tabla 8 Análisis de varianza de un factor.**

Fuente de variación		Grados de Libertad
Provincia	k-1	2
Error	k(n-1)	27
Total	(n*k)-1	29

## CAPÍTULO IV

### 4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Análisis de los resultados

##### 4.1.1 Polifenoles

El contenido de polifenoles se evaluó a 45 muestras por duplicado (N=90) de tres provincias del Litoral Ecuatoriano utilizando la metodología vigente en el laboratorio LSAIA del INIAP, los resultados se presentan en la Figura C 1 (Anexo C).

Observando los resultados se establece que el contenido de polifenoles totales obtenido varía entre 33.55 a 62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado en muestras de cacao con 4 días de fermentación. Estos resultados confirman los estudios obtenidos por Lange y Fincke (1970), en los cuales se estableció que el contenido de estos componentes en almendras de cacao secas y fermentadas varía entre 50 mg de ácido gálico/g cacao desengrasado para cacaos forasteros a 30 mg para cacaos criollos, la única localidad en la que no se obtuvo estos resultados fue en Pichilingue (62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado). El promedio del contenido de polifenoles totales en las muestras de cacao fermentado de las tres provincias fue de 45.5 mg ácido gálico/g cacao desengrasado, estos resultados son comparables con los obtenidos por Espín et al. (2006), en donde se indica que muestras de cacao nacional provenientes de fincas comerciales en las provincias de Guayas y Manabí, con 4 días de fermentación presentan un contenido promedio de polifenoles de 47.39 mg ácido gálico/g cacao desengrasado.

El histograma que se presenta en la Figura C 2 (Anexo C) indica que 35 de las 90 observaciones se encuentra entre 40 y 50 mg de ácido gálico/g cacao desengrasado. Esto permitió evaluar el proceso de fermentación indicando que la mayor parte de almendras de cacao llegaron al contenido óptimo de polifenoles que se espera para el cuarto día de fermentación.

Con la finalidad de evaluar el efecto del origen del cacao sobre el contenido de polifenoles totales se realizó un análisis de varianza ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) para las tres provincias en estudio, los resultados se muestran en la Tabla B 1 (Anexo B).

Con base a los resultados se establece que no existe diferencia estadística significativa en el contenido de polifenoles totales en las muestras de cacao fermentadas durante 4 días de las tres provincias de mayor producción del litoral ecuatoriano, con un nivel de confianza del 95%. Este análisis permite establecer que la variación en el contenido de polifenoles no se atribuye al origen del cacao sino que este parámetro es influenciado directamente por la fermentación, debido a que los polifenoles sufren procesos de oxidación y disminución por difusión (Wollgast y Anklam, 2000). Estos resultados son respaldados si analizamos el porcentaje de variabilidad por efecto de las provincias que fue del 3.3%, un valor bajo que era de esperarse debido a que el proceso de fermentación fue realizado en las mismas condiciones.

De igual manera con la finalidad de comparar los resultados del contenido de polifenoles en los diferentes cantones de cada provincia se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha= 0.05$ ) por provincia.

Los resultados del análisis de varianza para la provincia de Manabí Tabla B 2 (Anexo B) muestran que existe diferencia estadística significativa en el contenido de polifenoles a nivel de los cantones de esta provincia.

Con la finalidad de comparar los promedios del contenido de polifenoles por cantón en la provincia de Manabí, se realizó un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios del contenido de polifenoles para los cantones Portoviejo y Chone no son significativamente diferentes y las muestras de cacao fermentadas del cantón Santa Ana presentan un contenido promedio de polifenoles de 33.55 mg ácido gálico/g cacao desengrasado inferior con relación a los cantones Portoviejo y Chone, por lo cual presenta diferencias estadísticas significativas con respecto a estos cantones Tabla B 3 (Anexo B). En el cacao obtener un mayor o menor contenido de polifenoles como resultado de la fermentación no es un indicativo de calidad, debido a que la concentración de estas sustancias depende de la finalidad que se le vaya a dar al cacao. Para efectos de la presente investigación obtener un valor bajo de polifenoles indica que esa muestra fue afectada en mayor

proporción por los procesos metabólicos de los microorganismos, y pérdida por difusión en los lixiviados de la fermentación.

El análisis de varianza realizado para la provincia de Los Ríos mostró de igual manera que existe diferencia estadística significativa a nivel de cantones para la respuesta experimental contenido de polifenoles totales Tabla B 4 (Anexo B).

La prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) realizada para las muestras de cacao nacional fermentado de la provincia de Los Ríos muestra que no existe diferencia estadística significativa para el promedio del contenido de polifenoles en los cantones Vinces y Montalvo. En el cantón Pichilingue se encontró que el promedio del contenido de polifenoles es 62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado mostrando diferencia estadística significativa con los cantones Vinces y Montalvo Tabla B 5 (Anexo B). El alto contenido de polifenoles que tiene el cantón Pichilingue es un indicativo de que no tuvo un buen proceso fermentativo, esto puede ser debido a que la ubicación de la muestra dentro del cajón no ayudó a dar las condiciones de temperatura y oxígeno para que se desarrollen los procesos metabólicos de los microorganismos. A pesar de que se realizaron volteos en la masa no se puede garantizar total homogeneidad.

En la provincia del Guayas los resultados del análisis de varianza mostraron que no existe diferencia estadística significativa en el contenido de polifenoles totales para el factor cantones Tabla B 6 (Anexo B).

#### **4.1.2 Grasa**

El análisis de grasa se realizó utilizando la metodología vigente en el laboratorio LSAIA del INIAP (extracción en Soxhlet por 12 horas), se evaluaron 45 muestras por duplicado (N=90) de tres provincias del Litoral Ecuatoriano, los resultados se presentan en la Figura C 5 (Anexo C).



Con base a los resultados obtenidos se establece que el contenido graso varía entre 43.84 a 48.85%, valores que son comparables con los reportados en el estudio realizado por Espín (2006), cuyo rango va de 46.50 a 50.06% para cacaos procedentes de fincas comerciales con cuatro días de fermentación. Los valores determinados se encuentran por debajo del valor promedio que se reporta para los cacaos procedentes de Ghana 52.7%.

El promedio general del contenido de grasa en las almendras de cacao secas y fermentadas de las tres provincias fue de 45.2% y con un coeficiente de variación de 4.77%. Los resultados obtenidos confirman lo descrito por otros autores, en donde se indica que los cacaos finos presentan un menor contenido de grasa con relación a los cacaos ordinarios (Amores et al., 2007; Álvarez, 2008).

La distribución del contenido de grasa Figura C 6 (Anexo C) sigue una curva Gaussiana, en donde el 70% de las muestras se encuentra en un rango de 42 a 46%. De las 90 muestras 19 se encuentra entre 44 y 45% representado la mayor frecuencia de observaciones.

Con la finalidad de evaluar el efecto del origen del cacao sobre el contenido de grasa se realizó un análisis de varianza ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) para las tres provincias en estudio, los resultados se muestran en la Tabla B 7 (Anexo B).

Con base a los resultados se establece que existe diferencia estadística significativa en el contenido de grasa en las muestras de cacao fermentado durante 4 días en las tres provincias de mayor producción del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos) con un nivel de confianza del 95%, éste análisis permite establecer que la variación en el contenido de grasa mantiene relación con el origen del cacao, sin embargo, este parámetro no es considerado como un factor discriminante entre cacaos. Esta aseveración se realiza analizando el porcentaje de variabilidad entre provincias que es de 19.14%, una alta variabilidad se genera debido a dos motivos; por efecto del tratamiento o error de muestreo. Lo segundo es descartado observando la desviación estándar del experimento que es de 1.19, este valor se obtiene sacando la raíz cuadrada del cuadrado medio del error en la tabla de ANOVA. Además los resultados de los análisis de varianza muestran que no existe diferencia significativa entre los cantones de las provincias de Guayas y Manabí.

Con la finalidad de comparar los promedios del contenido de grasa en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, se realizó un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios del contenido de grasa en almendras de cacao Nacional fermentado presentaron diferencias estadísticas significativas entre provincias Tabla B 8 (Anexo B). En donde Guayas mostró el promedio más bajo que fue de 44.02%, esto representaría una desventaja competitiva para determinadas industrias debido al alto valor comercial que tiene la manteca de cacao.

De igual manera con la finalidad de comparar los resultados del contenido de grasa en los diferentes cantones de cada provincia se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha=0.05$ ) por provincia.

Los resultados del análisis de varianza muestran que Los Ríos fue la única provincia en la que existe diferencia estadística significativa en el contenido de grasa a nivel de los cantones Tabla B 9 (Anexo B).

Con la finalidad de comparar los promedios del contenido de grasa por cantón en la provincia de Los Ríos, se realizó un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios del contenido de grasa para el cacao de los cantones Vinces y Montalvo no son significativamente diferentes y las muestras de cacao fermentadas del cantón Pichilingue presentan un mayor contenido promedio de grasa que fue de 48.85% con relación a los cantones Vinces y Montalvo por lo cual presenta diferencias estadísticas significativas con respecto a estos cantones Tabla B 10 (Anexo B).

#### **4.1.3 Teobromina**

El análisis de teobromina se realizó utilizando la metodología vigente en el laboratorio LSAIA del INIAP, el contenido de teobromina se evaluó en 45 muestras de cacao desengrasado por duplicado (N=90) de tres provincias del litoral ecuatoriano, los resultados se presentan en la Figura C 9 (Anexo C).

Con base a los resultados se establece que el contenido de teobromina obtenido varía entre 1.52 y 2.29% en muestras de cacao con cuatro días de fermentación, estos resultados son comparables con los de la investigación realizada por Amores et al., (2007)

(ICCO-INIAP), donde indica que para almendras bien fermentadas y secas de cacao Nacional el rango para este parámetro es de 1.9 a 2.1. Adicionalmente el autor explica que un bajo porcentaje de teobromina fue observado en almendras bien fermentadas y secas procedente de la finca comercial “Las Brisas” donde se observa un bajo nivel de cruzamiento de los cacaos nacionales con otros grupos genéticos; este resultado sugiere que la existencia de árboles de cacao nacional puro desde el siglo anterior en algunas fincas, determinan bajos niveles de teobromina y explica parcialmente el suave y particular sabor “Arriba” atribuido al cacao ecuatoriano.

El promedio global del contenido de teobromina en las muestras de cacao Nacional de las tres provincias fue de 1.72% y su coeficiente de variación de 18.54%.

La distribución del contenido de teobromina Figura C 10 (Anexo C) sigue una curva Gaussiana, en donde el 70% de las muestras está en un rango de 1.4 a 1.8%. El valor más bajo de concentración de teobromina es de 1.27% y el más alto que se reporta en la distribución es de 2.84%.

Con la finalidad de evaluar el efecto del origen del cacao sobre el contenido de teobromina se realizó un análisis de varianza ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) para las tres provincias en estudio, los resultados se muestran en la Tabla B 13.

Con base a los resultados se establece que existe diferencia estadística significativa en el contenido de teobromina en las muestras de cacao fermentado durante 4 días en las tres provincias de mayor producción del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos) con un nivel de confianza del 95%, lo cual indica que existe un efecto del origen del cacao sobre el contenido de teobromina. El porcentaje de variabilidad entre las provincias es del 14.04%, este valor es atribuido en mayor proporción al grado de hibridación de las muestras y al proceso de difusión que tiene la teobromina durante la fermentación.

Con la finalidad de comparar los promedios del contenido de teobromina en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, se realizó un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios del contenido de teobromina para las provincias de Guayas y Manabí no son significativamente diferentes, y las muestras de cacao fermentadas de la provincia de Los Ríos presentan el contenido promedio de teobromina más alto que fue de 1.89% con

relación a las provincias de Guayas y Manabí, por lo cual presenta diferencias estadísticas significativas con respecto a estas provincias Tabla B 14 (Anexo B). Sin embargo, un valor alto de teobromina no es un indicador que pueda ayudar a diferenciar al cacao de esta provincia, debido a que este valor es útil cuando se lo analiza conjuntamente con el contenido de cafeína. Si se considera la parte sensorial para este caso, un valor alto de teobromina significaría un sabor más astringente el cual no es deseable en la industria del chocolate.

De igual manera con el propósito de comparar los resultados del contenido de teobromina en los diferentes cantones de cada provincia se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) por provincia.

Los resultados del análisis de varianza para el cacao de la provincia de Los Ríos Tabla B 15 (Anexo B) muestran que existe diferencia estadística significativa en el contenido de teobromina a nivel de los cantones de esta provincia. De igual manera se comparó los promedios del contenido de teobromina por cantón en la provincia de Los Ríos, mediante un análisis de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). En los cantones de Vinces y Montalvo los contenidos promedios de teobromina no presentan diferencias significativas, mientras que en las muestras de cacao fermentadas del cantón Pichilingue se observó un contenido promedio de teobromina más alto por lo cual presenta diferencias estadísticas significativas con respecto a estos cantones Tabla B 16 (Anexo B). Esta diferencia estadística es concordante con la evaluación de la fermentación que se realizó a través del contenido de polifenoles para la provincia de Los Ríos, que evidenció un bajo nivel de fermentación.

En las provincias de Manabí y Guayas los resultados del análisis de varianza mostraron que no existe diferencia estadística significativa en el contenido de teobromina por efectos de sus cantones los resultados se muestran en la Tabla B 17 y Tabla B 18 del Anexo B respectivamente.

#### 4.1.4 Cafeína

El análisis de cafeína se realizó utilizando la metodología vigente en el laboratorio LSAIA del INIAP, el contenido de cafeína se evaluó en 45 muestras de cacao desengrasado por duplicado (N=90) de tres provincias del Litoral Ecuatoriano, los resultados se presentan en la Figura C 13 (Anexo C).

Con base a los resultados se establece que el contenido de cafeína en las muestras de cacao con cuatro días de fermentación de las tres provincias varía entre 0.20 y 0.40%, estos resultados son inferiores a los obtenidos en investigaciones anteriores realizadas por Amores et al. (2007) (ICCO-INIAP), en donde se muestra que para almendras bien fermentadas y secas de cacao Nacional el rango para este parámetro varía de 0.39-0.44%. El promedio global del contenido de cafeína en las muestras de cacao fermentado de las tres provincias fue de 0.28% y su coeficiente de variación fue de 29.38%

La distribución del contenido de cafeína en las muestras de cacao seco y fermentado de las tres provincias Figura C 14 (Anexo C) sigue una curva Gaussiana. De las 90 muestras, 27 se sitúa entre los valores de 0.20 a 0.25% siendo la mayor frecuencia de observaciones, de igual manera el valor más bajo observado fue de 0.15% y el más alto que se reporta en la distribución es de 0.51%.

Con la finalidad de evaluar el efecto del origen del cacao sobre el contenido de cafeína se realizó un análisis de varianza ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) para el cacao de las tres provincias en estudio, los resultados se muestran en la Tabla B 19 (Anexo B).

Con base a los resultados se establece que existe diferencia estadística significativa en el contenido de cafeína en las muestras de cacao fermentadas durante 4 días en las tres provincias de mayor producción del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos) con un nivel de confianza del 95%.

Los resultados promedio del contenido de cafeína en el cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos se compararon mediante un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). El contenido promedio de cafeína en las muestras de cacao seco y fermentado de la provincia de Guayas presentó valores más bajos con respecto a las provincias de Manabí

y Los Ríos, observando diferencias estadísticas entre los valores promedio del contenido de cafeína de la Provincia de Guayas y las provincias de Manabí y Los Ríos Tabla B 20 (Anexo B). Obtener un valor bajo del contenido de cafeína influye negativamente en la provincia de Guayas en lo referente a la calidad química y sensorial, debido a que lo deseable es tener valores altos de cafeína para que el cociente de la relación teobromina/cafeína sea bajo. En lo sensorial aumenta el amargor.

De igual manera con la finalidad de comparar los resultados del contenido de cafeína en el cacao de los diferentes cantones de cada provincia se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) por provincia.

Los resultados del análisis de varianza para la provincia de Los Ríos Tabla B 21 (Anexo B) muestran que existe diferencia estadística significativa en el contenido de cafeína a nivel de los cantones de esta provincia.

Los resultados promedios del contenido de cafeína por cantón en el cacao de la provincia de Los Ríos fueron comparados mediante un análisis de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Los promedios del contenido de cafeína en los cantones Pichilingue y Montalvo no son significativamente diferentes. Las muestras de cacao fermentadas del cantón Vinces presentan un contenido promedio de cafeína más bajo con relación a los cantones Pichilingue y Montalvo, por lo cual se evidenció diferencias estadísticas significativas con respecto a estos dos cantones Tabla B 22 (Anexo B).

En las provincias de Manabí y Guayas los resultados del análisis de varianza mostraron que no existe diferencia estadística significativa en el contenido de cafeína por efectos de sus cantones y los resultados se muestran en la Tabla B 23 y Tabla B 24 del Anexo B respectivamente.

#### 4.1.5 Relación teobromina/cafeína (T/C)

El análisis de la relación teobromina/cafeína se realizó calculando el coeficiente entre los contenidos de estos dos parámetros para cada una de las muestras en estudio, puesto que investigaciones realizadas anteriormente mostraron que esta relación se presenta como una potencial herramienta para discriminar el origen de los cacaos. En el presente estudio se evaluó la relación T/C en 45 muestras por duplicado (N=90) del cacao de tres provincias del litoral ecuatoriano, los resultados promedio se presentan en la Figura C 17 (Anexo C).

Con base a los resultados obtenidos se establece que el rango de la relación teobromina/cafeína está entre 5.56 y 7.86 para cacao seco con 4 días de fermentación, estos resultados se enmarcan en investigaciones realizadas por Espín et al. (2007), en varios genotipos de cacao ecuatoriano, donde se determinó que los valores de la relación T/C de los materiales cultivados en el Ecuador, se distribuyen en el rango de 3.44 correspondiente al clon ICS 95 a 6.88 registrada para el clon CCN51, estos datos nos permite inferir que todos los materiales se distribuyen dentro del grupo de los cacaos del complejo Nacional x Trinitario, probablemente refleja el grado de introgresión genética de la población de cacao Nacional con grupos de cacao introducidos con características genéticas diferentes, principalmente los Trinitarios en 1918.

