

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

E.A.P. INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO
(*Theobroma Cacao L.*) POR LIXIVIACIÓN UTILIZANDO LA
METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”**

PRESENTADO POR

Bach. JIMÉNEZ PEÑA CARLOS RICAR

Bach. PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN

ASESORA

Dra. AGUIRRE VARGAS ELZA BERTA

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2021



HOJA DE AVAL DE JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado “OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO (*Theobroma Cacao L.*) POR LIXIVIACION UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”, para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, presentado por los bachilleres: **PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN Y JIMENEZ PEÑA CARLOS RICHA**R, teniendo como asesora a la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas, designada mediante la resolución decanal N° 336-2020-UNS-FI, ha sido revisado y aprobado el día 18 de Noviembre del 2021 por el siguiente jurado evaluador, designados mediante resolución N° 387-2021-UNS-CFI

Dra. Luz María Paucar Menacho
Presidente

Dr. Gilbert Nilo Rodríguez Paucar
Secretario

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 17:00 p.m. del 18 de Noviembre del Dos Mil Veintiuno se instaló mediante la plataforma virtual ZOOM, con el enlace <https://uns-edu-pe.zoom.us/j/81875512775?pwd=ajhwSUZtRVFLMHBodUZTQ0ZYcmwzUT09>, el Jurado Evaluador, designado mediante Resolución N° 387-2021-UNS-CFI, integrado por los docentes:

- Dra. Luz María Paucar Menacho (Presidente)
- Dr. Gilbert Nilo Rodríguez Paucar..... (Secretario)
- Dra. Elza Berta Aguirre Vargas..... (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de tesis, titulada:

“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO (Theobroma Cacao L.) POR LIXIVIACION UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”, elaborada por los bachilleres en ingeniería agroindustrial.

- PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN
- JIMENEZ PEÑA CARLOS RICAR

Así mismo tienen como asesora al docente Dra. Elza Berta Aguirre Vargas

Finalizada la Sustentación, el (os) tesisistas respondió (eron) las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el público presente.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACION
PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN	19	SOBRESALIENTE

Siendo las 18:30 p.m del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Dra. Luz María Paucar Menacho
 Presidente

Dr. Gilbert Nilo Rodríguez Paucar
 Secretario

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
 Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 17:00 p.m. del 18 de Noviembre del Dos Mil Veintiuno se instaló mediante la plataforma virtual ZOOM, con el enlace <https://uns-edu-pe.zoom.us/j/81875512775?pwd=ajhwSUZtRVFLMHBodUZTQ0ZYcmwzUT09>, el Jurado Evaluador, designado mediante Resolución N° 387-2021-UNS-CFI, integrado por los docentes:

- Dra. Luz María Paucar Menacho (Presidente)
- Dr. Gilbert Nilo Rodríguez Paucar..... (Secretario)
- Dra. Elza Berta Aguirre Vargas..... (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de tesis, titulada:

“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO (Theobroma Cacao L.) POR LIXIVIACION UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”, elaborada por los bachilleres en ingeniería agroindustrial.

- PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN
- JIMENEZ PEÑA CARLOS RICAR

Así mismo tienen como asesora al docente Dra. Elza Berta Aguirre Vargas

Finalizada la Sustentación, el (os) tesisistas respondió (eron) las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el público presente.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACION
JIMENEZ PEÑA CARLOS RICAR	19	SOBRESALIENTE

Siendo las 18:30 p.m del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Dra. Luz María Paucar Menacho
 Presidente

Dr. Gilbert Nilo Rodríguez Paucar
 Secretario

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
 Integrante

“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO (*Theobroma Cacao* L.) POR LIXIVIACIÓN UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”

por . Jiménez Peña Carlos Richar Palacios Hilario Antony Yourgen

Fecha de entrega: 24-nov-2021 05:46p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1712252962

Nombre del archivo: TESIS_CACAO_-ANTHONY_Y_CARLOS.pdf (4.08M)

Total de palabras: 15027

Total de caracteres: 73296

“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO (Theobroma Cacao L.) POR LIXIVIACIÓN UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”

INFORME DE ORIGINALIDAD

17 %	15 %	3 %	3 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	6 %
2	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	4 %
3	repositorio.utmachala.edu.ec Fuente de Internet	1 %
4	Rocio Campos-Vega, Karen H. Nieto-Figueroa, B. Dave Oomah. "Cocoa (Theobroma cacao L.) pod husk: renewable source of bioactive compounds", Trends in Food Science & Technology, 2018 Publicación	1 %
5	Rosa Isela Castillo Zamudio. "Inactivación microbiana en matrices cárnicas mediante fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de potencia", Universitat Politecnica de Valencia, 2015 Publicación	1 %

DEDICATORIA

A Dios, por estar siempre a mi lado y ser la fortaleza de mi vida por darme fuerzas necesarias para seguir adelante. Por escucharme y guiarme, en todo el transcurrir de mi carrera, brindándome sabiduría y paciencia cada día y superar los obstáculos que se me presentaban. A mis padres y mi hermana por su amor, comprensión y apoyo incondicional en el trayecto de mi vida, para lograr mis metas, a ustedes por siempre mi corazón y agradecimiento.

PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN

Para todos mis seres queridos, amigos, familiares y también para aquellos que ya partieron de este mundo. Dedicar especialmente a mi familia la cual me brindo todo el apoyo necesario para superar todos los obstáculos que se me presentaron y que nunca me dejaron solo. Estaré eternamente agradecido.

JIMÉNEZ PEÑA CARLOS RICAR

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme llegar hasta esta fase de mi vida y por haberme dado la salud para lograr mis objetivos.

A nuestra asesora la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas, por su apoyo, conocimientos y aportes brindados durante el desarrollo de este informe y durante nuestra formación académica. A los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por sus conocimientos y experiencias compartidas que fortalecieron mi formación profesional.

A mi familia por su apoyo incondicional y amor que me permitieron seguir adelante y luchar por mis sueños.

PALACIOS HILARIO ANTONY YOURGEN

En primer lugar, agradecer infinitamente a Dios por permitirme culminar una etapa más en la vida.

Un agradecimiento de manera especial a la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas, quien fue nuestra asesora y maestra. Darle las gracias por todas las enseñanzas apoyo dentro de lo académico como en lo personal y por ser una persona en quien puedo confiar.

Agradecer a todos los maestros que tuve durante la etapa universitaria por todas sus enseñanzas.

A mi alma mater la Universidad Nacional del Santa por ser el lugar en el que recibí mi formación académica y a la cual le guardare un especial cariño de por vida.

JIMÉNEZ PEÑA CARLOS RICAR

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	19
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	21
2.1. EL CACAO	21
2.1.1. COMPOSICIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL FRUTO DE CACAO	21
2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	24
2.1.3. MORFOLOGÍA	24
2.1.4. IMPORTANCIA DEL CACAO EN EL PERÚ	27
2.1.5. VARIEDADES DE CACAO.....	28
2.1.6. PROCESAMIENTO DEL CACAO.....	29
2.1.7. PRODUCCIÓN DE CACAO	34
2.2. MANTECA DE CACAO	34
2.2.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS DE LA MANTECA DE CACAO	35
2.3. LIXIVIACIÓN	35
2.3.1. PRINCIPIOS DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO	36
2.3.2. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO (LIXIVIACIÓN)	36
2.3.3. SOLVENTES	38
2.4. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA	39
2.4.1. ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO MEDIO	40
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1. MATERIA PRIMA.....	45
3.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	45
3.2.1. MATERIALES.....	45
3.2.2. EQUIPOS.....	45
3.2.3. REACTIVOS	46

3.3. ANÁLISIS	46
3.3.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL	46
3.3.2. DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS	47
3.3.3. DETERMINACIÓN DEL ESPECTRO INFRARROJO	48
3.4. METODOLOGÍA	49
3.4.1. DIAGRAMA DE FLUJO.....	49
3.4.2. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES	50
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES	53
4.1. CARACTERIZACIÓN DEL GRANO DE CACAO.....	53
4.2. EXTRACCIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE MANTECA DE CACAO	54
4.2.1. EXTRACCIÓN POR PRESIÓN HIDRÁULICA.....	54
4.2.2. EXTRACCIÓN EN BAÑO MARÍA UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE.....	55
4.2.3. EXTRACCIÓN EN SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE.....	61
4.3. MODELAMIENTO MÉTODO DE EXTRACCIÓN	67
4.4. PERFIL INFRARROJO Y CROMATOGRÁFICO DE LA MANTECA DE CACAO	68
4.4.1. PERFIL INFRARROJO	68
4.4.2. PERFIL CROMATOGRÁFICO Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS	69
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	74
5.1. CONCLUSIONES	74
5.2. RECOMENDACIONES	75
CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
CAPITULO VII: ANEXOS	87

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE GRANOS DE CACAO.....	22
TABLA 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE NIBS DE CACAO	23
TABLA 3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL CACAO	24
TABLA 4. EL CULTIVO Y LA PRODUCCIÓN DE CACAO EN PRINCIPALES PAÍSES DEL MUNDO	34
TABLA 5. BANDAS DE LAS AMIDAS EN LA REGIÓN DEL INFRARROJO MEDIO ...	43
TABLA 6. DISEÑO PARA LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO POR PRENSADO EN FRÍO.	50
TABLA 7. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO POR BAÑO MARÍA, VARIANDO LA TEMPERATURA (T), VOLUMEN DE ETANOL (ET) Y TIEMPO (T).....	51
TABLA 8. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO POR SOXHLET, VARIANDO EL TIEMPO (T), PESO DEL NIB DE CACAO EN POLVO (P) Y VOLUMEN DE ETANOL (ET)	52
TABLA 9. CARACTERIZACIÓN DE LOS NIBS DE CACAO.....	53
TABLA 10. RESULTADOS EXPERIMENTALES DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EN BAÑO MARÍA, VARIANDO LA TEMPERATURA (T), ETANOL (ET) Y TIEMPO (T).....	56
TABLA 11. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS FACTORES DE EXTRACCIÓN EN BAÑO MARÍA.	57
TABLA 12. RESULTADOS EXPERIMENTALES DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EN SOXHLET, VARIANDO EL TIEMPO (T), PESO (P) Y ETANOL (ET)	61
TABLA 13. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS FACTORES DE EXTRACCIÓN EN SOXHLET	63
TABLA 14. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN MANTECA DE CACAO EXTRAÍDO CON DIFERENTES MÉTODOS.....	73
TABLA 15. ANÁLISIS DE HUMEDAD EN NIBS DE CACAO EN POLVO.....	87
TABLA 16. DATOS DEL ANÁLISIS DE CENIZAS EN NIBS DE CACAO EN POLVO ...	88
TABLA 17. DATOS DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON PRENSA HIDRÁULICA.....	92

TABLA 18. DATOS DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON BAÑO MARÍA	95
TABLA 19. DATOS DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE	97
TABLA 20. CORRELACIÓN DE LOS VALORES PREDICHOS DE MODELO DE SUPERFICIE RESPUESTA VERSUS VALORES EXPERIMENTALES DEL RENDIMIENTO DE MANTECA DE CACAO.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. ZONAS DE PRODUCCIÓN DE CACAO EN EL MUNDO.....	21
FIGURA 2. MAZORCA DE CACAO CON PULPA Y GRANO	22
FIGURA 3. RAÍZ DEL ÁRBOL DE CACAO	25
FIGURA 4. TRONCO DE PLANTA DE CACAO.....	25
FIGURA 5. HOJAS DEL ÁRBOL DE CACAO.....	26
FIGURA 6. FLOR DE CACAO. A: ILUSTRACIÓN DE LAS PARTES DE LA FLOR DEL CACAO; B: FLOR DE CACAO EN EL TRONCO.....	26
FIGURA 7. FRUTO O MAZORCA DE CACAO; B: SEMILLAS DE CACA CON MUCILAGO	27
FIGURA 8. PRODUCCIÓN NACIONAL DE CACAO EN LOS ÚLTIMOS AÑOS.....	27
FIGURA 9. VARIEDADES DE CACAO, A) CRIOLLO, B) FORASTERO Y C) TRINITARIO	29
FIGURA 10. (A): FORMA INCORRECTA DE COSECHA DEL CACAO. (B): FORMA CORRECTA DE COSECHA DE CACAO.....	30
FIGURA 11. ETAPAS DE LA FERMENTACIÓN DE LOS GRANOS DE CACAO	31
FIGURA 12. PROCESAMIENTO DE CACAO	33
FIGURA 13. ESQUEMA DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN	36
FIGURA 14. TIPOS DE VIBRACIONES MOLECULARES POR ABSORCIÓN INFRARROJA.....	41
FIGURA 15. ESPECTRO DEL INFRARROJO MEDIO DE LAS BANDAS AMIDA I, II Y III	42
FIGURA 16. EQUIPO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (A) Y ESPECTRÓMETRO INFRARROJO (B).....	48
FIGURA 17. FLUJOGRAMA DE OPERACIONES Y PROCEDIMIENTOS.....	49
FIGURA 18. RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO POR PRESIÓN HIDRÁULICA.	55
FIGURA 19. DIAGRAMA DE PARETO PARA LOS FACTORES DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR BAÑO MARÍA.	57
FIGURA 20. PARÁMETROS ÓPTIMOS Y LÍNEAS DE CONTORNO EN LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON BAÑO MARÍA.....	58

FIGURA 21. GRÁFICO DE SUPERFICIE RESPUESTA Y LÍNEAS DE CONTORNO PARA EL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EN BAÑO MARÍA CON LA INTERACCIÓN DE FACTORES (A) TEMPERATURA VS SOLVENTE, (B) TEMPERATURA VS TIEMPO Y (C) TIEMPO VS SOLVENTE.	60
FIGURA 22. DIAGRAMA DE PARETO PARA LOS FACTORES DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOXHLET	62
FIGURA 23. PARÁMETROS ÓPTIMOS Y LÍNEAS DE CONTORNO EN LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON SOXHLET	63
FIGURA 24. GRÁFICO DE SUPERFICIE RESPUESTA Y LÍNEAS DE CONTORNO PARA EL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO EN SOXHLET CON LA INTERACCIÓN DE FACTORES (A) TEMPERATURA VS SOLVENTE, (B) TEMPERATURA VS TIEMPO Y (C) TIEMPO VS SOLVENTE.	66
FIGURA 25. CORRELACIÓN DE LOS VALORES PREDICHOS DE MODELO DE SUPERFICIE RESPUESTA VERSUS VALORES EXPERIMENTALES DEL RENDIMIENTO DE MANTECA DE CACAO	67
FIGURA 26. ESPECTRO INFRARROJO MEDIO DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON DIFERENTES SOLVENTES	68
FIGURA 27. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN MANTECA DE CACAO DETECTADOS POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA	71
FIGURA 28. MUESTRAS DE CACAO EN POLVO EN LA ESTUFA	87
FIGURA 29. ANÁLISIS DE CENIZAS EN NIBS DE CACAO EN POLVO	88
FIGURA 30. EQUIPO SOXHLET, EN LA DETERMINACIÓN DE GRASA	89
FIGURA 31. ANÁLISIS DE PROTEÍNAS EN NIBS DE CACAO EN POLVO	89
FIGURA 32. RESULTADOS DE LABORATORIO DE ANÁLISIS DE PROTEÍNA Y GRASA DE MUESTRAS DE NIBS DE CACAO EN POLVO	90
FIGURA 33. RECEPCIÓN Y SELECCIONADO DE NIBS DE CACAO	91
FIGURA 34. PESADO DE 100 G NIBS DE CACAO	91
FIGURA 35. CALENTADO DE NIBS DE CACAO EN HORNO ELÉCTRICO A 80°C POR 5 MINUTOS	91
FIGURA 36. PRENSADO DE NIBS DE CACAO EN PRENSA HIDRÁULICA A 8, 10, 12 Y 15 US-TONS	91

FIGURA 37. MANTECA DE CACAO EXTRAÍDO A DIFERENTES PRESIONES (A) 8, (B) 10, (C) 12 Y (D) 15 US-TONS	92
FIGURA 38. PESADO DE 2G DE NIBS DE CACAO EN POLVO	93
FIGURA 39. AGREGADO DE ALCOHOL A DIFERENTES VOLÚMENES EN CADA TUBO CON NIBS DE CACAO EN POLVO.....	93
FIGURA 40. COLOCADO DE TUBOS EN BAÑO MARÍA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS.....	93
FIGURA 41. (A) TUBOS A LA SALIDA DEL BAÑO MARÍA, (B) TUBOS DESPUÉS DE 12 HORAS DE MACERADO	94
FIGURA 42. CENTRIFUGADO DE TUBOS PARA SEPARACIÓN DE FASE LIQUIDA .	94
FIGURA 43. INCUBADO DE TUBOS A 80°C POR 4 HORAS	94
FIGURA 44. MANTECA DE CACO EXTRAÍDA CON BAÑO MARÍA	95
FIGURA 45. EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE	96
FIGURA 46. (A): SEPARACIÓN DE FASES EN EMBUDO DE DECANTACIÓN POR 30 MIN. (B) MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE.....	96
FIGURA 47. MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET UTILIZANDO ÉTER COMO SOLVENTE	98
FIGURA 48. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON PRENSA HIDRÁULICA – 1RA REPETICIÓN	100
FIGURA 49. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON PRENSA HIDRÁULICA – 2DA REPETICIÓN	101
FIGURA 50. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON PRENSA HIDRÁULICA – 3RA REPETICIÓN	101
FIGURA 51. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET Y ÉTER COMO SOLVENTE – 1RA REPETICIÓN	102
FIGURA 52. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET Y ÉTER COMO SOLVENTE – 2DA REPETICIÓN.....	103
FIGURA 53. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET Y ÉTER COMO SOLVENTE – 3RA REPETICIÓN	103
FIGURA 54. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET Y ETANOL COMO SOLVENTE – 1RA REPETICIÓN	104

FIGURA 55. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET Y ETANOL COMO SOLVENTE – 2DA REPETICIÓN	105
FIGURA 56. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MANTECA DE CACAO EXTRAÍDA CON SOXHLET Y ETANOL COMO SOLVENTE – 3RA REPETICIÓN	105

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1: ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE NIBS DE CACAO EN POLVO	87
ANEXO 2: PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON PRENSA	91
ANEXO 3: PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON BAÑO MARÍA	93
ANEXO 4: EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON SOXHLET	96
ANEXO 5: EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON ÉTER	98
ANEXO 6: MODELAMIENTO DE MÉTODO DE EXTRACCIÓN SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE	99
ANEXO 7: PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRAS DE MANTECA DE CACAO	100

RESUMEN

El cacao (*Theobroma Cacao L.*) es un fruto oriundo de la región tropical de América del sur, ampliamente producido en países africanos y ubicando al Perú en el octavo lugar con una producción anual ~107 mil toneladas. La manteca de cacao es ampliamente utilizada en el campo alimentario, especialmente en la producción de chocolates, por lo que su obtención se da principalmente por métodos de prensado y solventes. El presente trabajo tiene por objetivo extraer manteca de nibs de cacao utilizando diferentes metodologías de lixiviación, y como novedad el uso de etanol. El desarrollo experimental aplicando la metodología de superficie de respuesta fue un diseño de Box-Behnken, para la extracción en baño maría se evaluó el efecto de 3 variables, temperatura (40 a 80°C), volumen de etanol (4 a 8 mL) y tiempo de reacción (40 a 80 min), y en la extracción en método Soxhlet se evaluó el efecto de las variables, tiempo (2 a 4 h), peso del nibs de cacao en polvo (5 a 15 g) y volumen de etanol (120 a 200 mL), sobre el rendimiento de extracción de manteca de cacao (% p/p). Se ha determinado que el método de extracción por prensado hidráulico y baño maría generaron rendimientos de 35.030 y 11.594 %, inferiores al rendimiento promedio de la manteca de cacao (46.283%), obtenido por el método soxhlet utilizando éter de petróleo. Por otro lado, el uso de etanol como solvente aplicando el método soxhlet generó un rendimiento óptimo de manteca del 47.317 % utilizando un tiempo de 3.35 h, peso de nib de 15 g y un volumen de solvente de 157.17 mL. La metodología de superficie respuesta aplicando un diseño de Box-Behnken, permitió generar un modelo predictivo con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.931$ y un error cuadrático medio RSME = 2.889% ($p < 0.05$). Finalmente, se ha hecho uso de la tecnología infrarroja y la cromatografía gaseosa para descartar diferencias a nivel cualitativo (vibraciones moleculares) y cuantitativo (ácidos grasos) entre los métodos tradicionales (prensado y extracción soxhlet con éter de petróleo) y la extracción soxhlet utilizando etanol, no evidenciándose diferencias entre la metodología desarrollada con etanol y los métodos tradicionales. Los resultados demostraron ser prometedores para su aplicación a nivel de laboratorio y su escalamiento a nivel industrial.

Palabras claves: Cacao, nib, etanol, soxhlet, superficie respuesta.

ABSTRACT

Cacao (*Theobroma Cacao L.*) is a fruit native to the tropical region of South America, widely produced in African countries and placing Peru in eighth place with an annual production of ~ 107 thousand tons. Cocoa butter is widely used in the food field, especially in the production of chocolates, so it is obtained mainly by pressing and solvent methods. The objective of this work is to extract butter from cocoa nibs using different leaching methodologies, and as a novelty the use of ethanol. The experimental development applying the response surface methodology was a Box-Behnken design, for the extraction in a water bath the effect of 3 variables was evaluated, temperature (40 to 80 ° C), ethanol volume (4 to 8 mL) and reaction time (40 to 80 min), and in the Soxhlet method extraction, the effect of the variables, time (2 to 4 h), weight of cocoa powder nibs (5 to 15 g) and volume of ethanol (120 to 200 mL), on the cocoa butter extraction yield (% p/p). It has been determined that the extraction method by hydraulic pressing and water bath generated yields of 35,030 and 11,594%, lower than the average yield of cocoa butter (46,283%), obtained by the soxhlet method using petroleum ether. On the other hand, the use of ethanol as a solvent applying the soxhlet method generated an optimal butter yield of 47.317% using a time of 3.35 h, a nib weight of 15 g and a solvent volume of 157.17 mL. The response surface methodology applying a Box-Behnken design, allowed to generate a predictive model with a determination coefficient of $R^2 = 0.931$ and a mean square error $RSME = 2.889\%$ ($p < 0.05$). Finally, infrared technology and gas chromatography have been used to rule out differences at a qualitative (molecular vibrations) and quantitative (fatty acids) level between traditional methods (pressing and extraction soxhlet with petroleum ether) and soxhlet extraction using ethanol, with no differences between the methodology developed with ethanol. and traditional methods. The results proved promising for application at the laboratory level and scale-up at the industrial level.

Keywords: Cocoa, nib, ethanol, soxhlet, surface response.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La manteca de cacao es utilizada en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica, se obtiene mediante prensado mecánico y extracción por solvente con hexano. La creciente conciencia de los peligros para la salud y la seguridad asociados con el uso de disolventes orgánicos, debido a su posible contaminación de los productos extraídos, ha impuesto nuevas demandas a la industria alimentaria para desarrollar tecnologías nuevas y limpias para el procesamiento de productos alimenticios. El hexano es el solvente por excelencia que se aplica a diversas matrices alimentarias (semillas, carnes, plantas, entre otros) para extraer fracciones lipídicas, sin embargo, este solvente en el Perú como en diversos países del mundo es un reactivo controlado, por otro lado, presenta un elevado poder de toxicidad cuyos residuos pueden quedar presentes en la fracción libre de grasa y un impacto sobre el ambiente. Los granos de cacao especialmente los nibs, se ha extraído con tecnologías de fluidos supercríticos utilizando al CO₂ como disolvente, sin embargo, esta tecnología, aunque altamente eficiente es costosa. El etanol también ha servido para extraer la grasa de la cascara de cacao logrando rendimientos hasta del 90% (Okiyama *et al.*, 2019). En resumen, la extracción con solventes diferente al hexano, que representen menos costos y menos toxicidad, es una ventaja importante para la obtención de manteca de cacao. Por lo tanto, existe la necesidad de encontrar un método alternativo de extracción que pueda superar estos desafíos. Si bien, la extracción por solventes se ha reportado en la literatura para la manteca de cacao, existe escasez de información sobre el estudio de optimización, para establecer variables óptimas para el proceso de lixiviación.

El etanol puede reemplazar al hexano en la extracción de aceite vegetal de varias matrices oleaginosas como la soya y cereales como el arroz (Rodrigues *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2011; Olivera *et al.*, 2012; Kamimura *et al.*, 2017). Los granos de cacao en base húmeda presentan aproximadamente un 30 por ciento de grasa (De Souza *et al.*, 2018). La extracción de manteca de cacao con etanol representa un método sencillo y barato que puede ser tomado en cuenta como referencia para la industria de los derivados de la manteca de cacao. Este trabajo de investigación hace uso del etanol debido a que es un solvente generalmente reconocido como seguro (GRAS), cuya utilización durante el proceso de extracción no genera volátiles tóxicos al ambiente además la presencia residual en la matriz extraída (oleosa) no producen alteración sobre la salud humana (Herrero *et al.*, 2005; Pouralinazar *et al.*, 2012). La metodología de superficie respuesta (MSR) es una herramienta eficaz e importante de análisis estadístico para encontrar condiciones óptimas de diferentes procesos complejos, esta metodología ha sido aplicada en la optimización de múltiples variables con un número mínimo

de experimentos lo que genera información con resultados aceptables (Stroescu *et al.*, 2013). La presente investigación hará uso de la MSR para obtener las condiciones óptimas de extracción, así mismo determinar los factores significativos y predominantes en el proceso de lixiviación. Finalmente, con la obtención de un modelo matemático de segundo orden se podrá correlacionar los valores predichos por el modelo versus los valores de referencia del contenido de manteca de cacao extraído.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. EL CACAO

El cacao fue ampliamente cultivado en la época precolombina Mesoamérica, su nombre original olmeca, kakaw (cacao), se difundió hace alrededor de 2000 años en las lenguas de la América Central baja, sufriendo varias modificaciones de las fonologías (Kaufman & Justeson, 2007; Sarbu, & Csutak, 2019).

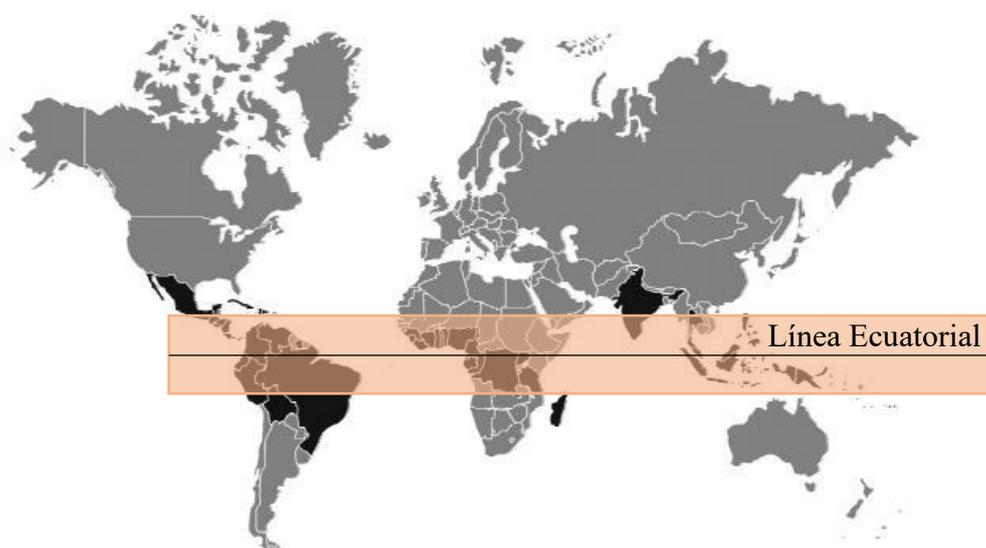


Figura 1. Zonas de producción de cacao en el mundo

Fuente: Armando, 2016.

