



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

**“CALIDAD, PERTINENCIA Y CALIDEZ”
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**TESIS DE GRADO
TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS**

TEMA:

**“EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TEOBROMINA EXISTENTE EN LAS
SEMILLAS DE CUATRO VARIEDADES DE CACAO (*Theobroma cacao* L)
PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”**

Autor:

Juan Gabriel Sánchez Sánchez

Tutor:

Dr. Freddy Pereira Guanuche Mg. Sc.

MACHALA- EL ORO- ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Dr. Freddy Pereira Guanuche Mg. Sc. Docente de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud. Director de la presente tesis titulada **“EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TEOBROMINA EXISTENTE EN LAS SEMILLAS DE CUATRO VARIEDADES DE CACAO (*THEOBROMA CACAO* L) PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014.”** Certifico que el presente trabajo investigativo ha sido realizado por el autor en forma sistemática y de acuerdo a las normas establecidas para proyectos de investigación, revisando su contenido y forma, autorizo su presentación.

MACHALA, 12 JUNIO DEL 2015

Dr. Freddy Pereira Guanuche Mg. Sc.
TUTOR DE TESIS

RESPONSABILIDAD

Yo, JUAN GABRIEL SÁNCHEZ SÁNCHEZ, autor de la presente tesis de grado, titulada **“EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TEOBROMINA EXISTENTE EN LAS SEMILLAS DE CUATRO VARIEDADES DE CACAO (*THEOBROMA CACAO* L) PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”** declaro que soy responsable de las ideas, resultados y conclusiones expuestos en el trabajo.

Juan Gabriel Sánchez Sánchez
C.I. 070512703-3

CESIÓN DE DERECHO DE AUTORÍA

Yo, JUAN GABRIEL SÁNCHEZ SÁNCHEZ, con cédula de identidad 0705127033, Egresado de la Escuela de Ingeniería en Alimentos, de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud , de la Universidad Técnica de Machala, responsable de la presente memoria técnica científica titulada, **“EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TEOBROMINA EXISTENTE EN LAS SEMILLAS DE CUATRO VARIEDADES DE CACAO (*THEOBROMA CACAO* L) PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”** certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría, una vez que ha sido aprobado por mi tribunal de sustentación de tesis autorizando su presentación.

Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mis derechos de autor a la Universidad Técnica de Machala para que ella proceda a darle uso que crea conveniente.

Juan Gabriel Sánchez Sánchez
AUTOR

La responsabilidad de esta investigación,
resultados y conclusiones pertenecen
exclusivamente a su autor.

Juan Gabriel Sánchez Sánchez.

DEDICATORIA

La presente investigación se la dedico, a mi querida madre: María Sánchez a mis Hermanos: Wilson, Ofelia, David, Yolanda, Félix, Flora, Rosita, Héctor. Ya que gracias a su manera de guiarme por buen camino con sus consejos valiosos y desinteresados, gracias a su apoyo incondicional, es un compromiso placentero dedicarles con mucho respeto y cariño el fruto de un largo proceso de formación intelectual ya que han sido un ejemplo de superación y constancia para ser una mejor persona en la vida.

Juan Gabriel Sánchez Sánchez.

AGRADECIMIENTO

Dejo constancia de mi gratitud a las siguientes personas e instituciones que facilitaron la realización del presente trabajo investigativo.

A mi Madre y mis Hermanos, quienes me han ayudado en todo lo posible para la realización de este trabajo y mi formación académica.

A la Universidad Técnica de Machala, a la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud y por ende a la Carrera de Ingeniería en Alimentos, que me supo brindar verdaderos conocimientos teóricos – prácticos a través de sus catedráticos que permitieron mi formación profesional.

En especial al Ing. Miguel Guamán Guerrero Mg, Sc. y al Dr. Freddy Alberto Pereira Guanuche por su valiosa colaboración prestada como tutor de tesis.

A un profesor, compañero y amigo al Dr. Fredis Pesantes Mg. Sc. por su valiosa colaboración prestado como miembro de mi tesis.

A mis amigos incondicionales que siempre estuvieron dándome ánimos y ayudándome a terminar mi proyecto.

Juan Gabriel Sánchez Sánchez.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	3
1.2 OBJETIVOS.....	4
1.2.1 OBJETIVO GENERAL	4
1.2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	4
1.3 HIPÓTESIS.....	4
2. REVISIONES DE LITERATURA.....	5
2.1 EL CACAO.....	5
2.1.1 DEFINICIÓN.....	5
2.1.2 ASPECTOS BOTÁNICOS.....	5
2.1.2.1 TAXONOMÍA	5
2.1.2.2 ORIGEN DEL CACAO	5
2.1.2.3 SIEMBRA DE CACAO	6
2.1.2.4 EXIGENCIAS CLIMÁTICAS Y DE SUELOS	6
2.1.3 DESCRIPCIÓN GENERAL Y LONGEVIDAD DEL CACAO	7
2.1.4 VARIEDADES DE CACAO	8
2.1.4.1 EL NACIONAL	8
2.1.4.1.1 MORFOLOGÍA	8
2.1.4.2 EL CRIOLLO O NATIVO	9
2.1.4.3 EL FORASTERO	10
2.1.4.4 EL TRINITARIO	10
2.1.5 MORFOLOGÍA DE LAS SEMILLAS	10
2.1.6 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA SEMILLA	11
2.1.7 CARACTERES DESCRIPTIVOS DE LA SEMILLA	12
2.1.8 GERMINACIÓN DE LA SEMILLA	12
2.1.9 ADICIONAMIENTO DEL CACAO	12
2.1.10 LA FERMENTACIÓN	13
2.1.11 EL SECADO	13
2.1.12 LA MOLIENDA DE LA SEMILLA	14
2.1.13 LOS PRODUCTOS DEL CACAO	14
2.1.14 PRODUCCIÓN DE CACAO EN LA PROVINCIA DE EL ORO	15
2.1.15 PRODUCCIÓN DE CACAO POR LUGAR DE MUESTRAS.....	15
2.1.15.1 EL PROGRESO	15
2.1.15.2 PASAJE FINCA HUIZHO	16
2.1.15.3 ASO-TROPICAL	16
2.1.15.4 EL TRIUNFO	17
2.2 LA TEOBROMINA	17
2.2.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA SEMILLA	17
2.2.2 METABOLISMO.....	19
2.2.3 BENEFICIOS DE LA TEOBROMINA	19

2.2.4	PREVALENCIA DE LA TEOBROMINA	20
2.2.5	LA TEOBROMINA Y SU RELACIÓN CON LA SALUD	21
2.2.5.1	EFFECTOS PSICOFARMACOLÓGICOS	21
2.2.6	TEOBROMINA VS CAFEÍNA	23
2.2.7	TOXICIDAD DE LA TEOBROMINA	23
2.2.8	OBTENCIÓN DE LA TEOBROMINA	23
2.2.9	DESTILACIÓN	24
2.2.9.1	TIPOS DE DESTILACIÓN	24
2.2.10	DECANTACIÓN	25
2.2.11	CALENTAMIENTO A REFLUJO	25
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1	MATERIALES	26
3.1.1	LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	26
3.1.2	UNIVERSO DE TRABAJO	26
3.1.3	EQUIPOS	27
3.1.4	REACTIVOS	27
3.1.5	VARIOS	28
3.2	METODOLOGÍA	28
3.2.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	28
3.2.1.1	VARIABLES	28
3.2.2	SELECCIÓN DE LA MUESTRA	29
3.2.3	TAMO DE MUESTRAS.....	29
3.2.4	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	29
3.2.5	DIAGRAMA DE PROCESO DE OBTENCIÓN DE TEOBROMINA..	30
3.2.6	DIAGRAMA DE FLUJO DE EXTRACCIÓN DE TEOBROMINA	31
3.2.7	PROCEDIMIENTO.....	32
4.	RESULTADOS	33
4.1	ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO	33
4.1.1	ANÁLISIS EN LA SEMILLAS	33
4.1.2	ANÁLISIS EN LAS SEMILLAS POR VARIEDAD DE CACAO	34
4.2	ANÁLISIS EN EL POLVO DE CACAO	37
4.3	TEOBROMINA OBTENIDA	39
4.4	DENSIDAD DE LAS SEMILLAS Y DE TEOBROMINA	40
5.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	41
6.	CONCLUSIONES	42
7.	RECOMENDACIONES	43
8.	BIBLIOGRAFÍA	45
9.	ANEXOS	55

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

El cacao es uno de los cultivos más importantes de nuestro país por ser altamente apreciado en el mercado internacional debido a su alta calidad aromática y de gustativa. El producto de este cultivo ha sido catalogado como uno de los mejores del mundo siendo consumido con alta frecuencia por países extranjeros (PROECUADOR 2013).

En nuestro país se cultiva en la Región Central, Oriental y Occidental del país, alcanzando la producción nacional 212 249 T.M. anuales, en 491 221 hectáreas cultivadas (MAGAP / III CNA / SIGAGRO; INEC / ESPAC, enero 2011). En la provincia de el Oro se cuenta con 19778 ha de las de las cuales se vende 8994 T.M, Inec (2011) y cada año estas cifras van subiendo debido a que el banano ya no cuenta como el único recurso de producción de los orenses (NEC, 2011).

Así mismo, En el año 2012 se registró una exportación de cacao y sus elaborados por un total de 496.63 millones de dólares y 182,794 toneladas. Ecuador ocupa el séptimo lugar como país productor mundial de Cacao (PPMC), no obstante en el mercado mundial de cacao fino y de aroma es el primero con más del 70% de la producción global, seguido de Indonesia con un 10%. (PROECUADOR 2013).

El cacao fino o de aroma es uno de los más cotizados en el mercado internacional por características particulares de aroma y sabor. El sabor y aroma predominante es de nuez para la variedad “criollo”, frutal para la variedad “trinitaria” y floral para la variedad “nacional”. Estas características de sabor y aroma determinan un premio en los mercados internacionales (IICAGTZ- UNOCACE, 2004).

Las semillas (o *habas* o *maracas*) del fruto del árbol del cacao. Por lo general son fermentadas y secadas para su posterior utilización como el componente básico del chocolate. El cacao contiene además muchas sustancias importantes (se estima unas 300) como la anandamida, arginina, dopamina (neurotransmisor),

epicatequina (antioxidante), histamina, magnesio, serotonina (neurotransmisor), triptófano (esencial para suscitar la liberación del neurotransmisor serotonina), feniletilamina (FEA), polifenoles (antioxidantes), tiramina, salsolinol y flavonoides.

Su efecto estimulante se debe a la teobromina que produce un aumento del nivel de serotonina y dopamina. También la dosis de dopamina contenida es demasiado baja como para causar efectos estimulantes directos. Cabe señalar que la teobromina puede ser tóxica para perros y gatos.

La teobromina ($C_7H_8N_4O_2$, de nombre químico 3,7-dimetilxantina o 3,7-dihidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona) es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, familia que incluye también a la teofilina y la cafeína. En estado puro, es un polvo blanco. Es soluble en ácidos y bases, poco soluble en agua y alcohol etílico, y prácticamente insoluble en éter etílico.

Se sabe que provoca mutaciones en bacterias y en eucariotas simples, pero aparentemente no ocurre así en eucariotas complejas.

Esta sustancia se encuentra en la planta del cacao (*Theobroma cacao L*), principalmente en las semillas, las cuales contienen entre un 1% a un 4% de ésta. Al fermentar y secar las semillas, y luego procesar el extracto obtenido, se obtiene el chocolate. El chocolate negro contiene aproximadamente 450 mg de **teobromina** en 30 g, esto es diez veces más que el chocolate de leche común. (Bruneton, 1991).

Todos los productos de chocolate contienen teobromina, aunque el chocolate oscuro tiene concentraciones mucho más altas, ya que no se diluye con ingredientes como la leche y la nata.

1.1 JUSTIFICACIÓN

El uso y consumo de cacao se ha hecho muy popular y ha generado grandes ingresos de divisas al país en los últimos años, debido principalmente a la facilidad de su siembra, cuidado, producción y cosecha, permitiéndonos obtener grandes beneficios para la salud del ser humano, las semillas de cacao poseen muchas sustancias importantes (se estima unas 300) como la anandamida, arginina, dopamina (neurotransmisor), epicatequina (antioxidante), histamina, magnesio, serotonina (neurotransmisor), triptófano (esencial para suscitar la liberación del neurotransmisor serotonina), feniletilamina (FEA), polifenoles (antioxidantes), tiramina, salsolinol y flavonoides. Su efecto estimulante se debe a la teobromina que produce un aumento del nivel de serotonina y dopamina.