La distribución de la relación teobromina/cafeína Figura C 18 (Anexo C) sigue una curva Gaussiana. De las 90 muestras, 18 se encuentra entre los valores de 5.5 a 6.0 que representa la frecuencia con más observaciones. El valor más bajo de la relación teobromina/cafeína encontrado fue de 4.1 y el más alto que se reporta en la distribución es de 9.9.

El promedio global de la relación teobromina/cafeína encontrado en las muestras de cacao fermentado y seco de las tres provincias fue de 6.39. Estos resultados nos permiten tener una idea sobre el origen del cacao, pues estudios realizados anteriormente por Chevalley en 1991 muestran que esta relación varía de una especie a otra y constituye una herramienta para discriminar cacaos por su origen. Se ha observado que en muestras de cacao proveniente de África el contenido de cafeína es menor con relación a los cacaos de América, por lo cual los cacaos Africanos presentan valores de relación T/C de

hasta 39 y en cacaos de América (Trinidad, Venezuela, Ecuador) de aproximadamente 6, confirmando los resultados obtenidos en este estudio.

Actualmente la mayor parte de autores definen tres clases de variedades de cacao; el Criollo, el Forastero y el Trinitario, en función de esta clasificación se pueden distinguir la variedad de cacao utilizando la relación T/C.

De estas tres variedades los mercados internacionales de cacao han establecido distinción entre dos amplias categorías de almendras: las de “Sabor fino” y los “Corrientes u Ordinarios”. Las almendras de cacao de sabor fino provienen de los tipos del árbol de cacao Criollo y Trinitario, dentro del cual se estaría enmarcando el cacao Nacional, según los resultados de la relación teobromina/cafeína obtenidos en la presente investigación **Figura C 19** (Anexo C), mientras que las categorías de corrientes u ordinarios derivan de los cacaos Forasteros.

Con la finalidad de evaluar el efecto de la zona geográfica sobre la relación teobromina/cafeína se realizó un análisis de varianza ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) para el cacao de las tres provincias en estudio, los resultados se muestran en la Tabla B 25.

Con base a los resultados se establece que existe diferencia estadística significativa en la relación T/C en las muestras de cacao fermentado durante 4 días en las tres provincias de mayor producción del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos) con un nivel de confianza del 95%, de manera que se establece como un criterio objetivo para diferenciar el cacao por su origen.

Con la finalidad de comparar los promedios de la relación T/C en el cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, se realizó un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios de la relación T/C en almendras de cacao Nacional fermentado presentaron diferencias estadísticas significativas entre provincias Tabla B 26 (Anexo B). La variabilidad entre provincias es del 13.01%, esto podría ser atribuido a la influencia de las condiciones agroclimáticas de cada provincia y al nivel de hibridación que presenta el cacao.



De igual manera con la finalidad de comparar los resultados de la relación T/C en los diferentes cantones de cada provincia se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha=0.05$ ) por provincia.

Los resultados del análisis de varianza para el cacao de la provincia de Los Ríos Tabla B 27 (Anexo B) muestran que existe diferencia estadística significativa en la relación T/C a nivel de los cantones de esta provincia.

Con la finalidad de comparar los promedios de la relación T/C por cantón en la provincia de Los Ríos, se realizó un análisis de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios de la relación T/C para los cantones Pichilingue y Montalvo no son significativamente diferentes y las muestras de cacao fermentadas del cantón Vinces presentan un valor promedio de la relación T/C más alto que fue de 7.86 con relación a los cantones Pichilingue y Montalvo por lo cual presenta diferencias estadísticas significativas con respecto a estos cantones Tabla B 28 (Anexo B).

En las provincias de Manabí y Guayas los resultados del análisis de varianza mostraron que no existe diferencia estadística significativa en la relación T/C por efectos de sus cantones y los resultados se muestran en la Tabla B 29 y Tabla B 30 del Anexo B respectivamente. Similares resultados se evidenció para el contenido de cafeína, teobromina y grasa en las provincias mencionadas, resultados importantes que demuestran que las características de una población de cacao dentro de su provincia no presenta diferencia como debería de esperarse debido a que crecen en condiciones agroclimáticas parecidas, mientras que los resultados son diferentes cuando se analizan los parámetros mencionados anteriormente entre provincias deduciendo que se podría atribuir estas diferencias al origen del cacao y su grado de hibridación.

#### **4.1.6 Correlación teobromina/cafeína vs grasa.**

Los cacos finos siempre han estado relacionados con un bajo contenido graso, contrario a los cacaos forasteros que presentan contenidos altos. Considerando que los cacaos finos tienen valores bajos de la relación T/C y conforme sigue aumentando esta relación se considera como cacaos ordinarios. Por esta razón existe un interés en correlacionar estas dos variables, que se esperaba presenten una relación directamente proporcional. La correlación que se muestra en la Figura C 22 (Anexo C) indicó una influencia del 0.14% de la relación T/C sobre el contenido de grasa. Todas las muestras analizadas en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos en una población de cacao Nacional se encuentran por debajo del 50% de grasa. Sin embargo, la gráfica no mostró una correlación entre estas dos variables en muestras de cacao Nacional del Litoral Ecuatoriano.

## CAPÍTULO V

### 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- El contenido de grasa promedio en las muestras de cacao fermentadas y secas provenientes de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos presentan diferencias estadísticas significativas entre provincias con el 44.02; 45.28; y 46.32 %, respectivamente. El promedio global del contenido de grasa obtenido fue de 45.2%, con un rango de variación de 43.84 a 48.85%, lo que nos permite inferir que el cacao nacional fino de aroma presenta menores contenidos de grasa en relación a otros grupos genéticos de cacao como los de tipo Forastero.
- Los resultados del análisis de polifenoles totales en las muestras de cacao nacional de las tres provincias en estudio varía entre 33.55 a 62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado. Se determinó que no existe diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) en el contenido de polifenoles totales entre provincias lo que nos demuestra que no existe efecto de la zona de producción en relación al contenido total de estos compuestos.
- El análisis de purinas para el cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos estableció que en cacao Nacional con cuatro días de fermentación el contenido de teobromina varía entre 1.52 y 2.29% y para la cafeína su contenido fluctúa entre 0.20 y 0.40%. Los análisis estadísticos mostraron que existe un efecto significativo del origen del cacao sobre el contenido de purinas, para el caso de la teobromina, el cacao de Los Ríos fue significativamente diferente al de las otras provincias con el mayor promedio que fue de 1.89%, y para la cafeína el cacao de la provincia de Guayas presentó diferencia estadística significativa con un promedio menor de 0.24%.
- La relación teobromina/cafeína permitió ubicar al cacao Nacional dentro de la clasificación de los cacaos Trinitarios puesto que presentó valores que varían entre 5.56 y 7.86 en muestras fermentadas y secas. Los resultados de los análisis

estadísticos mostraron que el cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos son significativamente diferentes entre sí, en donde el cacao de la provincia de Manabí tiene el promedio más bajo que es de 5.86 y Guayas el más alto con un valor de 6.89.

- La relación T/C se muestra como una herramienta útil para diferenciar cacaos por su origen. La ubicación dentro del grupo de los Trinitarios es el resultado del cruce del cacao Nacional con otros materiales genéticos que han modificado las características del cacao Nacional, por tanto se observa que cada genotipo presenta una respuesta diferente de acuerdo al grado de introgresión genética de la población de cacao Nacional con grupos de cacao introducidos con características genéticas diferentes, principalmente los Trinitarios. Sin embargo los resultados obtenidos ayudarían a facilitar su comercialización estableciendo parámetros de calidad en base a los resultados obtenidos.

## 5.2 Recomendaciones

- Complementar la cuantificación de estos componentes químicos no volátiles del cacao en las demás provincias productoras de cacao a nivel nacional con la finalidad de establecer herramientas objetivas que permitan diferenciar la calidad del cacao producido en el Ecuador y establecer un marco de referencia para la certificación de origen; sin embargo, es necesario establecer el efecto de las épocas de cosecha y un monitoreo de al menos 2 años sobre estos componentes principalmente las purinas y su relación T/C.
- Realizar análisis sensoriales y sobre componentes químicos volátiles del cacao de manera que se pueda establecer los perfiles de sabor y aroma del cacao nacional ecuatoriano y su relación con los componentes químicos estudiados.

# **CAPÍTULO VI**

## **6 PROPUESTA**

### **6.1 Datos informativos**

#### **6.1.1 Título**

“Elaboración de una base de datos referenciales a nivel de país que permita obtener la certificación de origen y mejorar las condiciones socio-económicas de los productores”

#### **6.1.2 Ejecutor**

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

#### **6.1.3 Ubicación**

Panamericana Sur Km 1, sector Cutuglagua. Estación Experimental Santa Catalina.

#### **6.1.4 Beneficiarios**

Investigadores y estudiantes universitarios del Ecuador, Centros e Instituciones de Investigaciones en Alimentos, Empresas privadas relacionadas a la industria chocolatera y productores de cacao.

#### **6.1.5 Tiempo estimado para la ejecución**

12 meses.

### **6.1.6 Equipo técnico responsable**

Docentes de la Universidad Técnica de Ambato, Investigadores de las Estaciones Experimentales, Santa Catalina, Litoral Sur y Pichilingue del INIAP, y estudiantes que se encuentren trabajando con el rubro cacao.

## **6.2 Antecedentes de la propuesta**

El cacao ecuatoriano es conocido a nivel internacional por su aroma y sabor, de ahí su prestigio entre las principales industrias internacionales transformadoras de cacao. Este reconocimiento le permite a Ecuador ser competitivo en calidad, más no en productividad. Los países africanos son los mayores productores mundiales de cacao a nivel mundial, se han especializado en el rendimiento y no en el atributo de su producto (González, 2007). Debido a estos factores el Instituto Ecuatoriano de Propiedad Intelectual (IEPI), se encuentra trabajando en la denominación de origen del “cacao arriba”. Esta clasificación es otorgada a productos con un tipo de signo distintivo, que difieren de otro porque ubican a un producto con una característica geográfica determinada y porque tienen un aporte humano de trabajo, creatividad y conocimiento específico. A esto se lo conoce como factores humanos y geográficos. Las denominaciones de origen, como un tipo de signo distintivo, tienen gran importancia porque identifican al país. Esa es su característica básica (IEPI, 2014).

Las características de un producto con denominación de origen son de mucho interés para las empresas chocolateras, con fines de promocionar sus productos en el mercado, tales como: un sabor especial, una historia, una organización social-indígena, etc (Quingaísa, 2007).

La investigación “Estudio del contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma en zonas del Litoral Ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización”, aportó valiosos datos de la relación teobromina/cafeína que respalda a uno de los productos emblemáticos del país respecto a su denominación de origen.

## **6.3 Justificación**

La investigación “Estudio del contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma en zonas del Litoral Ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización”, demostró que existe un efecto del ambiente sobre el contenido de grasa y purinas en almendras de cacao, por ésta razón se plantea que el estudio se extienda en todas las provincias productoras de cacao en el Ecuador para formar una base de datos a nivel nacional que permita obtener una certificación de origen, y potenciar las ventajas del cacao fino de aroma y de productos derivados caracterizados por la calidad atribuida a su origen.

### **6.3.1 Objetivo general**

- Elaborar una base de datos referenciales a nivel de país que permita obtener la certificación de origen y mejorar las condiciones socio-económicas de los productores.

### **6.3.2 Objetivos específicos**

- Determinar si existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales, alcaloides y grasa en Cacao Fino de Aroma en las provincias productoras del Ecuador.
- Establecer la relación teobromina/cafeína e identificar si existe diferencia significativa respecto a las zonas de estudio.
- Realizar un análisis de componentes principales que permita diferenciar las poblaciones de cacao Nacional.



## **6.4 Análisis de factibilidad**

La viabilidad de la elaboración de una base de datos referenciales a nivel de país que permita obtener la certificación de origen y mejorar las condiciones socio-económicas de los productores se asegura con los resultados obtenidos en la investigación “Estudio del contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma en zonas del Litoral Ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización”. Además, el cumplimiento adecuado de los objetivos específicos planteados en ésta propuesta garantizará el cumplimiento del objetivo general.

## **6.5 Fundamentación**

La investigación “Estudio del contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de Cacao Nacional Fino de Aroma en zonas del Litoral Ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización”, es la base científica que permite la formulación de la presente propuesta.

## **6.6 Metodología**

El desarrollo de la propuesta está basado en la extensión de los resultados obtenidos en la presente investigación hacia el resto de provincias cacaoteras del país, para este fin se utilizaría los métodos anteriormente descritos para analizar el contenido de polifenoles totales, alcaloides y grasa que se encuentran detallados en el Anexo E.

## 6.7 Administración

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
<p>Precio del cacao Nacional</p> <p>Penalización al precio en función de la calidad del cacao Nacional.</p> <p>Condiciones socio-económicas de los productores de cacao Nacional.</p>	<p>No se ha logrado potenciar la calidad del cacao Nacional.</p> <p>El 25% del cacao que se exporta es catalogado como ordinario.</p> <p>La mayoría de los pequeños agricultores no ven el beneficio de cultivar cacao Nacional.</p>	<p>Mejorar los precios del cacao Nacional.</p> <p>Exportar 100% cacao con la calidad fino y de aroma</p> <p>Mejorar las condiciones socio-económicas de los pequeños agricultores.</p>	<p>Analizar los componentes químicos no volátiles de cacao Nacional en las zonas de mayor producción a nivel del país.</p>	<p>Investigadores del INIAP</p> <p>Estudiantes</p>

## 6.8 Previsión de la evaluación

<b>Preguntas básicas</b>	<b>Explicación</b>
¿Quiénes solicitan evaluar?	Investigadores, Docentes y el sector cacaotero Nacional, exportadores y fabricantes de cacao
¿Por qué evaluar?	Porque proporciona información de las características del cacao Nacional.
¿Para qué evaluar?	Para mejorar la calidad del cacao Nacional.
¿Qué evaluar?	Componentes químicos no volátiles.
¿Quién evalúa?	Investigadores, productores y el sector industrial.
¿Cuándo evaluar?	Durante el proceso de análisis del cacao.
¿Cómo evaluar?	Utilizando las metodologías descritas en el Anexo E.
¿Con qué evaluar?	Utilizando cromatografía de alta resolución y espectrofotometría.

## BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, C. (2008). *Caracterización y tipificación de los parámetros físicos, químicos, físico-químicos y componentes del sabor y aroma de una población de cacao criollo híbrido (Theobroma cacao L.) de Venezuela*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Amores, F., Buttler, D., Ramos, G., Skuha, D., Espín, S., Gómez, A., Zambrano, A., Jiménez, J., Hollywood, N., Van Loo, R. y Seguíne, E. (2007). *Project to establish the physical, chemical and organoleptic parameters to differentiate between fine or flavor and bulk cocoa*. Quevedo, Ecuador.

Amores, F., Jiménez, J. y Peña, G. (s/f). *Diferenciación del cacao Nacional del Ecuador y Forastero de Ghana mediante un grupo de compuestos volátiles constituyentes del aroma a cacao*. Ecuador. Estación Experimental Tropical Pichilingue, Programa Nacional de Cacao y Café. Ecuador.

Amores, F., Palacios, A., Jiménez, J. y Zhang, D. (2009). *Entorno ambiental, genética, atributos de calidad y singularización del cacao en el nororiente de la provincia de Esmeraldas*. Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Ecuador.

Ashihara, H., Sano, H., Crozier, A. (2007). Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry*, 69(4): 841–856

Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (ANECACAO). (2011). Estadísticas históricas. Recuperado de [www.anecacao.com/](http://www.anecacao.com/)

Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (ANECACAO). (2014). Normas de calidad. Recuperado de [www.anecacao.com/](http://www.anecacao.com/)

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1997). *Extraction of Fat Content of Cocoa Products*. Methods of AOAC International, Gaithersburg, USA.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1998). *Cocoa beans and its products*. 16 ed, 4 rev. Official Methods of AOAC International. USA.

Bortorelli, L., Rovedas, G. y Fariñas, L. (2009). Influencia de varios factores sobre índices físicos del grano de cacao en fermentación. *Agronomía Tropical*, 59(1): 81-88.

Buenaventura, G. (2002). Chocolate, Polifenoles y Protección a la Salud. *Acta Farm. Bonaerense*, 21 (2): 149-152.

Calderón, M. (2002). *Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (Theobroma cacao L) de tipo fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación en relación con la calidad*. Tesis de Licenciatura en Química. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.

César, B. (2006). *Metodología de la investigación: para administración, economía, humanidades y ciencias sociales*. (2 ed.). México: Pearson Educación.

Chevalley, J. (1991). *Theobromine and caffeine content of cocoa beans from different botanical and geographical origins, Second International Congress on cocoa and chocolate*. Munich. Nestea LTD. Agricultural Services.

Climent, M., García, H., Iborra, S. y Morera, I. (2005). *Experimentación en química: química orgánica, ingeniería química*. España. UPV.

Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversión del Ecuador (CORPEI), URBANA Consultores Internacional Ltda. (2008). *Levantamiento de estadísticas básicas del sector cacao del Ecuador: Informe de resultados estadísticos de la investigación*. Ecuador.

Cross, E., Villeneuve, F. y Vincent J. (1982). Recherche d'un indice de fermentation du cacao. Evolution des tanins et des phénols totaux de la fève. *Cacao-Café-Thè*. 26(2): 109-114.

Enríquez, G. (1985). *Curso sobre el cultivo de cacao*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.

Enríquez, G. (2004). *Cacao orgánico: Guía para productores ecuatorianos. Manual N° 54*. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Ecuador.

Enríquez, G. (1998). *Como mantener la calidad y el aroma en el mercado del cacao fino*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.

Espín, S. (2006). *Evaluación de parámetros químicos volátiles y no volátiles asociados a la calidad del cacao: Informe final Ecuador, Componente II, Proyecto CFC/ICCO/INIAP. Project to establish the physical, chemical and organoleptic parameters to differentiate between fine or flavor and bulk cocoa*. Quito, Ecuador.

Espín, S., Samaniego, I., Wakao, H. y Jiménez, J. C. (2007). La relación teobromina/cafeína asociada a la calidad del cacao ecuatoriano. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(2): 107-109.