El árbol del cacao (*Teobroma cacao L.*) es cultivado en regiones tropicales. Se cultiva comercialmente entre los 15° al norte y 15° al sur de la línea ecuatorial. Sin embargo, se puede encontrar hasta las latitudes subtropicales entre 23°26' (límite del Trópico de Cáncer) al norte y 23°26' (límite del Trópico de Capricornio) al sur de la línea ecuatorial. El rango de temperatura promedio anual en las que se cultiva el árbol de cacao va desde los 23° a 30° C, siendo de 25° C la temperatura óptima. (Gomes, 2014 citado por Armando, 2016). Se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1 200 msnm, estando su altura óptima entre los 500 a 800 msnm. Además, necesita una humedad relativa anual promedio que va desde 70% – 80%. (Armando, 2016).

2.1.1. COMPOSICIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL FRUTO DE CACAO

El grano de cacao constituye un tercio (33%) del peso del fruto y 67% representa la mazorca como subproducto de desecho, esta mazorca del fruto presenta un contenido de

proteína (5,9–9,1%), grasa cruda (1,2–10 %), fibra (22,6–35,7%), entre otros significativos para su uso como alimento para animales (Oddoye *et al.*, 2013). Desde el punto de vista nutricional en la Tabla 1, se detalla la composición química de los granos de cacao.



Figura 2. Mazorca de cacao con pulpa y grano

Fuente: Mühlbauer & Müller, 2020.

Tabla 1. Composición química de granos de cacao

Contenido	Fresco (%)	Seco (%)
Agua	50.0	7.0
Proteínas	9.9	18.3
Grasas	34.0	63.2
Carbohidratos	8.2	15.3
Fibras	2.7	5.1
Minerales	2.7	5.1

Fuente: Mühlbauer & Müller, 2020.

El procesamiento del cacao implica varios pasos que comienzan con la recolección de los frutos maduros del cacao. Las semillas de cacao, se obtienen después del proceso de fermentación, secado, tostado y triturado (Payne *et al.*, 2010). La fermentación tiene

lugar durante un período de 2 a 8 días, según la variedad y el método de fermentación (Guehi *et al.*, 2010; Schwan & Wheals, 2004).

El control de estos pasos es fundamental para producir granos de cacao con características confiables, donde los procesos de fermentación y tostado son primordiales en la calidad de los granos obtenidos (Frauendorfer & Schieberle, 2008). Los compuestos volátiles presentes en el cacao son los responsables de las propiedades organolépticas, como el aroma y el sabor (Tabla 2). Se sabe que compuestos como pirazinas, aldehídos (aroma de cacao, nuez), ésteres (aroma afrutado) y compuestos fenólicos (propiedad astringente) están directamente relacionados con el aroma y pueden utilizarse para la caracterización del cacao y chocolate (Cambrai *et al.*, 2010).

En la tabla 2, se recopila información de diferentes autores sobre la composición proximal de los nibs de cacao.

Tabla 2. Composición química de nibs de cacao

	Chire, 2019		Aldave, 2016		Álava, 2016	Tonfack et al., 2018
	CCN 51 (base seca)	ICS 6 (base seca)	CCN 51 (base seca)	ICS (base seca)		
Humedad	-	-	-	-	7.3	5.9
Grasa	43.59	45.8	45.13	44.76	53.1	41.2
Proteína	14.64	13.47	15.24	16.16	-	17.9
Ceniza	3.24	3.51	2.85	3.26	3.05	7.3
Fibra cruda	5.79	4.83	9.18	9.18	-	-
Carbohidratos totales	38.52	37.22	36.78	35.82	-	27.7

2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

En la tabla 3 se presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Tabla 3. Clasificación taxonómica del cacao

Reino	Vegetal
Orden	Malvales
Clase	Angiospermas
Familia	Esterculiáceae
Tribu	Birtheriaceae
Género	Theobroma
Especie	Theobroma cacao L.,
División	Spermatophyta
Nombre común	Cacao

Fuente: De Souza *et al.*, 2018.

2.1.3. MORFOLOGÍA

El árbol del cacao puede llegar a crecer hasta unos 10 metros de altura cuando se encuentra a la sombra de altos árboles forestales. El árbol de cacao comienza a producir después cuatro o cinco años de haberse plantado y puede seguir produciendo durante décadas. (Armando, 2016).

Las mazorcas brotan del tronco principal y de las ramas de la copa, estas tienen una longitud de entre 15 cm a 25 cm de la cual contiene de entre 30 a 40 semillas que se convertirán en el grano del cacao después del proceso de fermentación y secado. (Armando, 2016).

• RAÍZ

Tiene una raíz principal (raíz pivotante), de la cual nacen las raíces secundarias. Tal como se muestra en la figura 3, en los 30 primeros centímetros de profundidad son numerosas, formando una densa red de raicillas en la superficie del suelo, la cual sirve para aprovechar la capa de materia orgánica en descomposición la que a su vez la protege de la radiación solar directa y de la erosión superficial del suelo. (Salvador *et al.*, 2012).

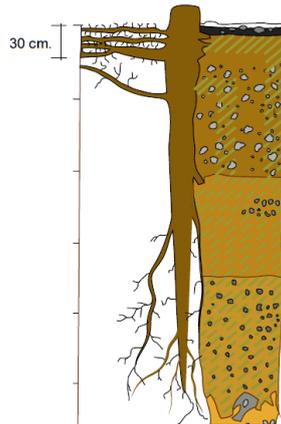


Figura 3. Raíz del árbol de cacao

Fuente: Salvador *et al.*, 2012.

• TALLO

Los tallos de la planta de cacao (figura 4) se dividen en dos: Los tallos rectos, que son los que crecen de forma vertical o también llamados ortotrópicos que provienen de plantas por semillas y los llamados plagiotrópicos que son aquellas plantas que son producidas por injertos que su crecimiento es horizontal y lateral (Isla & Andrade, 2009 citado por Leon, 2020).

Es de color oscuro (gris-café), pueden llegar a 1 – 2 m de altura a los 1 a 1.5 años de edad, es donde sus yemas apicales se detienen para dar inicio a la formación de 3 a 5 ramas laterales las cuales son conocidas como horquetas o verticilo (Montaleza, 2020).



Figura 4. Tronco de planta de cacao.

Fuente: León, 2020.

•HOJAS

En la figura 5 se puede apreciar las hojas del árbol de cacao, las cuales tiene una apariencia simple, entera y de color verde bastante variable (color café claro, morado o rojizo, verde pálido) y de pecíolo corto.



Figura 5. Hojas del árbol de cacao.

Fuente: EcuRed, 2013.

• FLORES

Las flores se ubican en racimos sobre el tejido maduro del tronco y ramas, en las yemas axilares donde existieron hojas (figura 6). El cáliz es de color rosa con segmentos puntiagudos; la corola es de color blancuzco, amarillo o rosa. Los pétalos son largos. Tiene polinización entomófila, destacando la mosquita del género *Forcipomyia*. Las flores se abren en las tardes y deben ser fecundadas durante los próximos tres días, sino caerán (Salvador & Espinoza, 2012).

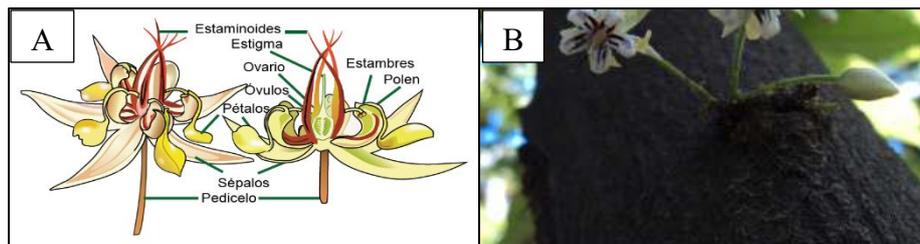


Figura 6. Flor de cacao. A: Ilustración de las partes de la flor del cacao; B: Flor de cacao en el tronco

Fuente: Salvador *et al.*, (2012)

• FRUTO Y SEMILLAS

También conocido como mazorca, en términos botánicos es una baya de diversas formas (figura 7), tamaños y colores según la especie y variedad, con tamaños de entre 10 – 30 cm de longitud, tienen forma ovalada y alargada, de color verde o rojo en su fase inicial y amarillo en su fase final. (Leiva & Murillo, 2019).

Está recubierta por mucilago el cual es una pulpa blanca, jugosa, cremosa y azucarada que está dispuesta de 5 líneas o surcos dentro de la mazorca que contiene entre 35 a 60 almendras (Leiva & Murillo, 2019).

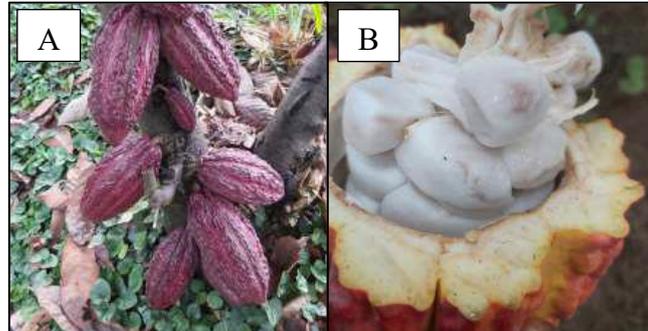


Figura 7. Fruto o mazorca de cacao; B: Semillas de caca con mucilago

Fuente: Leon, 2020.

2.1.4. IMPORTANCIA DEL CACAO EN EL PERÚ

En el Perú, se producen tres variedades de cacao: Trinitario 53,3% (Junín), forastero amazónico 37,3% (Cusco y Ayacucho) y criollo 9,4% (zona norte de San Martín, Amazonas y Cajamarca). La producción nacional de cacao en grano viene incrementándose sostenidamente desde hace 10 años, creciendo a una tasa de 12,6% en promedio anual (MINAGRI, 2020).

En la figura 8 se muestra la producción nacional de los últimos años y su tasa de crecimiento porcentual anual promedio.



Figura 8. Producción nacional de cacao en los últimos años

Fuente: MINAGRI, 2020.

2.1.5. VARIEDADES DE CACAO

- **CRIOLLO**

Tiene su origen en América Central precolombina. El cacao criollo fue la primera variedad conocida en Europa la cual fue introducida por los primeros colonizadores. En la actualidad se cultiva en pequeñas cantidades en algunos países como México, Guatemala y Nicaragua en pequeñas cantidades; así como en Venezuela, Colombia, Perú, islas del Caribe, Trinidad, Jamaica e isla de Granada. Fuera de nuestro continente, se señalan cultivos en Madagascar, Java e islas Comores (Armando, 2016).

Son árboles débiles, de crecimiento lento, tienen bajo rendimiento y son más vulnerables a plagas y enfermedades en comparación con otras variedades. Sin embargo, los frutos de esta variedad se caracterizan por tener un sabor dulce, producir un chocolate menos amargo y de mejor calidad. Tiene un sabor delicado, suave y complejo, y su aroma es intenso. Estas características hacen del cacao criollo un cacao exclusivo y demandado en los mercados más exigentes del mundo (Armando, 2016).

Tiene una tasa de representación de entre el 5% al 8% de la producción mundial, puesto que su cultivo es muy difícil (Duran, 2010 citado por Armando, 2016).

- **FORASTERO**

Es originario de la Amazonía alta. Es mayormente cultivado en los países de África y Asia. Estos dos continentes producen entre el 80% al 85% de toda la producción mundial. En Latinoamérica se cultiva principalmente en: Perú, Ecuador, Colombia, Brasil Guayanas y Venezuela (Armando, 2016).

Es un cacao que, en base a la cata, es un cacao fuerte y amargo, ligeramente ácido; con mucho tanino y astringencia. Tiene una gran potencia aromática, pero sin finura ni diversidad de sabores. Sin embargo, tienen un excelente rendimiento, cosecha precoz, árbol vigoroso y resistente a las enfermedades. Al ser resistente pero poco aromático suele ser usado como mezcla mezclar y dar cuerpo al chocolate (Armando, 2016).

- **TRINITARIO**

Es un híbrido entre la variedad Criollo y Forastero, originario de la isla Trinidad nunca se ha encontrado en estado silvestre. Se expandió por América Latina y El Caribe y fue introducido en África alrededor de los años 1850. Tiene mejor aromático que el Forastero

y mejor resistencia que el Criollo. Representa actualmente entre el 10% al 15% de la producción mundial (Morales *et al.*, 2015 citado por Armando, 2016).

En la figura 9 se muestran tres variedades de cacao.



Figura 9. Variedades de cacao, A) Criollo, B) Forastero y C) Trinitario

Fuente: Armando, 2016.

2.1.6. PROCESAMIENTO DEL CACAO

La elaboración de los granos de cacao se realiza en dos etapas, conocidas como como preprocesamiento y procesamiento. El primero comprende los pasos que se realiza en el campo por el productor de cacao, como la cosecha, apertura de la fruta, extracción de las semillas con la pulpa, fermentación, el secado de las judías, y el almacenamiento. El proceso que se suele utilizar en la industria comprende la segunda fase y consiste en la obtención de los ingredientes utilizados para la fabricación del chocolate y sus derivados. En la elaboración del producto, el primer paso es la limpieza, para eliminan la mayoría de las impurezas (Beckett, 2009).

- **COSECHA**

Tarea que consiste en recolectar los frutos maduros del árbol de cacao. Teniendo en cuenta que se debe usar unas tijeras para evitar herir la rama o tronco principal. (Laura *et al.*, 2021).

En la figura 10 se muestra la forma correcta de realizar la cosecha de las mazorcas de cacao.

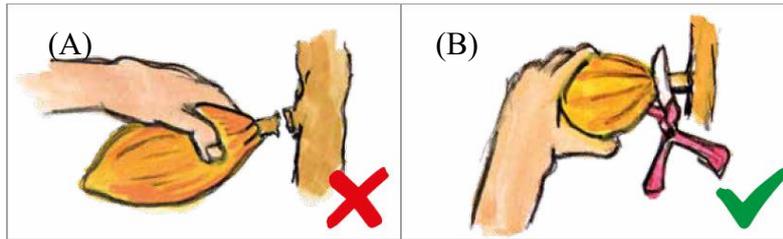


Figura 10. (A): Forma incorrecta de cosecha del cacao. (B): Forma correcta de cosecha de cacao

Fuente: Laura, *et al.* (2021)

- **QUIEBRA DE LAS MAZORCAS**

Es un proceso mecánico el cual consiste en abrir la cascara externa cortándola o quebrándola, con la finalidad de extraer las almendras con mucilago las cuales se encuentran dentro de la mazorca, teniendo cuidado de no dañar los granos (Laura *et al.*, 2021).

- **FERMENTACIÓN**

Luego de extraer los granos de la mazorca, estos deberán almacenarse en cajones de madera lo más pronto que sea posible. La fermentación de cacao tiene dos fases. La primera fase consiste en una fermentación anaeróbica, puesto que dentro de las cajas de madera se genera un ambiente sin oxígeno, por consiguiente, las levaduras silvestres comienzan a consumir los azúcares presentes en el mucilago convirtiendo a este en alcohol. La segunda etapa inicia 48 horas después de haberse iniciado la fase anaerobia, aquí se da el primer volteo o cambio de cajón, permitiendo que entre el oxígeno. En esta etapa se producen una fermentación acética, la cual es precursora de los aromas y del sabor. (Laura *et al.*, 2021)

Después del primer volteado (48 h) se realizan volteados o cambios de cajones cada 24 horas hasta culminar con el quinto día de fermentación. (Laura *et al.*, 2021)

Durante el proceso de fermentación, los granos de cacao sufren una serie de transformaciones que incluyen: la degradación de la pulpa por el microbio la muerte del cotiledón como resultado de los cambios en el pH y la temperatura, astringencia y reducción de la amargura debido a la pérdida de flavonoides, y la transformación de color debido a la formación de fosfatos. Todas estas transformaciones que ocurren dentro y fuera de los granos de cacao conducen a la acumulación de precursores de sabor

(Aikpokpodion & Dongo, 2010; Aprotosoai et al., 2015; Krysiak et al., 2013; Sarbu & Csutak, 2019).

En la figura 11 se explica gráfica y resumidamente el proceso de fermentación de las semillas de cacao.

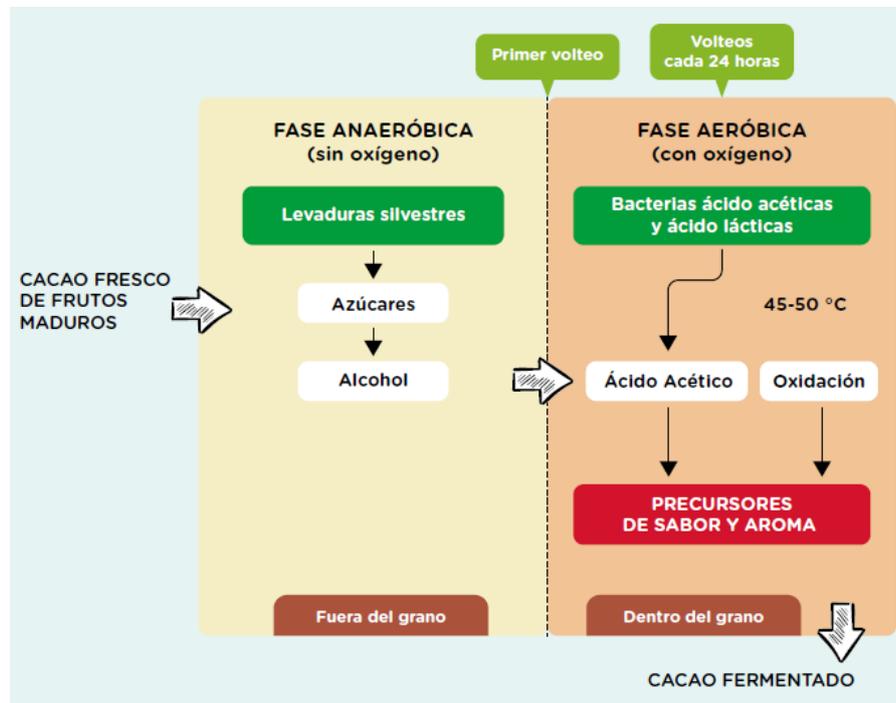


Figura 11. Etapas de la fermentación de los granos de cacao

Fuente: Laura, *et al.* (2021)

La fermentación espontánea de los granos de cacao implica la acumulación de cepas originadas en las manos de los trabajadores, la superficie de los frutos, las herramientas utilizadas en procesos de post-cosecha, insectos, hojas de plátano, bandejas o cajas utilizadas. Pero no todos estos microorganismos participarán en el proceso de fermentación (Camu *et al.*, 2007). Dentro de los frutos de cacao, las semillas están cubiertas por una pulpa mucilaginososa que contiene agua en un 80-90%, azúcares en un 10-15% principalmente sacarosa, pectina en un 1-1,5%, ácido cítrico en un 1%-3%, proteínas en un 0,5-0,7%, minerales Ca, K, Na, Mg, Fe, y Zn en un 8-10%, y vitamina C (Lefeber *et al.*, 2010; Schwan & Wheals, 2004). Los compuestos de la pulpa representan la base para el desarrollo de las cepas microbianas. Los azúcares y polisacáridos son fermentados principalmente por las levaduras. Durante este tiempo se produce etanol y ácidos orgánicos semanales para reducir las fluctuaciones de los valores de pH. También se sintetizan enzimas pectinolíticas para la maceración de la pulpa de cacao y la síntesis de precursores de sabor y aroma (alcoholes, ácidos grasos y ésteres grasos) (Illegghems *et*

al., 2012; Zhao & Fleet, 2014). Este paso, determina los cambios físicos y bioquímicos en el cotiledón. Así, las enzimas endógenas (invertasa, glicosidasas, proteasas y polifenol oxidasa) son activas produciendo moléculas precursoras que aseguran el desarrollo de los sabores y el color característicos de los granos de cacao bien fermentados (Afoakwa *et al.*, 2007). Después de 24-48h, la población de levadura disminuye principalmente debido a la alta concentración de etanol y el aumento de la temperatura. Las levaduras son eclipsadas por las bacterias ácido lácticas (LAB), que fermenta el azúcar y el ácido cítrico en ácido láctico, ácido acético y manitol (Illegheims *et al.*, 2015; Sarbu & Csutak, 2019).

- **SECADO**

Una vez acabada la fermentación la masa de cacao queda con una humedad aproximada de 65% la cual deberá ser reducida mediante el secado hasta un 7 a 7.5 %. El secado sirve para inactivar los microorganismos de la fermentación, evitar la infestación con otros microorganismos como es el moho y eliminar el ácido acético. El secado debe llevar a cabo de forma lenta los dos primeros días y luego acelerar el proceso hasta alcanzar la humedad deseada. La infraestructura deberá estar diseñada especialmente para el secado de cacao. Se debe considerar la existencia de un flujo de aire, que la temperatura sea elevada con un máximo de 65 °C. (Laura *et al.*, 2021).

En la figura 12, se presenta un gráfico en el que se visualiza de forma clara y resumida todas las etapas de cosecha, post cosecha y procesamiento del cacao.

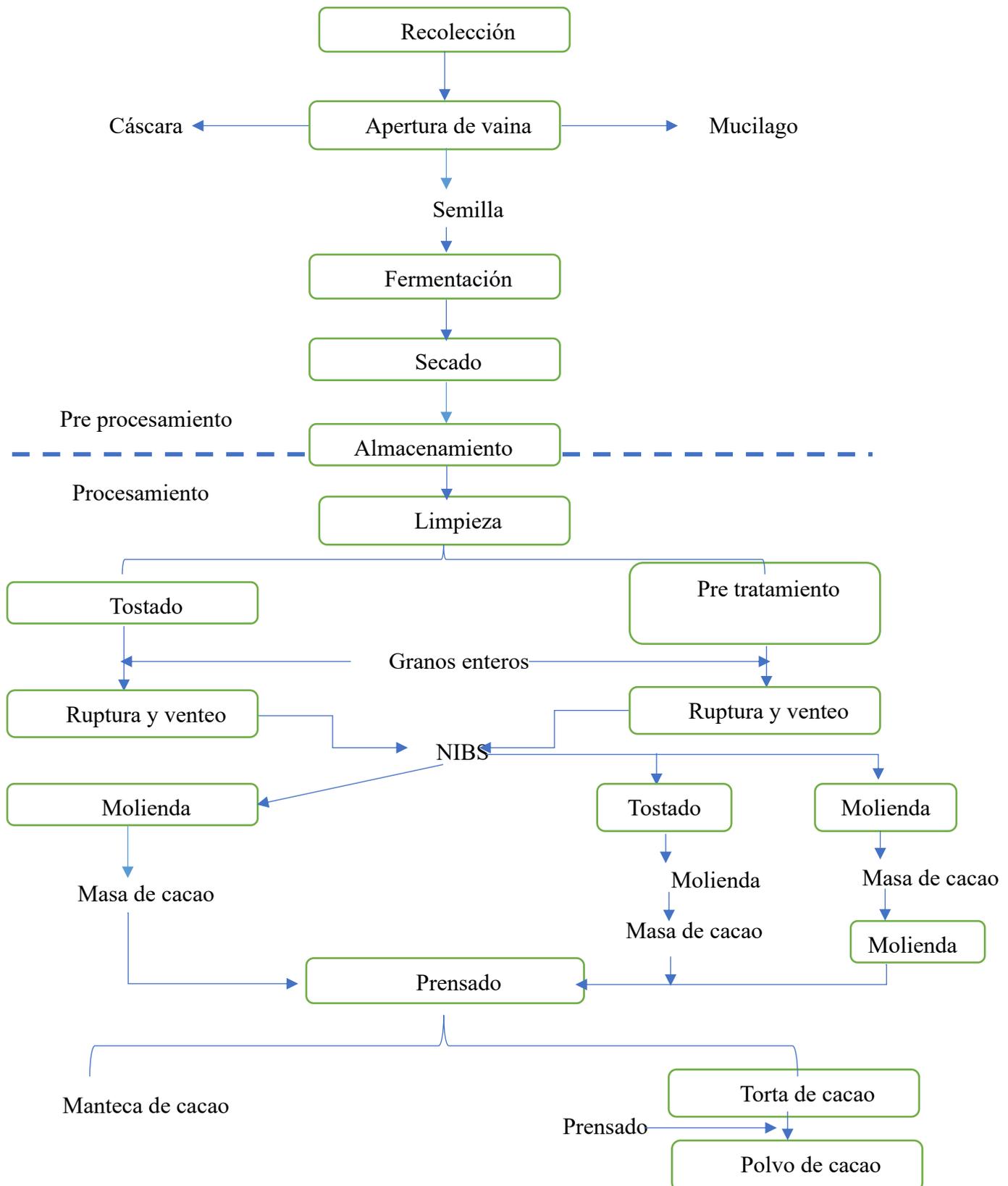


Figura 12. Procesamiento de cacao

Fuente: Adaptado de Okiyama *et al.* (2019)

2.1.7. PRODUCCIÓN DE CACAO

Los granos se transforman primero en licor de cacao y luego en mantequilla de cacao o cacao en polvo para producir chocolate, cosméticos y una variedad de alimentos. Los granos de cacao exportados, ya sean enteros o rotos, crudos o tostado, tenía un valor combinado de 8.600 millones de dólares en 2017 (Eghbal, 2018). Se espera que el mercado mundial de cacao en grano para crecer a una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) de 7,3% de 2019 a 2025 para llegar a 16,32 dólares de los EE.UU. mil millones de dólares (Grand View Research, 2019). En la tabla 4 se muestra el ranking de los diez principales productores de cacao en miles de toneladas, en el que el Perú se ubica en el puesto número ocho a nivel mundial y tercero en Latinoamérica.

Tabla 4. El cultivo y la producción de cacao en principales países del mundo

País	Producción (Toneladas)	% Total	Cultivo (Hectáreas)	% Total
Costa de Marfil	1,472,313	32.96	2,851,084	27.96
Ghana	858,720	19.23	1,683,765	16.51
Indonesia	656,817	14.71	1,701,351	16.69
Camerún	291,512	6.53	723,853	7.10
Nigeria	236,521	5.30	838,046	8.22
Brasil	213,843	4.79	720,053	7.06
Ecuador	177,551	3.98	454,257	4.45
Perú	107,922	2.42	125,580	1.23
República Dominicana	81,246	1.82	172,940	1.70
Colombia	56,163	1.26	165,844	1.63

Fuente: Campos-Vega *et al.* (2018)

2.2. MANTECA DE CACAO

Es aproximadamente la mitad del peso de la semilla de cacao. La anteca es parcialmente removido del licor de cacao por medio de prensado hidráulico aplicando presiones altas de hasta 450 kg / cm². Dependiendo del tiempo y ajuste de la prensa, los la tortas resultantes pueden tener un contenido de grasa del 10 al 24%. (Vega & Kwik,2012).