Por tal motivo se estima necesario conocer con exactitud la cantidad de teobromina que poseen las semillas de cacao producidas en la provincia del Oro, así mismo su proporción en cada una de las cuatro variedades como son Nacional, Forastero, Trinitario (CCN-51) Y Criollo permitiéndonos caracterizar y clasificar de mejor manera la materia prima en el caso de la Ingeniería en Alimentos es determinante saber la composición de esta para la elaboración de sub productos y más derivados provenientes de las semillas de cacao.

Son dos las razones que me motivaron a realizar la presente investigación; la primera, es determinar la cantidad de teobromina presente en las semillas de cacao y poder identificar la variedad de cacao que más contiene dicho alcaloide. En segundo lugar y principalmente, porque es prioritario contribuir con nuevas alternativas, tecnologías e información acerca de la composición química de los alimentos, en vista de que los sub productos provenientes de las semillas de cacao son en su mayoría adictivos y en calidad de estudiante de la Ingeniería en Alimentos me llamo mucho la atención saber la sustancia que la produce y si esta es perjudicial para la salud del ser humano.

La investigación se la va a realizar con responsabilidad y ética enfocada en ensayos reales y realizables, para lo cual se combinará la teoría con la práctica, puesto que será la experimentación la que permitirá comprobar la viabilidad del propósito establecido en el presente proyecto.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

- Extraer y cuantificar el alcaloide de teobromina de las semillas de cuatro variedades de cacao (*Theobroma cacao* L) producidas en la provincia de el Oro, con fines de experimentación.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la cantidad de teobromina existente en el cacao, contenida en las semillas de cuatro variedades cultivadas en la provincia del oro.
- Identificar la variedad de cacao con más contenido de teobromina en sus semillas.
- Comprobar que la teobromina presente en cada variedad de cacao establece la calidad de la fruta más apta para la elaboración de subproductos.
- Determinar si la teobromina es la responsable del sabor amargo en sus semillas.

1.3 HIPÓTESIS

La presencia de teobromina en las semillas de cacao en sus diferentes variedades nos permite determinar la calidad de fruta que se produce en la provincia del Oro, república del Ecuador.

CAPITULO 2

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

EL CACAO

2.1.1 DEFINICIÓN

***Theobroma cacao* L.** es el nombre científico que recibe el *árbol del cacao* o *cacaotero*. *theobroma* significa en griego «alimento de los dioses»; *cacao* deriva del nahua «cacáhua». Este nombre científico lleva añadida al final una abreviatura botánica convencional, en este caso L., que es la inicial del apellido del naturalista sueco que clasificó la planta, c. Linneo.

2.1.2 ASPECTOS BOTÁNICOS

2.1.2.1 TAXONOMÍA

Reino	Plantae
Subreino	Embriofitas
División	Traqueofitas
Subdivisión	Pteropsidas
Clase	Angiospermas
Sub clase	Dicotiledóneas
Orden	Malvales
Familia	Esterculiácea
Género	Theobroma
Especie	Cacao
Variedad	Nacional
Nombre científico	Theobroma cacao L.

2.1.2.2. ORIGEN DEL CACAO

Se cree que el árbol de cacao es originario de la Amazonía, y que más tarde se extendió a América Central, en especial México. Las culturas nativas de esta región, por ejemplo los Olmec y los mayas, ya lo conocían y lo utilizaban, y lo consideraban como "el alimento de los dioses". En particular, los granos de cacao eran utilizados como moneda por los aztecas quienes también lo disfrutaban como bebida. Cristóbal Colón descubrió el cacao en América, pero el cacao en grano no fue bien acogido en aquel momento en Europa. (LLIVIPUMA 2012)

Unos 20 años más tarde, Hernán Cortés descubrió la bebida amarga consumida por los aztecas y envió los granos de cacao y la receta al Rey Carlos V. Los españoles cambiaron la receta, añadiendo azúcar y calentando los ingredientes para mejorar el sabor. (LLIVIPUMA 2012). En 1828 se inventó la prensa para cacao que permitió la extracción de la manteca de cacao. Más tarde (alrededor de 1879), los suizos desarrollaron el chocolate con leche y el chocolate sólido.

2.1.2.3. SIEMBRA DE CACAO

Deben seleccionarse los clones de mayor productividad y calidad y a la vez utilizar el injerto como medio de obtener mejores resultados, en relación a uniformidad en la producción, resistencia a condiciones inapropiadas del suelo y otras ventajas que son propias de éste medio de propagación. Utilizando como patrones, aquellas variedades que han demostrado resistencia a condiciones negativas del suelo y resistencia a las enfermedades, se prepararán los semilleros, luego se trasplantarán las plantitas a fundas individuales, a los 4-6 meses estarán listas para el injerto. El cacao florece dos veces al año, la principal es en los meses de junio y julio, la segunda floración se produce en los meses de septiembre y octubre. Unos 4 meses después de la floración se obtiene la cosecha, lográndose la principal en los meses de octubre, noviembre y diciembre. La segunda cosecha se obtiene en los meses de febrero, marzo y abril. La cosecha se debe realizar frecuentemente en temporada de mayor producción la cosecha debe ser semanal, mientras que en épocas lluviosas debe darse cada quincena, en tanto que en períodos secos cada treinta días.

2.1.2.4 EXIGENCIAS CLIMÁTICAS Y DE SUELOS

El cacao crece mejor en climas ecuatoriales donde hay abundantes precipitaciones durante todo el año y donde hay temperaturas relativamente estables, de entre 25 a 28 grados centígrados, variando muy poco su productividad y calidad. Se obtiene mayor desarrollo y productividad en suelos ricos en materia orgánica, profundos, de consistencia físicas franco-arcillosos y a la vez que tenga buena filtración o drenaje.

Esta última condición sobre el drenaje, es muy importante porque el cacao no resiste un exceso de humedad en el suelo. La acumulación de agua en el suelo, le crea problemas al sistema radicular que se ve impedido de realizar sus funciones.

El agua estancada además de dificultar las actividades del sistema radicular, crea un ambiente favorable para el desarrollo de enfermedades fungosas, y puede asfixiar las raíces, por falta de aire que circule entre las partículas del terreno. Las condiciones físicas que ofrece el terreno franco-arcilloso, son ideales para el cultivo del cacao en algunos casos se requiere la construcción de zanjas, que permitan la salida del agua sobrante del suelo, evitando así su acumulación y los problemas que ocasiona al sistema radicular de las plantas.

Cuando la temperatura baja a menos de 21 grados centígrados no hay floración, también ocasiona trastornos a las plantas, una temperatura muy alta. Por ésta razón el cultivo exige el sombreado, como una forma de evitar la penetración de los rayos solares y la elevación de la temperatura. Una temperatura que se mantenga entre 22 y 28 grados Celsius, asegura una buena y permanente floración en éste cultivo (Gutiérrez 2012).

2.1.3 DESCRIPCIÓN GENERAL Y LONGEVIDAD DEL CACAO

Según estudios genéticos, el cacao, cuyo nombre científico es *Theobroma cacao*, de la familia de Sterculiaceae, es nativa de América del Sur, de la cuenca del río Orinoco y río Amazonas. Ahora se extiende desde Brasil a México en las Américas, en zonas tropicales, y la siembra en el oeste de África también el

cacaotero es un árbol necesitado de humedad y calor, de hoja perenne y siempre floreciente, crece entre los 6 y los 10 m de altura. Requiere sombra (crecen a la sombra de otros árboles más grandes como cocoteros y plataneros), protección del viento y un suelo rico y poroso, pero no se desarrolla bien en las tierras bajas de vapores cálidos. Su altura ideal es, más o menos, a 400 m. El terreno debe ser rico en nitrógeno y en potasio, y el clima húmedo, con una temperatura entre los 20 °C y los 30 °C. (Cuesta 2008)

El cacao alcanza su máximo desarrollo hacia la edad de diez años. Su longevidad es difícil de establecer. Se estima que en plantación debe mantenerse de veinticinco a treinta años. Se conoce sin embargo árboles mucho más viejos, algunos de los cuales son quizá centenarios. Pero constituyen casos aislados y es verosímil que no pueda ser mantenida una plantación en buen estado de producción que rebase más de los 40 años. (BRAUDEAU 1970).

Sus pequeñas flores de color rosa y sus frutos crecen de forma inusual: directamente del tronco y de las ramas más antiguas. El fruto es una baya denominada *maraca* o *mazorca*, que tiene forma de calabacín alargado, se vuelve roja o amarillo purpúrea y pesa aproximadamente 450 g cuando madura (de 15 a 30 cm de largo por 7 a 12 de ancho).

Un árbol comienza a rendir cuando tiene 4 ó 5 años. En un año, cuando madura, puede tener 6.000 flores pero sólo 20 maracas. A pesar de que sus frutos maduran durante todo el año, normalmente se realizan dos cosechas: la principal (que empieza hacia el final de la estación lluviosa y continúa hasta el inicio de la estación seca) y la intermedia (al principio del siguiente periodo de lluvias), y son necesarios de cinco a seis meses entre su fertilización y su recolección (Cuesta 2008).

2.1.4. VARIEDADES DE CACAO.

En el Ecuador existen cuatro variedades principales de cacao: el Nacional, el criollo o nativo, el forastero y el trinitario:

2.1.4.1 EL NACIONAL

2.1.4.1.1 MORFOLOGÍA

Es una variedad producida exclusivamente en Ecuador, PAREDES (2003) indica que la arquitectura de árbol de semilla es el típico tronco erguido (crecimiento ortótropico) al final del cual crece un verticilo de hasta 5 ramas laterales (crecimiento plageotropico) debajo del pinto de inserción de este molinete u horqueta, crece otra rama erecto o chupón, dando origen a otro verticilo, pudiendo el árbol crecer hasta 20 m si se desarrolla bajo sombra intensa. Cuando se propaga vegetativamente, por injertos o ranillas, se obtiene por lo general una planta con un tipo de crecimiento lateral o plagio trópico, el cual puede variar en su ángulo de crecimiento pudiendo llegar hasta los 5 m de altura.

Raíz principal pivotante y tiene muchas secundarias, la mayoría de las cuales se encuentran en los primeros 30 cm de suelo. Las hojas son simples, enteras y de color verde bastante variable (color café claro, morado o rojizo, verde pálido) y de peciolo corto y caducan cada 2 a3 meses. Las flores son pequeñas y se producen, al igual que los frutos, en racimos pequeños sobre el tejido maduro mayor de u año del tronco y de las ramas alrededor de los sitios donde antes hubo hojas. Las flores se abren durante las tardes y pueden ser fecundadas durante todo el día siguiente. La polinización es entomófila destacando una mosquita del genero *forcipomya* (SOTOMAYOR 2011).

Las características morfológicas que presenta en el fruto son: color amarillo intenso, cáscara rugosa, surcos bien pronunciados, almendras de forma elíptica terminadas en punta pigmentaciones intensas color rosado en las flores, hojas lanceoladas. Para confirmar la hipótesis del cacao Nacional como un grupo diferente se realizaron estudios utilizando marcadores moleculares, con esto indican que en realidad son materiales diferentes de los cacaos Criollos y Forasteros, a pesar de su aparente similitud Esta variedad, conocida también como cacao “arriba” es reconocida mundialmente por su aroma floral y por ser un cacao fino y de aroma. (Zambrano 2010).

Los rendimientos para el Cacao fino de aroma, son a partir del tercer año es de cuatro quintales, en el cuarto año se obtiene ocho quintales, durante el quinto año produce diez y ocho quintales, en el transcurso del sexto año produce treinta quintales y en el séptimo año produce cuarenta quintales por hectárea al año. (Schmid 2013).

2.1.4.2 EL CRIOLLO O NATIVO

Es el cacao genuino y fue bautizado así por los españoles al llegar a México. Este cacao se expandió desde México y América Central, América del Sur (Colombia) y la parte norte de Ecuador (Esmeraldas) hacia otras partes del mundo, Siendo cultivada principalmente en América por Perú, Venezuela (fundamentalmente en Chuao), Honduras, Colombia, Ecuador, Nicaragua, Guatemala, Trinidad, Bolivia, Jamaica, México, Granada; y en el Caribe, en la zona del océano Índico y en Indonesia, Es un cacao reconocido como de gran calidad, de escaso contenido en tanino, reservado para la fabricación de los chocolates más finos. Pero debido a su susceptibilidad fue desapareciendo. (LLIVIPUMA 2012).

La producción de éste cacao es relativamente inferior ya que el árbol es frágil y de escaso rendimiento, aunque se los considera de alta calidad por ser muy agradable. Tienen mazorcas de tamaño mediano, alargadas con la punta aguda recta o curvada, con cáscara poca rugosa con 10 surcos. Se caracterizan por tener semillas grandes blancas o ligeramente pigmentadas, cilíndricas u ovales y aromáticas. Representa, como mucho, el 10% de la producción mundial.