Gasser, P., Lati, E., Mazzarino, L., Bouzoud, D., Allegaert, L. y Bernaert, H. (2008). Cocoa polyphenols and their influence on parameters involved in ex vivo skin restructuring. *International Journal of Cosmetic Science*, 30: 339–345.

González, M. (2007). *La protección jurídica para el cacao fino y de aroma del Ecuador*. Ecuador. Abya-Yala.

Guarnizo, A. y Martínez, P. (s/f). *Experimentos de Química Orgánica*. Colombia: Elizcom.

Hardy, F. (1961). *Manual de cacao*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Turrialba, Costa Rica. Lehmann.

Instituto Ecuatoriano de Propiedad Intelectual (IEPI). (2014). Identidad ecuatoriana en productos propios. Recuperado de <http://www.propiedadintelectual.gob.ec>

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). (1989). *Memoria del seminario regional sobre tecnología post-cosecha y de calidad mejorada del cacao*. Turrialba, Costa Rica.

International Cocoa Organization (ICCO). (1996). *Determination of the fat content of cocoa powder by soxhlet extraction*. Official Methods of ICCO.

International Cocoa Organization (ICCO). (2010). *Informe Anual 2009-2010*. Recuperado de [www.icco.org](http://www.icco.org).

Jahurul, M., Zaidul, I., Norulaini, N., Sahena, F., Jinap, S., Azmir, J., Sharif, K. y Mohd A. (2012). Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *Journal of Food Engineering*, 117(4): 467–476.

Jiyoung, K., Ki, L. y Hyong, L. (2011). Cocoa (*Theobroma cacao*) Seeds and Phytochemicals in Human Health. En V. Preedy, R. Watson y V. Patel, *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. 351-360. Elsevier.

Lange, H. y Fincke, A. (1970). Kakao and Schokolade. En L. Acker, K.G. Bergner, y W. Diemair, *Handbuch der Lebensmittel Band VI: Alkaloidhaltige Genussmittel, Gewürze, Kochsalz*. 210-309. Berlin, Heidelberg Springer Verlag.

Lastra, A. (2004). *Caracterización del circuito orgánico de la cadena de cacao en el Ecuador*. Pasquel Producciones.

Lipp, M. y Adam, E. (1997). Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate-Part A. Compositional data. *Food Chemistry*, 62(1): 73–97.

López, R. (s/f). *Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra*. Universidad Santiago de Compostela. España.

Moreno, L. y Sánchez, J. (1989). *Beneficio del cacao*. IICA, Fundación Hondureña de Investigación Agrícola.

Ocampo, R., Ríos, L., Betancur, L. y Ocampo, D. (2008). *Curso práctico de química orgánica: Enfocado a biología y alimentos*. Universidad de Caldas.

Pereal, J., Cadena, T. y Herrera, J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Salud UIS*, 41: 128-134.

Pérez, R. (2009). *Programa de capacitación a facilitadores y agricultores en la cadena de cacao*. Estación Experimental Central de la Amazonía. Ecuador.

Portillo, E., Labarca, M., Grazziani, L., Cros, E., Assemat, S., Davrieux, F., Boulanger, R. y Marcano, M. (2009). Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao L.*) en función del tratamiento postcosecha en Venezuela. *UDO Agrícola*, 9(2): 458-468.

Quingaísa, E. (2007). *Estudio de caso: denominación de origen "cacao arriba"*. Consultoría realizada para la FAO y el IICA en el marco del estudio conjunto sobre los productos de calidad vinculada al origen. Ecuador.

Quintero, M. y Díaz, K. (2004). El mercado mundial del cacao. *Agroalimentaria*, 9(18): 47-59.

Quiroz, J. (2010). *Influencia de la agronomía y cosecha sobre la calidad del cacao: Boletín Técnico N 147*. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental Litoral Sur, Programa Nacional de Cacao. Ecuador.

Ramírez, T. y Paredes, N. (2010). *Análisis de la cadena de cacao y perspectivas de los mercados para la Amazonía Norte: Publicación N° 153*. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria. Ecuador.

Reyes, G. (2012). Comunicación personal. Asociación Coordinadora Ecuatoriana de Productores de Cacao Nacional Fino de Aroma (ACEPROCACAO). Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. 30 de Marzo del 2012.



Rimbach, G., Melchin, M., Moehring, J. y Wagner, A. (2009). Polyphenols from Cocoa and Vascular Health—A Critical Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 4290-4309.

Riveros, H., Vandecandelaere, E., Tartanac, F., Ruiz, C., Parcorbo, G. (Ed). (2008). Calidad de los alimentos vinculada al origen y las tradiciones en América Latina: estudios de casos. Lima. FAO-IICA.

Rodríguez, M., Motato, N., Zambrano, O. y Tarquino, C. (2010). *Manejo técnico del cultivo de cacao en Manabí*. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria. Estación Experimental Portoviejo. Ecuador.

Samaniego, I. (2012). *Caracterización de la evolución de los polifenoles durante la fermentación del cacao: Un estudio de Espectroscopía de Infrarrojo Cercano NIRS y HPLC*. Tesis de M.Sc. CIRAD. Montpellier, Francia.

Sotero, V., Martha, M., Vela, J., Merino, C., Dávila, E. y García, D. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia *Sterculiaceae*. *Rev Soc Quím. Perú*, 77(1): 66-73.

Suárez, C., Moreira, M. y Vera, J. (1998). *Manual de cultivo de cacao*. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Ecuador.

Unda, J. (1993). *Evaluación del programa especial de maíz en los municipios de Ayapango, Amecameca y Tlalmanalco*. Tesis de M.Sc. Colegio de Post-graduados. Montecillo, México.

Urquhart, D. (1963). *Cacao*. Costa Rica. SIC.

Vera, J. y Díaz, G. (1984). *Comunicación Técnica N° 11*. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Ecuador.

Wollgast, J. y Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, (33): 423-447.

**ANEXO A**  
**DATOS EXPERIMENTALES**

**Tabla A 1 Resultados de los análisis de teobromina (%) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos.**

Provincia	Cantón	Código	Réplica 1	Réplica 2	Promedio
Manabí	Chone	13-0976	1.58	1.59	1.58
Manabí	Chone	13-0977	1.56	1.55	1.56
Manabí	Chone	13-0978	1.67	1.68	1.67
Manabí	Chone	13-0979	1.53	1.58	1.56
Manabí	Chone	13-0980	1.76	1.79	1.77
Manabí	Chone	13-0981	1.91	1.92	1.92
Manabí	Chone	13-0982	1.58	1.61	1.59
Manabí	Chone	13-0983	1.33	1.30	1.32
Manabí	Chone	13-0984	1.72	1.68	1.70
Manabí	Chone	13-0985	1.78	1.82	1.80
Manabí	Portoviejo	13-0986	1.64	1.63	1.63
Manabí	Portoviejo	13-0987	1.65	1.65	1.65
Manabí	Portoviejo	13-0988	1.60	1.58	1.59
Manabí	Portoviejo	13-0989	1.64	1.64	1.64
Manabí	Portoviejo	13-0990	1.84	1.82	1.83
Manabí	Portoviejo	13-0991	1.71	1.67	1.69
Manabí	Portoviejo	13-0992	1.78	1.75	1.77
Manabí	Portoviejo	13-0993	1.66	1.71	1.69
Manabí	Portoviejo	13-0994	1.70	1.77	1.74
Manabí	Portoviejo	13-0995	1.62	1.59	1.61
Manabí	Santa Ana	13-0996	1.64	1.66	1.65
Manabí	Santa Ana	13-0997	1.60	1.56	1.58
Manabí	Santa Ana	13-0998	1.38	1.41	1.39
Manabí	Santa Ana	13-0999	1.43	1.42	1.42
Manabí	Santa Ana	13-1000	1.53	1.57	1.55
Manabí	Santa Ana	13-1001	1.50	1.53	1.51
Manabí	Santa Ana	13-1002	1.69	1.67	1.68
Manabí	Santa Ana	13-1003	1.54	1.55	1.54
Manabí	Santa Ana	13-1004	1.92	1.93	1.93
Manabí	Santa Ana	13-1005	1.88	1.74	1.81
Los Ríos	Vinces	13-1054	1.44	1.44	1.44
Los Ríos	Vinces	13-1055	1.36	1.43	1.40
Los Ríos	Vinces	13-1056	1.71	1.69	1.70
Los Ríos	Vinces	13-1057	1.28	1.25	1.27
Los Ríos	Vinces	13-1058	1.33	1.37	1.35
Los Ríos	Vinces	13-1059	1.56	1.55	1.56
Los Ríos	Vinces	13-1060	1.46	1.51	1.49
Los Ríos	Vinces	13-1061	1.37	1.39	1.38
Los Ríos	Vinces	13-1062	1.98	1.96	1.97
Los Ríos	Vinces	13-1063	1.63	1.64	1.64
Los Ríos	Montalvo	13-1064	1.62	1.64	1.63
Los Ríos	Montalvo	13-1065	2.19	2.12	2.15
Los Ríos	Montalvo	13-1066	1.76	1.78	1.77

Elaborado por: Carlos Camino

**Continuación...**

Los Ríos	Montalvo	13-1067	1.78	1.82	1.80
Los Ríos	Montalvo	13-1068	2.37	2.35	2.36
Los Ríos	Montalvo	13-1069	2.42	2.41	2.42
Los Ríos	Montalvo	13-1070	1.60	1.57	1.59
Los Ríos	Montalvo	13-1071	1.81	1.75	1.78
Los Ríos	Montalvo	13-1072	1.50	1.47	1.49
Los Ríos	Montalvo	13-1073	1.46	1.47	1.46
Los Ríos	Pichilingue	13-0443	2.53	2.49	2.51
Los Ríos	Pichilingue	13-0446	2.47	2.67	2.57
Los Ríos	Pichilingue	13-0447	2.39	2.23	2.31
Los Ríos	Pichilingue	13-0448	2.23	2.24	2.23
Los Ríos	Pichilingue	13-0449	2.31	2.32	2.32
Los Ríos	Pichilingue	13-0450	2.76	2.46	2.61
Los Ríos	Pichilingue	13-0460	1.54	1.49	1.52
Los Ríos	Pichilingue	13-0461	2.84	2.85	2.84
Los Ríos	Pichilingue	13-0462	2.03	1.94	1.99
Los Ríos	Pichilingue	13-0463	2.01	2.03	2.02
Guayas	Durán	13-1074	1.66	1.67	1.67
Guayas	Durán	13-1075	1.70	1.67	1.69
Guayas	Durán	13-1076	1.50	1.50	1.50
Guayas	Durán	13-1077	1.69	1.70	1.70
Guayas	Durán	13-1078	1.60	1.61	1.61
Guayas	Durán	13-1079	1.60	1.60	1.60
Guayas	Durán	13-1080	1.72	1.69	1.70
Guayas	Durán	13-1081	1.55	1.56	1.55
Guayas	Durán	13-1082	1.73	1.73	1.73
Guayas	Durán	13-1083	1.55	1.55	1.55
Guayas	Yaguachi	13-1084	1.46	1.44	1.45
Guayas	Yaguachi	13-1085	1.74	1.74	1.74
Guayas	Yaguachi	13-1086	1.40	1.40	1.40
Guayas	Yaguachi	13-1087	2.53	2.53	2.53
Guayas	Yaguachi	13-1088	1.47	1.47	1.47
Guayas	Yaguachi	13-1089	1.47	1.51	1.49
Guayas	Yaguachi	13-1090	1.60	1.57	1.59
Guayas	Yaguachi	13-1091	1.45	1.47	1.46
Guayas	Yaguachi	13-1092	1.65	1.69	1.67
Guayas	Yaguachi	13-1093	1.65	1.65	1.65
Guayas	Milagro	13-1094	1.49	1.48	1.48
Guayas	Milagro	13-1095	1.66	1.67	1.67
Guayas	Milagro	13-1096	1.66	1.65	1.66
Guayas	Milagro	13-1097	2.01	2.01	2.01
Guayas	Milagro	13-1098	1.78	1.78	1.78
Guayas	Milagro	13-1099	1.64	1.63	1.63
Guayas	Milagro	13-1100	1.47	1.48	1.47
Guayas	Milagro	13-1101	1.43	1.46	1.45
Guayas	Milagro	13-1102	1.44	1.40	1.42
Guayas	Milagro	13-1103	1.33	1.36	1.35

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla A 2 Resultados de los análisis de cafeína (%) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos.**

Provincia	Cantón	Código	Réplica 1	Réplica 2	Promedio
Manabí	Chone	13-0976	0.27	0.27	0.27
Manabí	Chone	13-0977	0.28	0.27	0.27
Manabí	Chone	13-0978	0.24	0.25	0.25
Manabí	Chone	13-0979	0.23	0.24	0.23
Manabí	Chone	13-0980	0.36	0.37	0.37
Manabí	Chone	13-0981	0.38	0.39	0.38
Manabí	Chone	13-0982	0.28	0.29	0.29
Manabí	Chone	13-0983	0.29	0.28	0.28
Manabí	Chone	13-0984	0.31	0.30	0.31
Manabí	Chone	13-0985	0.36	0.37	0.37
Manabí	Portoviejo	13-0986	0.40	0.40	0.40
Manabí	Portoviejo	13-0987	0.40	0.40	0.40
Manabí	Portoviejo	13-0988	0.27	0.27	0.27
Manabí	Portoviejo	13-0989	0.29	0.29	0.29
Manabí	Portoviejo	13-0990	0.32	0.32	0.32
Manabí	Portoviejo	13-0991	0.35	0.33	0.34
Manabí	Portoviejo	13-0992	0.26	0.26	0.26
Manabí	Portoviejo	13-0993	0.26	0.28	0.27
Manabí	Portoviejo	13-0994	0.25	0.26	0.26
Manabí	Portoviejo	13-0995	0.26	0.25	0.25
Manabí	Santa Ana	13-0996	0.32	0.33	0.32
Manabí	Santa Ana	13-0997	0.37	0.35	0.36
Manabí	Santa Ana	13-0998	0.25	0.27	0.26
Manabí	Santa Ana	13-0999	0.23	0.23	0.23
Manabí	Santa Ana	13-1000	0.20	0.21	0.21
Manabí	Santa Ana	13-1001	0.18	0.18	0.18
Manabí	Santa Ana	13-1002	0.25	0.24	0.25
Manabí	Santa Ana	13-1003	0.25	0.25	0.25
Manabí	Santa Ana	13-1004	0.26	0.26	0.26
Manabí	Santa Ana	13-1005	0.32	0.29	0.30
Los Ríos	Vinces	13-1054	0.167	0.167	0.17
Los Ríos	Vinces	13-1055	0.209	0.227	0.22
Los Ríos	Vinces	13-1056	0.232	0.222	0.23
Los Ríos	Vinces	13-1057	0.153	0.146	0.15
Los Ríos	Vinces	13-1058	0.177	0.183	0.18
Los Ríos	Vinces	13-1059	0.215	0.210	0.21
Los Ríos	Vinces	13-1060	0.151	0.149	0.15
Los Ríos	Vinces	13-1061	0.158	0.159	0.16
Los Ríos	Vinces	13-1062	0.310	0.305	0.31
Los Ríos	Vinces	13-1063	0.211	0.211	0.21
Los Ríos	Montalvo	13-1064	0.246	0.250	0.25
Los Ríos	Montalvo	13-1065	0.356	0.341	0.35
Los Ríos	Montalvo	13-1066	0.324	0.332	0.33
Los Ríos	Montalvo	13-1067	0.319	0.329	0.32
Los Ríos	Montalvo	13-1068	0.511	0.508	0.51
Los Ríos	Montalvo	13-1069	0.473	0.474	0.47
Los Ríos	Montalvo	13-1070	0.253	0.246	0.25

Elaborado por: Carlos Camino

**Continuación...**

Los Ríos	Montalvo	13-1071	0.350	0.326	0.34
Los Ríos	Montalvo	13-1072	0.258	0.248	0.25
Los Ríos	Montalvo	13-1073	0.246	0.247	0.25
Los Ríos	Pichilingue	13-0443	0.44	0.42	0.43
Los Ríos	Pichilingue	13-0446	0.42	0.45	0.43
Los Ríos	Pichilingue	13-0447	0.55	0.42	0.49
Los Ríos	Pichilingue	13-0448	0.41	0.41	0.41
Los Ríos	Pichilingue	13-0449	0.38	0.38	0.38
Los Ríos	Pichilingue	13-0450	0.43	0.39	0.41
Los Ríos	Pichilingue	13-0460	0.29	0.28	0.28
Los Ríos	Pichilingue	13-0461	0.47	0.48	0.48
Los Ríos	Pichilingue	13-0462	0.33	0.31	0.32
Los Ríos	Pichilingue	13-0463	0.37	0.37	0.37
Guayas	Durán	13-1074	0.207	0.211	0.21
Guayas	Durán	13-1075	0.304	0.294	0.30
Guayas	Durán	13-1076	0.197	0.196	0.20
Guayas	Durán	13-1077	0.230	0.230	0.23
Guayas	Durán	13-1078	0.204	0.205	0.20
Guayas	Durán	13-1079	0.197	0.199	0.20
Guayas	Durán	13-1080	0.267	0.257	0.26
Guayas	Durán	13-1081	0.230	0.234	0.23
Guayas	Durán	13-1082	0.243	0.237	0.24
Guayas	Durán	13-1083	0.164	0.166	0.17
Guayas	Yaguachi	13-1084	0.216	0.210	0.21
Guayas	Yaguachi	13-1085	0.309	0.309	0.31
Guayas	Yaguachi	13-1086	0.206	0.205	0.21
Guayas	Yaguachi	13-1087	0.382	0.382	0.38
Guayas	Yaguachi	13-1088	0.212	0.214	0.21
Guayas	Yaguachi	13-1089	0.224	0.235	0.23
Guayas	Yaguachi	13-1090	0.239	0.232	0.24
Guayas	Yaguachi	13-1091	0.226	0.230	0.23
Guayas	Yaguachi	13-1092	0.280	0.288	0.28
Guayas	Yaguachi	13-1093	0.319	0.334	0.33
Guayas	Milagro	13-1094	0.175	0.172	0.17
Guayas	Milagro	13-1095	0.233	0.233	0.23
Guayas	Milagro	13-1096	0.231	0.230	0.23
Guayas	Milagro	13-1097	0.320	0.323	0.32
Guayas	Milagro	13-1098	0.367	0.370	0.37
Guayas	Milagro	13-1099	0.284	0.283	0.28
Guayas	Milagro	13-1100	0.180	0.182	0.18
Guayas	Milagro	13-1101	0.217	0.227	0.22
Guayas	Milagro	13-1102	0.189	0.183	0.19
Guayas	Milagro	13-1103	0.192	0.198	0.19