La manteca de cacao es una grasa sólida a temperatura ambiente la cual contiene una mezcla de grasas saturadas y monoinsaturadas, y en medida, grasas poliinsaturadas. La

grasa saturada predominante es el ácido esteárico. (C18: 0), seguido de ácido palmítico (C16: 0). Ácido oleico (C18: 1), es el siguiente ácido graso más abundante, y produce aproximadamente 1/3 del lípido composición. Dentro de las grasas poliinsaturadas se tiene principalmente linoleico (C18: 2 n6) y ácido linolénico (C18: 3 n3), lo que representan un 5% o menos de la grasa en la manteca de cacao. (Vega & Kwik, 2012).

2.2.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS DE LA MANTECA DE CACAO

La manteca de cacao es única entre las grasas vegetales por su composición y comportamiento de cristalización. Los triglicéridos representan el mayor porcentaje de composición de la manteca de cacao la cual está entre un (97–98%) con tres ácidos grasos principales: palmítico (C16); esteárico (C18); y oleico (C18: 1). (Saldaña et al., 2001).

Los ácidos grasos que componen la manteca de cacao son varios, dentro de los que destacan los ácidos palmíticos, oleicos y esteáricos los cuales se encuentran en mayor cantidad, mientras que los ácidos linoleico y palmitoleico se encuentran en una concentración menor (Lares *et al.*, 2013).

2.3. LIXIVIACIÓN

Lixiviación es como se denominada a la extracción sólido-líquido (SLE) el cual es un método usado para la separación. Tiene aplicaciones diversas aplicaciones como purificación, enriquecimiento, recuperación, eliminación y fraccionamiento. Consiste en usar un solvente líquido para extraer una sustancia soluble (solute) el cual se encuentra dentro de una matriz sólida. (Abidin *et al.*, 2013).

El principio de SLE es similar a la extracción líquido-líquido. Las fases sólida y líquida están en estrecho contacto, y los solutos del sólido se difunden hacia el líquido (Figura 13). El reparto de solutos entre las dos fases continúa hasta que se alcanza el equilibrio. El método de extracción tradicional utiliza tensión mecánica para la expresión del soluto triturando el sólido con una prensa de tornillo. Este método tiene un bajo rendimiento y el producto requiere un tratamiento posterior al procesamiento para lograr una calidad aceptable (Fulzele & Satdive, 2005).

El proceso SLE se rige por algunos factores, como las propiedades químicas y físicas del proceso, características del solvente, condiciones de operación, alimentación preparada y configuración del proceso. La selección de estos factores puede conducir a un mejor

rendimiento y calidad del producto (Abidin *et al.*, 2013). Las técnicas de extracción SLE se pueden clasificar en: (a) La extracción con solvente, (b) La extracción con alta presión (c) La extracción asistida por ultrasonidos y la (d) La extracción asistida por microondas (Fulzele & Satdive, 2005).

En la figura 13 se explica gráficamente el proceso de extracción con solvente.

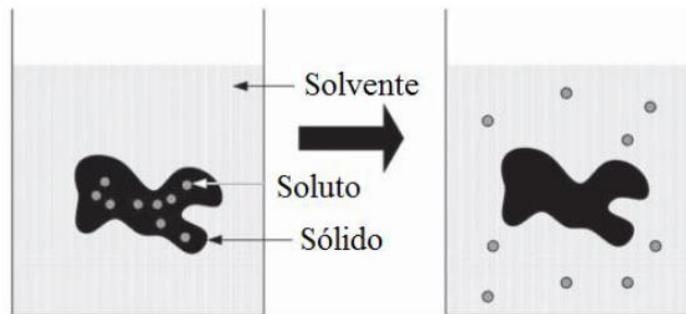


Figura 13. Esquema del proceso de extracción

Fuente: Fulzele & Satdive, 2005.

2.3.1. PRINCIPIOS DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

En el proceso de extracción sólido líquido o lixiviación se pueden considerar 3 etapas (Abidin *et al.*, 2013).

- Difusión del disolvente a través de los poros del sólido.
- Disolución del soluto en el solvente para formar mezcla, a medida que el solvente ingresa al sólido.
- Transferencia de la mezcla de nuevo al disolvente a granel.

El principio básico detrás del de extracción sólido líquido radica en la diferencia de concentración de soluto entre la matriz sólida y el solvente, que hace que las moléculas de soluto migren de un lado hacia el otro. Sin embargo, la difusión del soluto que reside dentro del sólido no es el único mecanismo involucrado en el proceso de extracción sólido líquido. (Geankoplis, 2003 citado por Abidin *et al.*, 2013).

2.3.2. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO (LIXIVIACIÓN)

• EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE

La extracción sólido líquido es una técnica, en la cual se agrega un solvente compatible a un sólido para extraer el soluto deseado de los sólidos. El sólido agotado (descarga sólida) se separará posteriormente de la mezcla (mezcla de disolvente y soluto) por

filtración o gravedad. El extracto de la miscela se purifica mediante evaporación, secado o destilación. (Abidin *et al.*, 2013).

- **EXTRACCIÓN A ALTA PRESIÓN**

Esta es una técnica alternativa para para la extracción de compuestos activos, principalmente en sustancias que son sensibles a altas temperaturas. La alta presión que puede llegar hasta los 1000 MPa causa algunos cambios en los sólidos, lo cual mejora la tasa de transferencia de masa. (Abidin *et al.*, 2013).

La extracción por alta presión más popular es la extracción de fluidos supercríticos. En la extracción por alta presión por medio de fluidos super críticos se usa solventes que están cerca de la fase supercrítica, es decir, gas densificado. En este estado, la densidad del solvente es muy baja, lo que facilitaría su penetración en la matriz solida durante el proceso de extracción. El dióxido de carbono es el solvente más utilizado para este tipo de extracción por su baja toxicidad, no es inflamable y está disponible en abundancia. (Abidin *et al.*, 2013).

- **EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDOS**

La extracción asistida por ultrasonidos (EAU) utiliza ondas ultrasónicas (18-20 kHz) para ayudar en el proceso de extracción rompiendo la estructura sólida. (Kardos, 2001 citado por Abidin *et al.*, 2013)

En la extracción asistida por ultrasonido se nota una mejora significativa con respecto a un método de extracción convencional como el soxhlet en un mismo tiempo de extracción (Spinella *et al.*, 2015).

Este aumento en el rendimiento de se atribuye a la cavitación acústica y efectos mecánicos. La cavitación acústica produce fractura de las paredes del celular en el de la matriz, lo cual facilita la penetración del solvente. El efecto mecánico causa agitación en el solvente, incrementando así el área superficial de contacto solvente–muestra permitiendo una mayor penetración dentro de la matriz (Zhang *et al.*, 2008 citado por Spinella *et al.*, 2015).

- **EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS**

En la extracción asistida por microondas se tienen muchas ventajas sobre otros métodos de extracción, donde se destacan el bajo uso de solventes y un menor tiempo de extracción. Numerosos experimentos han demostrado una mejora prometedora en

extracción asistida por microondas de sustancias de material vegetal. (Pan, 2001; Fulzele, 2005; Sayyar, 2009 citados por Abidin *et al.*, 2013)

Consiste en calentar al solvente que se encuentra en contacto con la muestra. Esto genera perturbación de los enlaces por puente de hidrógeno, como resultado de la rotación de dipolos por la radiación recibida por las moléculas y la consecuente migración de iones. Esto permite una fácil penetración del solvente hacia la matriz, y transporte al seno del líquido de los componentes a extraer (Jain T, Colthup NB, 2013 citado por Salomon, 2013).

- **EXTRACCIÓN DE CALOR POR REFLUJO**

En la extracción a reflujo se hace hervir el material en el solvente y se hace uso de una superficie fría para condensar los vapores de disolvente ascendentes. Estos vapores del solvente regresan en estado líquido en el recipiente y continúan ser calentándose sin que el solvente se evapore. El extracto continúa concentrándose en el solvente, posteriormente se reduce a esencia. (Abidin *et al.*, 2013).

- **EXTRACCIÓN SOXHLET**

Es una de los métodos más usados debido a su uso sencillo y sin supervisión, pero tiene algunas contras, como cuando se usan solventes orgánicos peligrosos e inflamables, emisiones potenciales de compuestos tóxicos, solventes más costosos y mayor pureza, procedimientos laboriosos, y requieren mucho tiempo. Este el método se lleva a cabo en tres pasos; (1) el peso de la muestra, (2) peso del matraz vacío (3) peso del matraz con extracción final (Fakirov, 2006, López-Bascón y de Castro, 2020 citado por Hewavitharana *et al.*, 2020).

2.3.3. SOLVENTES

El hexano es un solvente permitido por la (FDA) y la Comisión Europea. Sin embargo, está clasificado como peligroso. (Castejón *et al.*, 2017 citado por Martínez &Santana, 2019) Este solvente puede causar problemas ambientales. Se ha identificado que pueden reaccionar con otros contaminantes formando ozono y oxidantes fotoquímicos, por pérdidas directas de disolventes a la atmósfera. Se necesitan solventes alternativos para reducir estas emisiones, así como los posibles rastros de hexano en los aceites comestibles después del refinado. (Baümler *et al.*, 2016 citado por Martínez &Santana, 2019)

El etanol es uno de los solventes alternativos al hexano que vienen siendo estudiados por su economía y por su fácil producción (fermentación a partir de una amplia variedad de materiales biológicos utilizando una tecnología simple). El etanol, puede etiquetarse como "natural" o "bio-renovable". Solventes como el etanol, son reconocidos como no tóxicos o seguros, y a pesar a su inflamabilidad, son menos riesgos de manipular que el hexano. (Baümler *et al.*, 2016 citado por Martínez &Santana, 2019).

El etanol podría ser un solvente alternativo para ser tomado en cuenta debido a su baja toxicidad y su carácter renovable. Una gran cantidad de solventes se han utilizado como solventes de extracción en el método soxhlet, el uso de eter de petróleo se recomienda por ser este un solvente no polar que será selectivo al extraer lípidos no polares como los triglicéridos (Gonzales *et al.*, 2010).

Los solventes más comunes se clasifican en cuatro categorías: altamente peligrosos (1), peligrosos (2), problemáticos (3) y recomendados o preferidos (4). Este ordenamiento promueve el uso de solventes recomendados, como el etanol y el agua; y evitar los disolventes peligrosos. El etanol se clasifica como solvente de clase 3 y el hexano como clase de 2, donde éste último, presenta una toxicidad inherente y deben estar limitados en productos farmacéuticos, mientras que solventes pertenecientes a la clase 3 poseen un menor riesgo para la salud humana. (Sampaio *et al.*, 2018 citado por Martínez &Santana, 2019)

2.4. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

La región del infrarrojo comprende el intervalo espectral de 780 a 10^6 nm. Según el fenómeno espectroscópico que provoca la absorción de energía por parte de la materia, podemos dividir esta región en tres zonas: (1) Infrarrojo cercano de 780-2500 nm (NIR), (2) Medio de 2500- $4 \cdot 10^4$ nm (MIR) y (3) Lejano de $4 \cdot 10^4$ - 10^6 nm (FIR). La absorción en el infrarrojo cercano se debe a los armónicos y bandas de combinación de las vibraciones fundamentales de las moléculas, mientras que en el infrarrojo medio proviene de las vibraciones moleculares fundamentales. En el infrarrojo lejano se debe a las rotaciones moleculares (Peguero, 2010).

Una molécula absorbe radiación infrarroja cuando experimenta un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o rotación. Si esto ocurre, el campo eléctrico asociado a la radiación puede interaccionar con el campo

eléctrico originado por la fluctuación del momento dipolar de la molécula. Si la frecuencia de radiación iguala a la frecuencia de vibración natural de la molécula, ocurre una transferencia neta de energía que da lugar a un cambio en la amplitud de la vibración molecular y como consecuencia se absorbe la radiación (Peguero, 2010).

Según Skoog *et al.* (2015), la espectroscopia de absorción infrarroja permite identificar compuestos orgánicos e inorgánicos puros porque, a excepción de las moléculas homonucleares, todas las especies químicas moleculares absorben radiación infrarroja.

2.4.1. ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO MEDIO

La región del infrarrojo medio comprende longitudes de onda correspondientes a las vibraciones rotacionales fundamentales (de baja energía hasta el primer estado excitado) mientras que sobretonos (excitación normal de vibración al segundo estado excitado o superiores) o bandas de combinación de la transición fundamental (excitación de dos o más modos de vibración) se asocian con la región del infrarrojo cercano. Por su parte, el infrarrojo lejano aparece bandas de adsorción correspondientes a torsión a baja frecuencia y rotación interna y vibraciones. Para que ocurra es necesario que las moléculas sean polares o que se produzca una variación del momento dipolar de las mismas como consecuencias de cambios vibracional o rotacional al interaccionar con la radiación infrarroja (Ríos *et al.*, 2012).

Según Nielsen (2008), son las regiones del infrarrojo cercana y media del espectro, las más útiles para el análisis cuantitativo y cualitativo de los alimentos.

Los movimientos vibracionales de las moléculas se distinguen por la forma de los enlaces al desplazarse, conociéndose como vibraciones de tensión o flexión (Figura 14). Las tensiones provocan un estiramiento o estrechamiento del enlace y las flexiones generan una deformación del enlace. Si el número de átomos que forman un enlace es de tres o más, los movimientos pueden ser simétricos si los enlaces se desplazan en direcciones contrarias, y asimétricos, cuando el movimiento es en la misma dirección o sentido (Barraza *et al.*, 2013)

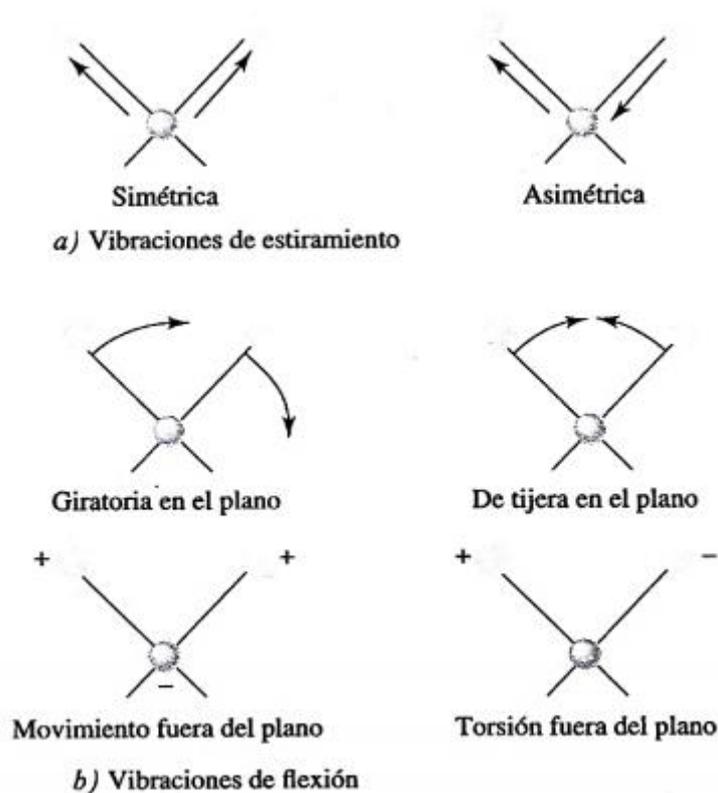


Figura 14. Tipos de vibraciones moleculares por absorción infrarroja

FUENTE: Skoog *et al.*, 2015.

Las bandas de amida I, II y III son sensibles a la conformación adoptada por la cadena principal de la proteína. Las estructuras secundarias de proteínas se pueden deducir de sus espectros FTIR desde las correlaciones entre la banda de amida I ($1700-1600\text{ cm}^{-1}$) y los niveles de α -hélice, β -hoja (Dousseau & Pézolet, 1990; citado por Dufour, 2009). Aunque los enlaces peptídicos son esencialmente responsables de la absorbancia de las proteínas, las cadenas laterales de varios aminoácidos (ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina, asparagina, lisina, arginina y tirosina) pueden contribuir a la señal en la región amida II (Goormaghtigh *et al.* 1990, citado por Dufour, 2009). La Figura 15 muestra las principales bandas de absorción características de las proteínas. La Tabla 5 indica las frecuencias y tipo de vibraciones correspondientes a las bandas relacionadas a la proteína (enlaces amida).

Cabe considerar que, el agua absorbe también algunas regiones correspondientes a las proteínas y ello puede afectar la interpretación de los espectros. El agua es un absorbente de infrarrojo muy fuerte con bandas prominentes centradas en 3360 cm^{-1}

(banda de estiramiento H-O), a 2130 cm^{-1} (banda de asociación de agua) y a 1640 cm^{-1} (la vibración de flexión H-O-H) (Safar *et al.*, 1994; citado por Dufour, 2009).

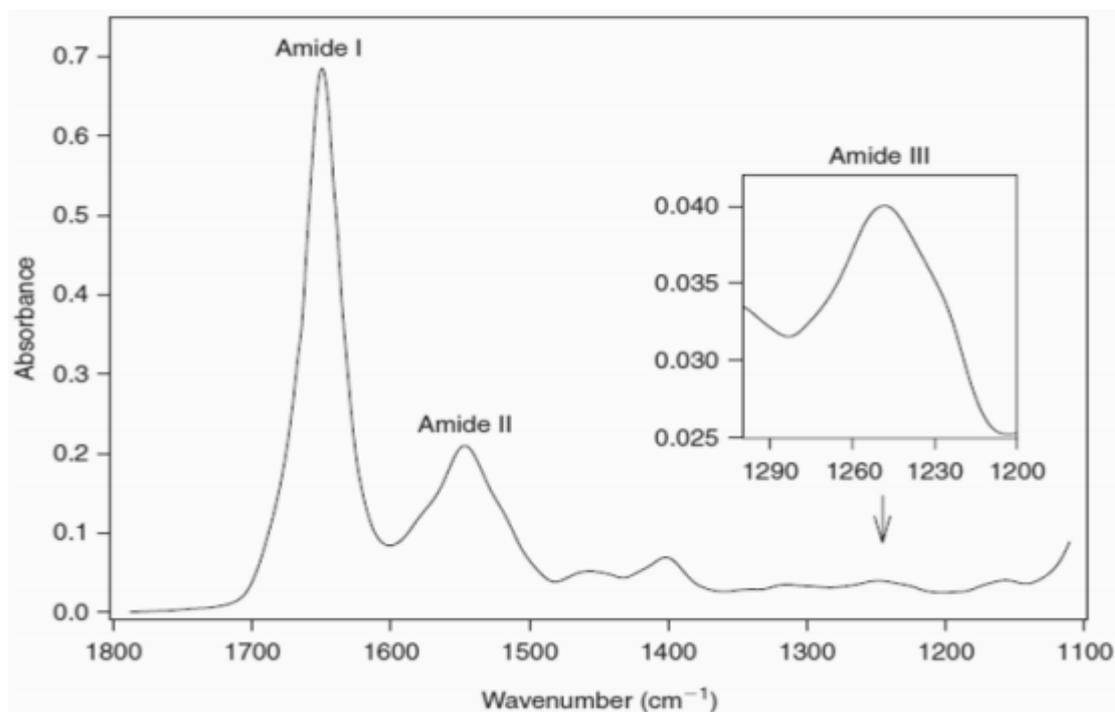


Figura 15. Espectro del infrarrojo medio de las bandas amida I, II y III

FUENTE: Dufour, 2009.

Los carbohidratos son otras macromoléculas importantes que se encuentran en los productos alimenticios. Los espectros MIR de carbohidratos muestran cuatro zonas principales de absorbancia: aproximadamente 3220 cm^{-1} , una banda intensa resultante del estiramiento de la glucosa en enlace O - H; el enlace C - H muestra bandas de flexión asimétricas y simétricas a 1470 cm^{-1} y 1380 cm^{-1} , respectivamente; bandas por las vibraciones C - O y C - C se observan a aproximadamente 1100 cm^{-1} y en la región cercana a 920 cm^{-1} dos vibraciones de estiramiento asimétrico C-O-C, correspondiente a α y β anómeros (Dufour, 2009).

Para los lípidos, las regiones espectrales de $3.000 - 2.800\text{ cm}^{-1}$, $1.800 - 1.400\text{ cm}^{-1}$ y $1.200 - 500\text{ cm}^{-1}$ presentan en general un contenido de ácidos y grasas, remarcando la región de $1.800 - 1.650\text{ cm}^{-1}$ (C = O) y $1.650 - 1.380\text{ cm}^{-1}$ (C-H) (Oliveira *et al.*, 2016).

Tabla 5. Bandas de las amidas en la región del infrarrojo medio

BANDA	TIPO DE VIBRACIÓN	FRECUENCIA (cm⁻¹)	
Amida I	Estiramiento C-O Estiramiento C-N Flexión C-C-N	~ 1655	1690 - 1600
Amida II	Agitación N-H Estiramiento C-N Agitación C-O Estiramiento C-C Estiramiento N-C	~ 1560	1575 - 1480
Amida III	Agitación N-H Estiramiento C-C Estiramiento C-N Agitación C-O	~ 1300	1301 - 1229
Amida A	Estiramiento N-H	~ 3300	~ 3300
Amida B	N-H		~ 3100
Amida V	Torsión C-N Agitación N-H	~ 660	800 - 640

FUENTE: Dufour (2009); Kong & Yu (2007) y Sjahfirdil *et al.* (2012)

Los carbohidratos son otras macromoléculas importantes que se encuentran en los productos alimenticios. Los espectros MIR de carbohidratos muestran cuatro zonas principales de absorbancia: aproximadamente 3220 cm⁻¹, una banda intensa resultante del estiramiento de la glucosa en enlace O - H; el enlace C - H muestra bandas de flexión asimétricas y simétricas a 1470 cm⁻¹ y 1380 cm⁻¹, respectivamente; bandas por las vibraciones C - O y C - C se observan a aproximadamente 1100 cm⁻¹ y en la región cercana a 920 cm⁻¹ dos vibraciones de estiramiento asimétrico C-O-C, correspondiente a α y β anómeros (Dufour, 2009).

Para los lípidos, las regiones espectrales de 3.000 - 2.800 cm⁻¹, 1.800 - 1.400 cm⁻¹ y 1.200- 500 cm⁻¹ presentan en general un contenido de ácidos y grasas, remarcando la región de 1.800-1.650 cm⁻¹ (C = O) y 1.650-1.380 cm⁻¹ (C-H) (Oliveira *et al.*, 2016).

Los alcoholes y fenoles producen bandas infrarrojas características debido al estiramiento O - H y estiramiento C = O, que son ambos sensibles al enlace de hidrógeno. Para los fenoles la banda de estiramiento O - H, aparece entre 3550 - 3500 cm^{-1} (Stuart, 2004). Respecto a ello, Türker & Huck (2017) reportan a la misma banda entre 3500 - 3200 cm^{-1} . Por otro lado, también está la banda de 1640 cm^{-1} , que puede ser debido a la vibración de estiramiento del enlace C = C de los flavonoides y la deformación del anillo aromático (Oliveira *et al.*, 2016).

En la región comprendida entre los 3.600 a 3.000 cm^{-1} , se observan absorbancias características de tensiones del enlace O - H (hidroxilo) y de N - H (amino), grupos funcionales que son muy variables en el momento del análisis espectral, debido a ello, a la cantidad de agua y a posibles enlaces y puentes de hidrógeno generados por resonancia, muchas veces se descarta esta región para el análisis (Oliveira *et al.*, 2016).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIA PRIMA

Para realizar esta presente investigación se utilizó 3 Kg de granos de cacao seco y fermentado de los campos de cultivo del Distrito de Bellavista, provincia de Jaén en el Departamento de Cajamarca – Perú.

3.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.2.1. MATERIALES

- Pipetas 10 y 20 mL
- Vasos precipitados de 50 y 100 mL
- Crisoles
- Placas Petri
- Espátulas
- Tubos de ensayo
- Pinzas
- Tubos de plástico de 15 y 50 mL
- Tubos de vidrio de 25 mL.
- Tapas herméticas
- Probetas graduadas de 50 y 100 mL
- Pipetas Pasteur
- Bisturí
- Mortero
- Papel aluminio
- Bolsas de plástico 100 mL
- Soporte de tubos (Gradilla).

3.2.2. EQUIPOS

- Cromatógrafo de gases (Shimadzu, modelo GC-2010, Japón), equipado con un detector de ionización de llama (FID) y un muestreador automático Shimadzu AOC-20Si. Una columna de sílice SP Rt™ - 2560 (100 m x 0,25 mm con 0,25 µm film).

- Sistema FTIR (PerkinElmer, Waltham, MA, EE. UU.) Con un área de muestreo de 2 mm de diámetro (200 μm de área activa). Interfaz Diamond Crystal con reflectancia total atenuada (ATR).
- Balanza Analítica, Marca: Precisa, Modelo: 220 A, Serie: 321LX, Rango MÁX. 220 gr. MIN. 0,01 gr.e = 0,001 gr.
- Centrífuga, Marca Gretmed, Modelo GT 119-100T.
- Estufa, Marca: POL - EKO APARATURA, Modelo: SLW115
- Baño maría (temperatura máxima 100°C y mínima 40°C)
- Agitador de tubos BOECO Vortex V Plus.
- Mufla: Marca THERMOLYNE, Serie 347034984, Procedencia Americana.
- Extractor Soxhlet, TOPT.SOFHLET, FOSS, modelo: Soxtec TM 2043.
- Kjeldahl: Marca Foss, de procedencia americana, modelo Kjelttec 8100.

3.2.3. REACTIVOS

- Éter de petróleo
- Etanol 96%
- Solución saturada de NaCl 0.1N
- Hidróxido de sodio 0.5N
- Isooctano 99 % de pureza
- Helio 99% de pureza
- Oxígeno 96% de pureza
- Solución de NaOH 0.5N en metanol
- Solución de Trifloruro de Boro BF₃ 12% v/v en metanol
- Solución de NaCl saturado.

3.3. ANÁLISIS

A) Los granos de cacao en polvo serán caracterizados proximalmente:

3.3.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

- **DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD:** Método gravimétrico en una estufa, según el método AOAC 931,04.
- **DETERMINACIÓN DE CENIZAS:** Determinado por incineración en mufla, según el método AOAC 972.15.

- **DETERMINACIÓN DE GRASAS:** Determinado por el método Soxhlet usando éter de petróleo como solvente según el método UNE 64021 1970.
- **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS:** Método Kjeldahl, según la metodología UNE-EN ISO 5983-2 Parte 2 (2006).
- **DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS TOTALES:** El porcentaje de carbohidratos se determinó por diferencia a partir del contenido de humedad, ceniza, proteína y grasa.