2.1.4.3 EL FORASTERO

Originario de la alta Amazonia. Se trata de un cacao normal, con el tanino más elevado, proviene normalmente de África. No están bien definidos. Se caracterizan por tener mazorcas pequeñas inicialmente son de color verde claro o rosado pálido, luego se ponen amarillas, la punta es redondeada, la cáscara de la

mazorca es lisa o ligeramente rugosa, delgadas, tienen 10 surcos superficiales, con capa lignificada en el centro del pericarpio.

El grano tiene una cáscara gruesa, es resistente y poco aromático. Para neutralizar sus imperfecciones, requiere un intenso tueste, de donde proceden el sabor y el aroma a quemado de la mayoría de los chocolates. Los mejores productores usan granos forasteros en sus mezclas, para dar cuerpo y amplitud al chocolate, pero la acidez, el equilibrio y la complejidad de los mejores chocolates proviene de la variedad criolla. (LLIVIPUMA 2012).

2.1.4.4 EL TRINITARIO

Es un grupo complejo, una población híbrida que se origina en Trinidad, producto de una mezcla de criollo con forastero por lo tanto hay diferentes grados de cruzamiento, lo que indica el grado de calidad, sus características son intermedias. Es posible encontrar mazorcas, amarillas, rojas, anaranjadas, la cáscara gruesa algo rugosa, 5 surcos marcados, la punta redondeada.

Dentro de éste grupo se incluye el clon CCN-51 que es el resultado de un programa de cruzamiento entre materiales Forasteros Amazónicos con Trinitarios, llegando a obtener el CCN (Colección Castro Naranjal) un clon altamente productivo, con resistencia a enfermedades y con características físicas codiciadas. (LLIVIPUMA 2012).

2.1.5. MORFOLOGÍA DE LAS SEMILLAS

El fruto una baya grande comúnmente denominada "mazorca", carnosa, oblonga a ovada, amarilla o purpúrea, de 15 a 30 cm de largo por 7 a 10 cm de grueso, puntiaguda y con camellones longitudinales; cada mazorca contiene en general entre 30 y 40 semillas dispuestas en placentación axial e incrustadas en una masa de pulpa desarrollada de las capas externas de la testa.

Las semillas son grandes del tamaño de una almendra, color chocolate o púrpuro, de 2 a 3 cm de largo y de sabor amargo. No tiene albumen y están recubiertas por una pulpa mucilaginosa de color blanco y de sabor dulce y acidulado. Todo el volumen de la semilla en el interior está prácticamente ocupado por los 2 cotiledones del embrión. Se les llama vulgarmente "habas" o "granos" de cacao. Ricas en almidón, en proteínas, en materia grasa, lo cual les confiere un valor nutritivo real.

Los cotiledones están fuertemente plagados y presentan numerosas lóbulos imbricados unos con otros. Están recubiertos por una finísima película traslúcida, brillante, que representan los vestigios del endospermo. Están reunidos en base a una radícula, cuya longitud alcanza de 6 a 7 mm, y a una gémula, rudimentaria; ambas están insertas entre los dos cotiledones y rodeadas por sus lóbulos y constituyen lo que se llama impropriamente el germen del haba de cacao.

2.1.6 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LAS SEMILLAS DE CACAO

Los granos de cacao contienen:

- 54% manteca de cacao
- 11.5% proteínas
- 9% celulosa
- 7.5% almidón y pentosanos
- 6% taninos
- 5% agua
- 2.6% oligoelementos y sales
- 2% ácidos orgánicos y esencias
- 1.2% teobromina
- 1% azúcares
- 0.2% cafeína

El cacao contiene además muchas sustancias importantes (se estima unas 300) como la anandamida, arginina, dopamina (neurotransmisor), epicatequina (antioxidante), histamina, magnesio, serotonina (neurotransmisor), triptófano (esencial para suscitar la liberación del neurotransmisor serotonina), feniletilamina (FEA), polifenoles (antioxidantes), tiramina, salsolinol y flavonoides. Su efecto

estimulante se debe a la teobromina que produce un aumento del nivel de serotonina y dopamina.

2.1.7. CARACTERES DESCRIPTIVOS DE LA SEMILLA

Las dimensiones y las formas de los granos son, como el color de los cotiledones, caracteres utilizados para la clasificación de los cacaos y para la descripción de los cultivares o de los clones. Aunque estos caracteres pueden presentar para un mismo cultivar o para un mismo clon una variabilidad bastante grande, acentuada aun por influencia de factores externos tales como los climáticos, están sin embargo, en estrecha dependencia de factores genéticos.

Los principales caracteres reseñados en la descripción de las semillas son las siguientes:

- a) **La longitud**, que puede variar de 20 a 30 mm, situándose la media para alrededor de 25 mm
- b) **La anchura**, que puede oscilar entre 10 y 17 mm, estando la media alrededor de 12.5 mm
- c) **El espesor**, que varía de 7 a 12 mm, estando la media al redor de 8 a 8.5 mm, mientras que se han observado cifras más elevadas para la variedad de criollos
- d) **El peso**, que es sin duda uno de los caracteres más importantes, pero proviene precisar la manera de valorarlo, interesa, en efecto, no solo el peso total del haba fresca sino también en su estado de secado. El peso en estado fresco está comprendido entre 1.3 a 2.3 g y para el estado de secado está entre 0.9 a 1.5 g.

2.1.8. GERMINACIÓN DE LA SEMILLA

La semilla del cacao esta presta a germinar desde que el fruto está maduro. La madurez fisiológica de la semilla se alcanza incluso mucho antes de que el fruto este maduro: granos extraídos de una mazorca recolectada antes de su madurez, cuando la pulpa que los rodea aun es compacta y dura, pueden germinar sin dificultad. (BRAUDEAU 1970).

2.1.9 ACANDICIONAMIENTO DEL CACAO

En el procesamiento del cacao existen dos etapas críticas, que son el secado y la fermentación, procesos que ocasionan que las paredes celulares se destruyan, permitiendo que los contenidos de la semilla queden expuestos a otros constituyentes químicos que afectan sus propiedades organolépticas (Héctor A. Tinoco 2010).

El almacenamiento del cacao juega un papel preponderante. Si no es realizado en perfectas condiciones todo el esfuerzo realizado en obtener un producto de calidad puede echarse a perder, terminado el secado los granos se envasan en costales de yute y si todavía están calientes producto del secado al aire libre, se deja enfriar antes de ensacarlos.

El ambiente donde se va almacenar debe estar exento de olores extraños, como los provenientes de pesticidas, combustible, alimentos con olores penetrantes, etc. se debe evitar del todo la contaminación por humo.

El cacao es altamente higroscópico, es decir absorbe la humedad con suma rapidez, si se almacenan almendras con menos de 8% de humedad, pueden mantenerse en buen estado por unos cinco meses, en medios menores de 75% de humedad relativa, cuando la almendra seca es almacenada en ambientes con 95% de humedad relativa en 10 días puede superar el 15 % de humedad (Gutiérrez 2012).

2.1.10 LA FERMENTACIÓN

La fermentación del cacao es una etapa muy importante en el procesamiento del grano, ya que se producen cambios bioquímicos que dan origen a los precursores del aroma y sabor (Contreras *et al.*, 2002), lo que determina su calidad física y química (Manual de productos básicos, 1991).

Entre los cambios bioquímicos está el desarrollo de la pigmentación color marrón a partir de compuestos fenólicos (Cros y Jeanjean, 1995), lo cual es un indicativo de la fermentación del grano de cacao. Además, los contenidos de precursores

sensoriales como polifenoles (Luna *et al.*, 2002) alcaloides (cafeína y teobromina) (Bucheli *et al.*, 2001) y acidez volátil (en especial el ácido acético) (Hill y Kold, 1999), son indicadores de la calidad organoléptica del cacao. (Rubén Darío Rivera Fernández1 2012).

2.1.11 EL SECADO

Los objetivos principales del secado son: reducir la humedad de cosecha de los granos y semillas a niveles seguros para el almacenamiento y óptimos para su comercialización. Secado significa la remoción de cantidades de agua de determinado material, la cual se elimina en una mezcla de aire-vapor de agua.

Los métodos de eliminación de humedad varían desde medios mecánicos, utilizando prensas, máquinas centrífugas, hasta el secado por medios térmicos con aire caliente por tiro natural o forzado (Restrepo y Burbano, 2005). El secado se puede realizar con aire natural o con aire caliente y generalmente se refiere a la temperatura del aire de secado, sin embargo, la temperatura que el grano adquiere en los procesos de secado determinará si mantiene la calidad inicial; en los granos es necesario que la humedad óptima no sea un promedio de una gran disimilitud de humedades, sino que exista una homogeneidad en su humedad. (Héctor A. Tinoco 2010).

El secado tiene como misión llevar el contenido del 60% aproximadamente en humedad de las semillas fermentadas a un valor del 6 o 7 %. El contenido de humedad del cacao secado debe ser mantenido de cualquier modo por debajo del 8% si se requiere conservar el cacao en buenas condiciones (BRAUDEAU 1970).

La calidad del grano de cacao está directamente relacionada con un adecuado proceso de fermentación y secado. Las principales características requeridas por la industria, son los siguientes:

- fermentación más 70%
- humedad menos 7%
- granos violetas menores al 20 %
- granos pizarrosos menores al 10%
- defecto menor al 10%

2.1.12 LA MOLIENDA DE LA SEMILLA

La molienda consiste en desmenuzar finamente los granos de cacao a una temperatura de 50 a 70 °C de modo a obtener, por fusión de la manteca de cacao, una pasta fluida cuya finura es una de las condiciones de la calidad de los productos. (Castillo 2010).

2.1.13 LOS PRODUCTOS DEL CACAO

El cacao es una planta tropical que crece en climas cálidos y húmedos, concentrándose su producción en una banda estrecha de no más de 20 grados al norte y al sur de la Línea Ecuatorial. Aunque su uso más conocido es como el ingrediente principal del chocolate, existen en realidad cuatro productos intermedios que se derivan del cacao en grano: licor de cacao, manteca de cacao, torta de cacao y cacao en polvo. (BRAUDEAU 1970).

2.1.14 PRODUCCIÓN DE CACAO EN LA PROVINCIA DEL ORO

En la provincia de El Oro existen 21 mil hectáreas de plantaciones de cacao, de las cuales 2.500 son de la variedad Nacional y Forastero mientras que 18.000 son de la variedad criollo y Trinitarios (CCN-51)). La producción de cacao como promedio por hectárea es de cinco quintales. (ENDARA 2008).

2.1.15 PRODUCCION DE CACAO POR LUGAR DE MUESTRA

2.2.15.1 EL PROGRESO

El Progreso produce cacao de primera para exportación, Alrededor de doscientos quintales de cacao se exportan semanalmente a Francia desde la parroquia El Progreso, en el cantón Pasaje.

Esta fruta tropical, que a comienzos del siglo XX fue llamada la pepa de oro por su color, valor y sabor, es el principal producto que siembran los habitantes de El Progreso. En esta zona existen cuatro mil hectáreas de cultivos de cacao. Se produce en especial la variedad nacional.

Ante esto, desde 1985, cerca de 120 integrantes conforman la Asociación de Productores de Mercadeo y Comercialización de Cacao El Progreso. Esta fue creada con el objetivo de comercializar el cacao a nivel internacional. Los agricultores de esta zona tienen fincas de entre cinco y quince hectáreas. La parroquia cuenta con 3.667 campesinos asentados en los 22 sectores de esta parroquia perteneciente al cantón Pasaje. (Torres, Produccion y Comercializacion de Cacao 2014).

Se estima que anualmente la producción es de 4.000 quintales de cacao. Este producto es entregado a la empresa francesa Kaoka, a través de la Unocase (Unión Nacional de Asociaciones de Cacaoteros), que almacena la producción de los gremios del país y la comercializa con la compañía. (Torres, Produccion y Comercializacion de cacao ASO- EL PROGRESO 2014).

En esta parroquia, además de producir cacao, desde el 17 hasta el 19 de octubre de cada año, se realiza la Feria Nacional del Cacao, en la que se elige a la Reina del Cacao y el mejor cacao.

Según el presidente de la Asociación de Cacaoteros de El Progreso, Arcelio Ángel Torres, el objetivo de la integración de los agricultores es “evitar que los

intermediarios paguen precios bajos y cuando son las ferias dan premios a la mejor producción.