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla A 3 Resultados de los análisis de polifenoles totales (mg ácido gálico/ g muestra desengrasada) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos.**

Provincia	Cantón	Código	Réplica 1	Réplica 2	Promedio
Manabí	Chone	13-0976	57.18	56.27	56.73
Manabí	Chone	13-0977	45.82	54.30	50.06
Manabí	Chone	13-0978	41.65	46.27	43.96
Manabí	Chone	13-0979	48.02	46.20	47.11
Manabí	Chone	13-0980	60.89	58.77	59.83
Manabí	Chone	13-0981	37.11	37.94	37.52
Manabí	Chone	13-0982	46.24	38.83	42.54
Manabí	Chone	13-0983	36.93	40.27	38.60
Manabí	Chone	13-0984	39.43	42.78	41.11
Manabí	Chone	13-0985	42.79	43.85	43.32
Manabí	Portoviejo	13-0986	53.17	52.64	52.90
Manabí	Portoviejo	13-0987	58.24	58.17	58.20
Manabí	Portoviejo	13-0988	42.03	53.09	47.56
Manabí	Portoviejo	13-0989	53.92	55.14	54.53
Manabí	Portoviejo	13-0990	43.92	46.80	45.36
Manabí	Portoviejo	13-0991	47.64	46.50	47.07
Manabí	Portoviejo	13-0992	45.74	36.05	40.89
Manabí	Portoviejo	13-0993	53.55	47.56	50.55
Manabí	Portoviejo	13-0994	38.24	45.29	41.77
Manabí	Portoviejo	13-0995	34.00	35.67	34.83
Manabí	Santa Ana	13-0996	58.70	60.06	59.38
Manabí	Santa Ana	13-0997	30.67	32.94	31.80
Manabí	Santa Ana	13-0998	34.61	39.76	37.18
Manabí	Santa Ana	13-0999	33.55	35.74	34.64
Manabí	Santa Ana	13-1000	24.83	25.29	25.06
Manabí	Santa Ana	13-1001	32.48	30.97	31.73
Manabí	Santa Ana	13-1002	26.58	19.61	23.09
Manabí	Santa Ana	13-1003	42.48	44.83	43.66
Manabí	Santa Ana	13-1004	41.65	41.05	41.35
Manabí	Santa Ana	13-1005	36.88	38.17	37.52
Los Ríos	Vinces	13-1054	32.48	33.32	32.90
Los Ríos	Vinces	13-1055	25.06	25.88	25.47
Los Ríos	Vinces	13-1056	48.70	54.15	51.42
Los Ríos	Vinces	13-1057	30.82	29.60	30.21
Los Ríos	Vinces	13-1058	36.88	38.99	37.94
Los Ríos	Vinces	13-1059	33.53	36.26	34.90
Los Ríos	Vinces	13-1060	43.16	39.68	41.42
Los Ríos	Vinces	13-1061	30.14	27.64	28.89
Los Ríos	Vinces	13-1062	45.36	42.86	44.11
Los Ríos	Vinces	13-1063	40.36	41.65	41.01
Los Ríos	Montalvo	13-1064	26.80	28.23	27.52
Los Ríos	Montalvo	13-1065	49.45	49.15	49.30
Los Ríos	Montalvo	13-1066	49.38	50.51	49.94
Los Ríos	Montalvo	13-1067	39.30	45.97	42.64
Los Ríos	Montalvo	13-1068	55.21	47.71	51.46
Los Ríos	Montalvo	13-1069	54.90	51.50	53.20

Elaborado por: Carlos Camino



**Continuación...**

Los Ríos	Montalvo	13-1070	42.33	41.50	41.92
Los Ríos	Montalvo	13-1071	50.29	45.89	48.09
Los Ríos	Montalvo	13-1072	31.72	34.45	33.09
Los Ríos	Montalvo	13-1073	36.95	37.70	37.33
Los Ríos	Pichilingue	13-0443	45.20	54.37	45.20
Los Ríos	Pichilingue	13-0446	64.43	71.88	64.43
Los Ríos	Pichilingue	13-0447	43.23	42.15	43.23
Los Ríos	Pichilingue	13-0448	83.40	80.79	83.40
Los Ríos	Pichilingue	13-0449	52.76	58.80	52.76
Los Ríos	Pichilingue	13-0450	90.53	84.63	90.53
Los Ríos	Pichilingue	13-0460	42.58	36.73	42.58
Los Ríos	Pichilingue	13-0461	81.59	89.19	81.59
Los Ríos	Pichilingue	13-0462	71.10	76.52	71.10
Los Ríos	Pichilingue	13-0463	43.69	44.20	43.69
Guayas	Durán	13-1074	39.45	40.21	39.83
Guayas	Durán	13-1075	50.59	45.14	47.86
Guayas	Durán	13-1076	34.83	34.98	34.91
Guayas	Durán	13-1077	43.92	44.83	44.38
Guayas	Durán	13-1078	33.47	35.52	34.49
Guayas	Durán	13-1079	44.91	43.09	44.00
Guayas	Durán	13-1080	57.41	58.32	57.86
Guayas	Durán	13-1081	50.36	44.67	47.52
Guayas	Durán	13-1082	52.64	50.89	51.77
Guayas	Durán	13-1083	51.27	53.68	52.47
Guayas	Yaguachi	13-1084	46.04	37.03	41.53
Guayas	Yaguachi	13-1085	52.33	55.36	53.85
Guayas	Yaguachi	13-1086	43.01	38.09	40.55
Guayas	Yaguachi	13-1087	33.17	34.98	34.07
Guayas	Yaguachi	13-1088	35.06	36.12	35.59
Guayas	Yaguachi	13-1089	38.98	42.31	40.65
Guayas	Yaguachi	13-1090	52.03	51.41	51.72
Guayas	Yaguachi	13-1091	42.93	40.82	41.87
Guayas	Yaguachi	13-1092	60.18	69.66	64.92
Guayas	Yaguachi	13-1093	49.83	51.41	50.62
Guayas	Milagro	13-1094	36.58	36.05	36.31
Guayas	Milagro	13-1095	42.56	45.67	44.11
Guayas	Milagro	13-1096	51.35	50.74	51.05
Guayas	Milagro	13-1097	56.42	60.36	58.39
Guayas	Milagro	13-1098	46.72	47.48	47.10
Guayas	Milagro	13-1099	51.12	51.63	51.37
Guayas	Milagro	13-1100	50.20	49.66	49.93
Guayas	Milagro	13-1101	51.35	46.42	48.89
Guayas	Milagro	13-1102	46.34	48.17	47.25
Guayas	Milagro	13-1103	38.84	40.36	39.60

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla A 4 Resultados de los análisis de grasa (%) en muestras de cacao de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos.**

Provincia	Cantón	Código	Réplica 1	Réplica 2	Promedio
Manabí	Chone	13-0976	43.60	43.74	43.67
Manabí	Chone	13-0977	41.87	42.25	42.06
Manabí	Chone	13-0978	41.75	41.57	41.66
Manabí	Chone	13-0979	43.30	43.81	43.56
Manabí	Chone	13-0980	44.97	44.76	44.86
Manabí	Chone	13-0981	48.89	48.79	48.84
Manabí	Chone	13-0982	45.24	44.94	45.09
Manabí	Chone	13-0983	40.14	40.18	40.16
Manabí	Chone	13-0984	44.76	44.70	44.73
Manabí	Chone	13-0985	47.24	46.88	47.06
Manabí	Portoviejo	13-0986	45.55	45.69	45.62
Manabí	Portoviejo	13-0987	46.72	46.72	46.72
Manabí	Portoviejo	13-0988	45.22	45.61	45.42
Manabí	Portoviejo	13-0989	45.21	45.10	45.15
Manabí	Portoviejo	13-0990	45.53	45.40	45.46
Manabí	Portoviejo	13-0991	44.82	44.97	44.90
Manabí	Portoviejo	13-0992	44.94	44.65	44.79
Manabí	Portoviejo	13-0993	43.60	43.37	43.48
Manabí	Portoviejo	13-0994	47.36	47.26	47.31
Manabí	Portoviejo	13-0995	45.92	45.93	45.93
Manabí	Santa Ana	13-0996	48.60	48.10	48.35
Manabí	Santa Ana	13-0997	49.07	49.11	49.09
Manabí	Santa Ana	13-0998	45.78	45.82	45.80
Manabí	Santa Ana	13-0999	45.90	45.99	45.95
Manabí	Santa Ana	13-1000	44.13	43.56	43.84
Manabí	Santa Ana	13-1001	42.51	43.30	42.90
Manabí	Santa Ana	13-1002	46.51	46.75	46.63
Manabí	Santa Ana	13-1003	44.95	44.87	44.91
Manabí	Santa Ana	13-1004	46.77	46.76	46.77
Manabí	Santa Ana	13-1005	47.73	47.48	47.61
Los Ríos	Vinces	13-1054	47.29	47.51	47.40
Los Ríos	Vinces	13-1055	45.62	45.74	45.68
Los Ríos	Vinces	13-1056	43.39	43.48	43.44
Los Ríos	Vinces	13-1057	44.85	44.54	44.69
Los Ríos	Vinces	13-1058	43.08	43.12	43.10
Los Ríos	Vinces	13-1059	45.47	45.35	45.41
Los Ríos	Vinces	13-1060	43.80	43.92	43.86
Los Ríos	Vinces	13-1061	44.35	44.16	44.26
Los Ríos	Vinces	13-1062	48.32	48.30	48.31
Los Ríos	Vinces	13-1063	45.38	45.29	45.34
Los Ríos	Montalvo	13-1064	45.67	45.62	45.64
Los Ríos	Montalvo	13-1065	46.12	46.06	46.09
Los Ríos	Montalvo	13-1066	44.66	44.66	44.66
Los Ríos	Montalvo	13-1067	42.89	43.06	42.98
Los Ríos	Montalvo	13-1068	48.35	48.39	48.37
Los Ríos	Montalvo	13-1069	48.13	48.15	48.14
Los Ríos	Montalvo	13-1070	41.73	41.66	41.69

Elaborado por: Carlos Camino

**Continuación...**

Los Ríos	Montalvo	13-1071	45.00	44.88	44.94
Los Ríos	Montalvo	13-1072	43.15	43.21	43.18
Los Ríos	Montalvo	13-1073	43.86	43.78	43.82
Los Ríos	Pichilingue	13-0443	48.59	48.77	48.68
Los Ríos	Pichilingue	13-0446	49.34	49.46	49.40
Los Ríos	Pichilingue	13-0447	50.78	50.68	50.73
Los Ríos	Pichilingue	13-0448	49.70	49.62	49.66
Los Ríos	Pichilingue	13-0449	48.69	48.41	48.55
Los Ríos	Pichilingue	13-0450	49.11	49.42	49.27
Los Ríos	Pichilingue	13-0460	47.34	47.13	47.23
Los Ríos	Pichilingue	13-0461	49.80	49.40	49.60
Los Ríos	Pichilingue	13-0462	46.26	46.35	46.31
Los Ríos	Pichilingue	13-0463	49.04	49.10	49.07
Guayas	Durán	13-1074	46.04	45.85	45.94
Guayas	Durán	13-1075	46.03	44.94	45.49
Guayas	Durán	13-1076	43.09	42.64	42.87
Guayas	Durán	13-1077	44.01	44.01	44.01
Guayas	Durán	13-1078	44.91	45.06	44.99
Guayas	Durán	13-1079	42.98	42.97	42.98
Guayas	Durán	13-1080	44.20	43.98	44.09
Guayas	Durán	13-1081	44.31	44.27	44.29
Guayas	Durán	13-1082	45.30	44.83	45.07
Guayas	Durán	13-1083	42.91	42.54	42.72
Guayas	Yaguachi	13-1084	43.46	43.43	43.44
Guayas	Yaguachi	13-1085	44.36	44.00	44.18
Guayas	Yaguachi	13-1086	43.98	43.67	43.83
Guayas	Yaguachi	13-1087	43.09	43.24	43.17
Guayas	Yaguachi	13-1088	42.15	42.11	42.13
Guayas	Yaguachi	13-1089	42.51	42.49	42.50
Guayas	Yaguachi	13-1090	45.30	45.18	45.24
Guayas	Yaguachi	13-1091	44.81	44.61	44.71
Guayas	Yaguachi	13-1092	44.97	44.90	44.93
Guayas	Yaguachi	13-1093	45.67	45.70	45.68
Guayas	Milagro	13-1094	43.83	43.81	43.82
Guayas	Milagro	13-1095	43.63	43.69	43.66
Guayas	Milagro	13-1096	43.43	43.67	43.55
Guayas	Milagro	13-1097	45.30	45.38	45.34
Guayas	Milagro	13-1098	44.42	44.40	44.41
Guayas	Milagro	13-1099	44.74	44.76	44.75
Guayas	Milagro	13-1100	44.21	44.09	44.15
Guayas	Milagro	13-1101	43.66	43.51	43.58
Guayas	Milagro	13-1102	42.43	42.60	42.51
Guayas	Milagro	13-1103	42.75	42.51	42.63

Elaborado por: Carlos Camino

# **ANEXO B**

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

**Tabla B 1 Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas).**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Provincia	418.05	2	209.02	2.00	0.1479
Cantón	4916.70	6	819.45	10.55	<0.0001
Finca en Cantón	2794.98	36	77.64	0.74	0.8221
Error	4714.64	45	104.77		
Total	12844.36	89			

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 2 Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en muestras de cacao secas y fermentadas de la provincia de Manabí.**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Ord. Origen	54368.90	1.00	54368.90	1019.41	<0.00000
Manabí	1223.54	2.00	611.77	11.47	<0.00025
Error	1440.01	27.00	53.33		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 3 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Manabí.**

<b>Cantón</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	
Santa Ana	33,55	10	B
Chone	46,80	10	A
Portoviejo	47,37	10	A

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 4 Análisis de varianza en el contenido de polifenoles totales para el cacao de la provincia de Los Ríos.**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Ord. Origen	68318.76	1.00	68318.76	421.08	<0.00000
Los Ríos	3670.24	2.00	1835.11	11.31	< 0.00027
Error	4380.60	27.00	162.24		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 5 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

<b>Cantón</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	
Vinces	36,83	10	A
Montalvo	43,45	10	A
Pichilingue	62,89	10	B

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 6 Análisis de varianza en el contenido de polifenoles totales para cacao de la provincia de Guayas.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	63892.76	1.00	63892.76	1020.72	<0.00
Guayas	23.49	2.00	11.75	0.19	0.83
Error	1690.09	27.00	62.60		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 7 Análisis de varianza del contenido de grasa en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas).**

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Provincia	79.22	2	39.61	28.03	<0.0001
Cantón	118.23	6	19.71	4.64	0.0014
Finca en Cantón	152.88	36	4.25	3.01	0.0003
Error	63.58	45	1.41		
Total	413.91	89			

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 8 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de grasa en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**

Provincia	Medias	n	E.E.	
Guayas	44,02	30	0,22	A
Manabí	45,28	30	0,22	B
Los Ríos	46,32	30	0,22	C

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 9 Análisis de varianza para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	64357.17	1	64357.17	21100.47	<0.000000
Los Ríos	96.49	2	48.24	15.82	<0.000028
Error	82.35	27	3.05		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 10 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

Cantón	Medias	n	
Montalvo	44,95	10	A
Vinces	45,15	10	A
Pichilingue	48,85	10	B

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 11 Análisis de varianza para contenido de grasa en el cacao de la provincia de Manabí.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	61501.34	1.00	61501.34	16115.55	<0.000
Manabí	20.90	2.00	10.45	2.74	0.083
Error	103.04	27.00	3.82		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 12 Análisis de varianza para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Guayas.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	58137.58	1.00	58137.58	50612.41	0.00
Guayas	0.84	2.00	0.42	0.37	0.70
Error	31.01	27.00	1.15		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 13 Análisis de varianza del contenido de teobromina en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas).**

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Provincia	1.27	2	0.64	13.14	<0.0001
Cantón	3.05	6	0.51	7.24	<0.0001
Finca en Cantón	2.53	36	0.07	1.45	0.1196
Error	2.18	45	0.05		
Total	9.04	89			

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 14 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de teobromina en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**

Provincia	Medias	n	E.E.	
Guayas	1,62	30	0,04	A
Manabí	1,65	30	0,04	A
Los Ríos	1,89	30	0,04	B

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 15 Análisis de varianza para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	106.61	1	106.61	1037.14	<0.000000
Los Ríos	3.02	2	1.51	14.69	<0.000048
Error	2.72	27	0.10		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 16 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

Cantón	Medias	n	
Vinces	1,52	10	A
Montalvo	1,85	10	A
Pichilingue	2,29	10	B

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 17 Análisis de varianza para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Manabí.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	81.22	1.00	81.22	4009.98	<0.00
Manabí	0.03	2.00	0.01	0.72	0.50
Error	0.55	27.00	0.02		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 18 Análisis de varianza para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Guayas.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	78.95	1.00	78.95	1528.66	<0.00
Guayas	0.02	2.00	0.01	0.15	0.86
Error	1.39	27.00	0.05		

Elaborado por: Carlos Camino



**Tabla B 19 Análisis de varianza del contenido de cafeína en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas).**

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Provincia	0.07	2	0.04	18.89	<0.0001
Cantón	0.23	6	0.04	6.45	0.0001
Finca en Cantón	0.21	36	0.01	2.99	0.0003
Error	0.09	45	2.0E-03		
Total	0.60	89			

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 20 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de cafeína en cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**

Provincia	Medias	n	E.E.	
Guayas	0,24	30	0,01	A
Manabí	0,29	30	0,01	B
Los Ríos	0,31	30	0,01	B

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 21 Análisis de varianza para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	2.88	1	2.88	569.02	<0.000000
Los Ríos	0.21	2	0.11	20.86	<0.000003
Error	0.14	27	0.0051		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 22 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