B) La manteca de cacao extraída (máximo rendimiento) se caracterizará cuantitativa y cualitativamente:

3.3.2. DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

El análisis de las muestras de aceites se llevó a cabo por cromatografía de gases en un cromatógrafo SHIMADZU GC2010, (Figura 16 –A) equipado con un detector de ionización por llama y un auto inyector AOC-20I utilizando helio como gas de arrastre. Mediante la derivatización de la manteca de cacao se procederá obtener los esteres metílicos de ácidos grasos (FAMES), AOAC 991.39. Brevemente, se tomarán muestras de 0.025 g en tubos de vidrio (volumen máximo de 20 mL con tapa) que se disolvieran en 1.5 mL de NaOH (0.5N en metanol), posteriormente serán cubiertos con nitrógeno y se colocaran en baño maría por 5 minutos a 100°C. Se añadirán 2 mL de Trifloruro de Boro (BF₃) al 12% en metanol, nuevamente se cubrirán con nitrógeno y se colocaran en baño maría a 100°C por 30 minutos, luego se enfriará y se añadirá 5mL de solución de NaCl saturado y 1mL de isooctano, bajo agitación luego se extraerá la fase superficial (incolore) al vial en un volumen máximo de 1.5 mL. Finalmente, los viales se cubrirán nuevamente con nitrógeno y se almacenarán en refrigeración para su posterior inyección en el auto-muestreador del equipo cromatográfico y la cuantificación de los FAMES proporcionalmente calculados como el contenido total de ácidos grasos. La temperatura del horno donde está ubicada la columna de separación será de 100°C una velocidad de 1.20 mL/min, el gas de arrastre utilizado será helio bajo el uso de un flujo constante de 124 mL/min a una temperatura de 225°C y una presión de 261.5 kPa. El equipo está contiene un detector de índice de flama (FID) cuya temperatura de trabajo será de 250°C.

❖ Preparación de reactivos

- NaOH 0.5N en metanol: Se disolvió 4.99g de NaOH en metanol en una fiola de 250 mL.

- Solución de Trifloruro de Boro (BF₃) 12% v/v en metanol: Se mezcló 150ml de BF₃ más 100 mL de metanol en una fiola de 250 mL.
- Solución de NaCl saturado: Se procedió a disolver 40g de NaCl en 100 mL de agua destilada en una fiola.

❖ **Cálculo y reporte de resultados:**

El contenido de ácidos grasos se determinó en porcentaje de acuerdo al área de la curva formada en el tiempo de retención de los FAMES con respecto al área total de los FAMES. Mediante la técnica de estándar externo, se inyectará una solución estándar de esteres metílicos de ácidos grasos que contendrá un número de 37 tipos de esteres característicos de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans que se identificaran mediante el método AOAC 991.39.

3.3.3. DETERMINACIÓN DEL ESPECTRO INFRARROJO

Los espectros fueron obtenidos usando un Sistema FTIR (PerkinElmer, Waltham, MA, EE. UU.) con un área de muestreo de reflectancia total atenuada (ATR) de 2 mm de diámetro (200 μm de área activa) (Figura 16-B). Aproximadamente se dispondrá una mínima cantidad de muestra (0.5 mL).

El espectro fue escaneado a temperatura ambiente en un rango de número de onda de 4000 – 650 cm^{-1} , con una resolución 4 cm^{-1} y 32 scans. Las muestras se midieron previa señal de fondo obtenida sin muestra (Background). Debido a que la manteca de cacao es altamente lipofílica la limpieza de la superficie del ATR se realizó con un solvente orgánico como acetona al 95% y se secó con papel tissue.

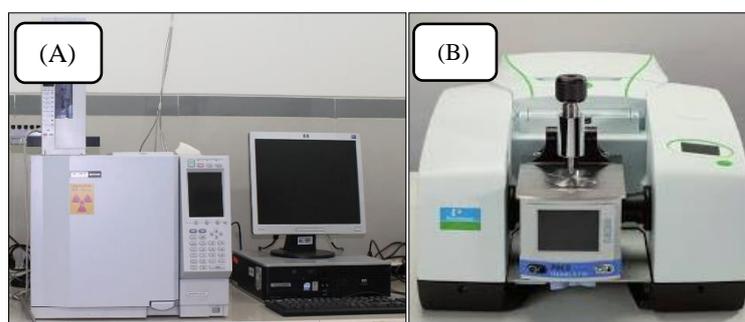


Figura 16. Equipo de cromatografía de gases (A) y espectrómetro infrarrojo (B)

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. DIAGRAMA DE FLUJO

En la figura 17, se muestra el flujograma de operaciones de la investigación.

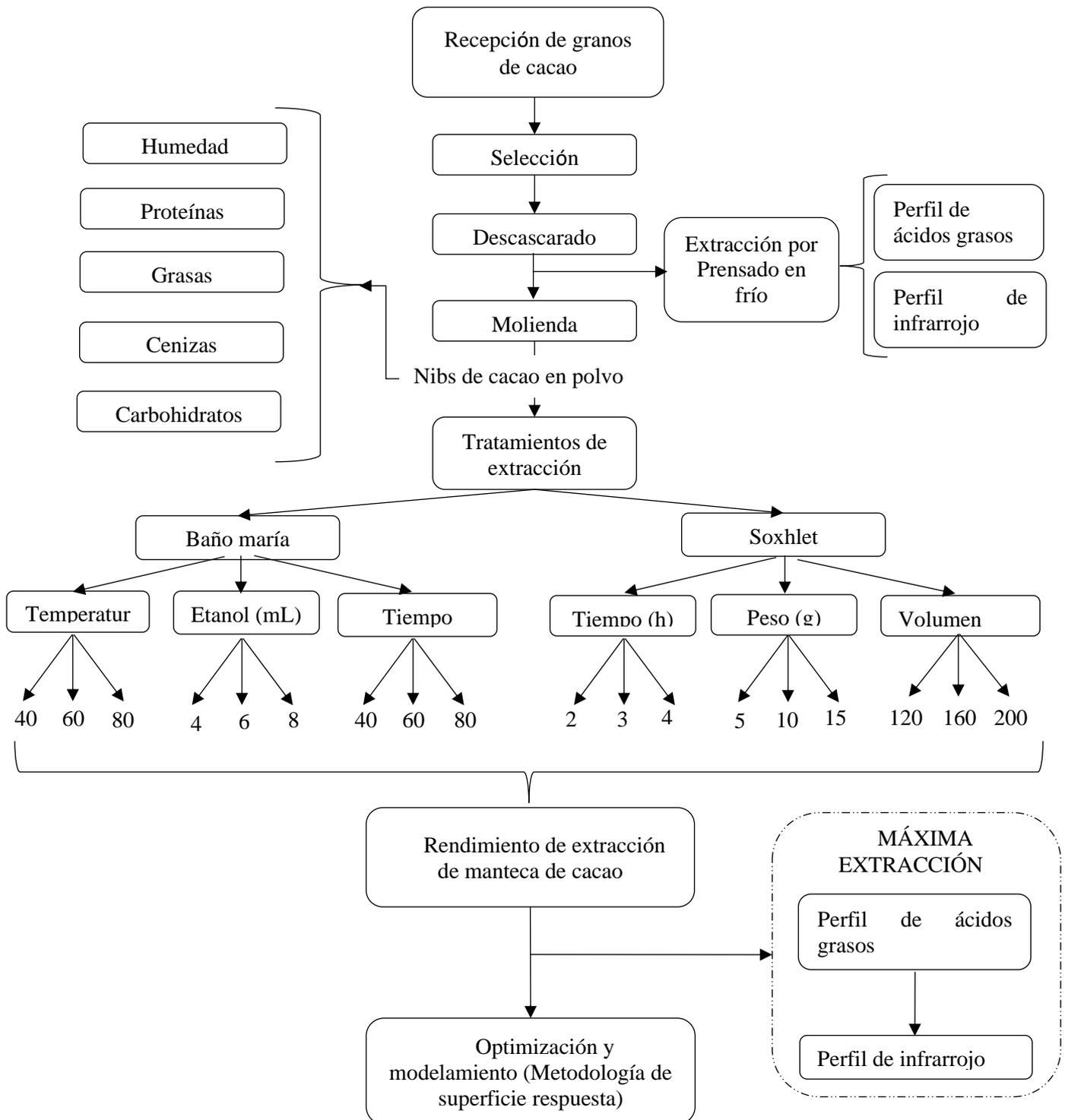


Figura 17. Flujograma de operaciones y procedimientos

3.4.2. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

a) Recepción de la Materia Prima

Los granos de cacao a trabajar fueron obtenidos de los fondos de cacao procedentes de la provincia de Jaén, Región Cajamarca – Perú, los que estuvieron empacados en bolsas de polietileno de alta densidad.

b) Selección

Esta etapa tiene como finalidad eliminar los granos de cacao defectuosos (dañados físicamente, manchas o daños biológicos) y materia extraña (piedras, cascara, hojas) los cuales no son aptos para el estudio.

c) Descascarado

En esta etapa se eliminó la cascara para obtener y estudiar solamente el nib, en cuya estructura se encuentra la manteca de cacao en niveles superiores (~50%). Esta tarea se realizó haciendo uso de un bisturí el cual permitió abrir la cascara.

d) Descripción de la extracción por prensado en frío

La extracción de manteca de cacao por prensado en frío se realizó tomando una muestra de 100 gramos de nibs de cacao (entero), los cuales a su vez fueron previamente calentados hasta los 80 grados centígrados por 5 minutos. Posteriormente fue sometida a compresión mecánica accionada por un pistón tal como se indica en la tabla 6. Cada tratamiento se realizó por triplicado. Finalmente, al tratamiento de máxima extracción se estudió su perfil cromatográfico e infrarrojo.

Tabla 6. Diseño para la extracción de manteca de cacao por prensado en frío.

N° MUESTRA	PRESIÓN (US-TONS)	PESO DE NIBS DE CACAO ENTERO (g)
1	8	100
2	10	100
3	12	100
4	15	100

e) Molienda

Los nibs de cacao obtenidos luego del proceso de descascarado fueron triturados en un mortero. Posteriormente fueron tamizados en una malla N° 40 con abertura de 0.420 mm, obteniendo polvo de cacao con un tamaño de partícula uniforme. Con los nibs molidos es cuando se realizó la caracterización proximal de humedad, cenizas, grasas, proteínas y carbohidratos.

f) Descripción de la extracción Sólido - líquido por baño maría

El Diseño de Box Behnken, presentado en la Tabla 7, fue utilizado para estudiar los efectos de las variables temperatura, volumen de etanol y tiempo, sobre el rendimiento de extracción de manteca de cacao obtenido en baño maría (% g/g). Para todos los tratamientos se utilizó un peso de 2g de muestra de nib de cacao en polvo.

Tabla 7. Diseño experimental para la extracción de manteca de cacao por baño maría, variando la temperatura (T), volumen de solvente etanol (Et) y tiempo (t)

N°	VARIABLES INDEPENDIENTES					
	REAL			CODIFICADO		
	T (°C)	Et (mL)	t (min)	T (°C)	Et (mL)	t (min)
1	40	8	60	-1.0	1.0	0.0
2	40	4	60	-1.0	-1.0	0.0
3	40	6	40	-1.0	0.0	-1.0
4	40	6	80	-1.0	0.0	1.0
5	60	8	40	0.0	1.0	-1.0
6	60	4	80	0.0	-1.0	1.0
7	60	6	60	0.0	0.0	0.0
8	60	6	60	0.0	0.0	0.0
9	60	6	60	0.0	0.0	0.0
10	60	4	40	0.0	-1.0	-1.0
11	60	8	80	0.0	1.0	1.0
12	80	4	60	1.0	-1.0	0.0
13	80	8	60	1.0	1.0	0.0
14	80	6	40	1.0	0.0	-1.0
15	80	6	80	1.0	0.0	1.0

g) Descripción de la extracción Sólido-líquido por Soxhlet utilizando etanol como solvente

El Diseño de Box – Behnken, presentado en la Tabla 8, fue utilizado para estudiar los efectos de las variables tiempo de extracción, peso del nib de cacao en polvo y volumen de etanol, sobre el rendimiento de extracción de manteca de cacao obtenido (% g/g). El tratamiento óptimo (máxima extracción) se realizó su estudio de perfil de ácidos grasos e infrarrojo.

Tabla 8. Diseño experimental para la extracción de manteca de cacao por Soxhlet, variando el tiempo (t), peso del nib de cacao en polvo (P) y volumen de etanol (Et)

N°	VARIABLES INDEPENDIENTES					
	REAL			CODIFICADO		
	t (h)	P (g)	Et (mL)	t (h)	P (g)	Et (mL)
1	2	5	160	-1.0	-1.0	0.0
2	4	5	160	1.0	-1.0	0.0
3	2	15	160	-1.0	1.0	0.0
4	4	15	160	1.0	1.0	0.0
5	2	10	120	-1.0	0.0	-1.0
6	4	10	120	1.0	0.0	-1.0
7	2	10	200	-1.0	0.0	1.0
8	4	10	200	1.0	0.0	1.0
9	3	5	120	0.0	-1.0	-1.0
10	3	15	120	0.0	1.0	-1.0
11	3	5	200	0.0	-1.0	1.0
12	3	15	200	0.0	1.0	1.0
13	3	10	160	0.0	0.0	0.0
14	3	10	160	0.0	0.0	0.0
15	3	10	160	0.0	0.0	0.0

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL GRANO DE CACAO

Los nibs de cacao procedente de la ciudad de Jaén fueron caracterizados mediante el análisis proximal (Tabla 8), respecto al contenido de humedad esta corresponde a la humedad de los granos secos y fermentados cuyos valores son inferiores al 7% como en el caso del cacao CCN-51 (Colección Castro Naranjal 51) con 6.72% y ICS-6 (Imperial Collage Selection 6) con 6.76% (Chire-Fajardo *et al.*, 2019), aquellos granos tostados pueden llegar hasta humedades inferiores al 3% (Quelal-Vásconez *et al.*, 2020). El grano de cacao trinitario procedente de Camerún presenta características similares a las presentadas en este estudio, por ejemplo, Tonfack *et al.* (2018) indica la presencia de humedad 5.9 %, carbohidratos 27.7%, cenizas 7.3% y proteína cruda 17.9%. Así mismo, Adeyeye *et al.* (2010) reportó valores los granos de cacaos trinitarios de Nigeria con proteína cruda de 15.2% en el caso del cacao fermentado y 13.6% para cacao no fermentado, estos valores no distaron de los datos presentados en este estudio.

Respecto al contenido de manteca en granos de cacao procedentes del Perú, Chire-Fajardo *et al.* (2019) ha reportado 40.67% para el CCN-51 y 42.73% para ICS-6, estos valores fueron ligeramente inferiores al contenido de cacao obtenido en la presente investigación. Ostrowska-Ligeza *et al.* (2021) también caracterizó la composición química de los granos de cacao tostados y sin tostar de Perú (Criollo) y Ecuador (Forastero), indicando que para ambos tipos, la grasa fue el principal nutriente (> 40%), seguida de los carbohidratos (29-35%). y proteínas (14,1-14,8%).

Tabla 9. Caracterización de los nibs de cacao

Composición (base seca)	Valor (%)*
Humedad	6.556 ± 0.005
Grasas	46.283 ± 0.751
Proteína cruda	16.440 ± 0.575
Cenizas	4.167 ± 0.006
Carbohidratos totales	26.557 ± 0.005

*Media de 3 repeticiones ± SD

4.2. EXTRACCIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE MANTECA DE CACAO

4.2.1. EXTRACCIÓN POR PRESIÓN HIDRÁULICA.

En la Figura 18 se presenta la extracción de manteca de cacao utilizando diferentes presiones hidráulicas (US-TONS), la máxima extracción aplicando una presión de 15 US-TONS generó un rendimiento de 35.030 g de manteca de cacao por cada 100 g de nib de cacao (35.03%), estos rendimientos son similares a los 32– 34% obtenidos por Indarti (2007) quien aplicó presiones hidráulicas entre 30 – 40 MPa usando temperaturas de 50 – 90°C. El prensado hidráulico a pesar de ser un método amigable con el ambiente y de costos relativamente inferiores en comparación a los métodos sofisticados como la extracción supercrítica, en este trabajo no permitió la extracción completa de la manteca de los nibs de cacao (46.283%, reportado en la Tabla 9). Chatib *et al.* (2015) demostró que la extracción de manteca de cacao con presiones hidráulicas (8.05 MPa) pueden generar un rendimiento de 51.57 % usando un incremento de la temperatura en la materia prima de hasta 130 °C. Anoraga *et al.* (2019) confirmó que la temperatura (70°C) en el proceso de extracción por prensado con un tiempo de 30 min tiene una influencia significativa en el rendimiento de obtención de manteca (40-47%), además indicó que el rendimiento de la manteca de cacao depende de factores como de humedad de los granos de cacao (tostado de cacao), tamaño de las partículas y el tiempo de prensado. Sin embargo, Rahma *et al.* (2017) señala que la influencia de la temperatura durante el proceso de extracción puede provocar cambios sobre el color (brillo) del cacao en polvo. Widayat (2013) indica que el prensado hidráulico sirve para extraer la manteca residual del cacao en polvo, ya que estos contenidos después de una primera extracción siguen siendo grandes. Se necesitan prensas cuya presión sean superiores a 40 MPa para eliminar este tipo de grasa y cumplir con los estándares para el polvo de cacao. Además, la extracción de grasa de cacao también puede utilizar solventes para reducir la grasa que no ha podido ser liberada por las prensas (grasa residual).

Por lo tanto, podemos inferir que el rendimiento de manteca de cacao usando la extracción hidráulica puede incrementarse con un tostado previo y la adaptación de un calefactor cilíndrico que permita controlar la temperatura de extracción, evidentemente este acondicionamiento podría presentar desventajas respecto al costo y al cambio de propiedades fisicoquímicas de la manteca.

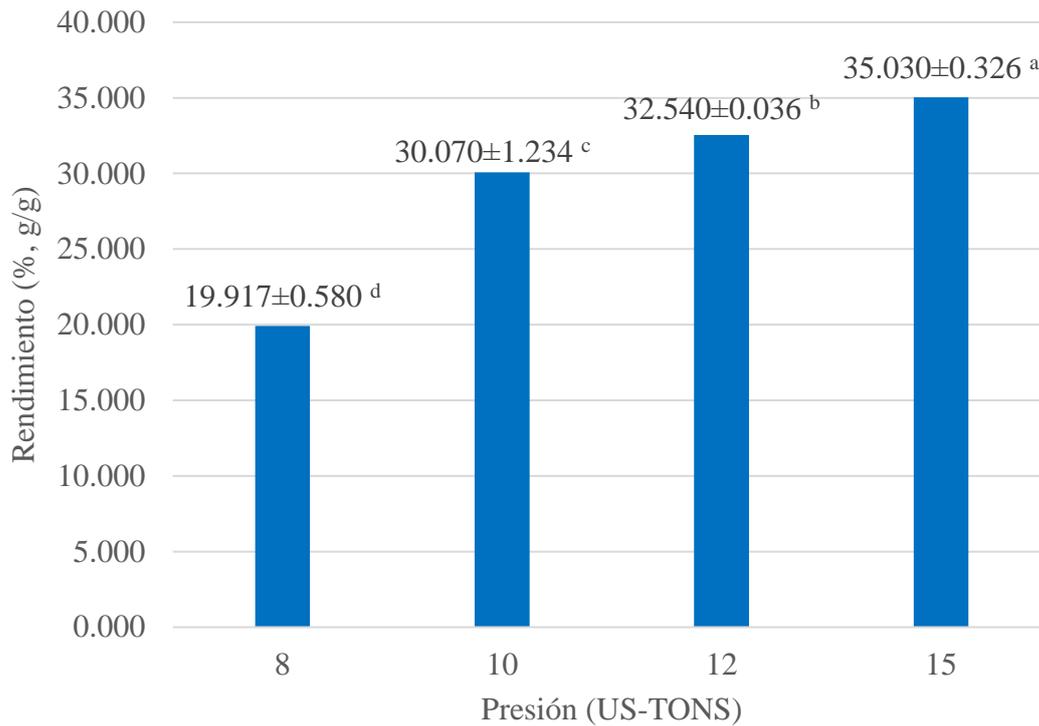


Figura 18. Rendimiento de extracción de manteca de cacao por presión hidráulica.

4.2.2. EXTRACCIÓN EN BAÑO MARÍA UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE

Los rendimientos de la extracción de manteca de cacao usando un baño maría como fuente de energía se presentan en la Tabla 10. Los tratamientos a partir del diseño de Box Behnken indican que los rendimientos de extracción se encontraron entre 3.089% (40 °C, 4 mL y 60 min) y 11.594% (60 °C, 8 mL y 80 min), los cuales son inferiores al contenido de manteca en nibs de cacao, los que se encuentran aproximadamente entre el 50% del peso seco (Bucheli *et al.*, 2001; De Souza *et al.*, 2018), estos resultados permitieron deducir que el método de extracción en baño maría no fue adecuado para extraer la máxima cantidad de manteca haciendo uso del etanol.

Probablemente, al adaptar la técnica en tubos de ensayo con un volumen de solvente máximo de 15 mL y bajo un peso constante de 2 g de nib de cacao molido no permitieron obtener los rendimientos esperados. Sin embargo, se puede notar que un incremento de la temperatura (80°C) así como del solvente (8 mL) permitió incrementar el rendimiento.

Tabla 10. Resultados experimentales del rendimiento de la extracción de manteca de cacao en baño maría, variando la temperatura (T), Solvente Etanol (Et) y tiempo (t)

N°	VARIABLES INDEPENDIENTES						VARIABLE
	REAL			CODIFICADO			RESPUESTA
	T (°C)	Et (mL)	t (min)	T (°C)	Et (mL)	t (min)	Rendimiento (%, g/g)
1	40	8	60	-1.0	1.0	0.0	9.531
2	40	4	60	-1.0	-1.0	0.0	3.089
3	40	6	40	-1.0	0.0	-1.0	5.240
4	40	6	80	-1.0	0.0	1.0	6.440
5	60	8	40	0.0	1.0	-1.0	8.487
6	60	4	80	0.0	-1.0	1.0	5.436
7	60	6	60	0.0	0.0	0.0	4.948
8	60	6	60	0.0	0.0	0.0	5.572
9	60	6	60	0.0	0.0	0.0	6.524
10	60	4	40	0.0	-1.0	-1.0	8.238
11	60	8	80	0.0	1.0	1.0	11.594
12	80	4	60	1.0	-1.0	0.0	5.586
13	80	8	60	1.0	1.0	0.0	9.045
14	80	6	40	1.0	0.0	-1.0	7.677
15	80	6	80	1.0	0.0	1.0	5.580

Respecto a la influencia de los factores: temperatura, solvente y tiempo, así como sus interacciones pueden explicarse con el Diagrama de Pareto (Figura 19). Se puede diferenciar al factor solvente y las interacciones: solvente*solvente, solvente*tiempo y tiempo*tiempo, como significativos con un 95% de confiabilidad ($p < 0.05$), en otras palabras, es probable que tengan una adición significativa al modelo planteado porque los cambios en sus niveles altos y bajos de los valores en negrita presentados en la Tabla 11 están relacionados con cambios en la variable respuesta (rendimiento de extracción de manteca de cacao). Otra forma de explicar esta significancia se encuentra en el valor crítico de Pareto (Val crit), gráficamente si el valor del efecto estandarizado de los factores fue superior a Val Crit = 2.571, se consideró como significativo. Los demás

factores fueron considerados como no significativos, en otras palabras, su participación no es relevante sobre la extracción de la manteca de cacao con la técnica de baño maría.

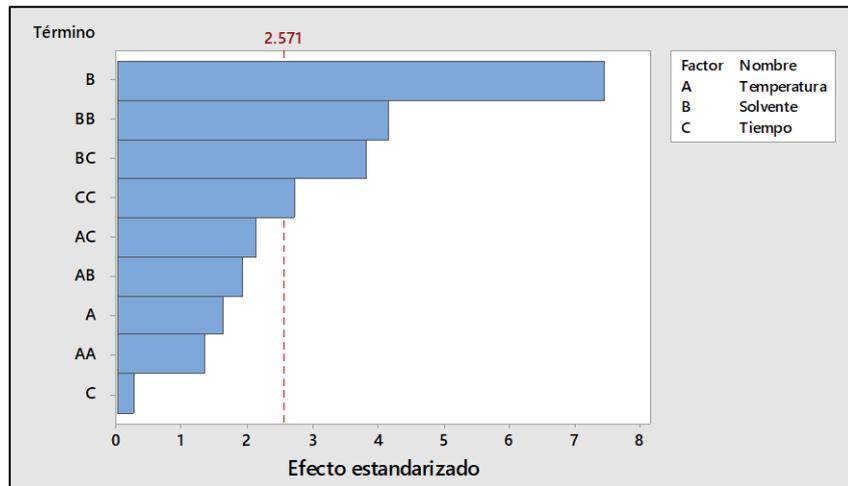


Figura 19. Diagrama de Pareto para los factores del método de extracción por baño maría.

Tabla 11. Análisis de Varianza para los factores de extracción en baño maría.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p*
Modelo	9	64.2827	7.1425	11.94	0.007
Lineal	3	34.8999	11.6333	19.45	0.003
A: Temperatura	1	1.6101	1.6101	2.69	0.162
B: Solvente	1	33.2464	33.2464	55.59	0.001
C: Tiempo	1	0.0435	0.0435	0.07	0.798
AA	1	1.0624	1.0624	1.78	0.240
BB	1	10.2745	10.2745	17.18	0.009
CC	1	4.3832	4.3832	7.33	0.042
AB	1	2.2235	2.2235	3.72	0.112
AC	1	2.7181	2.7181	4.55	0.086
BC	1	8.7266	8.7266	14.59	0.012
Error puro	2	1.2603	0.6302		
Total	14	67.2727			

*Valor $p < 0.05$ es significativo (95% de confiabilidad).

El Diagrama de Pareto desprende de la interpretación del análisis de varianza (ANOVA) presentado en la Tabla 11, donde se aprecia que el modelo de superficie respuesta generado para la extracción de manteca de cacao por el método de baño maría fue significativo, ya que el valor $p = 0.007$ fue menor al valor $p = 0.05$.

El coeficiente de determinación para el modelo ajustado fue de $R^2=0.9556$ con una desviación estándar (DS) de 0.773 para el rendimiento de extracción de manteca de cacao, indicando que el modelo obtenido explica el 95.56% de la variación de los datos observados para el rendimiento de extracción de manteca de cacao.

Por lo tanto, el modelo codificado ajustado para la respuesta rendimiento de extracción de manteca de cacao con baño maría considerando a la Temperatura (X_1), Solvente (X_2), Tiempo (X_3) y Rendimiento (Y) es:

$$Y = 17.60 + 0.419 X_1 - 5.08 X_2 - 0.428 X_2 - 0.001334 X_1^2 - 0.417 X_2^2 - 0.00272 X_3^2 - 0.01864 X_1 X_2 - 0.002061 X_1 X_3 + 0.03693 X_2 X_3.$$

El tratamiento de extracción en baño maría no demostró ser eficiente como una nueva metodología de extracción de la manteca de cacao a nivel industrial, sin embargo, es posible que esta extracción a nivel de laboratorio permita hacer estudios de caracterización como el perfil de ácidos grasos presentes en la manteca de cacao (análisis infrarrojo y cromatográfico) donde se requieren mínimas cantidades de muestras.