2.2.15.2 PASAJE FINCA HUIZHO

Una de las principales actividades agrícolas del Cantón es la siembra de cacao, Las parroquias que producen este fruto son: Progreso, Casacay, Uzhcurrumi, Pasaje (Palenque -San Gregorio). En la actualidad en el cantón existen 9.664 hectáreas plantadas de cacao y más de la mitad están ubicada en la Parroquia El Progreso aproximadamente hay unas 5.000 has. De cacao sembradas (LLIVIPUMA 2012).

Es importante señalar que Pasaje lidera la cadena productiva de cacao debido a la existencia en sus asociaciones de un proceso organizativo y asociativo más amplio a nivel provincial y que es presidida por el Eco. José Villacis productor del Cantón Pasaje, a más de destacar que CAPROCAO se encuentra conformada por asociaciones de productores cacaoteros pertenecientes a los cantones: Pasaje, El Guabo, Santa Rosa, Arenillas.

La muestra extraída para nuestro estudio fue de la finca Huizho, ubicada en la parroquia Casacay, del cantón pasaje, provincia del Oro. Esta cuenta con 10,4 hectáreas con cacao sembradas con una producción de 5 quintales/ hectárea dentro de las cuales figuran las variedades Criollo y Nacional, esta última considerada como cacao fino y de aroma, además cuenta con árboles frutales naranja, mandarinas, entre otros. (LOJA 2014).

2.2.15.3 ASO-TROPICAL

La muestra numero 3 extraída para nuestro estudio fue de la Asociación de Productores de Frutas Tropicales (ASO-TROPICAL), está ubicada en la parroquia el progreso, del cantón pasaje, provincia del Oro. Esta cuenta un total de 280 hectáreas de cacao sembradas entre sus 33 socios que la conforman con una producción de 300 quintales dentro de las cuales figuran la variedad forastera y Nacional, esta última considerada como cacao fino y de aroma, así mismo sus estudios

demuestran que producen aproximadamente 7 quintales / hectárea. (Villacis 2014).

2.2.15.4 EL TRIUNFO

La muestra numero 4 extraída para nuestro estudio fue de la finca el Triunfo, está ubicada en la parroquia el Triunfo, del cantón el Guabo, provincia del Oro. Esta cuenta un total de 100 hectáreas de cacao divididas en 30 hectáreas de la variedad Trinitaria (CCN-51) y 70 hectáreas de la variedad Nacional sembradas, de la misma manera sus estudios demuestran que producen aproximadamente 6 quintales / hectárea, ellos también se dedican a la compra y venta de cacao, a aproximadamente su producción final es de 500 quintales mensuales, siendo sus principales proveedores Machala, Pasaje, Arenillas y Santa Rosa. (Sarmiento 2014).

2.2 LA TEOBROMINA

La teobromina fue descubierta por primera vez en los granos de cacao en 1841 por un químico ruso con el nombre de Alejandro Woskresensky. La familia botánica Theobroma proviene de juntar dos términos griegos: Theo, que significa Dios y es también la raíz de otras palabras como teología, y Broma que significa alimento de aquí el calificativo del cacao “*alimento de los dioses*”. Nomenclatura que posteriormente daría nombre a uno de sus componentes principales y causante del placer que nos produce comer este alimento: la teobromina. (Eudis 2013).

La teobromina se encuentra en el origen de las propiedades terapéuticas del cacao reconocidas desde hace mucho tiempo. Mejora la digestión y el movimiento intestinal y devuelve vigor y tono. Estimulante y protector del Organismo, es un producto de salud para el corazón, los pulmones, el cerebro y los músculos. A diferencia de la cafeína es un estimulante del sistema nervioso central leve y también tiene algunas propiedades antioxidantes (Beaudoin, Graham, 2011).

2.2.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA TEOBROMINA

La teobromina ($C_7H_8N_4O_2$, de nombre químico 3,7-dimetilxantina o 3,7-dihidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona) es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, familia que incluye también a la teofilina y la cafeína. Es estimulante del Sistema Nervioso Central (SNC) (López de Cerain 2012)

PROPIEDADES FÍSICAS	DESCRIPCIÓN
Fórmula Molecular (F.M)	$C_7H_8N_4O_2$
Peso Molecular (P.M)	180.16 g/mol
Solubilidad	En estado puro, es un polvo blanco. Es soluble en ácidos y bases, poco soluble en agua y alcohol etílico, y prácticamente insoluble en éter, benceno, cloroformo y tetracloruro de carbono.
Punto de Ebullición	290 °C a 295 °C
Punto de Fusión	357°C
Densidad	1.2 g/cm
Constante de Disociación (pKa)	pKa _a 8.8/ pKa _b 0.7

La teobromina es una sustancia que se encuentra en la planta del cacao (*Theobroma cacao L*), principalmente en las semillas, las cuales contienen entre un 1% a un 4% de ésta. Al fermentar y secar las semillas, y luego procesar el extracto obtenido, se obtiene el chocolate. El chocolate negro contiene aproximadamente 450 mg de teobromina en 30 g, esto es diez veces más que el chocolate de leche común. (Bruneton, 1991).



A diferencia de la cafeína, la teobromina tiene tres grupos metilo en lugar de dos, y la presencia de un grupo de metilo adicional retarda la eliminación de la teobromina del cuerpo. Por lo tanto, la teobromina es una sustancia de acción más prolongada que la cafeína aunque su efecto como estimulante es más suave que el de la cafeína. (Andrejus Korolkovas / Joseph H. Burckhalte 2005).

La teobromina se encuentra en mayores proporciones en el grano de cacao pero además se encuentra en más de sesenta especies de plantas como en la nuez de cola, yerba mate, el té o la guaraná.

Cuando la teobromina se aísla de los granos de cacao, la sustancia es incolora a blanca y muy amarga. Todos los productos de chocolate contienen teobromina, aunque el chocolate oscuro tiene concentraciones mucho más altas, ya que no se diluye con ingredientes como la leche y la nata.

2.2.2 METABOLISMO

En los seres humanos las metilxantinas son metabolizadas por desmetilación que implica el citocromo P450. En consecuencia, la teobromina (3,7-metil-xantina) se divide en 3-metil-7-metil-xantina y xantina. Este último se metaboliza posteriormente en la voluntad ácido oxidasa 7-metil-xantina paraúrico. E.D.E. señaló que la teobromina no se metaboliza en dimetil como otras xantinas (teofilina y paraxantina), a diferencia de la cafeína que puede sufrir una forma de desmetilación como la teobromina (Beaudoin y Graham, 2011).

Después de la administración oral de teobromina en los seres humanos, su absorción en el tracto intestinal es muy lenta en comparación con la cafeína, en el que el plasma da un pico en 2,5 horas a 30 minutos a la teobromina y la cafeína. Pero cuando la ingesta de teobromina se realiza a través del plasma la teobromina consumida a partir del chocolate el pico se produce en menos de 2 horas, que puede ser causado por la estimulación de la producción de bilis, lo que mejora la absorción de la teobromina (Beaudoin y Graham, 2011).

2.2.3 BENEFICIOS DE LA TEOBROMINA

La teobromina presenta varios beneficios en los seres humanos según estudios realizados por (Beaudoin y Graham, 2011). Determinaron que la teobromina:

- Produce sensación de bienestar
- Actúa como un diurético suave
- Relaja los vasos sanguíneos
- Relaja los músculos lisos
- Actúa como un afrodisiaco
- Es un estimulante suave del sistema nervioso

La lista de beneficios citada, dio lugar a que la teobromina haya sido muy utilizada históricamente para tratar problemas del corazón y otras condiciones médicas tales como insuficiencia cardiaca, presión arterial alta, tos, dolores de cabeza y asma. (FERREIRA 2013).

En la actualidad, algunos estudios han encontrado que el cacao tiene un efecto en el aumento de óxido nítrico (NO) síntesis dentro del cuerpo. Algunos autores tienden a atribuir este beneficio a los componentes flavanoles del cacao. Sin embargo, otros expertos han destacado que este puede ser en realidad un efecto de la teobromina. Esto significa que la teobromina puede ser eficaz en el aumento de NO y por lo tanto dar una mejor bomba si se ingiere antes del entrenamiento. (López de Cerain 2012).

2.2.4 PREVALENCIA DE TEOBROMINA

La teobromina en el cacao se acumula en las hojas verdes, y más mientras que su concentración disminuye. En el fruto del cacao la teobromina es sintetizada por el pericarpio (parte externa de la semilla) y los cotiledones (embrión de la semilla) de la nueva semilla de cacao, A medida sin embargo, que la fruta madura la concentración de Teobromina en el pericarpio disminuye y aumenta en los

cotiledones . Por lo tanto lo que sugiere que el lugar principal de la síntesis de la teobromina es el grano del cacao.

Otro proceso responsable del cambio en la concentración de teobromina se produce durante la preparación de la semilla, más específicamente durante la fermentación, la teobromina migra a la cáscara de semillas, causando una disminución de la concentración de teobromina de aproximadamente 25% (Beaudoin y Graham, 2011).

La concentración de las metilxantinas, incluyendo teobromina en el cacao en grano varía dependiendo de las especies frutales, aunque no existe un consenso en la comunidad científica acerca de las especies con mayor concentración.

Brunetto y colaboradores han determinado que la los granos de cacao en los intervalos de concentración entre 0,7% y 2,0%, siendo que para la variedad Forastero no aplicaba por que la concentración de teobromina era más elevada, mientras que Hammestone y colegas determinaron una mayor concentración de teobromina en la variedad Criollo (Brunetto et al, 2007; Beaudoin y Graham, 2011).

Los procedimientos analíticos utilizados en ambos estudios son similares, pero cualquier cambio, por pequeño que sea, puede ser considerado significativo a las diferencias obtenidas (Beaudoin y Graham, 2011).

2.2.5 LA TEOBROMINA Y SU RELACIÓN CON LA SALUD

2.2.5.1. EFECTOS PSICOFARMACOLÓGICOS

El chocolate se ha relacionado con la felicidad y el aumento de estado de ánimo. A pesar de su alto consumo, está relacionado con los aspectos sensoriales, la presencia de compuestos farmacológicamente activos también es, hoy, un motivo de preocupación y creciente consumo de este producto. Los diversos compuestos en el chocolate, las metilxantinas, la teobromina y la cafeína son conocidos por sus efectos psicoactivos (Smitet al, 2004; Mitchellet al, 2011.).

Aunque la teobromina es más prevalente en metilxantina en el chocolate, las investigaciones realizadas para determinar sus efectos en animales o en seres

humanos es relativamente escaso, en comparación con los estudios sobre los efectos de la cafeína (Beaudoin y Graham, 2011).

Mumford y sus colegas realizaron un estudio de la teobromina con placebo y cafeína en placebo, teniendo como principal objetivo determinar los efectos individuales de las metilxantinas. Y estos efectos aumentan el bienestar, la energía, la disposición social y la atención cognitiva. En este estudio se reveló que hubo cambios en todas las materias relativas a la ingesta de cafeína, pero en el caso de teobromina sólo cinco de los siete individuos en estudio, produjo cambios estadísticamente significativos. De estos cinco, cuatro de ellos muestran cambios significativos en el consumo de 560 mg / día y sólo uno detectan cambios a 100 mg / día. Aunque este estudio se realizó con sólo siete personas se puede concluir que el consumo de teobromina puede tener algún efecto, pero mucho menor que el consumo de cafeína (Mumford et al., 1994).

Smit y empleados, efectuaron dos estudios que se centraron en medir los efectos cognitivos, tiempo de reacción y del estado de ánimo provocado por las metilxantinas. En el primer estudio se utilizaron cápsulas que contienen en cantidades encontradas metilxantinas una barra de chocolate oscuro 50,0g con cacao en polvo (11,6g), la teobromina (250,0mg) y cafeína (19,0mg) y una cápsula con agua.

En el segundo estudio se prepararon tres cápsulas representativas con cantidades de metilxantinas 60,0g de tres tipos de chocolate, blanco (sin metilxantinas), leche (100,0mg cafeínae 8,0 mg teobromina) y negro (20,0mg cafeínae 250, 0 mg de teobromina).

Después de esta investigación, se concluyó que, en el primer estudio hubo mejoras en el estado de ánimo, la función cognitiva y la energía cuando el consumo de cápsulas de chocolate negro; en el segundo estudio también fueron observados efectos positivo en las funciones psicológicas descritas previamente en individuos que consumían chocolate negro y la leche; el mismo no se observó

en los individuos que consumían chocolate blanco, al igual que con las cápsulas de agua.

Así, los resultados presentados en este estudio indican que las metilxantinas, la teobromina y la cafeína son las únicas sustancias en el chocolate que proporcionan efectos psicoestimulantes (Smitet al., 2004).