Cantón	Medias	n	
Vinces	0,20	10	A
Montalvo	0,33	10	B
Pichilingue	0,40	10	B

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 23 Análisis de varianza para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Manabí.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	2.51	1.00	2.51	842.58	<0.00
Manabí	0.01	2.00	0.01	2.00	0.16
Error	0.08	27.00	0.00		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 24 Análisis de varianza para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Guayas.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	1.76	1.00	1.76	566.80	0.00
Guayas	0.01	2.00	0.00	1.23	0.31
Error	0.08	27.00	0.00		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 25 Análisis de varianza de la relación teobromina/cafeína en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Los Ríos, Guayas).**

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Provincia	15.99	2	7.99	18.61	<0.0001
Cantón	40.02	6	6.67	5.05	0.0008
Finca en Cantón	47.53	36	1.32	3.07	0.0002
Error	19.33	45	0.43		
Total	122.87	89			

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 26 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para la relación T/C en cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).**

Provincia	Medias	n	E.E.	
Manabí	5,86	30	0,12	A
Los Ríos	6,43	30	0,12	B
Guayas	6,89	30	0,12	C

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 27 Análisis de varianza para la relación T/C en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	1240.48	1	1240.48	2111.28	<0.000000
Los Ríos	30.55	2	15.28	26.00	<0.000001
Error	15.86	27	0.59		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 28 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para la relación T/C en el cacao de la provincia de Los Ríos.**

Cantón $\alpha$	Medias $\alpha$	n $\alpha$	$\alpha$	$\alpha$	$\alpha$
Montalvo $\alpha$	5,69 $\alpha$	10 $\alpha$	B $\alpha$	$\alpha$	$\alpha$
Pichilingue $\alpha$	5,74 $\alpha$	10 $\alpha$	B $\alpha$	$\alpha$	$\alpha$
Vinces $\alpha$	7,86 $\alpha$	10 $\alpha$	A $\alpha\alpha$		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 29 Análisis de varianza para la relación T/C en el cacao de la provincia de Manabí.**

FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	1029.44	1.00	1029.44	1027.10	0.00
Manabí	3.59	2.00	1.80	1.79	0.19
Error	27.06	27.00	1.00		

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla B 30 Análisis de varianza para la relación T/C en el cacao de la provincia de Guayas.**

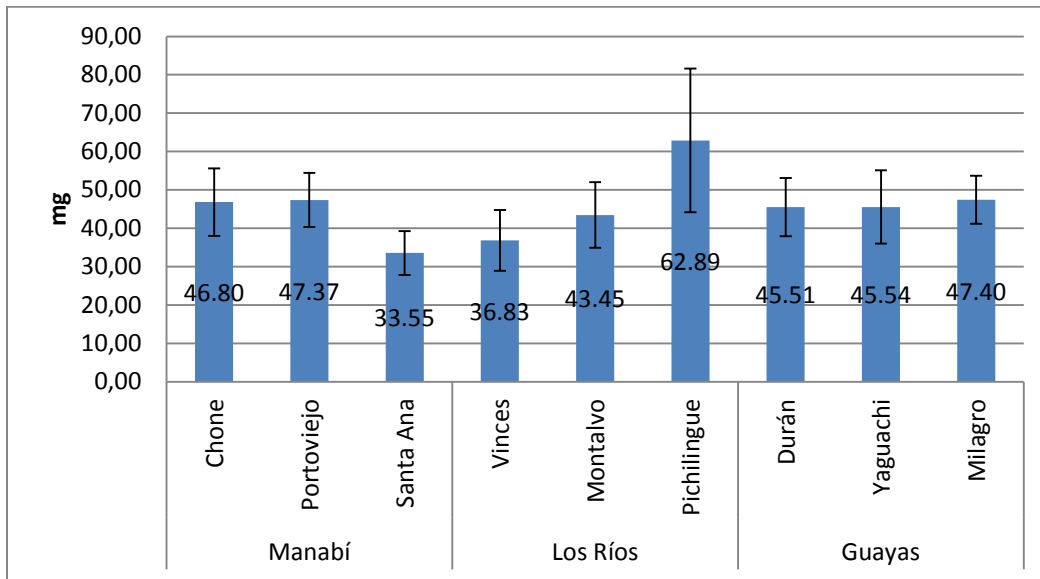
FV	SC	GL	CM	F	p
Ord. Origen	1423.80	1.00	1423.80	1601.16	0.000
Guayas	5.95	2.00	2.97	3.34	0.050
Error	24.01	27.00	0.89		

Elaborado por: Carlos Camino

# **ANEXO C**

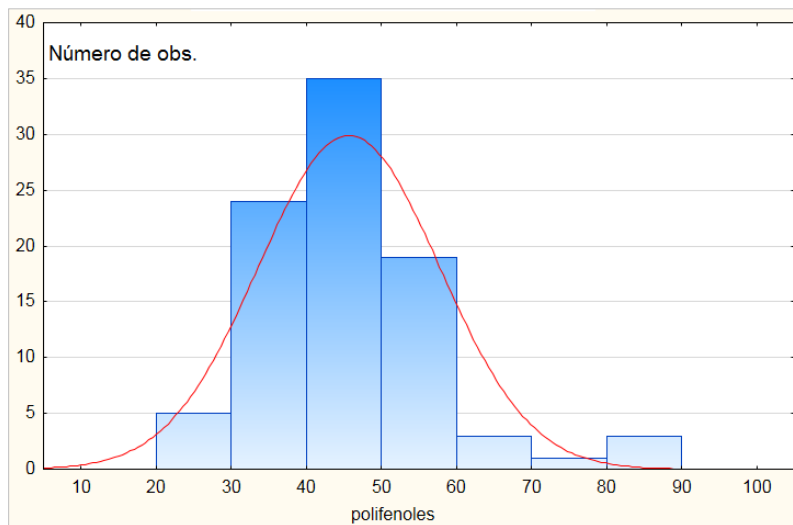
# **GRÁFICOS**

**Figura C 1 Contenido promedio de polifenoles totales (mg ácido gálico/g cacao desengrasado) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**



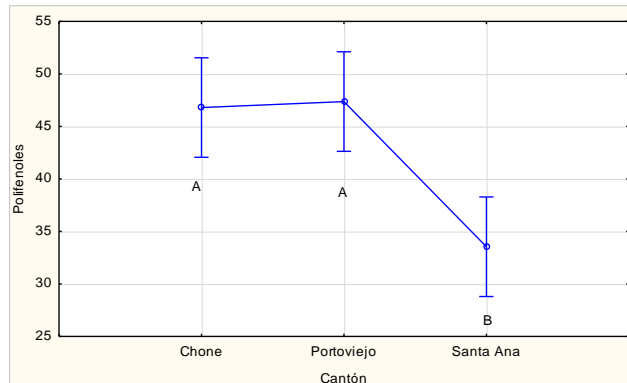
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 2 Histograma de frecuencia para polifenoles totales (mg ácido gálico/g cacao desengrasado) en una población de cacao Nacional de tres provincias del litoral ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**



Elaborado por: Carlos Camino

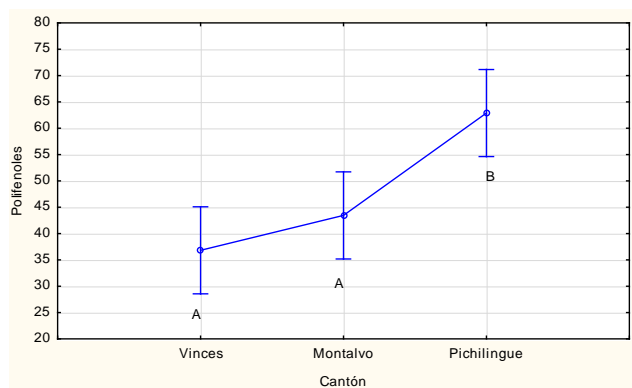
**Figura C 3 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Manabí.**



Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Elaborado por: Carlos Camino

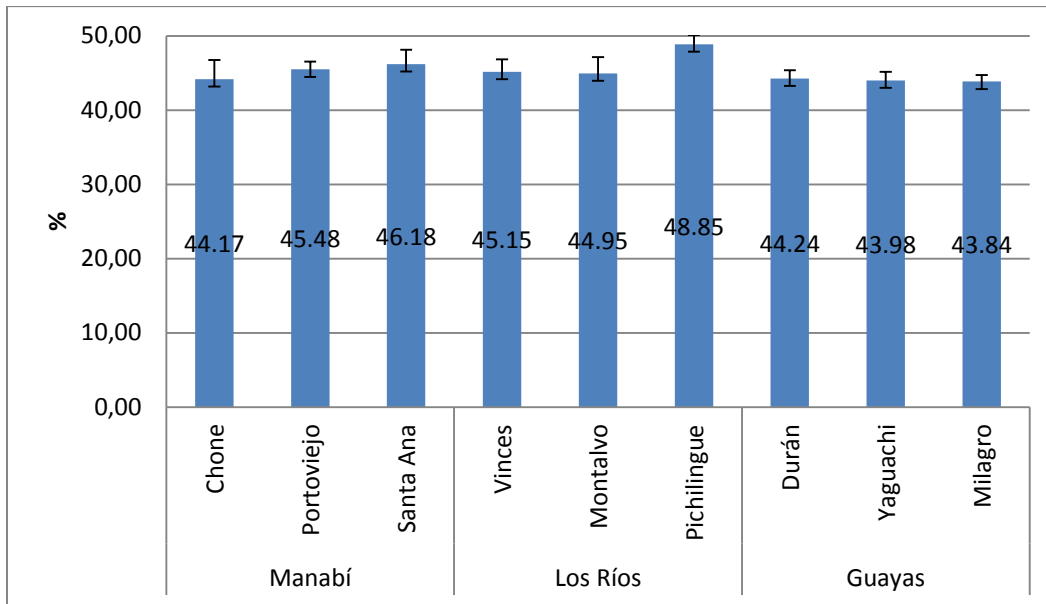
**Figura C 4 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de polifenoles en el cacao de la provincia de Los Ríos.**



Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

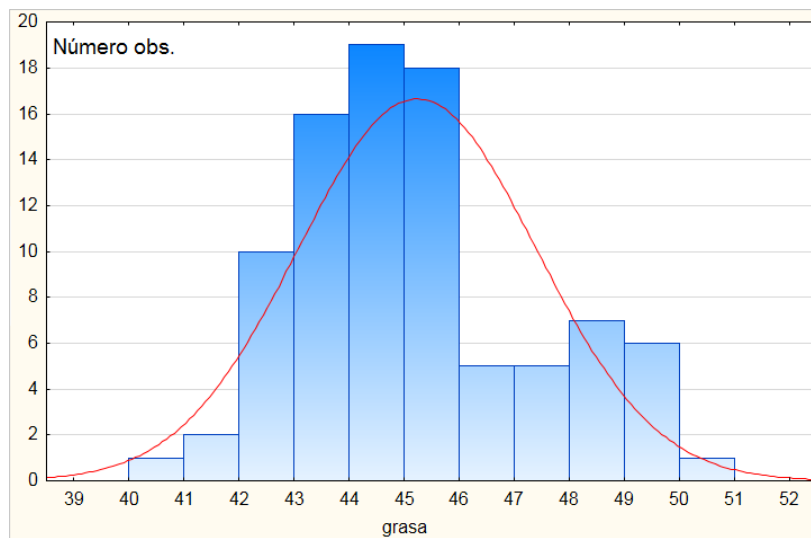
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 5 Contenido promedio de grasa (%) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**



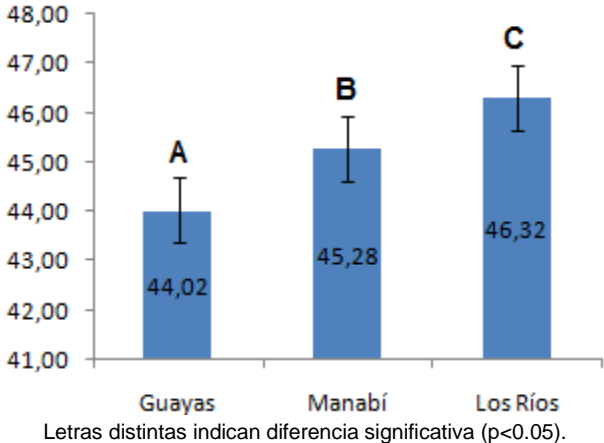
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 6 Histograma de frecuencia para el contenido graso en una población de cacao Nacional en tres provincias del Litoral Ecuatoriano.**



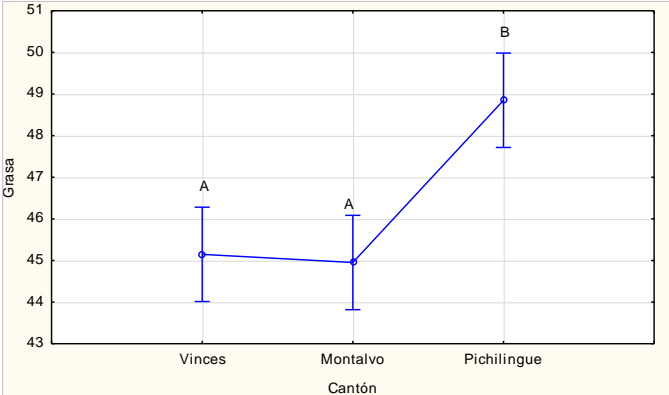
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 7 Contenido de grasa (%) promedio en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).**



Elaborado por: Carlos Camino

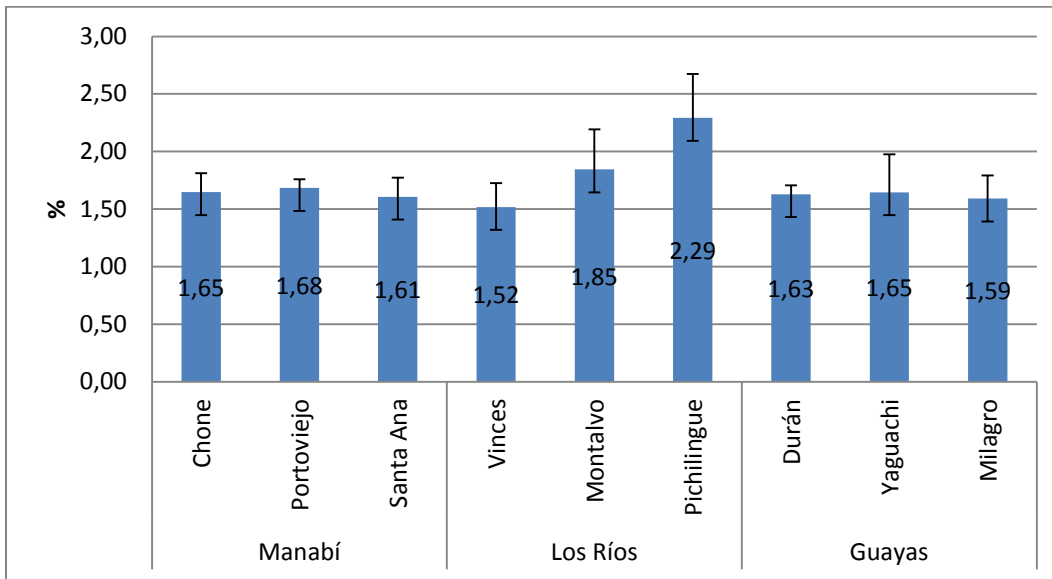
**Figura C 8 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de grasa en el cacao de la provincia de Los Ríos.**



Elaborado por: Carlos Camino

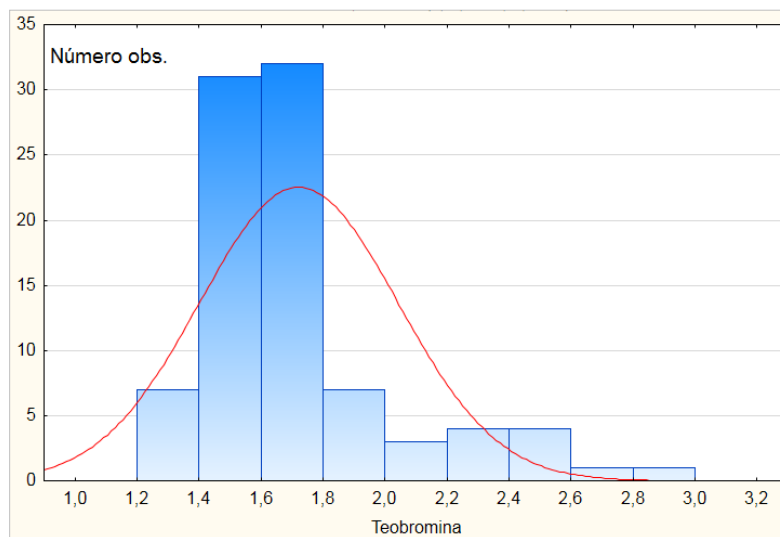


**Figura C 9 Contenido promedio de teobromina % en muestras de cacao desengrasado en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**



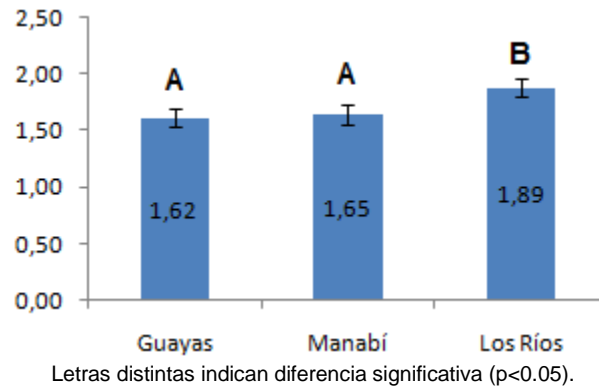
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 10 Histograma de frecuencia para el contenido de teobromina (%) en una población de cacao Nacional de tres provincias productoras del Litoral Ecuatoriano.**