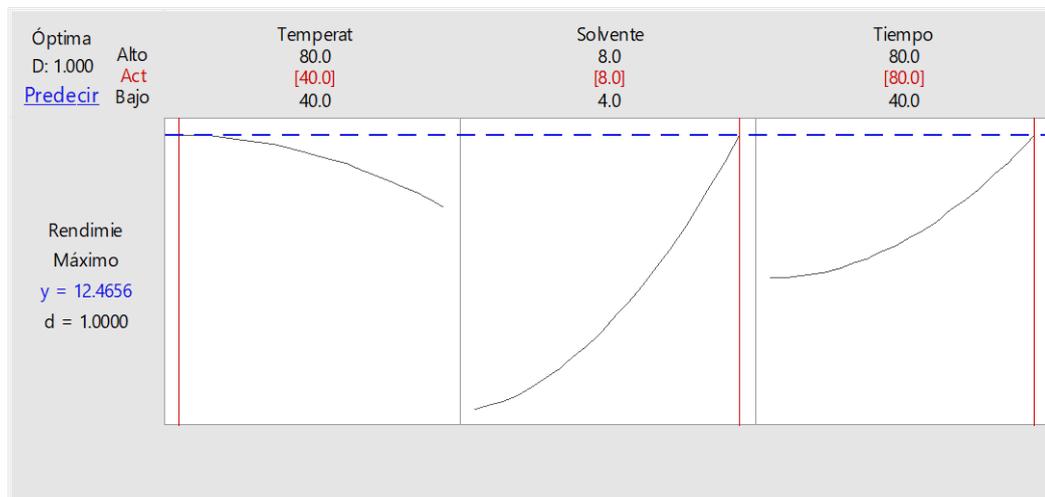


Figura 20. Parámetros óptimos y líneas de contorno en la extracción de manteca de cacao con baño maría

La optimización de los factores se obtuvo mediante el análisis de superficie respuesta y las líneas de contorno, obteniéndose un rendimiento de 12.46% para una temperatura de 40°C, solvente 8 mL y tiempo 80 min (Figura 20).

En la Figura 21, se muestra las superficies de respuesta generadas a través del modelo propuesto para el rendimiento de extracción de manteca de cacao. La figura 21-a muestra

que el mayor rendimiento de extracción de manteca de cacao se obtiene utilizando un alto volumen de solvente a lo largo de un rango de temperatura de 40 a 80°C, siendo el volumen de solvente lo que influye más. La Figura 21-b no brindó información útil para encontrar puntos máximos de extracción y la Figura 21-c indicó que el mayor rendimiento de extracción de manteca de cacao se obtiene utilizando un alto volumen de solvente y mayor tiempo, confirmando que la interacción de estos dos factores es significativa.

Con respecto a las variables tiempo y temperatura, Okiyama *et al.* (2019) menciona que extrajo grasa de la cáscara del grano de cacao mediante el uso de etanol presurizado, señala que un aumento de temperatura influye positivamente en la composición de la grasa en términos de tocoferol, pero influyó negativamente en la solubilidad de las proteínas en la harina desgrasada obtenida a 90 °C. Kamimura *et al.* (2017) señala que el incremento de temperatura de 40 a 70°C incrementa los rendimientos de extracción de aceite en salvado de arroz utilizando etanol como disolvente. Otra forma de incrementar los rendimientos de extracción en cacao puede lograrse con el tostado de las semillas, por ejemplo: Mounjouenpou *et al.* (2018) al combinar el efecto de la temperatura (110 – 197°C) y tiempo de tostado (10 – 57 min) en granos de cacao utilizando un diseño de compuesto central determinaron un efecto positivo sobre el rendimiento de extracción de la manteca de cacao.

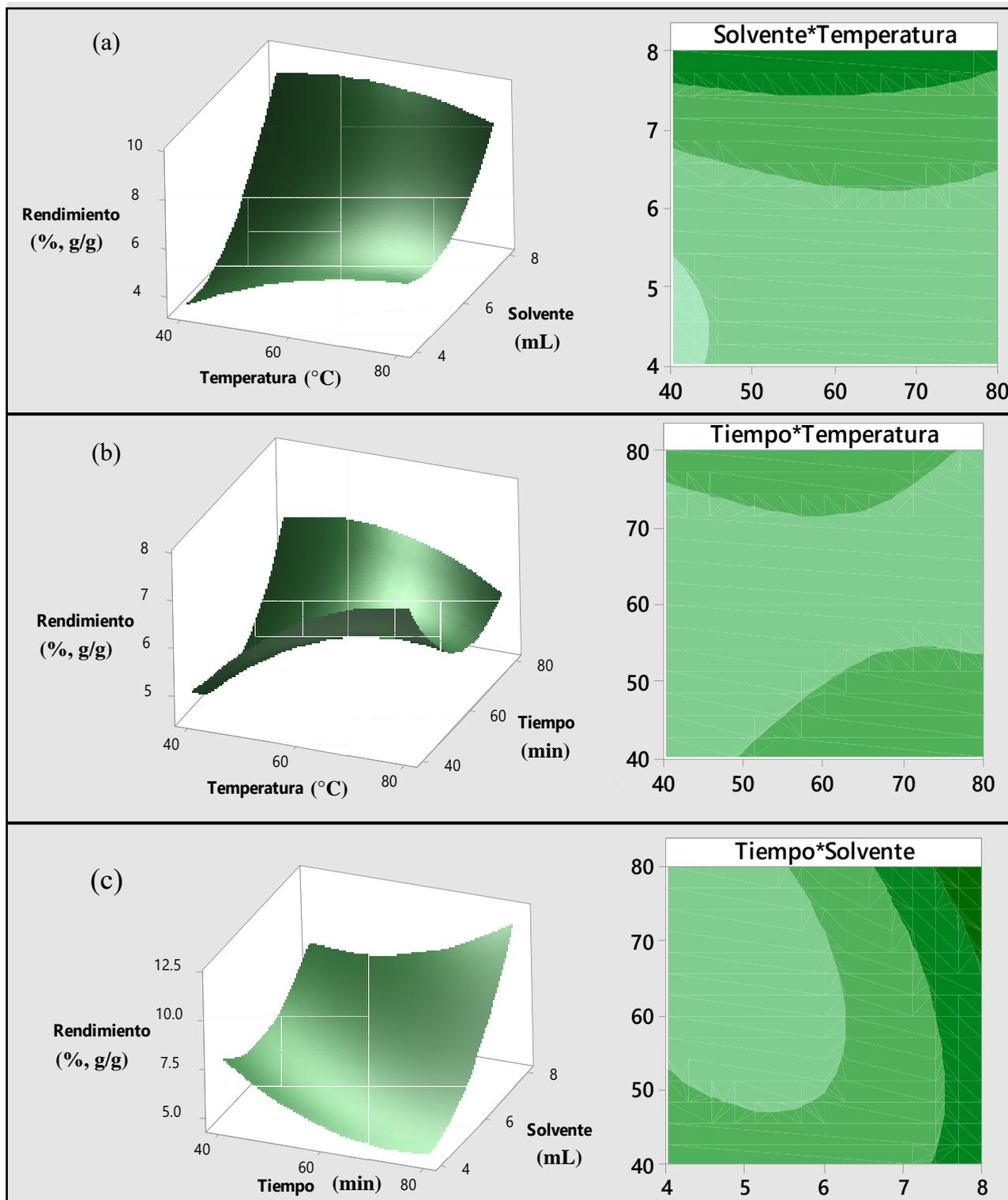


Figura 21. Gráfico de superficie respuesta y líneas de contorno para el rendimiento de extracción de manteca de cacao en baño maría con la interacción de factores (a) temperatura vs solvente, (b) temperatura vs tiempo y (c) tiempo vs solvente.

4.2.3. EXTRACCIÓN EN SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE

Los diferentes rendimientos de extracción de manteca en nibs de cacao utilizando el método de extracción soxhlet se presentan en la Tabla 12, a diferencia de la extracción por prensado hidráulico y en baño maría, los rendimientos fueron superiores. El diseño de Box – Behnken permitió obtener rendimientos en el rango de 23.74% (2 h, 5 g y 160 mL) – 46.16% (4 h, 15 g y 160 mL), cercanos al ~50% mencionados por Bucheli et al. (2011) y De Souza *et al.* (2018).

Tabla 12. Resultados experimentales del rendimiento de la extracción de manteca de cacao en Soxhlet, variando el tiempo (t), peso (P) y volumen de etanol (Et)

N°	VARIABLES INDEPENDIENTES						VARIABLE
	REAL			CODIFICADO			RESPUESTA
	t (h)	P (g)	Et (mL)	t (h)	P (g)	Et (mL)	Rendimiento (%, g/g)
1	2	5	160	-1.0	-1.0	0.0	23.740
2	4	5	160	1.0	-1.0	0.0	39.040
3	2	15	160	-1.0	1.0	0.0	34.073
4	4	15	160	1.0	1.0	0.0	46.160
5	2	10	120	-1.0	0.0	-1.0	30.420
6	4	10	120	1.0	0.0	-1.0	41.940
7	2	10	200	-1.0	0.0	1.0	28.860
8	4	10	200	1.0	0.0	1.0	33.400
9	3	5	120	0.0	-1.0	-1.0	36.160
10	3	15	120	0.0	1.0	-1.0	41.187
11	3	5	200	0.0	-1.0	1.0	36.000
12	3	15	200	0.0	1.0	1.0	44.947
13	3	10	160	0.0	0.0	0.0	44.600
14	3	10	160	0.0	0.0	0.0	43.200
15	3	10	160	0.0	0.0	0.0	42.730

El diagrama de Pareto se puede apreciar en la Figura 22 donde indica que los factores tiempo, peso y la interacción tiempo*tiempo fueron significativos en la extracción de la manteca de cacao con un 95% de confiabilidad ($p < 0.05$), en otras palabras, es probable

que tengan una adición significativa al modelo planteado porque los cambios en sus niveles altos y bajos de los valores en negrita presentados en la Tabla 13 están relacionados con cambios en la variable respuesta (rendimiento de extracción de manteca de cacao). Otra forma de explicar esta significancia se encuentra en el valor crítico de Pareto (Val crit), gráficamente si el valor del efecto estandarizado de los factores fue superior a Val Crit = 2.571, se consideró como significativo. Los demás factores fueron considerados como no significativos, en otras palabras, su participación no es relevante sobre la extracción de la manteca de cacao en Soxhlet utilizando etanol como solvente.

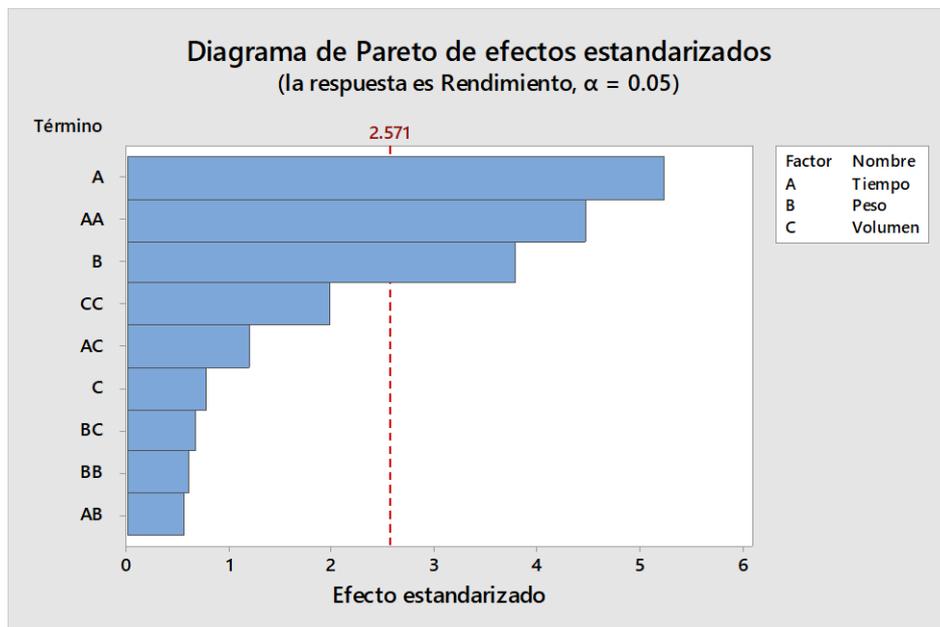


Figura 22. Diagrama de Pareto para los factores del método de extracción por Soxhlet

Así mismo, el ANOVA presentado en la Tabla 13, indica que el modelo de superficie respuesta resultó ser significativo ya que el valor de $p=0.020$ fue menor al valor de $p=0.05$.

El rendimiento de extracción de manteca de cacao optimizado se puede visualizar en la Figura 23, se ha encontrado un rendimiento óptimo de 47.317% para un tiempo de 3.35 h, peso de 15 g y un volumen de solvente de 157.17 mL, las líneas de contorno confirmaron las curvaturas de los gráficos de superficie para la optimización de la extracción.

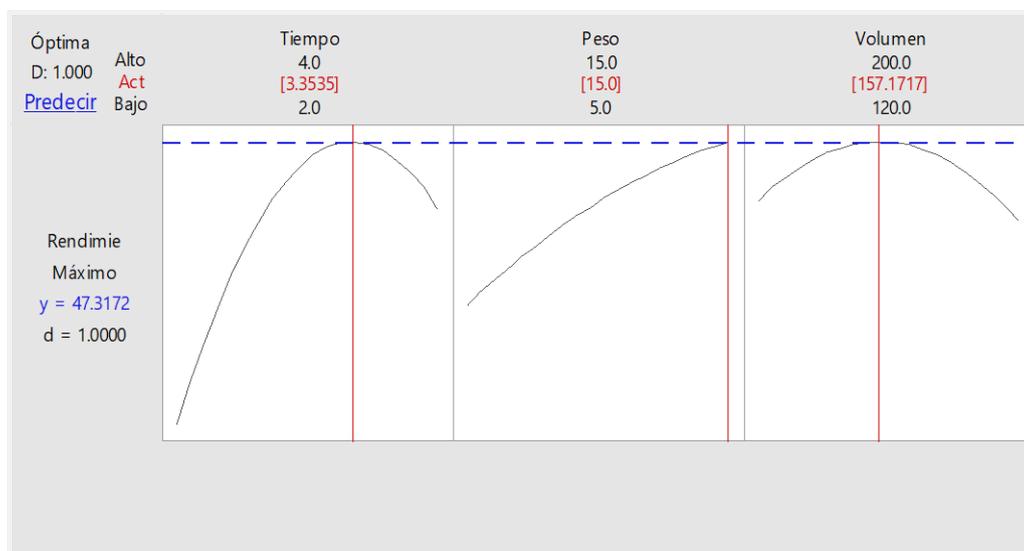


Figura 23. Parámetros óptimos y líneas de contorno en la extracción de manteca de cacao con Soxhlet

Tabla 13. Análisis de Varianza para los factores de extracción en soxhlet

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	579.141	64.349	7.50	0.020
Lineal	3	364.687	121.562	14.17	0.007
A: Tiempo	1	235.952	235.952	27.50	0.003
B: Peso	1	123.454	123.454	14.39	0.013
C: Volumen	1	5.281	5.281	0.62	0.468
AA	1	172.621	172.621	20.12	0.006
BB	1	3.120	3.120	0.36	0.573
CC	1	33.620	33.620	3.92	0.105
AB	1	2.581	2.581	0.30	0.607
AC	1	12.180	12.180	1.42	0.287
BC	1	3.842	3.842	0.45	0.533
Error puro	2	1.893	0.946		
Total	14	622.046			

*Valor $p < 0.05$ es significativo (95% de confiabilidad).

El coeficiente de determinación para el modelo ajustado fue de $R^2=0.9310$ con una desviación estándar (DS) de 2.923 para el rendimiento de extracción de manteca de cacao, indicando que el modelo obtenido explica el 93.10% de la variación de los datos observados para el rendimiento de extracción de manteca de cacao.

Por lo tanto, el modelo codificado ajustado para la respuesta rendimiento de extracción de manteca de cacao con soxhlet utilizando etanol como solvente considerando a los factores de: Tiempo (X_1), Peso (X_2), Volumen (X_3) es:

$$Y = -108.8 + 55.0 X_1 + 1.22 X_2 + 0.665 X_3 - 6.84 X_1^2 - 0.0368 X_2^2 - 0.001886 X_3^2 - 0.161 X_1 X_2 - 0.0436 X_1 X_3 + 0.00490 X_2 X_3.$$

El tratamiento de extracción soxhlet utilizando como solvente predominante al etanol demostró ser eficiente en la extracción de la manteca de nibs de cacao. Por lo tanto, este estudio brinda como principal contribución que el uso de este solvente “etanol”, también generalmente reconocido como seguro (GRAS), puede sustituir a los solventes clásicos como el hexano y éter de petróleo fácilmente a nivel de laboratorio. Por otro lado, este estudio puede escalar a estudios de extracción de la manteca de cacao a nivel industrial.

En la figura 24, se muestra las superficies de respuesta generadas a través del modelo propuesto para el rendimiento de extracción de manteca de cacao. La figura 24-a muestra que el mayor rendimiento de extracción de manteca de cacao se obtiene utilizando un alto peso de nibs de cacao en polvo a lo largo de un tiempo de 3 a 4 horas, confirmando que ambos factores son significativos en el rendimiento de extracción de manteca de cacao. La figura 24-b, presenta claramente una curvatura en el rendimiento de extracción a lo largo del incremento del volumen del etanol en el rango de 120 a 200 mL y un mayor tiempo, siendo el tiempo lo que influye más. La figura 24-c indica que el mayor rendimiento se obtiene a lo largo del incremento en el rango del 140 a 180 mL de etanol y un alto peso, siendo el peso el de mayor influencia significativa.

La extracción de manteca de cacao con etanol presento una pigmentación oscura, debido a la polaridad del solvente etanol que arrastro otros componentes como pigmentos del cacao, esto es confirmado por Villa & Benalcázar (2015) que indica que el etanol al ser un buen solvente de extracción, su selectividad hacia los lípidos es relativamente baja comparada con otros solventes, por lo que, en extracciones con etanol, pueden aparecer otros componentes como azúcares, pigmentos o aminoácidos. Además, mediante una

mezcla hexano-etanol, es posible extraer mas del 98% de los ácidos grasos presentes en la biomasa.

El rendimiento óptimo de la extracción de manteca de cacao en este estudio (47.317%) puede compararse a los rendimientos de extracción de manteca de cacao que se han realizado por diversos métodos utilizando otros solventes. Saldaña *et al.* (2002) indica que en los granos de cacao se puede obtener un contenido de manteca ~50% usando el método soxhlet y solventes tradicionales, además indicó que la totalidad de esta manteca se puede extraer utilizando el método de fluidos supercríticos usando mezclas de CO₂ y etano (solventes aceptables y no contaminantes para productos alimenticios).

La extracción de la grasa de cacao puede presentar otros factores que podrían ser relevantes aparte de los presentados en este estudio, Asep *et al.* (2008) determinó que el rendimiento de la extracción de la manteca de cacao utilizando por ejemplo la tecnología de fluido supercríticos se incrementó significativamente con la reducción en el tamaño de las partículas, así mismo el mayor rendimiento de manteca se obtuvo utilizando granos de cacao sin fermentar y tostado durante un tiempo 35 min y una temperatura de 150°C.

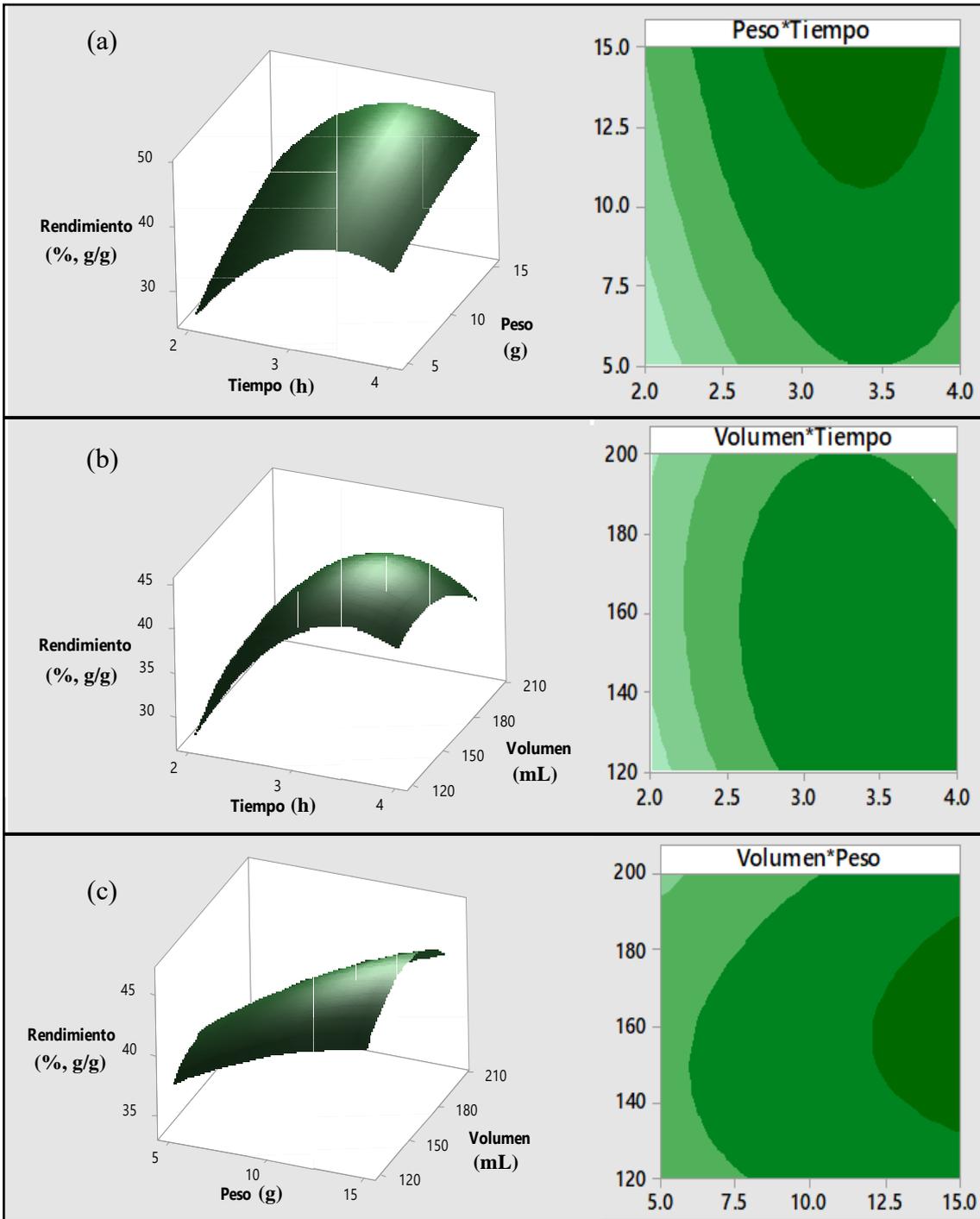


Figura 24. Gráfico de superficie respuesta y líneas de contorno para el rendimiento de extracción de manteca de cacao en soxhlet con la interacción de factores (a) temperatura vs solvente, (b) temperatura vs tiempo y (c) tiempo vs solvente.

4.3. MODELAMIENTO MÉTODO DE EXTRACCIÓN

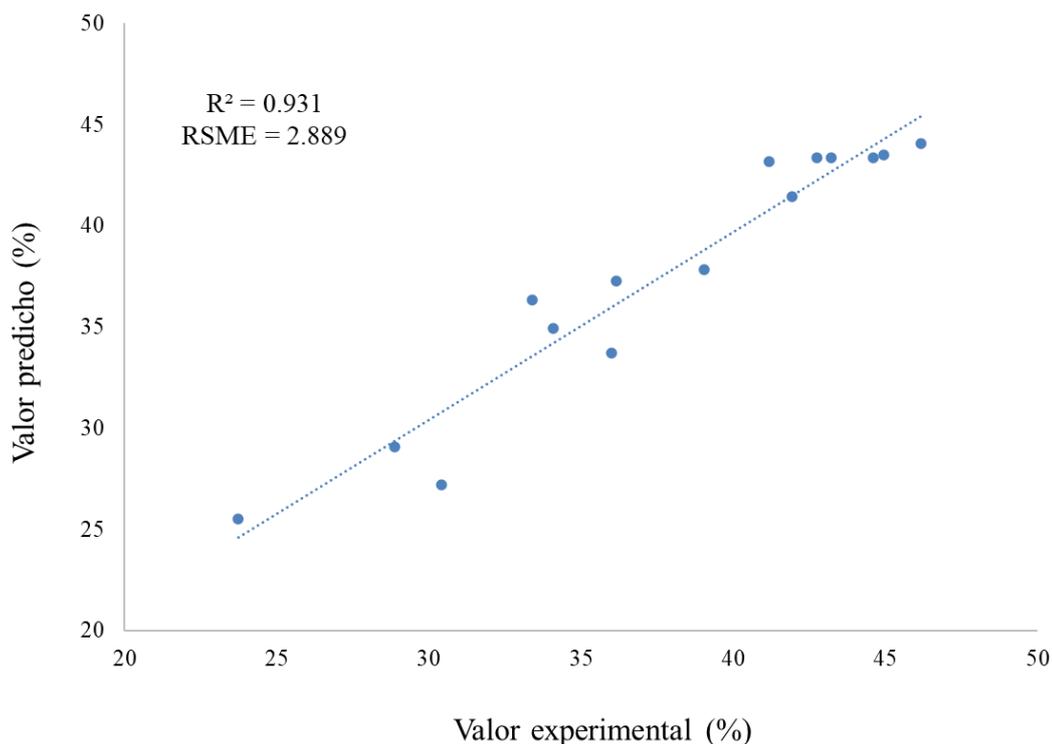


Figura 25. Correlación de los valores predichos de modelo de superficie respuesta versus valores experimentales del rendimiento de manteca de cacao

La Figura 25, mostró la correlación entre los valores experimentales obtenidos por el diseño de superficie respuesta y los valores predichos por el modelo predictivo de la optimización. La correlación mostró un coeficiente de determinación ($R^2 = 0.931$) significativo ($p < 0.05$). También se ha determinado el error cuadrático medio (RSME) el cual fue de 2.889%, ligeramente elevado para predecir el rendimiento de la extracción de cacao bajo los parámetros utilizados en el método soxhlet utilizando etanol como solvente. Estos valores son comparables a los de Monzón *et al.* (2021) desarrollaron modelos predictivos para fenólicos en semillas y cáscara de palta, determinando que la correlación entre los valores predichos y experimentales fueron significativas ($p < 0.05$) presentando una alta correlación ($R^2 > 0.9907$) y un error cuadrático medio bajo para la predicción de fenólicos $RMSE < 0.9437$ mg GAE/g. Agu *et al.* (2018) extrajeron aceite de semillas de chicalayo (*Colocynthis vulgaris Shrad*) desarrollando modelos predictivos con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.9962$ y un $RSME = 0.02735\%$, significativos ($p < 0.05$).