Más recientemente, en 2011, se realizó un estudio de Mitchell y los empleados cuyo objetivo era ver si la cafeína y la teobromina tenían una acción sinérgica en el estado de ánimo, atención y la presión arterial. Dado que la proporción cafeína / teobromina en el chocolate es de 1: 5 a chocolate oscuro contiene 120-150mg de cafeína y teobromina 700-800mg, en este estudio los autores utilizaron dosis semejantes a esta matriz. Los resultados obtenidos de este estudio sugieren que la teobromina tiene una contribución insignificante a los efectos de la atención cognitiva, y este alcali disminuye la presión arterial, mientras que aumenta la cafeína (Mitchellet al., 2011).

Además, pocos estudios han investigado los efectos de comportamiento en individuos sometidos a una dieta con teobromina, por eso no es posible sacar una conclusión clara sobre este tema, sólo podemos inferir que la teobromina produce efectos psicofarmacológicos más pequeñas que la cafeína y que efectos sobre el estado de ánimo y la cognición no están de acuerdo, lo que confirma la necesidad de más estudios en esta área (Smitet al, 2004; Beaudoin y Graham, 2011; Mitchellet al, 2011.).

2.2.6 TEOBROMINA VS CAFEÍNA

La Teobromina tiene efectos en el cuerpo humano que son similares a los de la cafeína.

- La cafeína se metaboliza más rápidamente, es adictiva, y aumenta el estado de alerta y el estrés emocional. También tiene un mayor efecto que la teobromina en la estimulación del sistema nervioso.

- Por el contrario, la teobromina produce sensación de bienestar, no es adictiva, no tiene tanto efecto sobre el sistema nervioso central y sus efectos sobre el cuerpo son mucho más duraderos que los de la cafeína. La acción diurética de la teobromina es muy similar a la de la cafeína.

2.2.7 TOXICIDAD DE LA TEOBROMINA

La teobromina se produce en concentraciones bastante altas en el chocolate. Una pieza de 50 g de chocolate negro podría contener en promedio 378 mg de teobromina. Esto es obviamente una cantidad segura de chocolate que se podría comer sin efectos secundarios peligrosos.

Las dosis de más de 1000 mg se han utilizado con seguridad en los ensayos clínicos sin efectos dañinos pero puede causar leves molestias estomacales. Debe de ingerirse una gran cantidad de cacao para que la teobromina pueda tener efectos nocivos en los seres humanos. (López de Cerain 2012).

Aunque la teobromina no causa efectos nocivos con los seres humanos, es altamente tóxica para algunos animales domésticos, incluyendo perros y gatos. Una leve dosis de teobromina en los animales, puede causar arritmias cardíacas y convulsiones, incluso la muerte. (Andrejus Korolkovas / Joseph H. Burckhalte 2005).

2.2.8 OBTENCIÓN DE LA TEOBROMINA

El método que se utilizara para la obtención de la teobromina de las cuatro principales variedades de cacao (Criollo o nativo, forastero Trinitario, Nacional), a experimentar es el de Gerritsma y Koers que es muy específico y sencillo de realizar.

2.2.9 DESTILACIÓN

La destilación es un proceso que consiste en calentar un líquido hasta su temperatura de ebullición, condensar los vapores formados y recolectarlos como líquido destilado.

En el sistema formado por un líquido dentro de un recipiente que se calienta ocurre diversos eventos, tales como: aumento de la temperatura, de la energía cinética de las moléculas, de la velocidad de evaporación y del número de moléculas que se encuentra en fase vapor.

Al aumentar la temperatura comienza la evaporación de las moléculas que se hallan próximas a la superficie del líquido. Hasta que la presión de vapor interna del mismo iguala a la presión externa que soporta el sistema. Cuando estas presiones son iguales se observa que la evaporación ocurre también en el seno del líquido es lo que se denomina ebullición: la temperatura a la que ello ocurre se conoce como temperatura de ebullición. El punto de ebullición (PE) es la temperatura a la cual la presión de vapor iguala a la presión externa que soporta el sistema. Por convención. Cuando la presión externa es igual a una atmosfera (1 atm= 760 mm de mercurio) se denomina Punto de Ebullición Normal.

2.2.9.1 TIPOS DE DESTILACIÓN

Para la clasificación se puede tener en cuenta la fase vapor, la fase líquida y la presión externa que soporta el sistema. Cuando se considera la fase vapor y según la vía que siga el vapor formado, se puede distinguir: destilación simple, destilación fraccionada y destilación por arrastre con vapor de agua.

2.2.9.1.1 Destilación simple.

El vapor que se retira del seno del líquido, pasa inmediatamente al refrigerante donde condensa y luego se recolecta el líquido destilado. Mediante este procedimiento pueden separarse mezclas de dos componentes que tengan una diferencia de puntos de ebullición de, al menos, 60-80 °C. Mezclas de sustancias cuyos puntos de ebullición difieran en 30-60 °C se pueden separar por destilaciones sencillas repetidas, recogiendo las fracciones enriquecidas en uno de los componentes, las cuales se vuelven a destilar. Sin embargo, este no es el método más eficaz para separar estas mezclas, recurriendo en tales casos a la destilación fraccionada.

2.2.9.1.2 Destilacion fraccionada

la fase vapor que se separa del seno del liquido atraviesa una columna de fraccionamiento, llega a un refrigerante donde condensa y luego se recolecta. La destilacion fraccionada es la combinacion de muchas destilaciones simples en una sola operación, para lo cual se utiliza una columna de fraccionamiento vertical rellena con un material inerte (perlas de vidrio, trozos de plato poroso, etc) en el cual suceden sucesivas evaporaciones y condensaciones hasta que finalmente el vapor alcanza el extremo de la columna y condensa en el refrigerante. (Alicia lamarque 2008).

2.2.10 DECANTACION

La decantación es un proceso físico de separación de mezcla especial para separar mezclas heterogéneas, estas pueden ser exclusivamente líquido - líquido ó sólido - líquido. La decantación se basa en la diferencia de densidades entre los dos componentes, que hace que dejados en reposo, ambos se separen hasta situarse el más denso en la parte inferior del envase que los contiene. De esta forma, podemos vaciar el contenido por arriba (si queremos tomar el componente menos denso) o por abajo (si queremos tomar el más denso) (EVA MARIA CASADO SANCHEZ . PURIFICACION DURAN BAQUERO 2012).

2.2.11 CALENTAMIENTO A REFLUJO

Es una técnica de laboratorio experimental, que viene usada para producir el calentamiento de reacciones que tienen lugar a temperaturas más altas que la temperatura ambiente y en las que es mejor mantener un volumen constante en la reacción. El montaje del reflujo en un laboratorio, nos permite la realización de procesos químicos usando una temperatura bastante superior a la temperatura ambiente, como es el caso por ejemplo, de las reacciones de recristalización, u otras, en las cuales, a través de este mecanismo se puede evitar perder disolvente en el transcurso del proceso, y por lo tanto, sin que se libere éste a la atmósfera. (MENDEZ 2010).

CAPITULO 3

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo investigativo, se realizo en el Laboratorio de Investigaciones, de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala con coordenadas:

Latitud: 3°17'07.19"

Longitud: 79°54'46.17".

Figura 2. Fotografía satelital de la Universidad Técnica de Machala



Fuente: Google Earth, 2014.

3.1.2 UNIVERSO DE TRABAJO

Se tomaron muestras por duplicado de las semillas de las diferentes variedades de cacao a analizarse, las mismas que son cultivadas en las fincas de la provincia del Oro tales como Aso-tropical, El progreso, Huizho y el Triunfo- Progreso.

3.1.3 EQUIPOS

- Recipiente para realizar mezclas
- Matraz aforado
- Equipo de destilación
- Equipo para calentar a baño maría
- Olla exprés
- Equipo de decantación
- Balanza marca ZHIMADZU con 0,001 mg de sensibilidad.
- Molino semi industrial fabricación artesanal
- Termómetro digital
- Matraces aforados de 100 ml
- Embudo
- Agitador magnético
- Vasos de precipitación de 500ml
- Pipetas graduadas
- Bureta de 25 ml 10 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Papel filtro Whatman # 40

3.1.4 REACTIVOS

- Agua
- 250 g de muestra (cada variedad)
- Etanol
- Oxido de magnesio
- Cloroformo
- Éter etílico

3.1.5 VARIOS

- Hojas de papel bond
- Computador Pentium III
- Impresora LX – 300
- Bolígrafos
- Fundas de identificación

3.2 METODOLOGÍA

En el presente trabajo investigativo, se realizó un estudio experimental de tipo analítico cuantitativo que nos permitió obtener diferentes cantidades de sustancia (teobromina) de acuerdo a la variedad utilizada en cada proceso de extracción.

3.2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Descriptiva: En la presente investigación se señaló las características particulares y diferenciadoras de las características física química de la teobromina, así como la cantidad de esta sustancia contenida en las semillas de cada variedad de cacao. El objetivo fue establecer las relaciones entre variables con la finalidad de contrastar la hipótesis.

Experimental: Basándonos en el concepto del químico ruso con el nombre de **Alejandro Woskresensky** (1841) quien descubrió la teobromina, se definió el experimento en el cual se manipulo las variables independientes para conocer el resultado en la variable dependiente (g teobromina).

3.2.2 VARIABLES

En todo tipo de investigación existen tres tipos de variables:

- **Variables independientes:** variedad de polvo de caco obtenido de sus semillas a utilizar y el estado natural

- **Variables dependientes:** cantidad de teobromina obtenida.
- **Variables moderadores:** cantidad de agua, reactivos y de cacao que empleamos para realizar la muestra, el tiempo que dejamos para que la muestra repose.

3.2.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras fueron recolectadas de diferentes fincas productoras de cacao de la provincia del oro, tales como el progreso, el triunfo, pasaje en forma aleatoria ya que la gran mayoría de estas no cuentan con las cuatro principales variedades de cacao (Criollo o nativo, forastero Trinitario, Nacional), a experimentar.

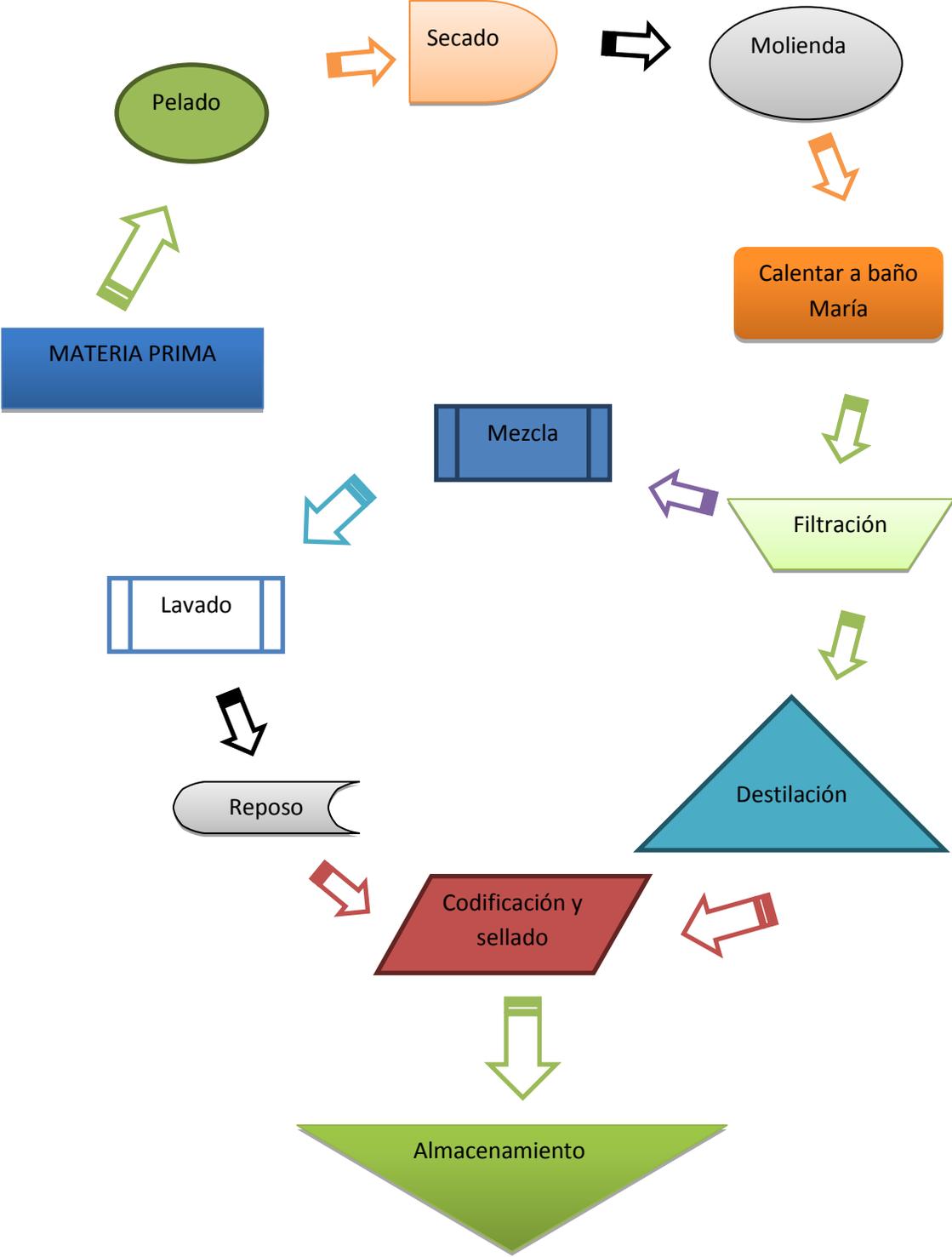
3.2.4 TOMA DE MUESTRAS

Se cosecho 3 mazorcas de cada variedad de cacao en estado de maduración, luego se procedió a deshuesarla o quitarle la corteza de recubrimiento para posteriormente sacarle sus semillas y tomar una muestra representativa de cada variedad, eliminando las impurezas y material extraño a las mismas.