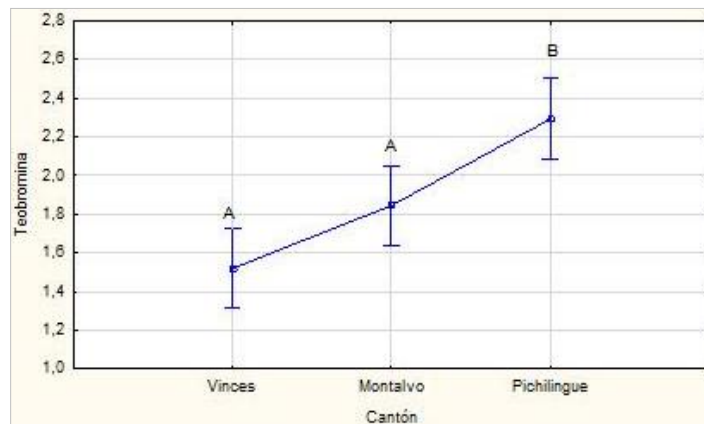
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 11 Contenido de teobromina (%) promedio en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).**



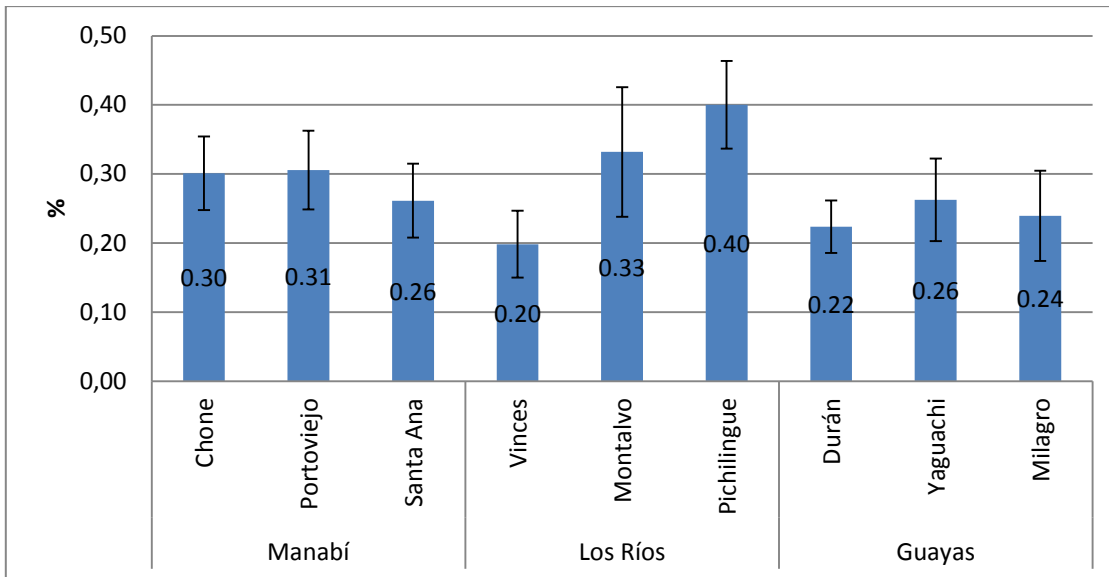
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 12 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de teobromina en el cacao de la provincia de Los Ríos.**



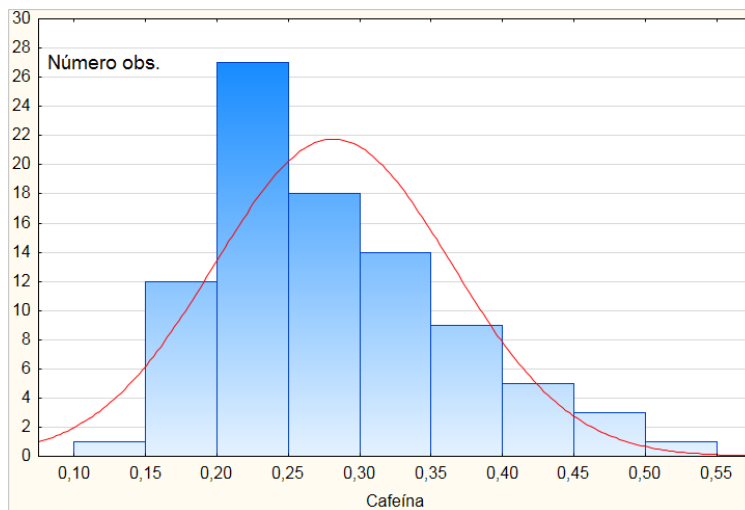
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 13 Contenido promedio de cafeína (%) en cacao desengrasado en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**



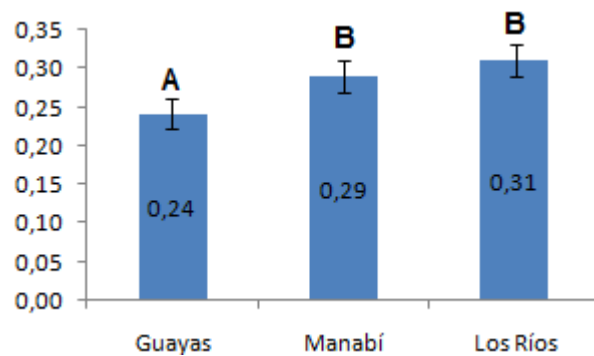
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 14 Histograma de frecuencias para el contenido de cafeína en una población de cacao Nacional en tres provincias del Litoral Ecuatoriano.**



Elaborado por: Carlos Camino

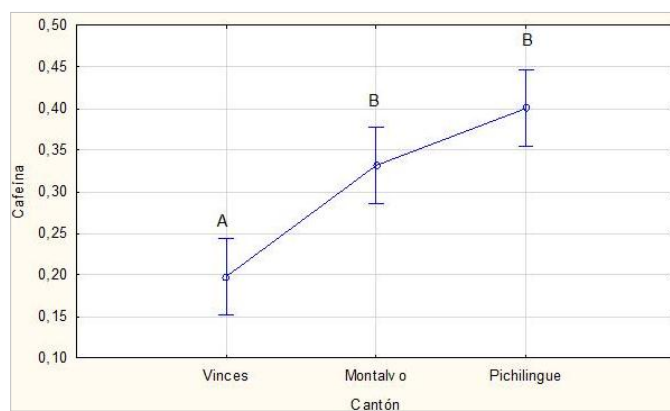
**Figura C 15 Contenido de cafeína (%) promedio en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).**



Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Elaborado por: Carlos Camino

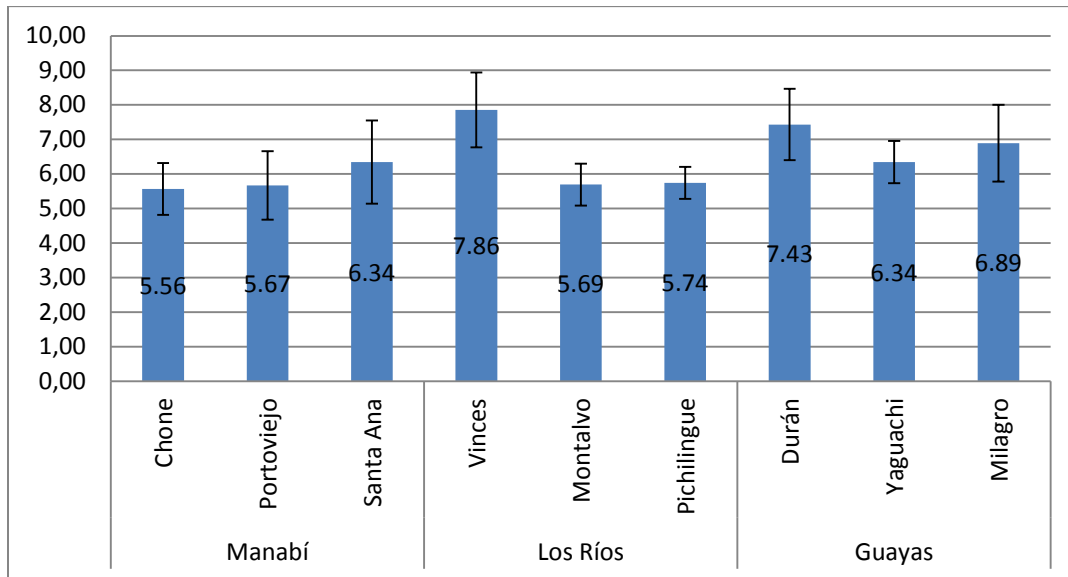
**Figura C 16 Intervalo de confianza al 95% para el contenido de cafeína en el cacao de la provincia de Los Ríos.**



Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

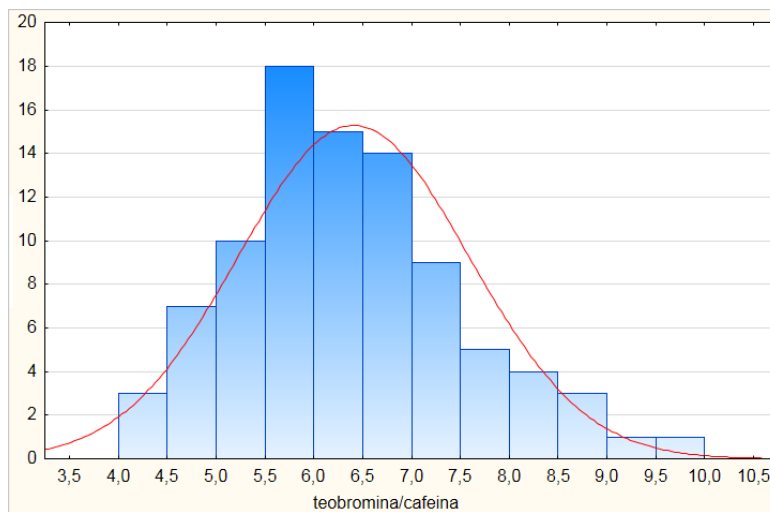
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 17 Promedios de la relación teobromina/cafeína en muestras de cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos).**



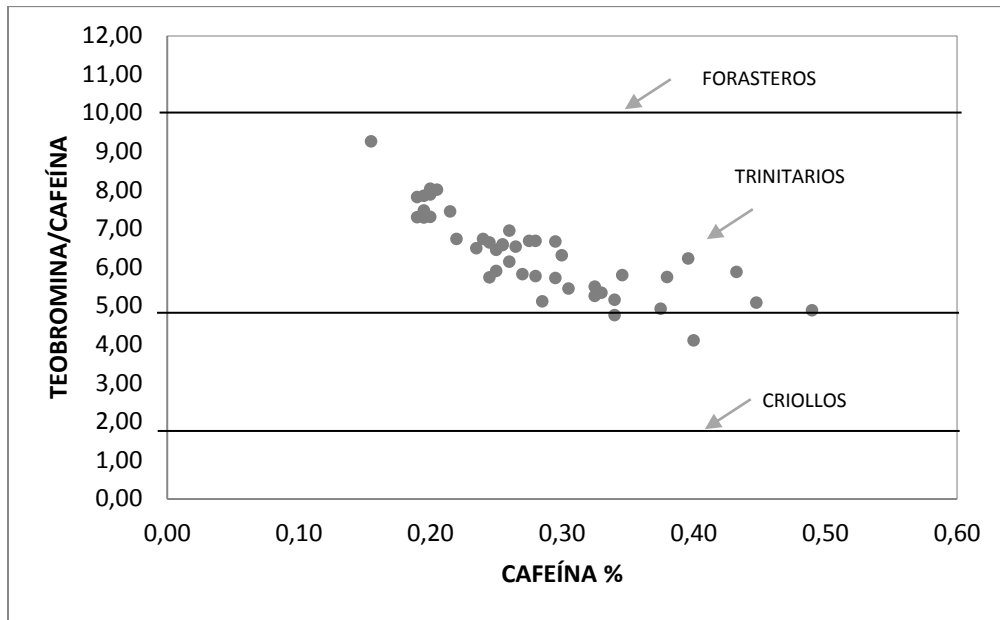
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 18 Histograma de frecuencia para la relación teobromina/cafeína en una población de cacao Nacional de tres provincias del Litoral Ecuatoriano.**



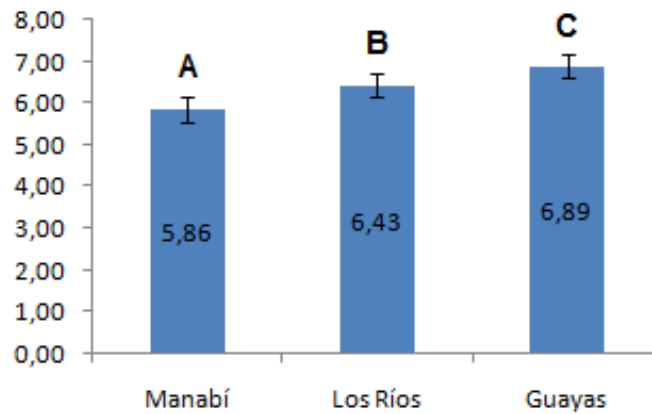
Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 19 Relación Teobromina/Cafeína vs Cafeína en muestras de cacao Nacional en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).**



Elaborado por: Carlos Camino

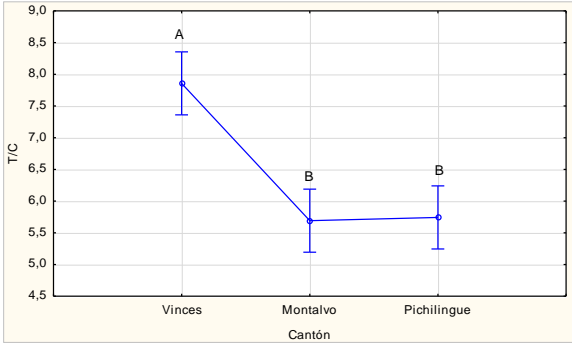
**Figura C 20 Relación T/C promedio en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).**



Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Elaborado por: Carlos Camino

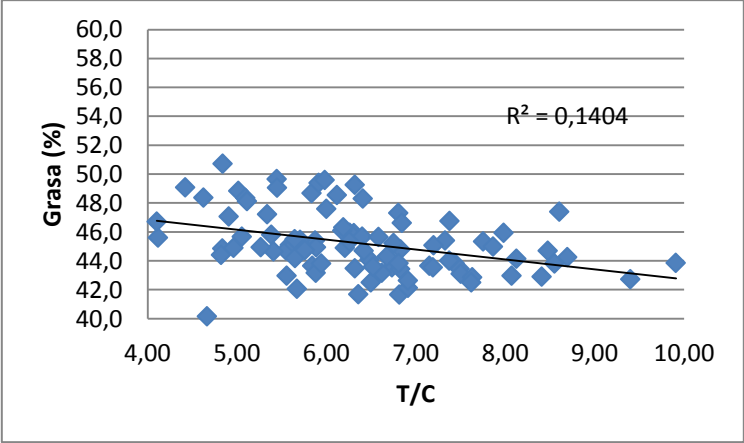
**Figura C 21 Intervalo de confianza al 95% para la relación T/C en la provincia de Los Ríos.**



Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Elaborado por: Carlos Camino

**Figura C 22 Correlación T/C vs Grasa.**



Elaborado por: Carlos Camino

**ANEXO D**  
**ASOCIACIONES PRODUCTORAS**



**Tabla D 1 Asociaciones productoras de cacao en la provincia del Guayas.**

#	Institución	Cantón / Parroquia	Beneficiarios	Área total de las fincas (ha)	Área Promedio (ha)
1	AGRO MAQUITA	Guayaquil Parque Industrial INMACONSA Av. Honorato Vásquez # 141 y Km. 26 vía Perimetral	900	1800	2.00
2	Asociación Agropecuaria 24 de Agosto	San Miguel del Pintado, El Empalme	24	10	0.42
3	Asociación Agropecuaria "Naranjal Productivo"	Naranjal	15	35	2.33
4	Asociación de Afiliados al Seguro Social Campesino "Puerto de Canoa"	Puerto Canoa-Jujan	40	150	3.75
5	Asociación de Agricultores Taura, Caimital, Jagüito	Taura, Naranjal	39	17	0.44
6	Asociación de Agricultores Autónomos "La graminea"	Los Amarillos, Jujan	35	40	1.14
7	Asociación de Agricultores, Productores, Comercializadores "Inés María"	Lorenzo de Garaicoa-Simón Bolívar	36	40	1.11
8	Asociación de Montubios "El Progreso"	San Gregorio, La Guayas, El Empalme	37	50	1.35
9	Asociación de Trabajadores Agrícolas Autónomos "San Francisco del Congo"	San Francisco del Congo-Velasco Ibarra-El Empalme	35	40	1.14
10	Asociación de Pequeños Productores de Cacao "La Unión"	Paraíso, Taura, Naranjal	40	150	3.75
11	Asociación de Productores "Bella Isla" (UNOCACE)	Santa María-El Empalme	18	200	11.11
12	Asociación de Productores Agropecuarios "La Carlota"	Rcto. La Carlota-Balzar	25	5	0.20
13	Aso. de Productores Agrícolas BELDACO	Roberto Astudillo, Milagro	23	5	0.22
14	Aso. de Productores Agrícolas del Cantón Milagro	Mariscal Sucre, Milagro	36	1	0.03
15	Aso. de Productores Agrícolas EL DESEO (UNOCACE)	Yaguachi / El Deseo	47	174	3.70
16	Aso. de Productores Agrícolas THOMAS ARBOLEDA (UNOCACE)	Milagro / Piñuelal	80	242	3.03
17	Aso. de Productores Agrícolas VILLANUEVA (UNOCACE)	Naranjal / Villanueva	23	84	3.65

Elaborado por: Carlos Camino

Continuación...