4.4. PERFIL INFRARROJO Y CROMATOGRÁFICO DE LA MANTECA DE CACAO

4.4.1. PERFIL INFRARROJO

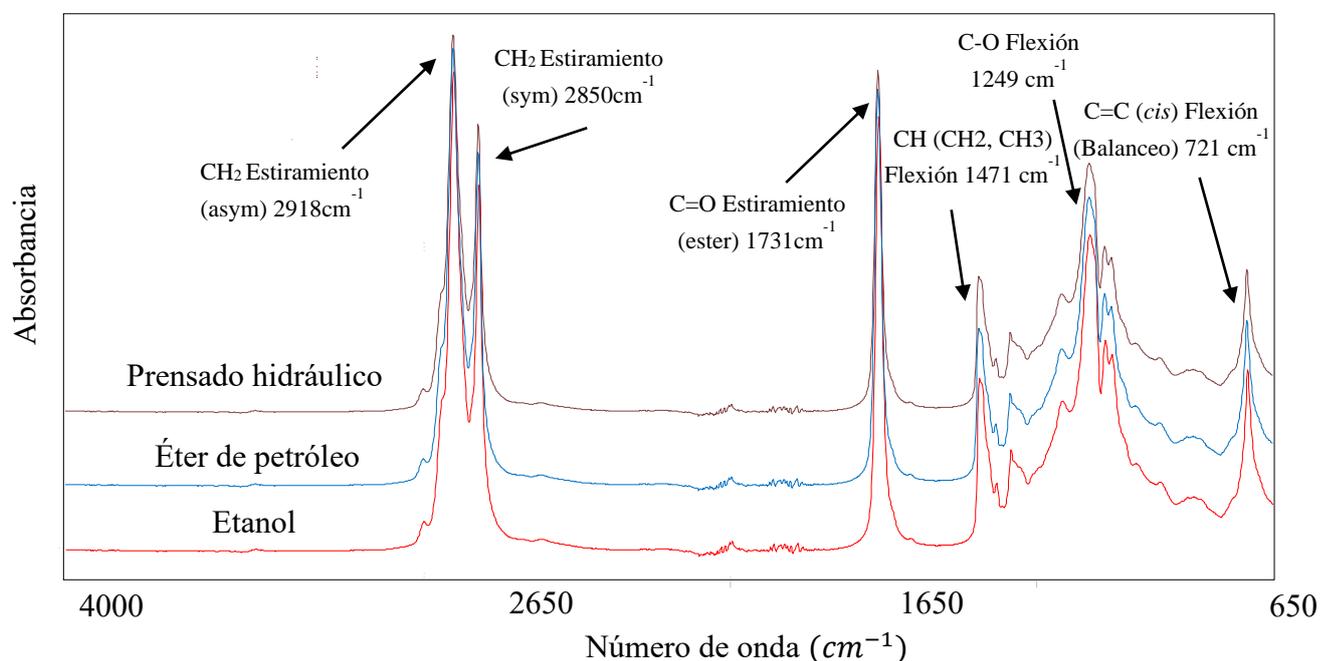


Figura 26. Espectro infrarrojo medio (MIR) de manteca de cacao extraída con diferentes solventes

El espectro infrarrojo medio (MIR) de la manteca de cacao extraído con prensado hidráulico, éter de petróleo y etanol se muestran en la Figura 26, se evidenció una gran similitud entre las principales bandas espectrales características correspondientes a ácidos grasos (saturados, monoinsaturados y poliinsaturados), por ejemplo: las bandas detectadas entre los 2918 y 2850cm^{-1} asociadas a la vibración de estiramiento de CH_2 asimétrico y simétrico respectivamente, ligadas a la presencia de lípidos, fueron similares a las bandas de 2858 y 2850cm^{-1} que indican el estiramiento simétrico de CH_2 y las bandas entre 2924 y 2916cm^{-1} indican el estiramiento asimétrico de CH_2 , determinadas por Veselá *et al.* (2007) y Mandrile *et al.* (2019). La banda detectada en 1731cm^{-1} está asociada al movimiento de estiramiento del enlace $\text{C}=\text{O}$ típica de los esteres de triglicéridos no conjugados, ácidos carboxílicos, aldehídos y cetonas (Grillo *et al.*, 2019). La banda en 1471cm^{-1} está asociada a la presencia de vibraciones de flexión de $\text{C}-\text{H}$ en CH_2 y CH_3 , y la banda en 1249cm^{-1} es característica de las vibraciones de estiramiento $\text{C}-\text{O}$. Por último, la banda centrada a 721cm^{-1} vibración de flexión de cadena larga en ácidos grasos insaturados, es también confirmada por la banda de 717cm^{-1} vibración de flexión asimétrica en el plano o balanceo del $\text{C}=\text{C}$ reportada por Rubio-Díaz &

Rodríguez-Saona (2010). Esta similitud de bandas espectrales demostró que de forma cualitativa los métodos tradicionales de extracción (Prensado hidráulico y solvente éter) no se diferencian del solvente propuesto en este estudio (etanol) en la extracción de manteca de cacao, ya que las vibraciones moleculares de las muestras estudiadas siguieron similar tendencia a lo largo de todo el barrido infrarrojo, indicando que estos aceites comparten los mismos grupos funcionales.

4.4.2. PERFIL CROMATOGRÁFICO Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

El perfil de ácidos grasos identificado, haciendo uso del equipo de cromatografía gaseosa con detector de indica de flama (GC-FIC), para la manteca de cacao se presentó en la Figura 27, en general existió la presencia de ácidos grasos saturados (palmítico, esteárico y araquídico), monoinsaturado (oleico) e poliinsaturado (linoleico). La composición de ácidos grasos de la manteca de cacao es aproximadamente en partes iguales ácidos palmítico (C16: 0), esteárico (C18: 0) y oleico (C18: 1) (Lipp *et al.*, 2001; Naik & Kumar, 2014). Los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico y el ácido esteárico tienen puntos de fusión relativamente altos de 62°C y 68°C, respectivamente, mientras que el ácido oleico insaturado funde a solo 16°C (Berg, *et al.*, 2002). Una pequeña fracción de la composición de ácidos grasos de la manteca de cacao contiene el ácido araquídico saturado (C20: 0), el ácido palmitoleico insaturado (C16: 0) y trazas de los otros ácidos grasos (Mustiga *et al.*, 2019).

Respecto a la composición de ácidos grasos (Tabla 14) se ha determinado que no existió diferencia significativa entre los contenidos de ácidos grasos de la manteca de cacao extraído con los diferentes tratamientos (prensado hidráulico, extracción con solvente de éter de petróleo y etanol) a un 95% de confiabilidad ($p < 0.05$). En general, la manteca de cacao estuvo compuesta principalmente de ácidos grasos saturados (SFA) y dentro de esta familia el ácido esteárico fue el predominante (35.47 – 36.29%), otro ácido saturado representativo fue el ácido oleico (31.15 – 32.08%) y en menor medida el ácido araquídico (<1.4%). Por otro lado, por parte de la familia de los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) solo se cuantificó la presencia del ácido oleico (31.2 – 32.1%), respecto a la familia de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) en una baja proporción se ubicó al ácido linoleico (2.27 – 2.43%). Estos resultados fueron proporcionalmente similares al contenido de ácidos grasos de la manteca de cacao extraído por presión hidráulica en el estudio realizado por Indarti, E. (2007) el cual reportó 26,24% de ácido

palmítico, 42,23% de ácido esteárico y 26,53% de ácido oleico. Respecto al contenido promedio de ácido palmítico ~28% presentados en la Tabla 14, Ostrowska-Ligeza *et al.* (2021) identificó efectivamente que en el cacao peruano (criollo) la presencia de ácido palmítico es 28.03%, además indicó que este ácido graso es ligeramente inferior al de cacao ecuatoriano (forastero) ubicado en 30.02%. Las diferencias en el perfil de ácidos grasos se explican principalmente como un efecto del origen geográfico (Torres-Moreno *et al.*, 2015).

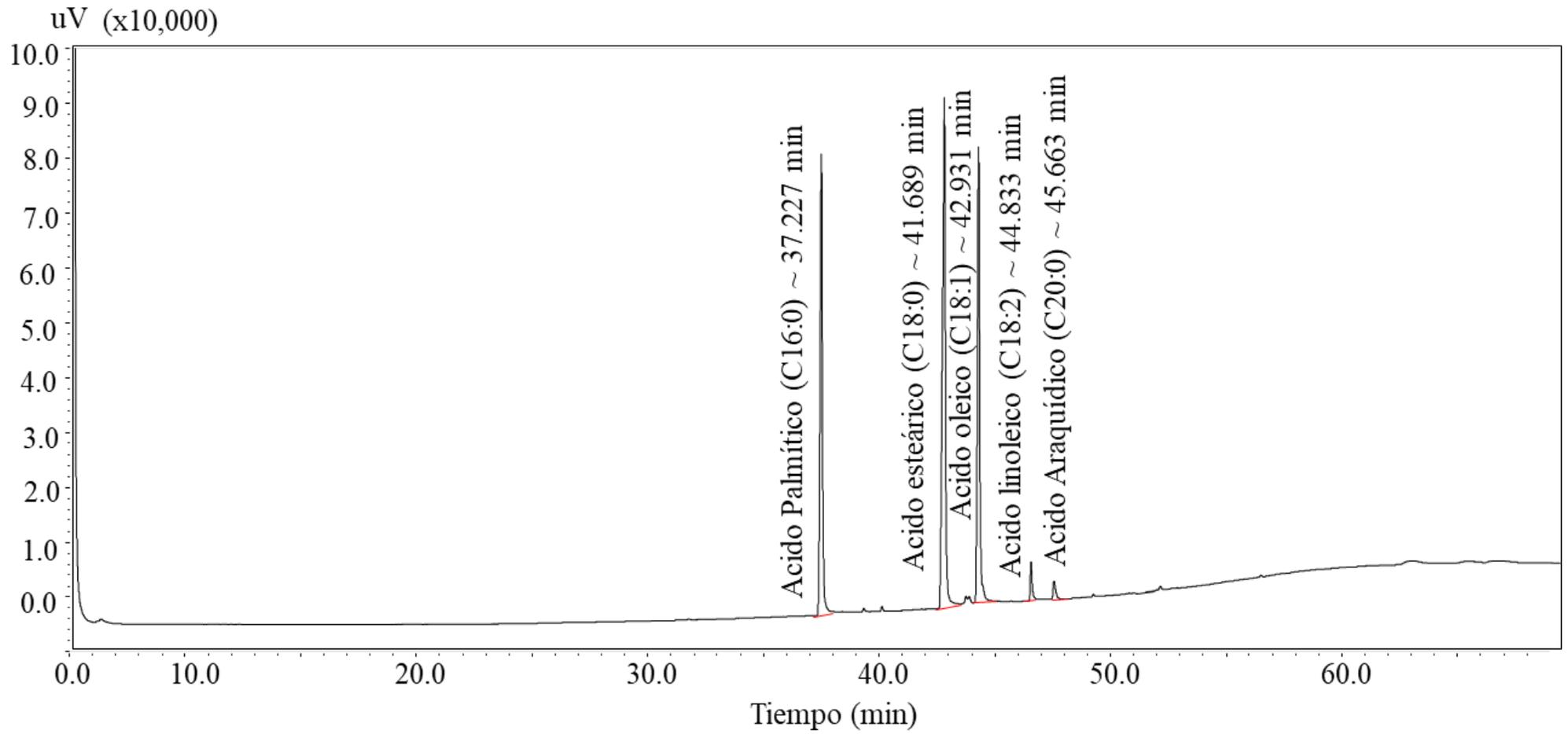


Figura 27. Perfil de ácidos grasos en manteca de cacao detectados por cromatografía gaseosa

La composición de ácidos grasos en algunos casos está constituida por bajas cantidades de ácido lignocérico (C24:0) menores a 0.41% (Wang *et al.*, 2016). Otro factor importante en el rendimiento y composición de ácidos grasos es el nivel de fermentación de los granos de cacao, el presente estudio trabajó con granos secos y fermentados, que se encuentran estructuralmente disponibles para poder extraer la máxima cantidad de manteca. Servent *et al.* (2018) subrayó que el proceso de fermentación es importante para mejorar el rendimiento de manteca en nibs de cacao, conservando la composición de ácidos grasos, ya que un cacao sin fermentar o parcialmente fermentado provoca la retención del contenido de manteca en el nib pero esto se rompe lentamente después de 72 h de fermentación.

El método de extracción ampliamente investigado en los últimos años para la extracción de manteca de cacao, como la de otros componentes bioactivos en alimentos, es la extracción por fluidos supercríticos. Por ejemplo, Asep *et al.* (2016) luego de obtener rendimientos significativos de manteca (~50%) usando la extracción supercrítica, encontró que los triacilglicéridos y ácidos grasos libres de la manteca eran similares en composición a los de la manteca de cacao obtenida por métodos convencionales (extracción soxhlet con hexano). Por el contrario, Saldaña *et al.* (2002) indica este tipo de extracción es eficiente, pero presenta factores de extracción como la presión y temperatura que influyen sobre las fracciones de manteca de cacao originando concentraciones variables de ácidos grasos.

Tabla 14. Cuantificación de ácidos grasos en manteca de cacao extraído con diferentes métodos.

Ácidos grasos	Método de extracción*		
	Prensado en frío	Soxhlet	
		Éter de petróleo	Etanol
Ácido palmítico (C16:0)	28.985 ± 0.133 ^a	28.635 ± 0.040 ^b	28.889 ± 0.146 ^{ab}
Ácido esteárico (C18:0)	36.286 ± 0.115 ^a	35.477 ± 0.164 ^b	35.584 ± 0.156 ^b
Ácido oleico (C18:1)	31.152 ± 0.134 ^b	32.080 ± 0.082 ^a	31.826 ± 0.377 ^a
Ácido linoleico (C18:2)	2.266 ± 0.055 ^a	2.411 ± 0.080 ^a	2.428 ± 0.085 ^a
Ácido araquídico (C20:0)	1.311 ± 0.097 ^a	1.397 ± 0.050 ^a	1.273 ± 0.058 ^a

*Letras iguales en la misma fila no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$). (n=3, n: número de muestras).

Finalmente, se demostró que la polaridad entre los solventes etanol y éter de petróleo no influyeron significativamente sobre el perfil de ácidos grasos de la manteca de cacao utilizando el método de extracción soxhlet. Asep *et al.* (2013) demostró que en una extracción supercrítica con CO₂ la polaridad de los cosolventes como el etanol, isopropanol y acetona influyen sobre los ácidos grasos y rendimiento de cacao, indicando que el etanol es el codisolvente polar más eficaz para la extracción de manteca de cacao en comparación con el isopropanol y la acetona (solventes con elevada polaridad respecto al etanol). Recomendando que este método se puede implementar de manera viable en la industria del cacao para la producción de manteca de cacao de alta calidad. El presente trabajo confirma que el etanol puede utilizarse como solvente en diversas aplicaciones de extracción de manteca de cacao con gran potencial en la industria alimentaria.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La composición química proximal del nib de cacao determinó principalmente que los nibs de cacao contienen 46.28% de manteca de cacao utilizando el método de extracción soxthler y solvente éter de petróleo.
- La comparación de los diferentes métodos de extracción (prensado hidráulico, baño maría y soxhlet) en la obtención de manteca de nib de cacao permitió determinar la viabilidad del uso de etanol como solvente en el método soxhlet con un rendimiento óptimo de manteca del 47.317 % en un tiempo de 3.35 h, peso de nib de 15 g y un volumen de solvente de 157.17 mL.
- El desarrollo de la metodología de superficie respuesta permitió encontrar el modelo de predicción significativo ($p < 0.05$) de la extracción de manteca de cacao por método Soxhlet utilizando etanol como solvente, con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.931$ y un error cuadrático medio $RSME = 2.889\%$. entre valores experimentales y predichos del rendimiento.
- La extracción soxhlet utilizando como solvente etanol no influyó significativamente sobre el perfil cualitativo de las vibraciones de los enlaces moleculares de la manteca de cacao y tampoco sobre su contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados e insaturados, respecto a los métodos tradicionales.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio económico y energético comparativo entre la extracción con solventes tradicionales y la extracción con etanol en manteca de cacao, para recomendarlo a nivel industrial.
- Analizar la existencia de pigmentos residuales especialmente antocianinas en la manteca de cacao extraída con etanol.
- Caracterizar las propiedades químicas y bioactivas del sobrenadante residual obtenido en la extracción de manteca de cacao utilizando etanol por el método soxhlet.
- Realizar un estudio de optimización incluyendo la variación de temperatura, tamaño de partícula del nibs de cacao en polvo y ecotipos en la extracción de manteca de cacao.
- Evaluar mezclas de disolventes en el rendimiento de extracción de manteca de cacao por método Soxhelt.
- Realizar un estudio cualitativo amplificado (análisis quimiométrico) de los espectros vibracionales de manteca de cacao obtenidos en infrarrojo para determinar posibles diferencias entre los métodos de extracción desarrollados en el presente estudio.

CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abidin, Z. Z.; Awang Biak, D. R.; Mohamed, H.; Harun, M. Y. (2013). Solid – Liquid Extraction in Biorefinery. Separation and Purification Technologies in Biorefineries, 351–374.
- Adeyeye, EI., Akinyeye, R. O., Ogunlade, I., Olaofe, O., y Boluwade, J. O. (2010). Effect of farm and industrial processing on the aminoacid profile of cocoa beans. Food Chemistry, 118: 357-363.
- Afoakwa, E. O.; Paterson, A.; Fowler, M.; Ryan, A. (2008). Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate: A Critical Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48(9), 840–857.
- Afoakwa, E.O; Paterson, A; Fowler, M; Vieira, J. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate e a review. Trends Food Science and Technology. 18, 290-298.
- Agu, C. M., Kadurumba, C. H., Agulanna, A. C., Aneke, O. O., Agu, I. E., & Eneh, J. N. (2018). Nonlinear Kinetics, Thermodynamics, and parametric studies of Colocynthis vulgaris Shrad seeds oil extraction. Industrial Crops and Products, 123, 386-400.
- Ajala, E. O.; Aberuagba, F.; Olaniyan, A. M.; Onifade, K. R. (2015). Optimization of solvent extraction of shea butter (*Vitellaria paradoxa*) using response surface methodology and its characterization. Journal of Food Science and Technology, 53(1), 730–738.
- Álava Morena, L. M. (2016). Efecto Tiempo - Temperatura de tostado del cacao fino de aroma, en sus características fisicoquímicas y organolépticas. [Tesis de grado de ingeniero Agroindustrial, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí]. <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/556/1/TAI113.pdf>
- Aldave Palacios, G. J. (2016) Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en los caracteres sensoriales y en las propiedades químicas de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedente de Uchiza, San Martín – Perú para la obtención de NIBS. [Tesis de Maestria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/5009/Aldave_pj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Anoraga, Satria & Wijanarti, Sri & Sabarisman, Iman. (2019). Effect of extraction time and pressing temperature on characteristic of cocoa powder quality. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 355. 012050. 10.1088/1755-1315/355/1/012050.
- Armando, C. (2016). Estudio del Cacao en el Perú y el Mundo: Un análisis de la producción y el comercio. Lima, Peru: MINAGRI.
- Asep, E. K., Jinap, S., Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., & Singh, H. (2013). Effects of polar cosolvents on cocoa butter extraction using supercritical carbon dioxide. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 152–160.
- Asep, E. K., Jinap, S., Tan, T. J., Russly, A. R., Harcharan, S., & Nazimah, S. A. H. (2008). The effects of particle size, fermentation and roasting of cocoa nibs on supercritical fluid extraction of cocoa butter. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 450–458.
- Asep, E.K.; Jinap, S.; Russly, A.R.; Jahurul, M.H.A.; Ghafoor, K.; Zaidul, I.S.M. (2016). The effect of flow rate at different pressures and temperatures on cocoa butter extracted from cocoa nib using supercritical carbon dioxide. *J Food Sci Technol*, 53 (5), 2287–2297.
- Barraza G., G.; De La Rosa, L.A.; Martínez M., A.; Castillo M., H.; Cotteb, M.; Álvarez P., E. (2013). La microespectroscopia de infrarrojo con Transformada de Fourier en el estudio de sistemas biológicos. *Revista Latinoamericana de Química*, 41(3): 125- 148.
- Beckett, S., (2009). *Industrial chocolate manufacture and use*. (4ta ed.). Oxford, UK: Blackwell Publishers.
- Beg, S.; Ahmad, S.; Jan, K.; Bashir, K. (2017). Status, supply chain and processing of cocoa - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 108-116.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Stryer, L. (2002). *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman.
- Bucheli, P., Rousseau, G., Alvarez, M., Laloi M. and McCarthy, J. (2001). Developmental Variation of Sugars, Carboxylic Acids, Purine Alkaloids, Fatty Acids, and Endoproteinase Activity during Maturation of *Theobroma cacao* L. Seeds. *Revista de química agrícola y alimentaria* 2001 49 (10), 5046-5051 DOI: 10.1021 / jf010620z
- Cambrai, A.; Marcic, C.; Morville, S.; Sae Houer, P.; Bindler, F.; Marchioni, E. (2010). Differentiation of chocolates according to the Cocoa's geographical origin using chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), 1478–1483.

- Campos-Vega, Rocio & Nieto-Figueroa, Karen H. & Oomah, B. Dave. (2018). Cocoa (Theobroma cacao L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. Trends in Food Science & Technology. 10.1016/j.tifs.2018.09.022.
- Camu N., T. De Winter, K. Verbrugghe, et al. 2007. Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acid acetic bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. Applied and Environmental Microbiology, 1809-1824.
- Chatib, O.C.; Sandra, S. and Asbani H, M. (2015) Study of Equipment Presses of Cocoa Powder (Theobroma cacao,L) to Produce Quality Fat Cocoa and Analysis of the Resulting Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol. 5:510.
- Chire-Fajardo, G.; Ureña-Peralta, M. ; García-Torres, S.; Hartel, R. (2019). Optimización de la formulación de chocolate oscuro a partir de la mezcla de granos de cacao y contenido de cacao aplicando método de superficie de respuesta, Enfoque UTE; Vol. 10 Núm. 3; pp. 42 - 54 URL https://www.scipedia.com/public/Chire-Fajardo_et_al_2019a
- De Souza P.A.; Moreira, L.F.; Sarmiento, D.H.A.; Da Costa F.B. (2018). Cacao - Theobroma cacao. Exotic Fruits Reference Guide, 69-76.
- Dufour, É. (2009). Principles of infrared spectroscopy. Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. Infrared spectroscopy for food quality analysis and control: 3-27.
- Durán, R. (2010). Cultivo y Explotación del Cacao. Bogotá, Colombia: Grupo Latino Editores S.A.S.
- E, Aikpokpodion & Dongo, L. (2010). Effect of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. International Journal of Sustainable Crop Production. 5.
- Eghbal, M. (2018). Global Chocolate Industry: From Bean to Bar. Euromonitor International. Retrieved from: <https://blog.euromonitor.com/global-chocolate-industry>.
- Espinoza, E.; (2019). Obtención de una harina a base de la mazorca criolla de cacao (Theobroma cacao L.) como suplemento alimenticio para personas en estado de desnutrición. [Trabajo de Licenciatura, Universidad autónoma de Nicaragua]. <https://repositorio.unan.edu.ni/14296/1/14296.pdf>

- Frauendorfer, F., & Schieberle, P. (2008). Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10244–10251.
- Fulzele, D. P.; Satdive, R. K. (2005). Comparison of techniques for the extraction of the anti-cancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*. *Journal of Chromatography A*, 1063(1-2), 9–13.
- Gonzales, A., D.; Kafarov, V.; Monsalve, A., G. (2010). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. *PROSPECTIVA*, vol. 7, núm. 2, julio-diciembre, 2009, pp. 53-60. Universidad Autónoma del Caribe.
- Grand view research. (2019). Tamaño del mercado de granos de cacao por valor de \$ 16,32 mil millones para 2025 | TCAC: 7,3%. <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-cocoa-beans-market>
- Grillo G., Boffa L., Binello A., Mantegna S., Cravotto G., Chemat F., Dizhbite T., Lauberte L. and Telysheva G. (2019). Analytical dataset of Ecuadorian cocoa shells and beans. 10.1016/j.dib.2018.11.129
- Guehi, T.S.; Dadie, A.T.; Koffi, K.P.B.; Dabonne, S.; Ban-Koffi, L.; Kedjebo, K.D.; Nemlin, G.J. (2010). Performance of Different Fermentation Methods and the Effect of Their Duration on the Quality of Raw Cocoa Beans. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 45, 2508–2514.
- Herrero, M.; Martín-Álvarez, P.J.; Señoráns, F.J.; Cifuentes, A.; Ibáñez, E. (2005) Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga, *Food Chem*, 93, 417–423.
- Hewavitharana, G.; Perera, D.; Navaratne, S.; Wickramasinghe, I. (2020). Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A Review. *Arabian Journal of Chemistry*. 13, 6865-6875.
- Ho, Van & Zhao, Jian & Fleet, Graham. (2013). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International journal of food microbiology*. 174C: 72-87.

- Illegghems, K., De Vuyst, L., Papalexandratou, Z., & Weckx, S. (2012). Phylogenetic Analysis of a Spontaneous Cocoa Bean Fermentation Metagenome Reveals New Insights into Its Bacterial and Fungal Community Diversity. *PLoS ONE*, 7(5), e38040.
- Illegghems, K.; Weckx, S.; De Vuyst, L. (2015). Applying meta-pathway analyses through metagenomics to identify the functional properties of the major bacterial communities of a single spontaneous cocoa bean fermentation process sample. *Food Microbiology* 50: 54–63.
- Indarti, E. (2007). Efek Pemanasan terhadap Rendemen Lemak pada Proses Pengepresan Biji Kakao. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, Vol. 6, No. 2, hal. 50-54.
- International Cocoa Organization. (2012). Physical and chemical information on cocoa beans, butter, mass and powder. Ubicada en línea: <https://www.icco.org/faq/61-physical-and-chemical-information-on-cocoa/106-physical-and-chemical-information-on-cocoa-beans-butter-mass-and-powder.html>
- Kaderides, K.; Papaoikonomou, L.; Serafim, M. (2019). Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 137, 1–11.
- Kamimura, J. A. A. M.; Aracava, K. K.; Rodrigues, C. E. C. (2017). Experimental data and modeling of rice bran oil extraction kinetics using ethanol as solvent. *Separation Science and Technology*, 52(12), 1921–1928.
- Kaufman, T., & Justeson, J. (2007). THE HISTORY OF THE WORD FOR CACAO IN ANCIENT MESOAMERICA. *Ancient Mesoamerica*, 18(02).
- Krysiak, Wiesława & Adamski, Robert & Żyźelewicz, Dorota. (2013). Factors Affecting the Color of Roasted Cocoa Bean. *Journal of Food Quality*.
- Lares Amaiz, Mary, Pérez Sira, Elevina, Álvarez Fernández, Clímaco, Perozo González, José, & El Khori, Sandra. (2013). Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio. *Agronomía Tropical*, 63(1-2), 37-47. Recuperado en 24 de octubre de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002192X2013000100004&lng=es&tlng=es.