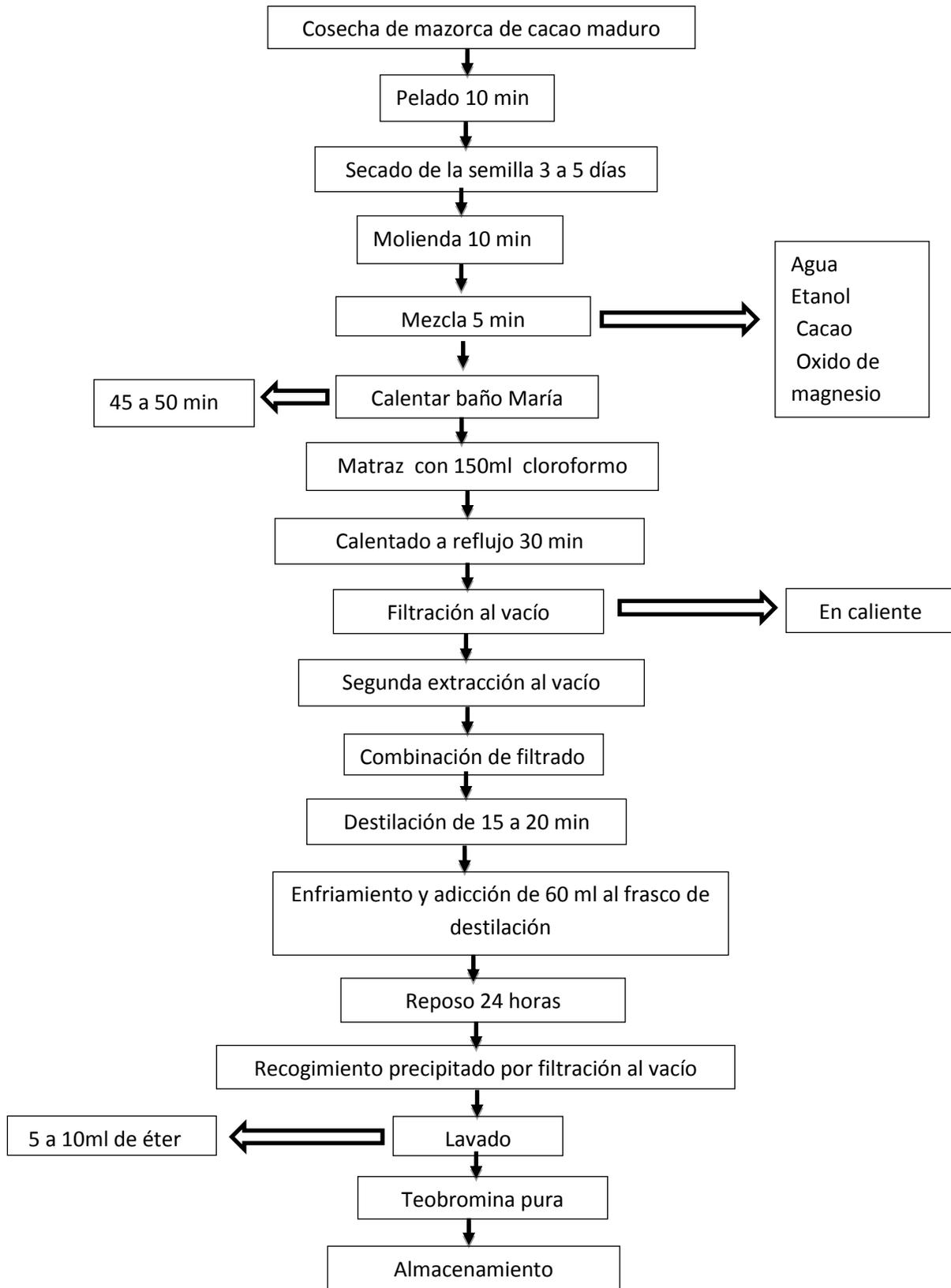
3.2.5 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Luego de seleccionadas las semillas de cada variedad a experimentar, se procedió a secar las mismas hasta una humedad de 8 % (BRAUDEAU 1970), posteriormente se realizó la molienda de las mismas por separado de acuerdo a cada variedad, obteniendo un polvo fino para el análisis respectivo.

3.2.5 DIAGRAMA DE PROCESO DE OBTENCIÓN DE TEOBROMINA



3.2.6 DIAGRAMA DE FLUJO DE EXTRACCIÓN DE TEOBROMINA



3.2.7 PROCEDIMIENTO

- 1.** El primer paso para realizar la extracción es colocar 40ml de agua y 20 ml de etanol en el recipiente de mezcla, y a continuación añadimos 20g de polvo de cacao puro con 5gr de óxido de magnesio, para agitar la mezcla.
- 2.** Ponemos la mezcla a calentar al baño María y agitamos con frecuencia hasta que la masa permanezca semi-seca a un tiempo de 45 a 50 minutos. Más tarde, ésta se pasa a un matraz aforado y se le añade 150 ml de cloroformo.
- 3.** Se calienta llevando a reflujo por 30 minutos y se filtra la mezcla caliente al vacío.
- 4.** Se regresó el residuo sólido en el matraz para la segunda extracción, pasando el tiempo se combinó los filtrados, recuperando el cloroformo por destilación simple y debería quedarnos de 5 a 10 mL de cloroformo.
- 5.** Cuando se enfría tenemos que añadir 60 mL de éter etílico al frasco de destilación.
- 6.** Después se tapa y se deja reposar.
- 7.** Finalmente, se recoge el precipitado cristalino que debería quedar de filtrar al vacío y se lava el producto con unos 8 mL de éter, obteniéndose finalmente la teobromina pura.
- 8.** Repetimos este proceso variando la proporción inicial de sustancia y la variedad de cada polvo de cacao.
- 9.** Finalmente, realizamos una tabla donde podamos comparar los resultados obtenidos en las distintas muestras y así poder realizar nuestro estudio de la proporción de teobromina existente en las diferentes variedades de semillas de cacao cultivadas en la provincia del Oro, 2014.

CAPITULO 4

4. RESULTADOS

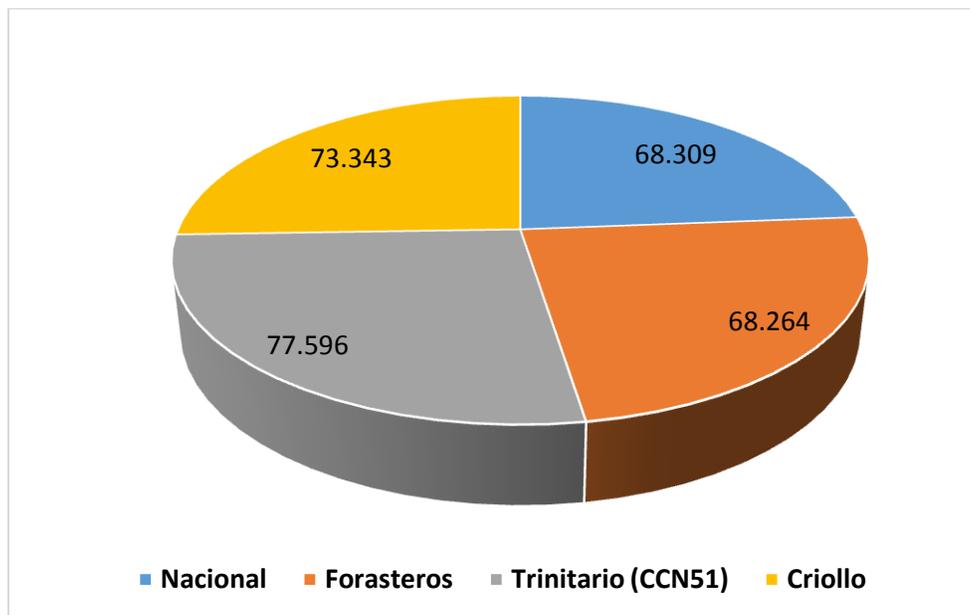
4.1. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO

En las muestras obtenidas, se aplicó las siguientes pruebas

4.1.1 ANÁLISIS EN LAS SEMILLAS

Para llevar a cabo este proceso se recolecto tres mazorcas por variedad de cacao de las distintas fincas y sectores de la provincia del Oro, la recolección y secado se realizó en condiciones normales.

Grafico # 1 Determinación de mermas (Perdidas) producidas por Secado, Fermentación, Tostado, Descascarado y Molienda de las semillas de cacao de acuerdo a sus variedades



Fuente: El Autor

Los valores observados en la gráfico # 1 están aproximados al 100% de producto inicial.

Tabla # 1.

Determinación de mermas (Perdidas) producidas por Secado, Fermentación, Tostado, Descascarado y Molienda de las semillas de cacao de acuerdo a sus variedades.

Variedad de cacao	3 MAZORCAS POR VARIEDAD (G)					Merma obtenida (%)	Lugar de recolección muestra
	Semilla fresca + cascara	semilla seca + cascara	Semilla Pura	cascara	Polvo de cacao		
Nacional	320	202.546	106	25	101.413	68.309	El triunfo - progreso
Forastero	212,562	107.296	75	12	67.457	68.264	Aso-tropical
Trinitario (CCN51)	340.155	128.243	80	15	76.206	77.596	El progreso
Criollo	168.637	83.734	49	15	44.953	73.343	Pasaje - Huizho

Fuente: El Autor

De acuerdo a los datos obtenidos en la tabla # 1, se puede determinar las mermas que se producen desde su recolección hasta obtener el polvo de cacao, pasando las semillas por las siguientes fases el Secado, Fermentación, Tostado, Descascarado y Molienda de las semillas de cacao de acuerdo a sus variedades. Produciéndose para la variedad Nacional y Forastero un 68.309 % Y 68.264 de perdidas respectivamente, mientras que para la variedad de Trinitario(CCN-51) fue de un 77.596%, así mismo en la variedad denominada como Criollo se observa un 73.343% de mermas obtenidas.

4.1.2 ANALISIS EN LAS SEMILLAS POR VARIEDAD DE CACAO

Para llevar a cabo este proceso se escogió tres semillas al azar de cada variedad y se sometió a las pruebas de Sabor, Olor, Color y Textura, las mismas que fueron realizadas por tres catadores y en condiciones normales.

Tabla # 1. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura de las semillas de cacao variedad Nacional.

	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA		
	SEMILLAS DE CACAO NACIONAL	Dulce	x	Fragancia floral	x	Violeta oscuro		Firme	X
Salado			Leñoso o resinoso		Café		Granulosa		
Acido									
Amargo			Frutal (no cítrico)		Amarillenta		Suave		
Acre o Astringente				Cítrico		purpurea		Áspera	
				Olor químico		Rosado			
				Mentolado		Crema	x		
				Descompuesto		Moradas			
				Rancio		Rojizo			

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 1, el mismo que explica que la variedad de cacao Nacional es de sabor dulce, Color crema, de Textura firme y posee un Olor con denominación de fragancia floral cacao.

Tabla # 2. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura de las semillas de cacao variedad Forastero.