18	Asociación de Productores Agrícolas "Voluntad de Dios" (UNOCACE)	Tenguel /Voluntad de Dios	87	557	6.40
19	Asociación de Trabajadores Agrícolas 2 DE MAYO (UNOCACE)	Milagro /Las Pilas	54	180	3.33
20	Asociación de Trabajadores Agrícolas BUENA SUERTE (UNOCACE)	El Empalme/ Simón Bolívar - La Guayas	122	955	7.83
21	Asociación Montubia "Libertad de la Beldada"	Juan	27	10	0.37
22	Asociación Montubia "Nueva Vida"	Carrizal, Mariscal Sucre, Milagro	30	25	0.83
23	Centro Agrícola Cantonal "Alfredo Baquerizo Moreno"	Juan	216	200	0.93
24	Centro Agrícola Cantonal Simón Bolívar	Av. Mons. Carlos Bravo y By Pass frente al Cementerio (vía a Pueblo Nuevo) Simón Bolívar	2000	800	0.40
25	Corp. de Producción, Industrialización y Mercadeo de Cacao y Productos de Ciclo Corto "El Progreso"	Barcelona, Milagro	26	50	1.92
26	Corp. Para el Desarrollo de la Agroindustria y la Producción "CODAP"	Jujan	128	150	1.17
27	Federación Nacional de Productores FEDECADE	Guayaquil / Naranjal, Ciudadela Las Mercedes, Parroquia Jesús María a 150m del último peaje	1500	6500	4.33

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla D 2 Asociaciones productoras de cacao en la provincia de Manabí.**

#	Institución	Cantón / Parroquia	Beneficiarios	Área total de las fincas (ha)	Área Promedio (ha)
1	Asociación Agropecuaria "Solano Abajo"	Solano-Pichincha	37	120	3.2
2	Asociación Agropecuaria "Primero de Julio"	Entrada "Come y Paga"- Pichincha	56	80	1.4
3	Asociación Agropecuaria "La Independencia"	La Independencia- El Carmen Zona No Delimitada	34	152	4.5
4	Asociación Agropecuaria "Los Ríos"	Los Ríos- Rocafuerte	21	20	1.0
5	Asociación Agropecuaria "Río Tachina"	Tachina-Pedernales	40	35	0.9
6	Asociación Agropecuaria "Taina"	Taina-Santa Ana	39	25	0.6
7	Asociación Agrícola "Caimito"	Caimito-Calceta-Bolívar	28	10	0.4
8	Asociación de Campesinos "El Progreso del Río Tigua"	Hacienda María Caridad-Cojimíes-Pedernales	92	50	0.5
9	Asociación de Campesinos "Mache"	Mache-Cojimíes-Pedernales	99	100	1.0
10	Asociación de Comuneros del Cantón Pedernales	Vía al Carmen-Pedernales	30	80	2.7
11	Aso. FORTALEZA DEL VALLE	El Arrastradero Km 1,5- Vía Calceta - Bolívar	909	2200	2.4
12	Aso. de Desarrollo Comunitario " San Luis-El Paraíso-Manga de Cura"	Rcto. El Paraíso- La 14-Manga del Cura- El Carmen-Zona No Delimitada	128	650	5.1
13	Comuna "Azucena Arriba"	La Azucena-San Sebastián-Pichincha	350	150	0.4
14	Comuna "La Crespa"	La Crespa km. 80- Flavio Alfaro	143	1500	10.5
15	Corporación Agroforestal "Nuevo Amanecer"	El Retén-El Carmen-Zona no Delimitada	33	187	5.7
16	Corporación Agroforestal "Los Ángeles"	Los Ángeles-Santa Rita-Chone	27	220	8.1
17	Corporación de Cacao Fino de Aroma "San Plácido"	La Jigua-San Plácido-Portoviejo	60	190	3.2
18	Corporación Agropecuaria de Pequeños Agricultores "Manga del Cura"	Santa María-Manga del Cura, Zona No Delimitada	56	350	6.3
19	Comité de Desarrollo Rural "Sosote Adentro"	Sosote Adentro- Rocafuerte	30	70	2.3
20	Federación de Organizaciones Campesinas Zona Norte de Manabí	San Vicente	1181	150	0.1
21	Fundación "El Nuevo Amanecer de los Campesinos de Flavio Alfaro"	Ciriaco-Flavio Alfaro	22	10	0.5
22	Unión de Organizaciones Campesinas de San Isidro UOCASI	San Isidro-Sucre	400	350	0.9
23	Asociación Kallari	Av. Pano y calle	2000	2000	1.0

Elaborado por: Carlos Camino

**Tabla D 3 Asociaciones productoras de cacao en la provincia de Los Ríos.**

#	Institución	Cantón / Parroquia	Beneficiarios	Área total de las fincas (ha)	Área Promedio (ha)
1	Asociación Agropecuaria "Luz y Vida"	Colombia Alta, Febres Cordero, Babahoyo	44	360	8.2
2	Asociación Agroproductora de Cacao Fino de Aroma	Montalvo	58	300	5.2
3	Aso. de Agricultores La Cruz (UNOCACE)	Mocache / Las Garzas	192	939	4.9
4	Aso. De Campesinos de Desarrollo Integral "Pijullo"	Rcto. Pijullo, Ricaurte, Urdaneta	98	88	0.9
5	Aso. de Moradores Unión y Progreso (UNOCACE)	Ventanas / Pasaje	143	538	3.8
6	Aso. De Producción Integral "6 de Octubre"	Zapotal, Ventanas	68	30	0.4
7	Asociación de Productores Agrícola 21 de marzo	Rcto El Progreso, Mocache	47	80	1.7
8	Aso. de Productores Orgánicos de VINCES "APO-Vinces"	Vinces Km 1,5 vía a Palestina	297	350	1.2
9	Aso. de Trabajadores Autónomos Cacaoteros El Rosario	Babahoyo / El Rosario	45	273	6.1
10	Aso. Desarrollo Comunitario Colombia Baja	Colombia Baja, Febres Cordero, Babahoyo	69	200	2.9
11	Asociación "Tierra Fértil"	Las Juntas, Febres Cordero, Babahoyo	60	200	3.3
12	Centro Agrícola Cantonal de Urdaneta	Urdaneta, Catarama	107	80	0.7
13	Corporación Agrícola Ganadera Río Mocache	Mocache	69	50	0.7
14	Corporación de Agricultores de Mocache	Sector La Fe vía Vinces - Mocache	378	148	0.4
15	Corporación de Productores Agrícolas de QuinsalomaCOPAQ	La Ercilia / Ventanas, Los Ríos	260	380	1.5

Elaborado por: Carlos Camino

# **ANEXO E**

# **METODOLOGÍAS**

# PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

## Principio del método

Las almendras de cacao fermentadas y secas son molidas en un molino ultra centrífugo RETCH Zm 200 y tamizadas con un tamaño de partícula de 355µm, para asegurar la homogenización y toma de muestra para el análisis en el laboratorio.

## Campo de aplicación

- Almendras de cacao secas, fermentadas y no fermentadas

## Reactivo

- Nitrógeno líquido

## Equipos y materiales

- Molino Ultra centrífugo RETCH Zm 200
- Tamiz de malla proporcional a 355µm
- Bisturí
- Brochas
- Espátula plástica
- Recipientes plásticos para almacenamiento de muestras
- Marcador permanente
- Cinta adhesiva para rotulado
- Congelador
- Agitador Automático, Sieve Shaker model S-2

## Procedimiento

- a) Utilizando un bisturí, remover las cáscaras de las almendras de cacao.
- b) Tomar un frasco de plástico limpio y rotular con el código de laboratorio correspondiente a la muestra.
- c) Pasar las almendras peladas a un recipiente plástico, tapar el recipiente y con cuidado insertar el mismo en el termo de nitrógeno líquido por aproximadamente 5 minutos.
- d) Sacar el recipiente del termo de nitrógeno líquido, abrir la tapa del mismo y pasar las almendras congeladas al molino y moler por 2 minutos aproximadamente.
- e) Pasar el polvo de cacao obtenido de la molienda al tamiz de 355 $\mu$ m, conectar al sistema de agitación automático y agitar por 5 minutos aproximadamente.
- f) Recolectar en un frasco de plástico el polvo de cacao tamizado con tamaño de partícula de 355 $\mu$ m, el residuo que no pasó por el tamiz reintegrarlo al frasco para introducir en el nitrógeno líquido nuevamente con más almendras hasta que se llene el frasco.
- g) Continuar con la molienda y el tamizado hasta terminar todas las almendras correspondientes a la muestra.
- h) Una vez concluida la molienda tapar bien el frasco con la muestra molida y tamizada y colocarlo en el congelador hasta realizar el análisis.

## **EXTRACCIÓN DE GRASA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO**

### Principio del método

La materia grasa del polvo de cacao es extraída con éter de petróleo mediante extracción continua en Soxhlet por ocho horas, se recupera el solvente del extracto etéreo y a continuación se seca la grasa en una estufa por dos horas, la grasa seca se pasa a un desecador a enfriar y se pesa.

### Campo de aplicación

- Polvo de almendras de cacao secas, fermentadas y no fermentadas
- Polvo de licor de cacao

## Reactivos

- Agua destilada
- Éter de Petróleo (rango de ebullición de 40 a 60°C)

## Equipos y materiales

- Equipo de Extractor Soxhlet con uniones esmeriladas capacidad 250 ml.
- Camisas de calentamiento
- Algodón libre de grasa
- Papel filtro de 16 cm
- Dedal de extracción de 33 mm x 88 mm libre de grasa
- Núcleos de ebullición
- Desecador con desecante
- Estufa a 105°C
- Balones de 250 ml con uniones esmeriladas
- Balanza analítica de precisión 0.1mg Shimadzu, Modelo LIBROR AEG-220

## Procedimiento

- a) Colocar en la estufa a 105 °C un balón de destilación con dos núcleos de ebullición durante dos horas.
- b) Sacar el balón de destilación en un desecador, dejar enfriar y pesar.
- c) Doblar el papel filtro de 16 cm formando un sobre e introducir en el dedal de extracción.
- d) Pesar 5 gramos de polvo de cacao en el dedal de extracción.
- e) Cerrar el sobre de papel filtro, cubrir el dedal de extracción con algodón y colocar dentro del extractor Soxhlet.
- f) Medir en una probeta 180 ml de éter de petróleo y trasvasar al balón de destilación.
- g) Unir el Soxhlet con el balón de destilación y conectar al refrigerante.
- h) Colocar el equipo completo sobre el dispositivo de calentamiento, abrir el paso de agua para el refrigerante, extraer por ocho horas.



- i) Sacar el cartucho del Soxhlet, recuperar el solvente y secar el balón con grasa a una estufa a 105°C por dos horas.
- j) Sacar los balones de la estufa a un desecador, dejar que se enfríe y pesar.

#### Observaciones:

- Para la operación de pesado de la muestra se debe tomar en consideración tres cifras decimales.
- El polvo de cacao se obtiene siguiendo el método de preparación de muestras.

#### Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realiza utilizando la siguiente fórmula:

$$\%Grasa = \frac{P1 - P2}{P} * 100$$

## **DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES**

#### Principio del método

Los polifenoles totales del polvo de cacao son extraídos con una solución acuosa de metanol al 70%, mediante agitación magnética continua por 45 minutos, el extracto obtenido se filtra, se toma una alícuota del mismo y se realiza una reacción colorimétrica con el reactivo de Folin&Ciocalteu obteniendo una coloración azul, la misma que es cuantificada en un Espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 760 nm.

#### Campo de aplicación

- Polvo de almendras de cacao secas, fermentadas y no fermentadas

## Reactivos

- Metanol grado reactivo al 99.5 %
- Ácido Gálico Monohidratado, Sigma G 8647
- Reactivo de Folin&Ciocalteu, Merck 1.090011.0500
- Carbonato de Sodio 99.5%, Fluka 71350
- Agua destilada
- Éter de Petróleo (Rango de ebullición de 40–60°C)

## Preparación de reactivos

- Solución carbonato de Sodio al 20%: Transferir cuantitativamente 20 g de Carbonato de Sodio en un balón volumétrico de 100 ml disolver y completar a volumen con agua bidestilada.
- Solución Acuosa de Metanol: Transferir cuantitativamente 700 ml de metanol en un balón volumétrico de 1000 ml completar a volumen con agua bidestilada (densidad de la solución 0.872 g/ml).
- Solución Estándar Primario de Ácido Gálico (200 ppm): Transferir cuantitativamente 0.020 g de ácido gálico, en un balón volumétrico de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua destilada.

## Soluciones Estándar para curva de calibración

- A partir de la solución de estándar primario de 200 ppm se realiza la curva tomando en consideración la siguiente tabla:

<b>Volumen de Estándar (ml)</b>	<b>Volumen de Agua (ml)</b>	<b>Concentración (ppm)</b>
0.25	9.975	5
0.50	9.950	10
2.00	8.00	40
4.00	6.00	80
5.00	5.00	100
7.00	3.00	140

## Equipos y materiales

- Papel filtro Whatman N° 4
- Balones volumétricos de 100 ml
- Balanza analítica de precisión 0.1mg Shimadzu, Modelo LIBROR AEG-220
- Plancha magnética HP 15R 0110032202
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml
- Embudos de vidrio para filtración 12 cm de diámetro
- Plancha de calor Cole – Pharmed 4658
- Espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu
- Agitadores magnéticos
- Tubos de ensayo capacidad de 15 ml
- Extractor Soxhlet con uniones esmeriladas capacidad 100 ml
- Calentador con uniones esmeriladas
- Camisas de calentamiento
- Algodón libre de grasa
- Papel filtro cualitativo de 16 cm
- Dedal de extracción de 33 mm x 88 mm libre de grasa
- Núcleos de ebullición
- Desecador con desecante (Sílica)
- Estufa a 105°C
- Balones de 250 ml con uniones esmeriladas
- Micropipeta automática de 100 a 1000 uL
- Puntas para micropipeta automática

## Procedimiento

### Extracción de la Muestra.

- a) En un erlemeyer de 125 ml pesar 1 g de muestra desengrasada.
- b) Adicionar 75 ml de solución acusa de metanol al 70% y colocar un agitador magnético.
- c) Conducir la muestra a la plancha de agitación y agitar por 45 minutos a temperatura ambiente.

- d) Filtrar el extracto a través de papel Whatman N° 4 en un balón volumétrico de 100ml, lavar el filtrado y aforar con solución acuosa de metanol al 70%.

#### Cuantificación en el Espectrofotómetro UV-VIS.

- a) Transferir cuantitativamente 1 ml del extracto a un tubo de ensayo, añadir 9 ml de agua destilada (dilución A).
- b) Tomar 1 ml de la dilución A, añadir 6 ml de agua destilada y 1 ml de reactivo de Folin&Ciocalteu, luego de tres minutos añadir 2 ml de la solución de carbonato de sodio al 20%, inmediatamente agitar en vortex y calentar en baño María a 40°C por 2 minutos (Este procedimiento se realiza tanto para las muestras como para los estándares).
- c) Pasar la solución a una cubeta de vidrio y cuantificar en el Espectrofotómetro UV-VIS bajo las siguientes condiciones:

- Longitud de Onda: 760 nm.
- Temperatura: ambiente
- Slit: 0.2 nm

#### Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realiza utilizando una curva de calibración preparada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{g} \text{ Acido Gálico} = \frac{a * b * d * f}{p}$$

a = concentración de ácido gálico obtenida a partir de la curva de calibración (mg/l)

b = Volumen total de extracto (100 ml)

d = Factor de dilución (10)

f = Factor para transformar unidades (f = 0.001)

p = peso de la muestra g.

## ALCALOIDES (TEOBROMINA Y CAFEÍNA)

### Principio del método

El polvo de cacao es desengrasado mediante extracción Soxhlet por ocho horas con éter de petróleo, los alcaloides de cacao Teobromina, Cafeína son extraídos del polvo de cacao desengrasado con agua bidestilada en ebullición, el extracto obtenido es filtrado en un balón volumétrico y se afora con agua bidestilada a 100 ml, una alícuota del extracto se pasa por membrana Millipore de 0.22  $\mu\text{m}$  y es analizado por HPLC, utilizando columna cromatográfica ODS II, con detector UV - VIS (273 nm).

### Campo de aplicación

- Polvo de almendras de cacao secas, fermentadas y no fermentadas
- Polvo de licor de cacao

### Reactivos

- Agua bidestilada
- Metanol grado HPLC marca Fisher A 452-4
- Cafeína Anhidra 99.9 % Sigma C-0750
- Teobromina Anhidra 99.9 % Sigma T-4500
- Teofilina Anhidra 99.9 % Sigma T-1633
- Éter de Petróleo (rango de ebullición de 40 a 60°C)

### Preparación de reactivos

- Solución Estándar Interno: Transferir cuantitativamente 100 mg de teofilina al 99.9%, en un balón volumétrico de 200 ml completar a volumen con agua bidestilada.
- Solución Estándar Madre: Transferir cuantitativamente 20 mg de cafeína anhidra al 99.9 % y 20 mg de teobromina al 99.9%, en un balón volumétrico de 200 ml completar a volumen con agua bidestilada.

- Solución Estándar 100 ppm: Transferir cuantitativamente 10 mg de cafeína anhidra al 99.9 % y 10 mg de teobromina al 99.9%, en un balón volumétrico de 100 ml, añadir 10 ml de estándar Interno y completar a volumen con agua bidestilada.
- Solución Carrez 1: Transferir cuantitativamente 15 g de hexacianoferrato de potasio trihidratado en un balón volumétrico de 100 ml, y completar a volumen con agua bidestilada.
- Solución Carrez 2: Transferir cuantitativamente 30 g de sulfato de zinc dihidratado en un balón volumétrico de 100 ml, y completar a volumen con agua bidestilada.

### Fase móvil para HPLC

Solución metanol: agua. 25:75 (v/v). Mezclar 250 ml de metanol grado HPLC + 750 ml de agua. Homogenizar y filtrar a través de membrana millipore de 0.22 µm, desgasificar la solución en un baño ultrasonido por 10 minutos.