- Laura, R.; Schubert, J.M.; Rodríguez, C.A.; Villar G.; Zavaleta D.; Ramírez M.; Thomas, E. (2021). *Beneficio del Cacao Chuncho: Cosecha y Poscosecha*. Bioersivity International, Lima, febrero 2021.
- Lefeber, Timothy & Janssens, Maarten & Camu, Nicholas & De Vuyst, Luc. (2010). Kinetic Analysis of Strains of Lactic Acid Bacteria and Acetic Acid Bacteria in Cocoa Pulp Simulation Media toward Development of a Starter Culture for Cocoa Bean Fermentation. *Applied and environmental microbiology*.
- León, N., (2020). Evaluación de enmiendas orgánicas: efectos en la producción fitosanitaria del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN-51. [Trabajo de titulación, Universidad técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16142>
- Lipp, M., Simoneau, C., Ulberth, F., Anklam, E., Crews, C., Brereton, P., et al. (2001). Composition of genuine cocoa butter and cocoa butter equivalents. *J. Food Compos. Anal.* 14, 399–408. doi: 10.1006/jfca.2000.0984
- Lonchamp, P; Hartel, R. W. (2004). Fat bloom in chocolate and compound coatings. *Eur. J. Lipids Sci. Technol.* 106, 241-274.
- Mandrile, Luisa & Barbosa-Pereira, Letricia & Sørensen, Klavs & Giovannozzi, Andrea & Zeppa, Giuseppe & Engelsen, Søren & Rossi, Andrea. (2019). Authentication of cocoa bean shells by near- and mid-infrared spectroscopy and inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy. *Food Chemistry.* 292. 47-57. 10.1016/j.foodchem.2019.04.008.
- Martín, J., (2013). Archivo: *Theobroma cacao* hojas.jpg. Ecured. <https://www.ecured.cu/>
- Martinez, A & Santana, A., (2019). Evaluación de un proceso para la obtención de fitoesteroles partiendo de la semilla del aguacate (*persea americana* mill. var *hass*) a escala laboratorio. [Trabajo de titulación, Universidad de América]. <http://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7709/1/6141271-2019-2-IQ.pdf>
- MINAGRI (2019). Observatorio Commodities: Cacao. http://repositorio.minagri.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/MIDAGRI/98/commodities_cacao_marzo2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- MINAGRI (2020). Observatorio Commodities: Cacao. http://repositorio.minagri.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/MIDAGRI/815/Commodities%20Cacao_%20julio-set%202020.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). (2014). Catálogo de Cultivares de Cacao del Perú (3° ed.). Lima, Perú: Ministerio de Agricultura – DEVIDA.
- Montaleza, J., (2020). Análisis de la morfología de cacao (*Theobroma cacao* L.) del jardín clonal de la UTMACH. [Trabajo de titulación, Universidad técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/15553>
- Monzón, L., Becerra, G. ., Aguirre, E. ., Rodríguez, G. ., & Villanueva, E. . (2021). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from avocado residues: Modeling and optimization using response surface methodology and artificial neural networks. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 33-40. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.004>.
- Morales, O.; Borda, A.; Argandoña, A.; Farach, R.; Garcia N. L.; Lazo, K. (2015). *La Alianza Cacao Perú y la cadena productiva del cacao fino de aroma*. Lima, Perú: ESAN.
- Mounjouenpou, P., Belibi, D., Andoseh, B. K., Okouda, A., Mouanfou, K., Ehabe, E. E., & Ndjouenkeu, R. (2018). Temperature/duration couples variation of cocoa beans roasting on the quantity and quality properties of extracted cocoa butter. *Annals of Agricultural Sciences*, 63(1), 19–24. doi:10.1016/j.aos.2018.04.001.
- Mühlbauer, W. & Müller, J. (2020). Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Drying Atlas*, 239–245.
- Mustiga GM, Morrissey J, Stack JC, DuVal A, Royaert S, Jansen J, Bizzotto C, Villela-Dias C, Mei L, Cahoon EB, Seguíne E, Marelli JP and Motamayor JC (2019) Identification of Climate and Genetic Factors That Control Fat Content and Fatty Acid Composition of *Theobroma cacao* L. Beans. *Front. Plant Sci.* 10:1159. doi: 10.3389/fpls.2019.01159
- Naik, Bindu & Kumar, Dr. Vijay. (2014). Cocoa butter and its alternatives: A review. *J. Biores. Eng. Technol.* 1. 7-17.
- Nair, K. P. P. (2010). Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World*, 131–180.
- Nielsen, S.S. (2008). *Análisis de los Alimentos*. España: Editorial Acirbia. 657 p.

- Oddoye, E. O. K., Agyente-Badu, C. K., & Gyedu-Akoto, E. (2012). Cocoa and Its By-Products: Identification and Utilization. *Chocolate in Health and Nutrition*, 23–37.
- Okiyama, D. C. G.; Soares, I. D.; Toda, T. A.; Oliveira, A. L.; Rodrigues, C. E. C. (2019). Effect of the temperature on the kinetics of cocoa bean shell fat extraction using pressurized ethanol and evaluation of the lipid fraction and defatted meal. *Industrial Crops and Products*, 130, 96–103.
- Oliveira, R.; Oliveira, V.; Aracava, K. K.; Rodrigues, C. E. C. (2012) Effects of the Extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol - A response surface approach. *Food Bioprod. Process*, 90, 22-31.
- Oliveira, R.N.; Mancini, M.C.; Oliveira, F.C.S.; Passos, T.M.; Quility, B. Thiré, R.M.S.; McGuiness, G.B. (2016). FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. *Revista Materia*, 21 (3): 767-779. doi 10.1590/S1517-707620160003.0072
- Ortiz-Valbuena, Kely Lorena, & Álvarez-León, Ricardo. (2015). Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao L.*) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de yaguará (huila, colombia). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 19(1), 65-84. <https://doi.org/10.17151/bccm.2015.19.1.5>
- Ostrowska-Ligęza, Ewa & Dolatowska-Żebrowska, Karolina & Wirkowska-Wojdyła, Magdalena & Bryś, Joanna & Górska, Agata. (2021). Comparison of Thermal Characteristics and Fatty Acids Composition in Raw and Roasted Cocoa Beans from Peru (Criollo) and Ecuador (Forastero). *Applied Sciences*. 11. 2698. 10.3390/app11062698.
- Payne, M. J; Hurst, W. J; Miller, K. B; Rank, C; Stuart, D. A. (2010). Impact of fermentation, drying, roasting, and Dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (19), 10518-10527.
- PEGUERO, A. 2010. La espectroscopía NIR en la determinación de propiedades físicas y composición química de intermedios de producción y productos acabados. Tesis doctoral. Programa de doctorado de química. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España. Consultada el 10 de Febrero del 2014.

Disponible en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3316/apg1de1.pdf?sequence=1>.

- Pouralinazar, F.; Yunus, M.A.C.; Zahedi, G. (2012). Pressurized liquid extraction of Orthosiphon stamineus oil: experimental and modeling studies, *J. Supercrit. Fluids*, 62, 88–95.
- Quelal, M.; & Lerma-García, M.; Pérez-Esteve, É.; Talens, P.; Barat, J. (2020). Roadmap of cocoa quality and authenticity control in the industry: A review of conventional and alternative methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 19: 448-478.
- Quelal-Vásconez, MA.; Lerma-García, MJ .; Pérez-Esteve, É .; Talens, P.; Barat, JM . (2020). Hoja de ruta del control de la calidad y autenticidad del cacao en la industria: una revisión de los métodos convencionales y alternativos . *Comp Rev Food Sci Food Saf* . 19 : 448 - 478 . <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12522>
- Rahma, Nur Hanifah; Ahmad Ni'matullah Al-Baarri Y B P. (2017). Determination of Total Yield, Lightness and Greenish Performance of Grass Jelly Powder (*Premna oblongifolia*) using Various Drying Temperature *J. Teknol. Pangan* 1:25–7.
- Ríos C., A.; Cruz M., M.; Simonet S., B. M. (2012). Técnicas espectroscópicas en química analítica. Volumen I. España: Editorial Síntesis S.A. 458 p.
- Rodrigues, C. E. C.; Aracava, K. K.; Abreu, F. N. (2010). Thermodynamic and statistical analysis of soybean oil extraction process using renewable solvent. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45: 2407–2414.
- Rodrigues, C. E. C.; Longo, N. M.; Silva, C. C.; Aracava, K. K.; Garavazo, B. R. (2011). Ethanolic extraction of soybean oil: Oil solubility equilibria and kinetic studies. *Chem. Eng. Transac.*, 24, 811-816.
- Roiaini, M.; Seyed H. M.; Jinap, S.; Norhayati, H. (2016). Effect of extraction methods on yield, oxidative value, phytosterols and antioxidant content of cocoa butter. *International Food Research Journal*, 23(1), 47-54.
- Rubio-Diaz, Daniel & Rodriguez-Saona, Luis. (2010). Application of Vibrational Spectroscopy for the Study of Heat-Induced Changes in Food Components. 10.1002/0470027320.s8942.

- Saldaña, M. D. A., Mohamed, R. S., & Mazzafera, P. (2002). Extraction of cocoa butter from Brazilian cocoa beans using supercritical CO₂ and ethane. *Fluid Phase Equilibria*, 194-197.
- Salomón Izquierdo, Suslebys, Bermello Crespo, Addiss, Márquez Conde, Tania, López Hernández, Orestes D, González Sanabia, María L, & Llópiz Yurell, Julio C. (2013). Extracción asistida por microondas de lípidos de las semillas de Cucurbita pepo L. (calabaza). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), 17-26. Recuperado en 24 de octubre de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000100004&lng=es&tlng=es.
- Salvador, N., Espinoza, E., Rojas, J. (2012). *Manual del cultivo de cacao blanco de Piura*. Piura, Perú: Dirección regional agraria de Piura.
- Sarbu, I., & Csutak, O. (2019). The Microbiology of Cocoa Fermentation. *Caffeinated and Cocoa Based Beverages*, 423–446.
- Schwan, R.F.; Wheals, A.E. (2004). The Microbiology of Cocoa Fermentation and Its Role in Chocolate Quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 44, 205–221.
- Servent, A., Boulanger, R., Davrieux, F., Pinot, M.-N., Tardan, E., Forestier-Chiron, N., & Hue, C. (2018). p. *Food Research International*, 107, 675–682.
- Sjahfirdi, L. Nasikin, M. Nasikin, M. (2012). Protein identification using Fourier transform infrared (FTIR). *International Journal of Recent Research and Applied Studies* 10 (3): 418-421.
- Skoog, D.A.; West, D.M. Holler, F.J.; Crouch, S.R. (2015). *Fundamentos Química Analítica*. México. Cengage Learning. 958 p.
- Spinella, M. E., Fernandez, M.B., Nolasco, S.M., De Figueiredo, A.K. (2015). Extracción de aceite asistida por ultrasonido de granos de girasol alto esteárico alto oleico. CONICET, Argentina. Recuperado en 20 de octubre de 2021, de: http://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/05a/05a_1816_159.pdf
- Stroescu, M.; Stoica-Guzun, A.; Ghergu, S.; Chira, N.; Jipa, I. (2013). Optimization of fatty acids extraction from *Portulaca oleracea* seed using response surface methodology. *Ind Crop Prod*, 43:405–411.

- Tonfack-Djikeng, F. T., Teyomnou-Teyomnou, W., Tenyang, N., Tiencheu, B., Morfor, AT., Hako-Touko, BA., Ndomou-Houketchang, S., Teboukeu-Boungo, G., Lakshmi-Karuna, MS., Zambou-Ngoufack, F., Macaire-Womeni, H. (2018). "Effect of traditional and oven roasting on the physicochemical properties of fermented cocoa beans". *Heliyon*, 4, 1-17
- Torres-Moreno M, Torrescasana E, Salas-Salvadó J, Blanch C. (2015). Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food Chem.* Jan 1;166:125-132. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.141. Epub 2014 Jun 5. PMID: 25053037.
- Türker K., S. & Huck, C.W. (2017). A Review of Mid-Infrared and Near-Infrared Imaging: Principles, Concepts and Applications in Plant Tissue Analysis. *Molecules*, 22 (168): 1-20. Doi 10.3390/molecules22010168
- Vega, C.; Kwik-Uribe, C.; (2012). *Theobroma cacao—An Introduction to the Plant, Its Composition, Uses, and Health Benefits. Cocoa Butter and Related Compounds*, 35–62.
- Veselá, Anezka & Barros, Antonio & Synytsya, Andriy & Delgadillo, Ivonne & Copíková, Jana & Coimbra, Manuel. (2007). Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat, nitrogen, and moisture of cocoa powder. *Analytica chimica acta*. 601. 77-86. 10.1016/j.aca.2007.08.039.
- Villa, V., A. & Benalcázar, J., K. (2015). Evaluación de la extracción etanólica y con hexano de las semillas de guayaba y su acción inhibitoria. Universidad de Guayaquil. Proyecto de Titulación.
- Wang, H., Shi, X., Paluri, S., & Maleky, F. (2016). Effects of processing and added ingredients on oil diffusion through cocoa butter using magnetic resonance imaging. *RSC Advances*, 6(91), 88498–88507.
- Widayat, H.P. (2013). Quality Improvement Of Cocoa Powder Through Fat Extraction And Alkalisiation Process *J. Teknol. dan Ind. Pertan. Indones.* 5:12–6.
- World Cocoa Foundation. (2014). *Cocoa Market Statistics*. Washington, D.C., USA.

CAPITULO VII: ANEXOS

ANEXO 1: ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE NIBS DE CACAO EN POLVO

h) ANÁLISIS DE HUMEDAD

El contenido de humedad se determinó mediante el método gravimétrico en estufa, según el método AOAC, 931.04. Se basa en someter la muestra a estufa a 105°C por 16 horas, al finalizar este periodo se coloca en un desecador por 30 minutos y pesa cuando el peso se haga constante. El contenido de humedad se determina relacionando el peso inicial y final de la muestra.

$$\%H = \frac{(P1 - P2)}{(P1 - P0)} \times 100$$

Donde P1 es el peso de placa vacía (g); P2 es el peso de placa más muestra inicial (g); P3 es el peso de placa más muestra final (g).



Figura 28. Muestras de cacao en polvo en la Estufa

Tabla 15. Análisis de Humedad en Nibs de cacao en polvo

N°	PESO DE MUESTRA	PESO PLACA (P0)	PLACA + MUESTRA INICIAL (P1)	PLACA + MUESTRA FINAL (P2)	% HUMEDAD
1	3.006	33.479	36.485	36.278	6.892%
2	3.060	43.717	46.777	46.571	6.736%
3	3.009	33.470	36.479	36.297	6.039%

i) ANÁLISIS DE CENIZAS

La determinación del contenido de cenizas se realizó mediante la incineración en mufla, según el método AOAC 972.15. La muestra es incinerada hasta su total carbonización, luego es colocado en mufla a 650°C por 4 horas en crisoles. Cada crisol es retirado de la mufla y enfriado en una campana de desecación. El total de cenizas se obtendrá por diferencias de pesos.

$$\%C = \frac{(P2 - P1)}{P0} * 100$$

Donde, P0 es el peso de la muestra (g); P1 es el peso del crisol (g); P2 es el peso del crisol más ceniza (g).



Figura 29. Análisis de Cenizas en Nibs de cacao en polvo

Tabla 16. Datos del análisis de Cenizas en Nibs de cacao en polvo

N°	PESO DE MUESTRA (P0)	PESO DE CRISOL (P1)	CRISOL + MUESTRA INICIAL	CRISOL + MUESTRA FINAL (P2)	% CENIZAS
1	3.006	20.376	23.382	20.521	4.814%
2	3.008	19.530	22.538	19.641	3.700%
3	3.004	18.822	21.826	18.942	3.988%

j) ANÁLISIS DE GRASA

El porcentaje de grasa fue determinado por el método Soxhlet, según la UNE 64021 (1970).



Figura 30. Equipo soxhlet, en la determinación de grasa.

k) ANÁLISIS DE PROTEÍNAS

El contenido de Proteínas se determinó por el Método Kjeldahl, Según la metodología UNE-EN ISO 5983-2 Parte 2 (2006).



Figura 31. Análisis de Proteínas en Nibs de cacao en polvo

l) ANALISIS DE CARBOHIDRATOS

El porcentaje de carbohidratos se determinó por diferencia a partir del contenido de humedad, ceniza, proteína y grasa.

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

ANEXO 2: PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON PRENSA



Figura 33. Recepción y seleccionado de Nibs de cacao



Figura 34. Pesado de 100 g Nibs de cacao



Figura 35. Calentado de Nibs de cacao en Horno eléctrico a 80°C por 5 minutos



Figura 36. Prensado de Nibs de cacao en Prensa Hidráulica a 8, 10, 12 y 15 US-TONS

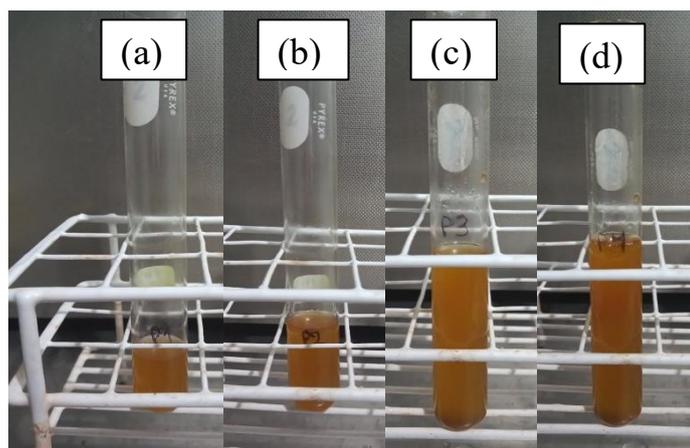


Figura 37. Manteca de cacao extraído a diferentes presiones (a) 8, (b) 10, (c) 12 y (d) 15 US-TONS

Tabla 17. Datos de la extracción de manteca de cacao extraída con prensa hidráulica

PRESION (US-TONS)	N° MUESTRA	PESO DE NIBS DE CACAO ENTERO (g)	PESO DEL TUBO DE VIDRIO VACIO (g)	PESO DE TUBO + MANTECA DE CACAO (g)	MANTECA DE CACAO OBTENIDA (g)	RENDIMIENTO (%)
8	1	100	16.95	36.95	20	20
	2	100	16.95	37.4	20.45	20.45
	3	100	16.95	36.25	19.3	19.3
	PROMEDIO					19.917 ± 0.580
10	1	100	19.264	49.164	29.9	29.9
	2	100	19.264	48.194	28.93	28.93
	3	100	19.264	50.644	31.38	31.38
	PROMEDIO					30.070 ± 1.234
12	1	100	19.213	51.743	32.53	32.53
	2	100	19.213	51.723	32.51	32.51
	3	100	19.213	51.793	32.58	32.58
	PROMEDIO					32.540 ± 0.036
15	1	100	19.43	54.43	35	35
	2	100	19.43	54.15	34.72	34.72
	3	100	19.43	54.8	35.37	35.37
	PROMEDIO					35.030 ± 0.326

Valores medios ± SD; desviación estándar (n=3)

ANEXO 3: PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON BAÑO MARÍA



Figura 38. Pesado de 2g de Nibs de cacao en polvo



Figura 39. Agregado de Alcohol a diferentes volúmenes en cada tubo con Nibs de cacao en polvo



Figura 40. Colocado de Tubos en baño maría a diferentes temperaturas y tiempos

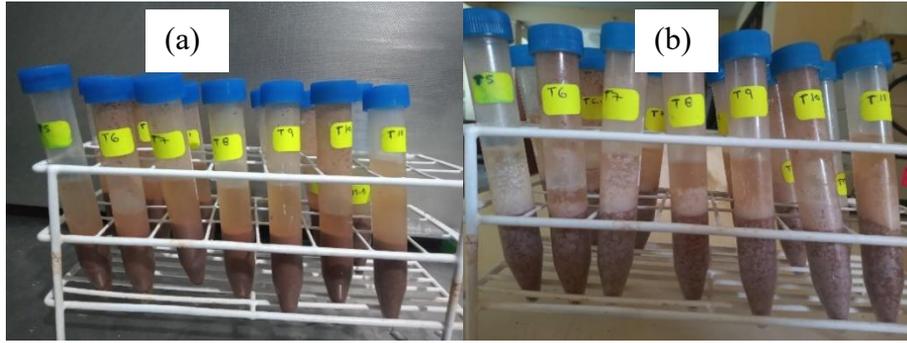


Figura 41. (a) Tubos a la salida del baño maría, (b) Tubos después de 12 horas de macerado



Figura 42. Centrifugado de Tubos para separación de fase líquida



Figura 43. Incubado de Tubos a 80°C por 4 horas

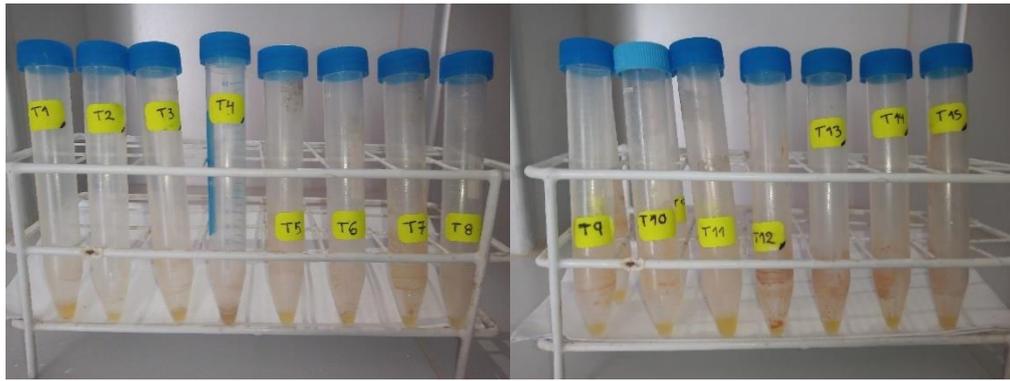


Figura 44. Manteca de cacao extraída con baño maría

Tabla 18. Datos de la extracción de manteca de cacao extraída con baño maría

N°	TEMPERATUR A (°C)	ALCOHO L (mL)	TIEMPO (min)	PESO DE NIBS DE CACAO EN POLVO (g)	PESO DE TUBOS DE PLASTICO (g)	PESO DE TUBOS Y MANTEC A (g)	MANTEC A EXTRAID A (g)	RENDIM IENTO (%)
T1	40	8	60	2.004	5.182	5.373	0.191	9.531%
T2	40	4	60	2.007	5.351	5.413	0.062	3.089%
T3	40	6	40	2.004	5.172	5.277	0.105	5.240%
T4	40	6	80	2.003	5.347	5.476	0.129	6.440%
T5	60	8	40	2.003	6.168	6.338	0.17	8.487%
T6	60	4	80	2.005	6.109	6.218	0.109	5.436%
T7	60	6	60	2.001	5.201	5.300	0.099	4.948%
T8	60	6	60	2.010	5.199	5.311	0.112	5.572%
T9	60	6	60	2.008	5.316	5.447	0.131	6.524%
T10	60	4	40	2.003	5.401	5.566	0.165	8.238%
T11	60	8	80	2.001	5.246	5.478	0.232	11.594%
T12	80	4	60	2.005	5.313	5.425	0.112	5.586%
T13	80	8	60	2.001	5.209	5.39	0.181	9.045%
T14	80	6	40	2.006	5.202	5.356	0.154	7.677%
T15	80	6	80	2.007	6.233	6.345	0.112	5.580%

ANEXO 4: EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON SOXHLET



Figura 45. Extracción de manteca de cacao con Soxhlet utilizando etanol como solvente

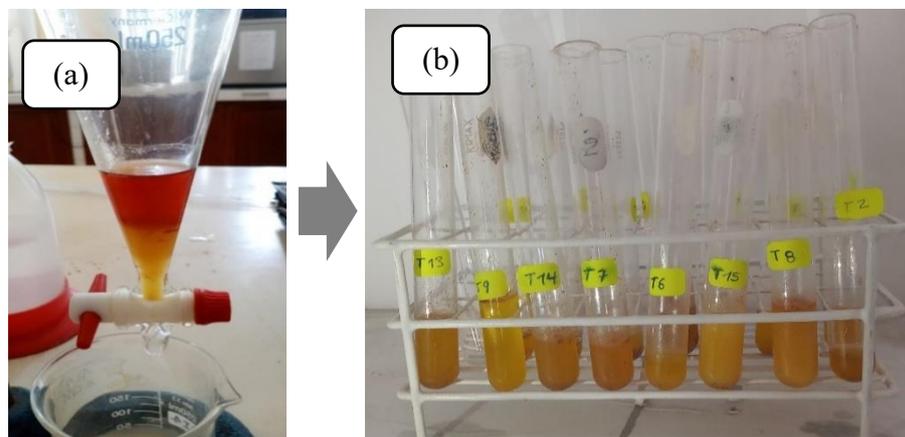


Figura 46. (a): Separación de fases en embudo de decantación por 30 min. (b) Manteca de cacao extraída con soxhlet utilizando etanol como solvente

Tabla 19. Datos de la extracción de manteca de cacao extraída con Soxhlet utilizando etanol como solvente

N°	TIEM PO (h)	PESO (g)	VOL. (ml)	PESO DE NIBS DE CACAO EN POLVO REAL (g)	PESO DE TUBOS DE VIDRIO VACIOS (g)	PESO TUBOS Y MANTECA (g)	MANTECA DE CACAO EXTRAIDA (g)	REDIMIENTO (%)
1	2	5	160	5.005	19.635	20.822	1.187	23.740
2	4	5	160	5.000	19.281	21.233	1.952	39.040
3	2	15	160	15.001	19.575	24.686	5.111	34.073
4	4	15	160	15.000	16.965	23.889	6.924	46.160
5	2	10	120	10.001	21.242	24.284	3.042	30.420
6	4	10	120	10.019	19.684	23.878	4.194	41.940
7	2	10	200	10.006	21.12	24.006	2.886	28.860
8	4	10	200	10.01	19.565	22.905	3.34	33.400
9	3	5	120	5.003	19.253	21.061	1.808	36.160
10	3	15	120	15.009	20.886	27.064	6.178	41.187
11	3	5	200	5.006	18.326	20.126	1.8	36.000
12	3	15	200	15.001	19.558	26.3	6.742	44.947
13	3	10	160	10.001	19.435	23.895	4.46	44.600
14	3	10	160	10.001	19.664	23.984	4.32	43.200
15	3	10	160	10.003	19.282	23.555	4.273	42.730

ANEXO 5: EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO CON ÉTER



Figura 47. Manteca de cacao extraída con soxhlet utilizando éter como solvente

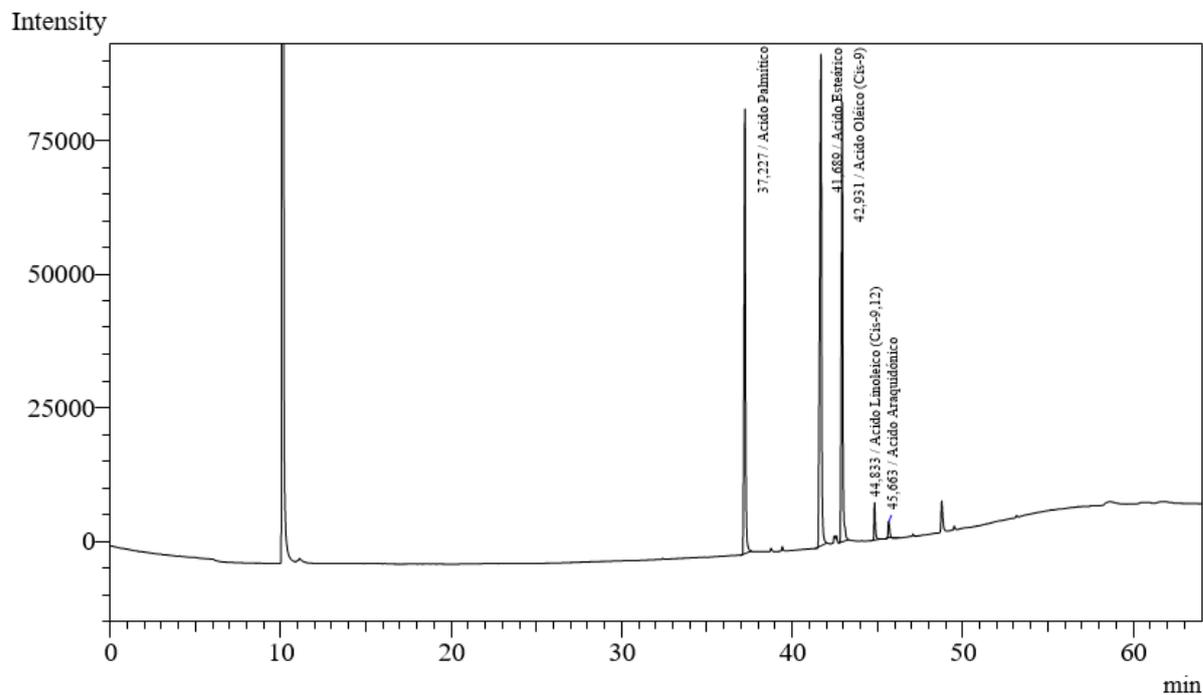
ANEXO 6: MODELAMIENTO DE MÉTODO DE EXTRACCIÓN SOXHLET UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE

Tabla 20. Correlación de los valores predichos de modelo de superficie respuesta versus valores experimentales del rendimiento de manteca de cacao.