Semillas de Cacao Forastero	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Dulce	x	Fragancia floral		Violeta oscuro		Firme	X
	Salado		Leñoso o resinoso		Caoba	x	Granulosa	
	Acido							
	Amargo		Frutal (no cítrico)	x	Amarillenta		Suave	
	Acre o Astringente				Cítrico			
			Olor químico		Rosado			
			Mentolado		Blanco			
			Descompuesto		Moradas			
		Rancio		Rojizo				
						Áspera		

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 2, el mismo que explica que la variedad de cacao Forastero es de sabor dulce, Color caoba, de Textura firme y posee un Olor con denominación frutal no cítrico.

Tabla # 3. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura de las semillas de cacao variedad Trinitario (CCN-51).

Semillas de Cacao Trinitario (CCN-51)	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Dulce		Fragancia floral		Violeta oscuro		Firme	X
	Salado		Leñoso o resinoso		Café		Granulosa	
	Acido							
	Amargo	x	Frutal (no cítrico)	X	Amarillenta		Suave	
	Acre o Astringente							
			Olor químico		Rosado	x		
			Mentolado		Blanco			
			Descompuesto		Moradas			
		Rancio		Rojizo				
						Áspera		

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 3, el mismo que explica que la variedad de cacao Trinitario (CCN-51) es de sabor amargo, Color Rosado, de Textura firme y posee un Olor con denominación frutal no cítrico.

Tabla # 4. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura de las semillas de cacao variedad Criollo.

	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA		
	Semillas de Cacao Criollo	Dulce	x	Fragancia floral	x	Violeta oscuro		Firme	X
Salado			Leñoso o resinoso		Café		Granulosa		
Acido									
Amargo			Frutal (no cítrico)		Amarillenta		Suave		
Acre o Astringente				Cítrico		purpurea		Áspera	
				Olor químico		Rosado			
				Quemado o ahumado		Negro			
				Descompuesto		Moradas			
				Rancio		Rojizo	x		

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 4, el mismo que explica que la variedad de cacao Criollo es de sabor dulce, Color rojizo, de Textura firme y posee un Olor con denominación Fragancia floral Cacao.

4.2 ANÁLISIS EN EL POLVO DE CACAO

Para llevar a cabo este proceso se escogió 5 g de muestra al azar de cada variedad y se sometió a las pruebas de Sabor, Olor, Color y Textura, las mismas que fueron realizadas por tres catadores y en condiciones normales.

Tabla # 5. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura del polvo de cacao variedad Criollo

Polvo de Cacao Variedad Criollo	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Dulce		Fragancia floral	x	Negro Claro		Firme	
	Salado		Leñoso o resinoso		Café oscuro	x	Granulosa	
	Acido							
	Amargo	x	Olor químico		Rojizo		Blanda polvoso	x
	Astringente		inodoro		Tierra		En forma de cristales	
	Otros		Otros		otros		Otros	

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 5, el mismo que explica que el polvo de la variedad de cacao Criollo es de sabor amargo, Color café oscuro, de Textura Blanda polvoso y posee un Olor con denominación Fragancia floral Cacao.

Tabla # 6. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura del polvo de cacao variedad Forastero.

Polvo de Cacao Variedad Forastero	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Dulce		Fragancia floral	x	Negro Claro		Firme	
	Salado		Leñoso o resinoso		Café oscuro		Granulosa	
	Acido							
	Amargo	x	Olor químico		Rojizo	x	Blanda polvoso	x
	Astringente		inodoro		Tierra		En forma de cristales	
	Otros		Otros		otros		Otros	

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 6, el mismo que explica que el polvo de la variedad de cacao Forasteros es de sabor amargo, Color rojizo, de Textura Blanda polvoso y posee un Olor con denominación Fragancia floral Cacao.

Tabla # 7. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura del polvo de cacao variedad Trinitario (CCN-51).

Polvo de Cacao variedad trinitario (CCN-51)	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Dulce		Fragancia floral	x	Negro Claro		Firme	
	Salado		Leñoso o resinoso		Café oscuro		Granulosa	
	Acido							
	Amargo	x	Olor químico		Rojizo		Blanda polvoso	x
	Astringente		inodoro		Tierra	x	En forma de cristales	
	Otros		Otros		otros		Otros	

Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 7, el mismo que explica que el polvo de la variedad de cacao Trinitario (CCN-51) es de sabor amargo, Color tierra, de Textura Blanda polvoso y posee un Olor con denominación Fragancia floral Cacao.

Tabla # 8. Determinación de Sabor, Olor, Color y Textura del polvo de cacao variedad Nacional.

Polvo de Cacao variedad Nacional	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Dulce		Fragancia floral	x	Negro Claro	x	Firme	
	Salado		Leñoso o resinoso		Café oscuro		Granulosa	
	Acido							
	Amargo	x	Olor químico		Rojizo		Blanda polvoso	x
	Astringente		inodoro		Tierra		En forma de cristales	
	Otros		Otros		otros		Otros	

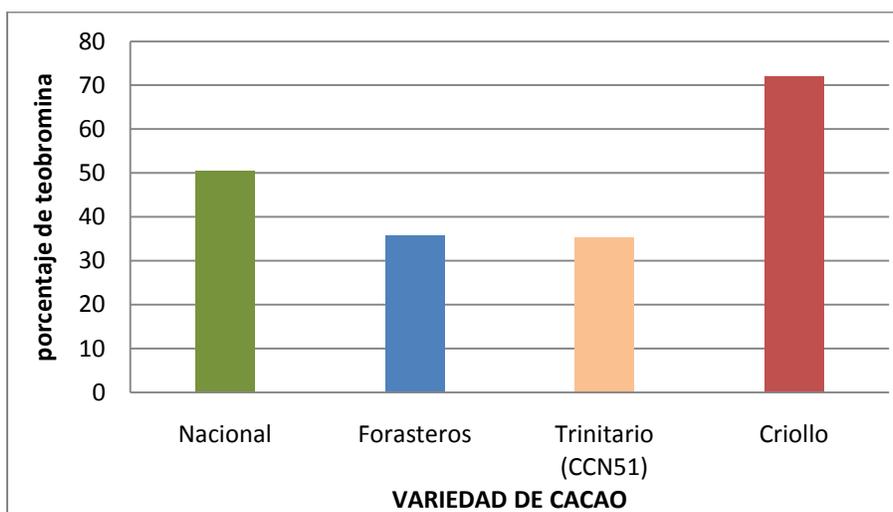
Fuente: El Autor

De acuerdo a los resultados obtenidos en el cuadro # 8, el mismo que explica que el polvo de la variedad de cacao Nacional es de sabor amargo, Color negro claro, de Textura Blanda polvoso y posee un Olor con denominación Fragancia floral Cacao.

4.3 TEOBROMINA OBTENIDA

Para la obtención de la teobromina se utilizó 20 g de muestra realizándose las pruebas por duplicado para cada una de las variedades, las condiciones utilizadas fueron de acuerdo a la técnica de laboratorio. Los pesos obtenidos de cada una de las muestras fueron medidas en una balanza analítica.

GRAFICO # 2 CANTIDAD DE TEOBROMINA OBTENIDA



Fuente: El Autor

Tabla # 2. Determinación de la cantidad de teobromina contenida en el polvo de cacao por cada variedad.

Variedades de cacao	Cantidad de sustancia teobromina pura		Promedio (g)
	Muestra 1 (g)	Muestra 2 (g)	
Nacional	0.627	0.384	0.505
Forasteros	0.344	0.375	0.3575
Trinitario (CCN-51)	0.397	0.308	0.3525
Criollo	0.732	0.706	0.719

Fuente: El Autor

De acuerdo a los datos obtenidos en la tabla # 2 de las pruebas de laboratorio, se estima que el mayor contenido de teobromina es de 0.719 g/ 20g muestra correspondiente a la variedad de cacao Criollo, Seguido de 0.505 g/ 20g de muestra para la variedad Nacional, mientras que para la variedad de forasteros es

de 0.3575 g/20 g muestra y la variedad de trinitarios (CCN-51) es la que contiene menor cantidad de teobromina con un 0.3525 g/ 20g muestra.

4.4 DENSIDAD DE LAS SEMILLAS Y LA TEOBROMINA

Para llevar a cabo estas pruebas de laboratorio en el caso de la densidad se recurrió a la técnica utilizada por Arquímedes para determinar densidades de sólidos y para el caso de la solubilidad se la realizo con Ácido Nítrico nivel R.A. En condiciones normales.

Tabla # 3. Determinación de la densidad de las semillas y la teobromina obtenida en cada una de las variedades de cacao.

Variedades de cacao	DENSIDADES (g/cc)	
	SEMILLAS	TEOBROMINA
Nacional	1.0258	1.082
Forasteros	1.0346	1.123
Trinitario (CCN-51)	1.079	1.394
Criollo	0.964	0.976

Fuente: El Autor

Según los datos contenidos en la tabla # 3, se puede determinar que las semillas de la variedad de cacao trinitario (CCN-51) es de mayor densidad con el 1.079 g/cc, mientras que el 1.0346 g/cc es para la variedad Forastero, así mismo el 1.025 g/cc es para la variedad Nacional y en menor proporción se encuentra la variedad criollo con una densidad de 0.964 g/cc en sus semillas.

En el caso de la teobromina se encuentra con mayor densidad la variedad trinitario (CCN-51) con el 1.394 g/cc, mientras que el 1.123 g/cc es para la variedad Forastero, así mismo el 1.082 g/cc es para la variedad Nacional y en menor proporción se encuentra la variedad criollo con una densidad de 0.976 g/cc.

Tabla # 4. Determinación de la solubilidad de la teobromina obtenida en cada una de las variedades de cacao.

Variedades de cacao	Solubilidad (Ácido Nítrico) %
Nacional	1.28
Forasteros	1.28
Trinitario (CCN-51)	1.28
Criollo	1.28

Para la solubilidad de la teobromina se estimó que es totalmente soluble en ácido nítrico grado R.A en un 1.28% de efectividad.

5. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos, en la obtención de polvo de cacao para su posterior utilización en la extracción de teobromina, se puede observar una gran disminución en el peso y volumen de las semillas en sus distintas variedades de experimentación. Este comportamiento se produce debido a la eliminación de humedad de las semillas y los procesos que se llevan a cabo hasta obtener el polvo de cacao. Siendo aproximadamente del 71% las pérdidas producidas desde su cosecha, deshuesado, Secado, Fermentación, Tostado, Descascarado y Molienda.

En lo referente al comportamiento de las semillas de las distintas variedades de cacao la que presenta mayor perdidas es la variedad trinitaria (CCN-51) debido a que contiene una cascara más gruesa y presenta mayor humedad en sus semillas, en lo referente al contenido pulpa por mazorca esta la variedad Nacional, mientras que la que contiene menor pulpa es la variedad Criollo.

Mediante la metodología empleada en la extracción de teobromina a partir del polvo extraído de las semillas de cacao, se pudo obtener la teobromina pura la

cual tiene forma de cristales pequeños de color blanco, siendo la variedad Criollo la que contiene mayor teobromina en sus semillas con un 0.0719 g/ 20g de muestra (Hammerstone et al., 1994), así mismo la que contiene menor cantidad de teobromina en sus semillas es la variedad trinitarios (CCN-51) con un 0.03525 g/ 20g muestra. Se caracterizaron por su densidad (1.2 g/cc), solubilidad (**Es soluble en ácidos y bases**) y con su punto de fusión (273°C) (Bruneton, 1991).

Las semillas de cacao contienen de 10,000 a 35, 500 ppm de teobromina esto depende mucho de las condiciones ambientales y nutrimentales del desarrollo de la planta, en nuestra extracción se determinó que las semillas contenían 24,800 ppm, lo que nos indica que tanto las semilla como el procedimiento de extracción utilizado presenta gran nivel de precisión. (Duke 2010).

La solubilidad de la teobromina se estimó que 0.5 ml de ácido nítrico grado R.A es capaz de diluir totalmente 0.064g de teobromina pura, determinándose su efectividad en 1.28% (Beaudoin y Graham, 2011).

6. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se concluye que:

- Se logró extraer y cuantificar la teobromina existente en las semillas de las cuatro variedades de cacao (*theobroma cacao* L), como son Nacional, Forastero, Criollo y Trinitario (CCN-51) producidas en las diferentes fincas de la provincia de el Oro, con una concentración de 24, 800 ppm.
- Se determinó también que las variedad de cacao con más contenido de teobromina en sus semillas es la Criollo con el 0.719 g, seguido por la variedad Nacional con 0.555 g, mientras que para la variedad de forasteros es de 0.3575 g y para la variedad Trinitarios (CCN-51) es de 0.3525 g.
- El tiempo de reposo de la muestra con eter etilico despues de las 24 horas no produce cambios significativos en la teobromina, asi mismo tambien se

concluyo que el tiempo de destilacion para recuperar el cloroformo es de 10 min a 40 °C.