### Soluciones Estándar para curva de calibración

- A partir de la solución estándar Madre se realiza la curva tomando en consideración la siguiente tabla:

<b>Volumen de Estándar (ml)</b>	<b>Volumen de Agua (ml)</b>	<b>Volumen Estándar Interno (ml)</b>	<b>Concentración de Cafeína y teobromina (ppm)</b>
5	85	10	5
20	70	10	20
50	40	10	50
80	10	10	80

- Dentro de la curva de calibración se añade el punto de 100 ppm tomando directamente de la solución estándar de 100 ppm

### Equipos y materiales

- Extractor Soxhlet con uniones esmeriladas capacidad 100 ml
- Calentador con uniones esmeriladas
- Camisas de calentamiento

- Algodón libre de grasa
- Papel filtro cualitativo de 16 cm
- Dedal de extracción de 33 mm x 88 mm libre de grasa
- Núcleos de ebullición
- Desecador con desecante
- Estufa a 105°C
- Balones de 250 ml con uniones esmeriladas
- Balanza analítica de precisión 0.1 mg Shimadzu, Modelo LIBROR AEG-220
- Probetas de borosilicato de 100, 50, 1000 ml
- Erlenmeyer de vidrio borosilicato de 250 ml con tapa rosca.
- Erlenmeyer de vidrio borosilicato de 250 ml
- Vasos de precipitación de borosilicato de 10, 100 y 600 ml
- Embudos de filtración de vidrio 12.5 cm de diámetro
- Sistema de extracción al vacío compuesto de kitasato de 1000 ml, reservorios de 500 ml con membrana de filtro poroso y pinza metálica.
- Micropipeta automática de 100 a 1000  $\mu$ l
- Puntas para micropipeta automática
- Papel filtro de 12.5 cm de diámetro Whatman 4 o equivalente
- Baño Ultrasonido

## Procedimiento

### Extracción de la Muestra.

- a) En un erlenmeyer de 250 ml pesar 0.3 g de muestra desengrasada.
- b) Adicionar 90 ml de agua bidestilada y 10 ml de estándar interno.
- c) Conducir la muestra a la plancha de calentamiento y hervir por 30 minutos aproximadamente hasta que el volumen se reduzca a la mitad (50ml).
- d) Inmediatamente después de sacar el erlenmeyer con el extracto de la plancha de calentamiento añadir 1 ml de solución Carrez 1 y Carrez 2.
- e) Filtrar el extracto a través de papel Whatman N° 4 en un balón volumétrico de 100 ml, lavar el filtrado y aforar con agua bidestilada.
- f) Tomar una alícuota del filtrado, pasar por membrana millipore de 0.22  $\mu$ m y colocar en un vial para inyección en HPLC.

g) El extracto restante tapanlo y almacenar en refrigeración.

#### Cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Inyectar 20 µL en el HPLC bajo las siguientes condiciones:

- Columna: STR ODS II; 150 mm x 4.6 mm ID
- Temperatura de Columna: ambiente
- Detector UV-VIS: Longitud de Onda 273 nm
- Fase móvil: Metanol: agua (25:75 v/v)
- Flujo: 1ml /minuto
- Volumen de Inyección: 20 µl
- Tiempo de Cromatografía 15 minutos

#### Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realiza utilizando una curva de calibración realizada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Alcaloide} = \frac{a * b * f}{p} * 100$$

a = concentración de alcaloide obtenida a partir de la curva de calibración (mg/l)

b = Volumen total de extracto (100 ml)

f = Factor para transformar unidades (f = 0.000001)

p = peso de la muestra g.



**ANEXO F**  
**INFORMES DE LABORATORIO**



INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS  
 ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA  
 DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD  
 LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS  
 Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tifs, 2690691-3007134, Fax 3007134  
 Casilla postal 17-01-340



## INFORME DE ENSAYO No: 13-155

NOMBRE PETICIONARIO: Dra. Susana Espin  
 DIRECCION: Panamericana Sur km 1  
 FECHA DE EMISION: 30 de octubre del 2013  
 FECHA DE ANALISIS: Del 02 al 30 de octubre del 2013

INSTITUCION: INIAP PROYECTO SENESCYT-NUTRICIÓN  
 ATENCION: Sr. Carlos Camino  
 FECHA DE RECEPCION.: 14 de mayo del 2013  
 HORA DE RECEPCION: 11h12  
 ANALISIS SOLICITADO: Teobromina, Cafeína, Grasa, Polifenoles

ANÁLISIS	TEOBROMINA	CAFEÍNA	GRASA	POLIFENOLES		IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-28	MO-LSAIA-31		
METODO REF.	AOAC 980. 14-1998	AOAC 980. 14-1998	IOCC 37-1990	Cross. E. y Mariga G. 1973		
UNIDAD	%	%	%	mg Ac. Gálico/g		
13-0976	1,58	0,27	43,67	56,73		Cacao Nacional, Chone, José Vinicio Vera
13-0977	1,56	0,27	42,06	50,06		Cacao Nacional, Chone, José Vinicio Vera
13-0978	1,67	0,25	41,66	43,96		Cacao Nacional, Chone, Telmo Intriago Arteaga
13-0979	1,56	0,23	43,56	47,11		Cacao Nacional, Chone, Telmo Intriago Arteaga
13-0980	1,77	0,37	44,86	59,83		Cacao Nacional, Chone, Guillermo Intriago
13-0981	1,92	0,38	48,84	37,52		Cacao Nacional, Chone, Guillermo Intriago
13-0982	1,59	0,29	45,09	42,54		Cacao Nacional, Chone, Alcivar Intriago
13-0983	1,32	0,28	40,16	38,60		Cacao Nacional, Chone, Alcivar Intriago
13-0984	1,70	0,31	44,73	41,11		Cacao Nacional, Chone, Noe Quenan Loor
13-0985	1,80	0,37	47,06	43,32		Cacao Nacional, Chone, Noe Quenan Loor
13-0986	1,63	0,40	45,62	52,90		Cacao Nacional, Portoviejo, Vélez Pico Nexar Ricardo
13-0987	1,65	0,40	46,72	58,20		Cacao Nacional, Portoviejo, Vélez Pico Nexar Ricardo
13-0988	1,59	0,27	45,42	47,56		Cacao Nacional, Portoviejo, José Lauren Giler Zambrano
13-0989	1,64	0,29	45,15	54,53		Cacao Nacional, Portoviejo, José Lauren Giler Zambrano
13-0990	1,83	0,32	45,46	45,36		Cacao Nacional, Portoviejo, Nabor Zambrano Antriaga
13-0991	1,69	0,34	44,90	47,07		Cacao Nacional, Portoviejo, Nabor Zambrano Antriaga
13-0992	1,77	0,26	44,79	40,89		Cacao Nacional, Portoviejo, Alfredina Intriago
13-0993	1,69	0,27	43,48	50,55		Cacao Nacional, Portoviejo, Alfredina Intriago
13-0994	1,74	0,26	47,31	41,77		Cacao Nacional, Portoviejo, Henri Moreira Forti
13-0995	1,61	0,25	45,93	34,83		Cacao Nacional, Portoviejo, Henri Moreira Forti
13-0996	1,65	0,32	48,35	59,38		Cacao Nacional, Santa Ana, Mariano Intriago
13-0997	1,58	0,36	49,09	31,80		Cacao Nacional, Santa Ana, Mariano Intriago
13-0998	1,39	0,26	45,80	37,18		Cacao Nacional, Santa Ana, Angelo Macillo Cedeño Intriago
13-0999	1,42	0,23	45,95	34,64		Cacao Nacional, Santa Ana, Angelo Macillo Cedeño Intriago
13-1000	1,55	0,21	43,84	25,06		Cacao Nacional, Santa Ana, Nelson Loor
13-1001	1,51	0,18	42,90	31,73		Cacao Nacional, Santa Ana, Nelson Loor
13-1002	1,68	0,25	46,63	23,09		Cacao Nacional, Santa Ana, Jaime Cedeño
13-1003	1,54	0,25	44,91	43,66		Cacao Nacional, Santa Ana, Jaime Cedeño
13-1004	1,93	0,26	46,77	41,35		Cacao Nacional, Santa Ana, Granjaulian
13-1005	1,81	0,30	47,61	37,52		Cacao Nacional, Santa Ana, Granjaulian
13-1006	1,61	0,25	49,73	41,53		Cacao Nacional, Bolivar, Centro de acopio
13-1007	1,55	0,20	47,56	34,94		Cacao Nacional, Bolivar, Centro de acopio
13-1008	1,84	0,28	44,95	57,34		Cacao Nacional, Santa Ana, Centro de acopio Maquita
13-1009	1,89	0,35	41,10	22,03		Cacao Nacional, Junín, Centro de acopio Maquita


	<b>INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</b> <b>ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA</b> <b>DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD</b> <b>LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS</b> Panamericana Sur Km. 1. CutuglaguaTifs. 2690691-3007134. Fax 3007134 Casilla postal 17-01-340	
---	---	---

<b>INFORME DE ENSAYO No: 13-155</b>			
<b>NOMBRE PETICIONARIO:</b>	Dra. Susana Espín	<b>INSTITUCION:</b>	INIAP PROYECTO SENESCYT-NUTRICIÓN
<b>DIRECCION:</b>	Panamericana Sur km 1	<b>ATENCION:</b>	Sr. Carlos Camino
<b>FECHA DE EMISION:</b>	30 de octubre del 2013	<b>FECHA DE RECEPCION.:</b>	14 de mayo del 2013
<b>FECHA DE ANALISIS:</b>	Del 02 al 30 de octubre del 2013	<b>HORA DE RECEPCION:</b>	11h12
		<b>ANALISIS SOLICITADO</b>	Teobromina, Cafeina, Grasa, Polifenoles

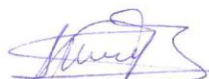
ANÁLISIS	TEOBROMINA	CAFEÍNA	GRASA	POLIFENOLES		IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-28	MO-LSAIA-31		
METODO REF.	AOAC 980. 14-1998	AOAC 980. 14-1998	IOCC 37-1990	Cross. E. y Mariga G. 1973		
UNIDAD	%	%	%	mg Ac. Gálico/g		
13-1010	1,81	0,33	44,41	62,49		Cacao Nacional, Valle de Portoviejo, Centro de acopio Maquita
13-1011	1,71	0,23	40,02	22,07		Cacao Nacional, Membrillo, Centro de acopio Maquita

Los ensayos marcados con Q se reportan en base seca.  
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

## RESPONSABLES DEL INFORME

  
 Dr. Armando Rubio  
 RESPONSABLE DE CALIDAD



  
 Dr. MSc. Iván Samaniego  
 RESPONSABLE TECNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.  
 Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS  
 ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA  
 DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD  
 LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS  
 Panamericana Sur Km. 1. Cutuglagua Tifs. 2690691-3007134. Fax 3007134  
 Casilla postal 17-01-340



## INFORME DE ENSAYO No: 13-171

NOMBRE PETICIONARIO: Dra. Susana Espin INSTITUCION: INIAP PROYECTO SENESCYT-NUTRICIÓN  
 DIRECCION: Panamericana Sur km 1 ATENCION: Sr. Carlos Camino  
 FECHA DE EMISION: 10 de octubre del 2013 FECHA DE RECEPCION.: 28 de mayo del 2013  
 FECHA DE ANALISIS: 02 de octubre del 2013 HORA DE RECEPCION: 15h55  
 ANALISIS SOLICITADO Teobromina, Cafeína, Grasa, Polifenoles

ANÁLISIS	TEOBROMINA	CAFEÍNA	GRASA	POLIFENOLES		IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-28	MO-LSAIA-31		
METODO REF.	AOAC 980. 14-1998	AOAC 980. 14-1998	IOCC 37-1990	Cross. E. y Mariga G. 1973		
UNIDAD	%	%	%	mg Ac. Gálico/g		
13-1054	1,44	0,17	47,40	32,90		Cacao Nacional, Vinces, Marcelino Vera Alvarado
13-1055	1,40	0,22	45,68	45,68		Cacao Nacional, Vinces, Marcelino Vera Alvarado
13-1056	1,70	0,23	43,44	43,44		Cacao Nacional, Vinces, Eduardo Carriel Ochoa
13-1057	1,27	0,15	44,69	44,69		Cacao Nacional, Vinces, Eduardo Carriel Ochoa
13-1058	1,35	0,18	43,10	43,10		Cacao Nacional, Vinces, Rubén Gustavo López
13-1059	1,56	0,21	45,41	45,41		Cacao Nacional, Vinces, Rubén Gustavo López
13-1060	1,49	0,15	43,86	43,86		Cacao Nacional, Vinces, José Mendoza Figueroa
13-1061	1,38	0,16	44,26	44,26		Cacao Nacional, Vinces, José Mendoza Figueroa
13-1062	1,97	0,31	48,31	48,31		Cacao Nacional, Vinces, Claudio Cárdenas Acosta
13-1063	1,64	0,21	45,34	45,34		Cacao Nacional, Vinces, Claudio Cárdenas Acosta
13-1064	1,63	0,25	45,64	45,64		Cacao Nacional, Montalvo, Vecino Mestanza
13-1065	2,15	0,35	46,09	46,09		Cacao Nacional, Montalvo, Vecino Mestanza
13-1066	1,77	0,33	44,66	44,66		Cacao Nacional, Montalvo, Saúl Mestanza
13-1067	1,80	0,32	42,98	42,98		Cacao Nacional, Montalvo, Saúl Mestanza
13-1068	2,36	0,51	48,37	48,37		Cacao Nacional, Montalvo, Maura Ayer
13-1069	2,42	0,47	48,14	48,14		Cacao Nacional, Montalvo, Maura Ayer
13-1070	1,59	0,25	41,69	41,69		Cacao Nacional, Montalvo, Vitermo
13-1071	1,78	0,34	44,94	44,94		Cacao Nacional, Montalvo, Vitermo
13-1072	1,49	0,25	43,18	43,18		Cacao Nacional, Montalvo, David Solís
13-1073	1,46	0,25	43,82	43,82		Cacao Nacional, Montalvo, David Solís
13-1074	1,67	0,21	45,94	45,94		Cacao Nacional, Durán, Alberto Arellano
13-1075	1,69	0,30	45,49	45,49		Cacao Nacional, Durán, Alberto Arellano
13-1076	1,50	0,20	42,87	42,87		Cacao Nacional, Durán, Ángel Merchán
13-1077	1,70	0,23	44,01	44,01		Cacao Nacional, Durán, Ángel Merchán
13-1078	1,61	0,20	44,99	44,99		Cacao Nacional, Durán, Florencio Merchán
13-1079	1,60	0,20	42,98	42,98		Cacao Nacional, Durán, Florencio Merchán
13-1080	1,70	0,26	44,09	44,09		Cacao Nacional, Durán, Alfredo Merchán
13-1081	1,55	0,23	44,29	44,29		Cacao Nacional, Durán, Alfredo Merchán
13-1082	1,73	0,24	45,07	45,07		Cacao Nacional, Durán, Eddy Morán
13-1083	1,55	0,17	42,72	42,72		Cacao Nacional, Durán, Eddy Morán
13-1084	1,45	0,21	43,44	43,44		Cacao Nacional, Yaguachi, Jorge Gómez
13-1085	1,74	0,31	44,18	44,18		Cacao Nacional, Yaguachi, Jorge Gómez
13-1086	1,40	0,21	43,83	43,83		Cacao Nacional, Yaguachi, Angélica Matilde Berrel
13-1087	2,53	0,38	43,17	43,17		Cacao Nacional, Yaguachi, Angélica Matilde Berrel





## INFORME DE ENSAYO No: 13-171

NOMBRE PETICIONARIO: Dra. Susana Espín  
 DIRECCION: Panamericana Sur km 1  
 FECHA DE EMISION: 10 de octubre del 2013  
 FECHA DE ANALISIS: 02 de octubre del 2013

INSTITUCION: INIAP PROYECTO SENESCYT-NUTRICIÓN  
 ATENCION: Sr. Carlos Camino  
 FECHA DE RECEPCION: 28 de mayo del 2013  
 HORA DE RECEPCION: 15h55  
 ANALISIS SOLICITADO: Teobromina, Cafeína, Grasa, Polifenoles

ANÁLISIS	TEOBROMINA	CAFÉINA	GRASA	POLIFENOLES	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-28	MO-LSAIA-31	
METODO REF.	AOAC 980. 14-1998	AOAC 980. 14-1998	IOCC 37-1990	Cross. E. y Mariga G. 1973	
UNIDAD	%	%	%	mg Ac. Gálico/g	
13-1088	1,47	0,21	42,13	42,13	Cacao Nacional, Yaguachi, Sergio Cortés
13-1089	1,49	0,23	42,50	42,50	Cacao Nacional, Yaguachi, Sergio Cortés
13-1090	1,59	0,24	45,24	45,24	Cacao Nacional, Yaguachi, Maximina García
13-1091	1,46	0,23	44,71	44,71	Cacao Nacional, Yaguachi, Maximina García
13-1092	1,67	0,28	44,93	44,93	Cacao Nacional, Yaguachi, Alonso Buestán
13-1093	1,65	0,33	45,68	45,68	Cacao Nacional, Yaguachi, Alonso Buestán
13-1094	1,48	0,17	43,82	43,82	Cacao Nacional, Milagro, Luis Manuel Bautista
13-1095	1,67	0,23	43,66	43,66	Cacao Nacional, Milagro, Luis Manuel Bautista
13-1096	1,66	0,23	43,55	43,55	Cacao Nacional, Milagro, Víctor Masaquiza
13-1097	2,01	0,32	45,34	45,34	Cacao Nacional, Milagro, Víctor Masaquiza
13-1098	1,78	0,37	44,41	44,41	Cacao Nacional, Milagro, Jorge Solís
13-1099	1,63	0,28	44,75	44,75	Cacao Nacional, Milagro, Jorge Solís
13-1100	1,47	0,18	44,15	44,15	Cacao Nacional, Milagro, Manuel Bermeo
13-1101	1,45	0,22	43,58	43,58	Cacao Nacional, Milagro, Manuel Bermeo
13-1102	1,42	0,19	42,51	42,51	Cacao Nacional, Milagro, Edwin Cesma
13-1103	1,35	0,19	42,63	42,63	Cacao Nacional, Milagro, Edwin Cesma

Los ensayos marcados con Q se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

## RESPONSABLES DEL INFORME

  
 Dr. Armando Rubio  
 RESPONSABLE DE CALIDAD



  
 Dr. MSc. Iván Samaniego  
 RESPONSABLE TECNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

# **ANEXO G**

# **FOTOGRAFÍAS**

**Fotografía G 1 Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución Agilent 1200 series acoplado a detector UV/Visible.**



**Fotografía G 2 Equipo de extracción de grasa Soxhlet.**



**Fotografía G 3 Espectrofotómetro UV- VIS Shimadzu.**



**Fotografía G 5 Micro-fermentación en cajones.**



**Fotografía G 4 Fundas de malla para micro-fermentación.**



**Fotografía G 6 Extractos de polifenoles en almendras de cacao con cuatro días de fermentación.**



**Fotografía G 7 Muestra de cacao Nacional recolectada en el Litoral Ecuatoriano.**