Tiempo (h)	Peso (g)	Volumen (mL)	Rendimiento (%, g/g) Valor experimental	Rendimiento (%, g/g) Valor predicho	Error	RSME
2	5	160	23.740	25.496	-1.756	3.085
4	5	160	39.040	37.854	1.186	1.406
2	15	160	34.073	34.956	-0.883	0.780
4	15	160	46.160	44.094	2.066	4.267
2	10	120	30.420	27.198	3.222	10.384
4	10	120	41.940	41.434	0.506	0.256
2	10	200	28.860	29.060	-0.200	0.040
4	10	200	33.400	36.320	-2.920	8.526
3	5	120	36.160	37.291	-1.131	1.278
3	15	120	41.187	43.181	-1.994	3.974
3	5	200	36.000	33.705	2.295	5.267
3	15	200	44.947	43.515	1.432	2.051
3	10	160	44.600	43.360	1.240	1.537
3	10	160	43.200	43.360	-0.160	0.026
3	10	160	42.730	43.360	-0.630	0.397
						2.885

ANEXO 7: PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRAS DE MANTECA DE CACAO

➤ MUESTRAS EXTRAIDAS CON PRENSA HIDRAULICA



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	37,227	506213	83185	29,088 %		11	Acido Palmítico
2	41,689	687540	92015	36,418 %		14	Acido Esteárico
3	42,931	484898	82542	31,002 %		16	Acido Oléico (Cis-9)
4	44,833	34686	6921	2,269 %		18	Acido Linoleico (Ci
5	45,663	21942	3236	1,303 %		19	Acido Araquidónico
Total		1735279	267899				

Figura 48. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Prensa Hidráulica –
1ra Repetición

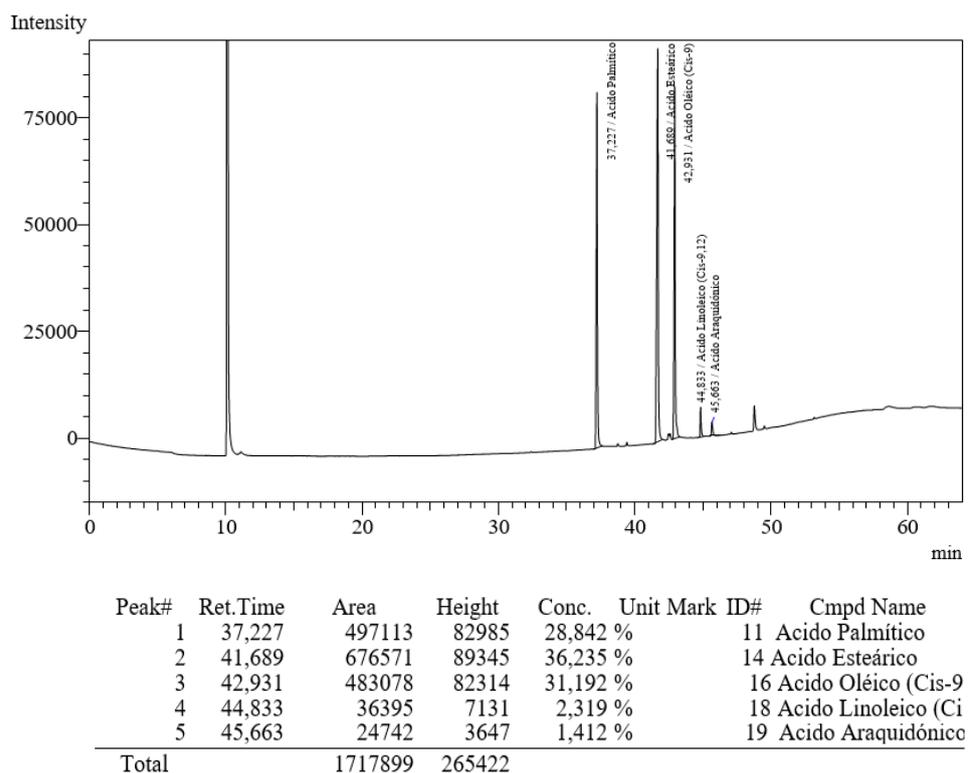


Figura 49. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Prensa Hidráulica – 2da Repetición

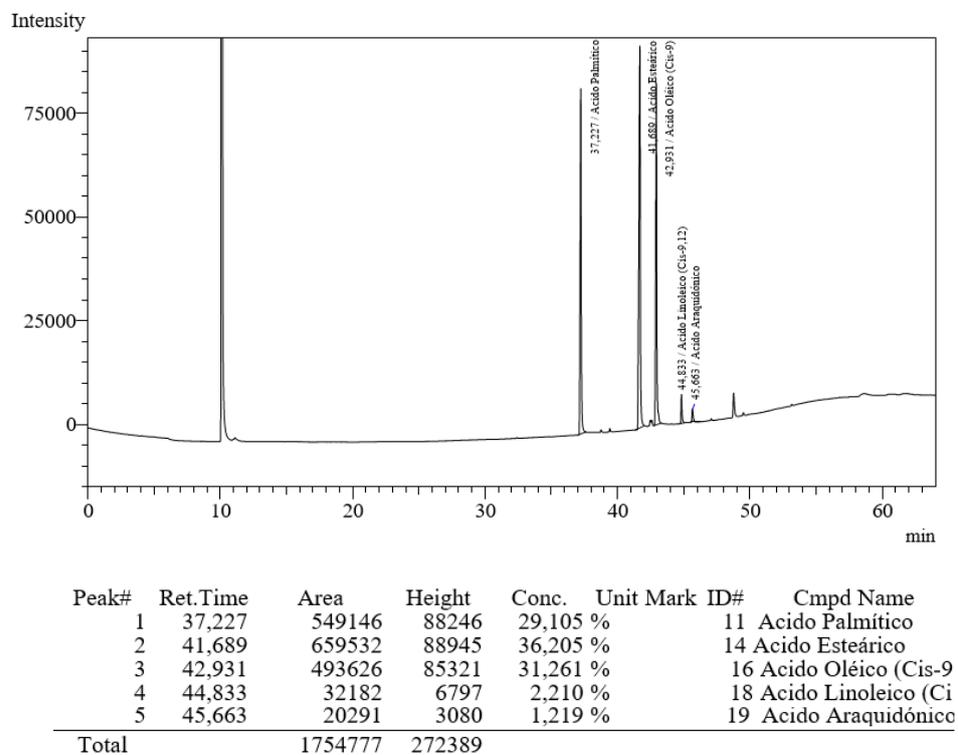
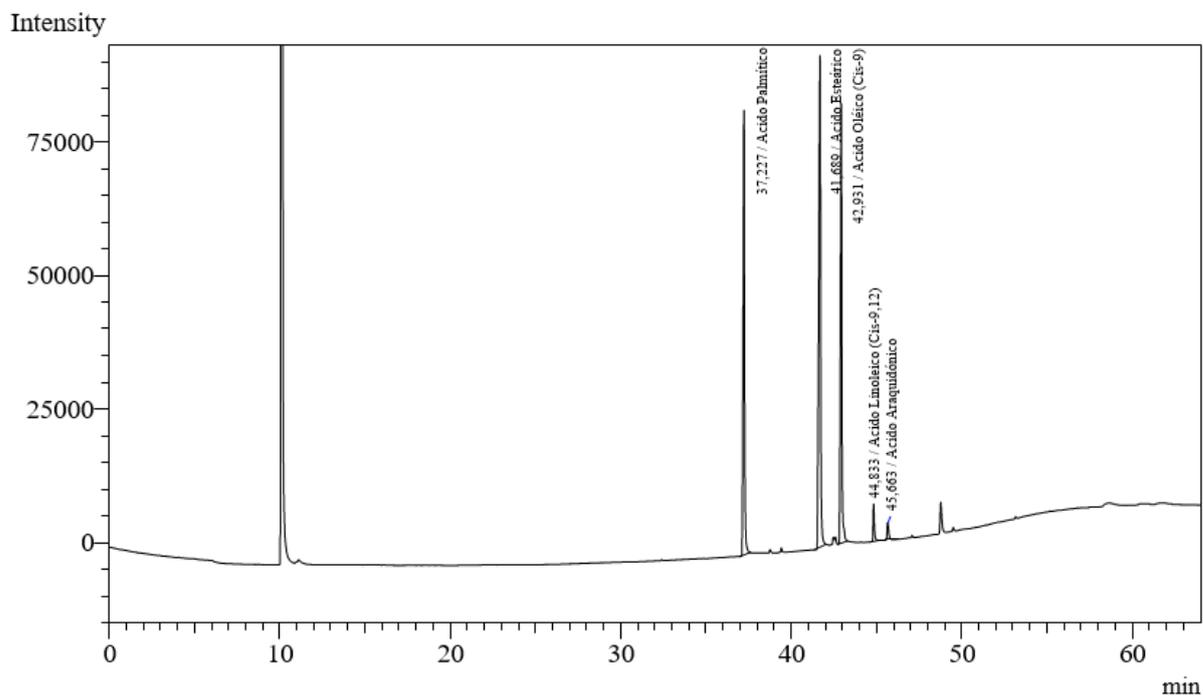


Figura 50. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Prensa Hidráulica – 3ra Repetición

➤ MUESTRAS EXTRAIDAS CON SOXHLET Y ETER COMO SOLVENTE



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	37,227	494063	82785	28,658 %		11	Acido Palmítico
2	41,689	634202	86005	35,471 %		14	Acido Estearico
3	42,931	512018	85014	32,069 %		16	Acido Oléico (Cis-9)
4	44,833	38181	7381	2,457 %		18	Acido Linoleico (Ci
5	45,663	24202	3628	1,345 %		19	Acido Araquidónico
Total		1702666	264813				

Figura 51. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Soxhlet y éter como solvente – 1ra Repetición

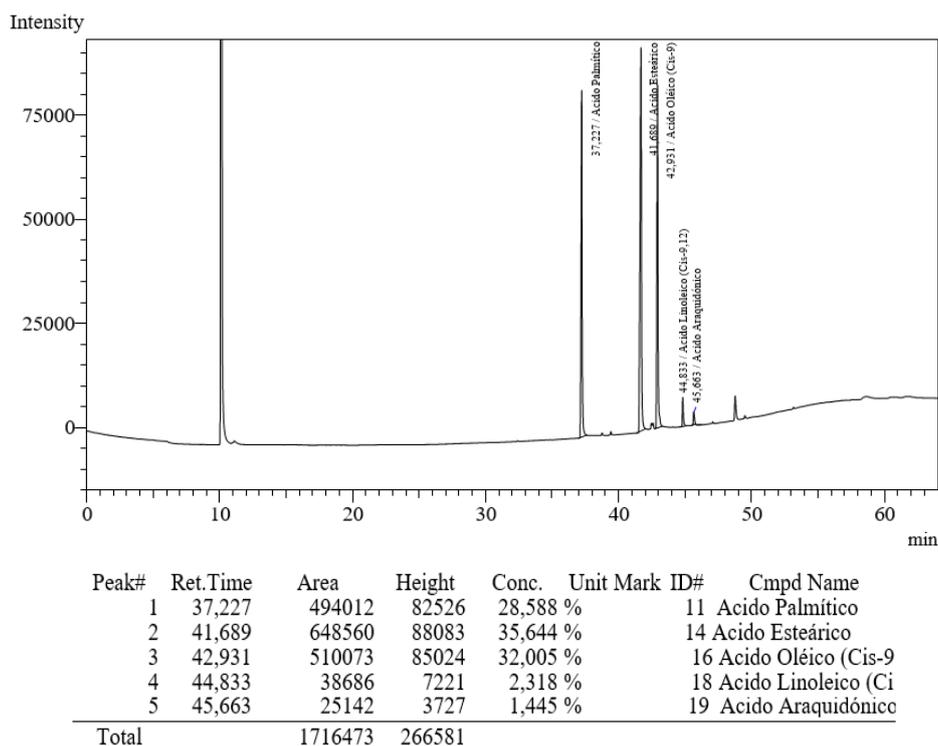


Figura 52. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Soxhlet y éter como solvente – 2da Repetición

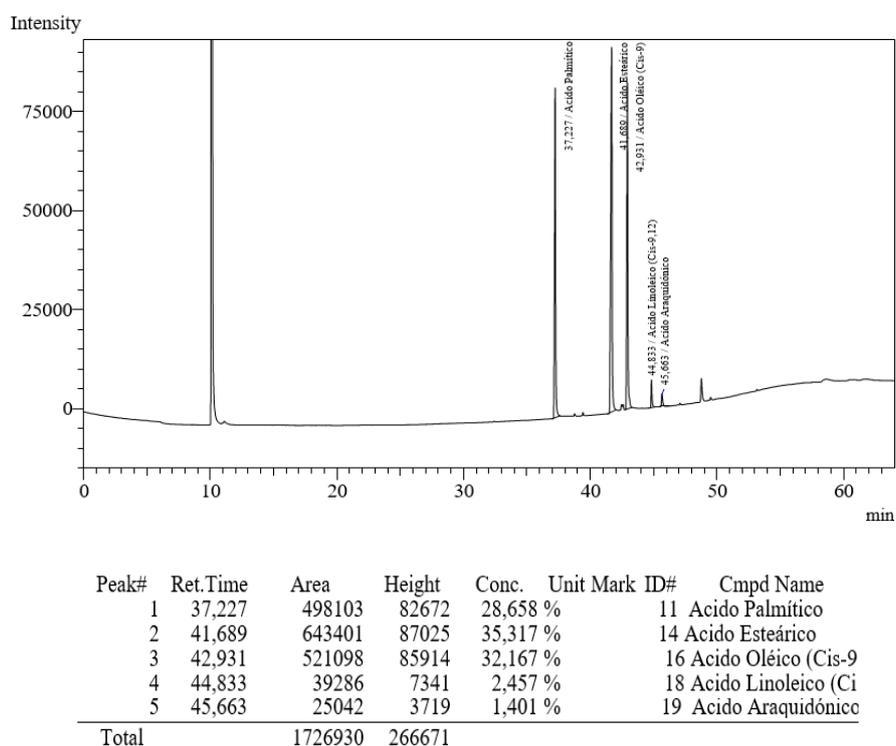
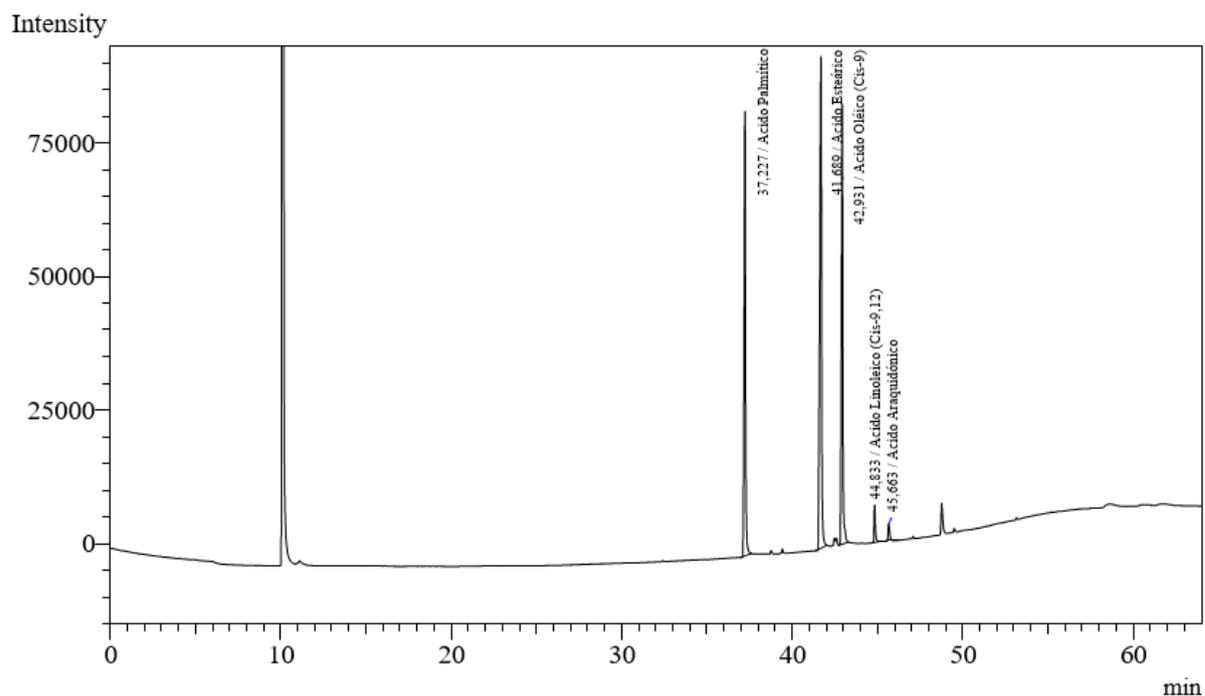


Figura 53. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Soxhlet y éter como solvente – 3ra Repetición

➤ MUESTRAS EXTRAIDAS CON SOXHLET Y ETANOL COMO SOLVENTE



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	37,227	512163	84675	29,012 %		11	Acido Palmítico
2	41,689	647570	88195	35,522 %		14	Acido Estearico
3	42,931	504471	84726	31,658 %		16	Acido Oléico (Cis-9
4	44,833	39582	7396	2,475 %		18	Acido Linoleico (Ci
5	45,663	25294	3696	1,333 %		19	Acido Araquidónico
Total		1729080	268688				

Figura 54. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Soxhlet y etanol como solvente – 1ra Repetición

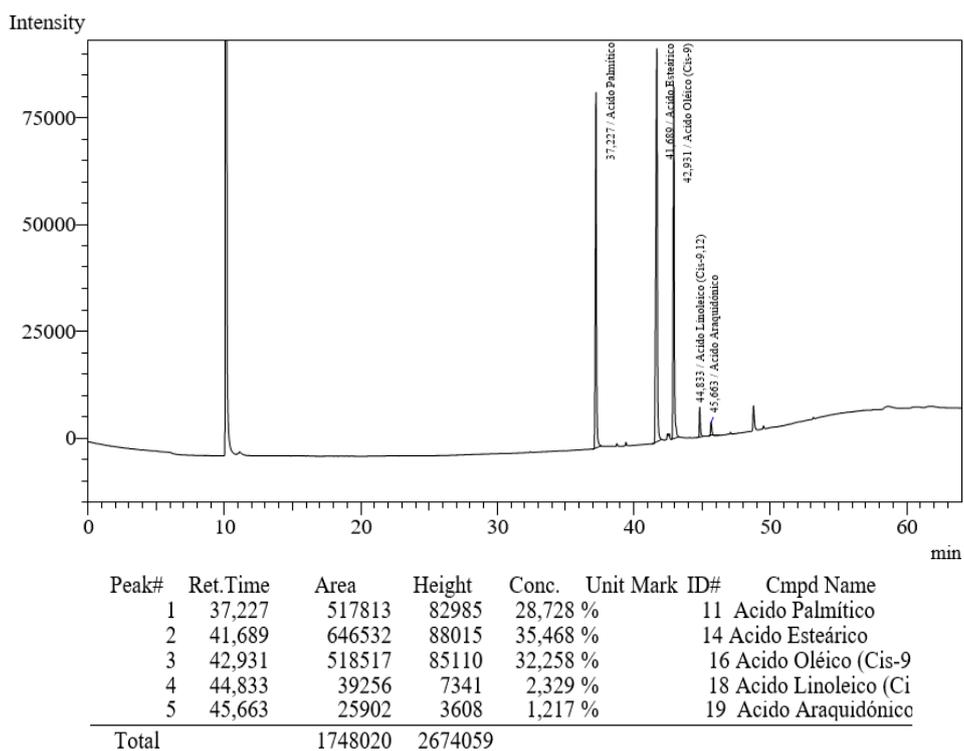


Figura 55. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Soxhlet y etanol como solvente – 2da Repetición

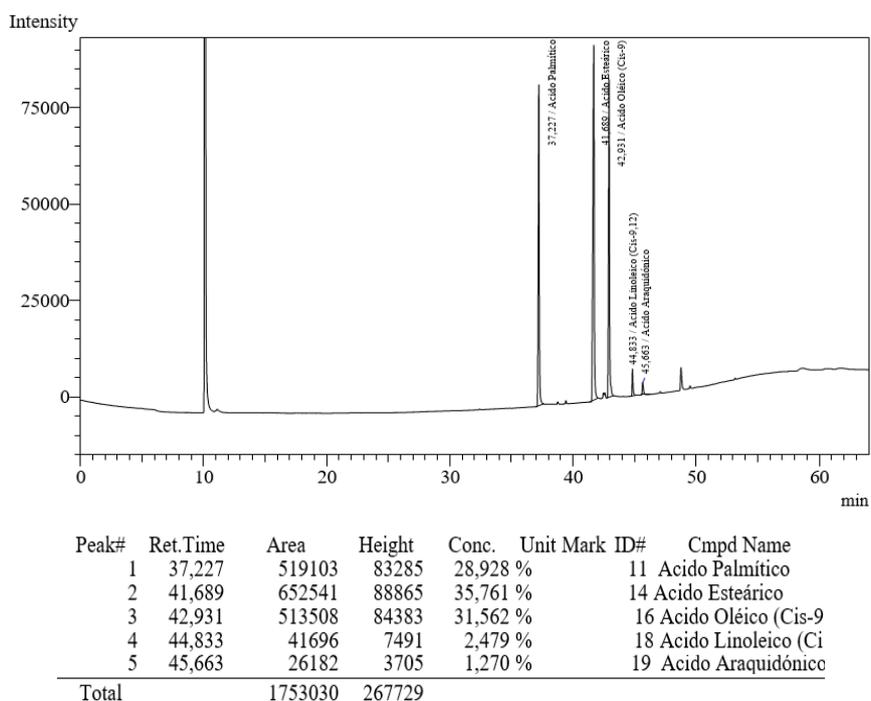


Figura 56. Perfil de ácidos grasos de manteca de cacao extraída con Soxhlet y etanol como solvente – 3ra Repetición



DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA

Yo, ANTONY YOURGEN PALACIOS HILARIO

Facultad:	Ciencias		Educación		Ingeniería	X
Escuela Profesional	Ingeniería Agroindustrial					
Departamento Académico:	Agroindustria y Agronomía					
Escuela de posgrado	Maestría			Doctorado		

Programa:

De la Universidad Nacional del Santa; declaro que el trabajo de investigación titulado:

**“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO
(Theobroma Cacao L.) POR LIXIVIACIÓN UTILIZANDO LA
METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”**

Presentado en 3 folios, para la obtención de grado académico: ()

Título profesional	(X)	Investigación anual	()
--------------------	-------	---------------------	-----

- He citado todas las fuentes empleadas, no he utilizado otra fuente distinta a las declaradas en el presenta trabajo.
- Este trabajo de investigación no ha sido presentado con anterioridad ni completa ni parcialmente para la obtención de grado académico o título profesional.
- Comprendo que el trabajo de investigación será público y por lo tanto sujeto a ser revisado electrónicamente para la detección de plagio por el VRIN.
- De encontrarse uso de material intelectual sin el reconocimiento de su fuente o autor. me someto a las sanciones que determinan el proceso disciplinario.

Nuevo Chimbote, 25 de noviembre 2021

Firma:

Nombres y Apellidos: ANTONY YOURGEN PALACIOS HILARIO

DNI: 71031822



DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA

Yo, CARLOS RICHA JIMÉNEZ PEÑA

Facultad:	Ciencias		Educación		Ingeniería	X
Escuela Profesional	Ingeniería Agroindustrial					
Departamento Académico:	Agroindustria y Agronomía					
Escuela de posgrado	Maestría		Doctorado			

Programa:

De la Universidad Nacional del Santa; declaro que el trabajo de investigación titulado:

**“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MANTECA DE CACAO
(Theobroma Cacao L.) POR LIXIVIACIÓN UTILIZANDO LA
METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA”**

Presentado en 3 folios, para la obtención de grado académico: ()

Título profesional	(X)	Investigación anual	()
--------------------	-------	---------------------	-----

- He citado todas las fuentes empleadas, no he utilizado otra fuente distinta a las declaradas en el presenta trabajo.
- Este trabajo de investigación no ha sido presentado con anterioridad ni completa ni parcialmente para la obtención de grado académico o título profesional.
- Comprendo que el trabajo de investigación será público y por lo tanto sujeto a ser revisado electrónicamente para la detección de plagio por el VRIN.
- De encontrarse uso de material intelectual sin el reconocimiento de su fuente o autor. me someto a las sanciones que determinan el proceso disciplinario.

Nuevo Chimbote, 25 de noviembre 2021

Firma:

Nombres y Apellidos: CARLOS RICHA JIMÉNEZ PEÑA

DNI: 71566452