- En lo referente a la determinación de la posible influencia de la teobromina contenida en el polvo de cacao para la elaboracion de sub productos podemos concluir que, si influye ya que las variedades de cacao mas apetecidas por el mercado internacional es la que tienen mayor presencia de teobromina en sus semillas es la variedad Criollo y Nacional (63% de la producción mundial), de bido a su sabor y aroma (Rubén Darío Rivera Fernández1 2012).
- En lo referente al sabor amargo del chocolate se debe directamente a la presencia de la teobromina de aquí que para elaborar los subproductos a partir de polvo y pasta de cacao se agrea azucar y otros aditivos (Amores 2006).

7. RECOMENDACIONES

En el proceso de extracción de teobromina de las semillas de cacao en sus distintas variedades se recomienda:

- Se recomienda no consumir directamente cantidades superiores a 1000 mg de teobromina ya en los ensayos clínicos realizados con cantidades iguales o menores no tiene efectos dañinos pero puede causar leves molestias estomacales (Eudis 2013).
- Que en el proceso de secado de las semillas de cacao se lleve a cabo en ambientes contralados, para evitar pérdidas de tiempo y posibles ingresos de materias extrañas a la muestra.
- En el proceso de molienda se debe tener especial cuidado con el ingreso de materias extrañas a la muestra, así mismo que no se produzca a gran

velocidad ya que esto ocasiona que el polvo de cacao cambie de fase solida a semi-sólida formando una pasta semi-liquida.

- Una vez que la muestra se lleve a calentamiento a baño maría mantenerla agitándose durante el tiempo adecuado, teniendo especial cuidado con inhalar los vapores tóxicos que se producen.
- Cuando la muestra se lleve a calentamiento a reflujo evitar en lo posible que no exista ninguna clase de fuga de vapores, si se produce una fuga de vapor se perderá todo el cloroformo quedándose invalidada la muestra.
- En el equipo de destilación evitar la exposición a fuego directo al matraz, así mismo revisar que el líquido refrigerante este fluyendo correctamente.
- Para el lavado de la teobromina tener especial cuidado con la cantidad de éter a utilizar, ya que no se puede volatilizar rápidamente.

SUMARIO

“EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TEOBROMINA EXISTENTE EN LAS SEMILLAS DE CUATRO VARIEDADES DE CACAO (*Theobroma cacao* L) PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”

Objetivo: Extraer y cuantificar el alcaloide de teobromina de las semillas de cuatro variedades de cacao (*Theobroma cacao* L) producidas en la provincia de el Oro, con fines de experimentación.

Materiales y métodos: Se tomaran muestras por duplicado de las semillas de las diferentes variedades de cacao a analizarse, las mismas que son cultivadas en las fincas de la provincia del Oro tales como Aso-tropical, El progreso, Huizho y el Triunfo-Progreso. Se utilizó los siguientes materiales, Recipiente para realizar mezclas, Matraz aforado, Equipo de destilación, Equipo para calentar a baño maría, Olla exprés, Equipo de decantación, Balanza marca ZHIMADZU con 0,001 mg de sensibilidad, Molino semi industrial fabricación artesanal, Termómetro digital, Matraces aforados de 100 ml, Embudo, Agitador magnético, Vasos de precipitación de 500ml, Pipetas graduadas, Bureta de 25 ml 10 ml, Matraz Erlenmeyer de 250 ml, Papel filtro Whatman # 40, entre los reactivos que se utilizó están Agua, Etanol, Oxido de magnesio, Cloroformo, Éter etílico y se aplicó la técnica de extracción de teobromina por duplicado a cada variedad de cacao.

Resultados: En la extracción de teobromina a partir del polvo de semillas de cacao, se pudo obtener la teobromina pura la cual tiene forma de cristales pequeños de color blanco, siendo la variedad Criollo la que contiene mayor teobromina en sus semillas con un 0.0719 g/ 20g de muestra (Hammerstone et al.1994), así mismo la que contiene menor cantidad de teobromina en sus semillas es la variedad trinitarios (CCN-51) con un 0.03525 g/ 20g muestra. Se caracterizaron por su densidad (1.2 g/cc), solubilidad (Es soluble en ácidos y bases) y con su punto de fusión (273°C) (Bruneton, 1991).

Conclusión: Se logró extraer y cuantificar la teobromina de las semillas de cuatro variedades de cacao, Se determinó que las variedad de cacao con más contenido de teobromina en sus semillas es la Criollo y Nacional con el 0.719 g/ 20g y 0.555 g/ 20g de muestra respectivamente, mientras que para la variedad de forasteros es de 0.3575 g/20 g, y Trinitarios (CCN51) 0.3525g/ 20 g

SUMMARY

"EXTRACTION AND QUANTIFICATION OF EXISTING THEOBROMINE IN THE SEEDS OF FOUR VARIETIES OF CACAO (*Theobroma cacao* L) PRODUCED IN THE PROVINCE OF ORO, 2014"

Objective: To extract and quantify the alkaloid theobromine seeds of four varieties of cacao (*Theobroma cacao* L) produced in the province of el Oro, for experimental purposes.

Materials and methods: samples were taken in duplicate from the seeds of the different varieties of cocoa tested, the same as they are grown on farms in the province of Oro such as Aso-tropical, Progress, Progress Huizho and Triunfo. The following materials, container for Mixes, volumetric flask, distillation equipment, equipment to warm bath, cooker, decanting equipment, Balance brand ZHIMADZU with 0.001 mg of sensitivity, semi-industrial craftsmanship Molino, digital thermometer was used, flasks of 100 ml, funnel, magnetic stirrer, 500ml beakers, graduated pipettes, 25 ml Burette 10 ml, 250 ml Erlenmeyer flask, filter paper Whatman # 40 between the reagents used are water, 250 g sample (each variety), Ethanol, Magnesium oxide, chloroform, ethyl ether and theobromine extraction technique duplicate each cocoa variety applied. Results: Using the methodology used in the extraction of theobromine powder extracted from the seeds of cacao, was able to obtain pure theobromine which has the form of small white crystals, with the Criollo variety that contains more theobromine in their seeds with a 0.0719 g / 20g sample (Hammerstone et al., 1994), also containing the least amount of theobromine in the seeds is trinitarios variety (CCN-51) with 0.03525 g / 20g sample. They were characterized by their density (1.2 g / cc), solubility (It is soluble in acids and bases) and its melting point (273 ° C) (Bruneton, 1991).

Conclusion: It was possible to extract and quantify theobromine seeds of four varieties of cocoa, it was determined that the variety of cocoa more theobromine content in its seeds is the Criollo and National to 0719 g / 20 g and 0555 g / 20g shows respectively while for the variety of outsiders it is 0.3575 g / 20 g, and Trinity (CCN51) 0.3525g / 20 g.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. BRAUDEAU, Jean. el cacao . barcelona : blume, barcelona, 1970, 1970.
2. CASTILLO, Ada falco, silvia llera, lumey. higroscopicidad de habas de cacao a 25 °c. ciencia y tecnología de alimentos. vol. 20. cuba: d - instituto de investigaciones para la industria alimentaria , 2010.
3. CUESTA, Juan carlos plúa. diseño de una línea procesadora de pasta de cacao artesanal". guayaquil- ecuador: escuela superior politécnica del litoral, 2008.
4. ENDARA, Arturo. «el ministerio de agricultura, ganaderia, acuacultura y pesca.» el magap. 25 de febrero de 2008. <http://www.agricultura.gob.ec/magap-busca-reactivar-produccion-cacaotera-en-el-oro-2/> (último acceso: 30 de mayo de 2015).
5. EUDIS, Gonzalez. la teobromina estimulante y protector del organismo. 05 de febrero de 2013. <http://lateobromina.blogspot.com/> (último acceso: 26 de mayo de 2015).
6. FERREIRA, Andreia sobreiro. «validacion y determinacion de teobromina en cascaras de cacao por cromatografia liquida .» 25 de marzo de 2013. http://run.unl.pt/bitstream/10362/11377/1/ferreira_2013.pdf (último acceso: 30 de mayo de 2015).
7. HÉCTOR A. Tinoco, diana yomali ospina. «análisis del proceso de deshidratación de cacao para la disminución del tiempo de secado.» revista eia. (escuela de ingeniería de antioquia,), 2010: 1-12.
8. HIPERNOVAL.CL. Hipernoval.cl. 27 de junio de 2007-2012. <http://www.hipernova.cl/notas/elcacao.html> (último acceso: 8 de septiembre de 2013).
9. JIMÉNEZ-VIEYRA, María elena, maría de la luz zambrano-zaragoza, y saúl cardoso-sánchez. «teobromina en chocolate en polvo.» humanidad tecnologia y ciencia del instituto politacnico nacional, 2012: 4.
10. LLIVIPUMA, Mayra mariela. «identificación y caracterización de oportunidades de negocios para jóvenes del área rural vinculados a la cadena productiva del cacao en el cantón pasaje de la provincia de el oro.» en identificación y caracterización de oportunidades de negocios para

jóvenes del área rural vinculados a la cadena productiva del cacao en el cantón Pasaje de la provincia de El Oro, de Mayra Mariela Ilivipuma Ar, 151. Machala: Universidad Técnica de Machala, 2012.

11. LOJA, Jose Alberto, entrevista de Juan Gabriel Sanchez Sanchez. Producción de cacao en su finca y cuantas variedades existen en ella (27 de junio de 2014).
12. MANABI, Universidad Técnica de Manabi. «tesis de grado .» en establecimientos de parámetros (físicos, químicos y organolépticos) para diferenciar y valorizar el cacao, de Leonor Palacio Sedeño Angela, 257. Manabi: Universidad Técnica de Manabi, 2008.
13. PROECUADOR. www.proecuador.gob.ec. 08 de agosto de 2013. http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/08/proec_as2013_cacao.pdf (último acceso: 06 de mayo de 2014).
14. RUBÉN Darío Rivera Fernández^{1, 2}, Freddy Wilberto Mecías Gallo², Ángel Monserrate Guzmán Cedeño^{1, 2}, Mayra Mercedes. «efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (Theobroma cacao L.) tipo nacional.» *Ciencia y Tecnología*, julio 2012: 1-7.
15. SARMIENTO, Henry, entrevista de Juan Gabriel Sanchez Sanchez.. producción y comercialización de cacao y sus variedades (24 de junio de 2014).
16. SOTOMAYOR, Richard Fernando Cordova. Acción del boro, zinc, calcio y otros micronutrientes en las fases fenológicas de floración y cuajado de mazorcas en cacao nacional, sitio Jumón. Machala: Universidad Técnica de Machala, 2011.
17. TORRES, Arcelio Ángel, entrevista de Juan Gabriel Sanchez Sanchez.. producción y comercialización de cacao aso- el progreso (27 de junio de 2014).
18. VILLACIS, Eco. Jorge, entrevista de Juan Gabriel Sanchez Sanchez. producción y comercialización de cacao y las variedades que ellos la producen. (23 de junio de 2014).
19. ZAMBRANO, Alexis. Caracterización de parámetros físicos de calidad en almendras de cacao criollo, trinitario y forastero durante el proceso de secado. *Revista Científica Agronomía Tropical* vol. 60(4), 2010. Venezuela: Red Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Venezuela, 2010.

20. CACAO. Botanica. n.p., n.d. web. 18 dec. 2011. <<http://www.botanical-online.com/alcaloidescacao.htm>>.
21. MÉNDEZ, F. "Obtención de la teobromina en cacao." scribd. n.p., n.d. web. 15 jan. 2012. <<http://es.scribd.com/doc/34551169/obtencion-de-la-teobromina-en-cacao>>.
22. BRUNETON, Jean, 1991, elementos de fotoquímica y farmacognosia. ed. acribia, españa.
23. BUCHELI, p., g. Rousseau, m. alvarez, m. laloi and j. mccarthy. 2001. developmental variation of sugars, carboxylic acids, purine alkaloids, fatty acids, and endoproteinase activity during maturation of theobroma cacao l.seeds. j. agric. food chem. 49:5046-5051

FUENTES ELECTRONICAS

<http://books.google.com.ec/books?id=dehu1ljrky8c&pg=pa29&dq=destilacion&hl=es&sa=x&ei=w1jpuqimyyzsassmocadw&ved=0cdcq6aewaw#v=onepage&q&f=false>

<http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=7&sid=f634c49f-b792-44cf-a2a6-8911e4ac0101%40sessionmgr115&hid=114>

<http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=5&sid=93b5f9bc-04a0-4092-b684-beb317c619d6%40sessionmgr115&hid=124>

<http://site.ebrary.com/lib/utmachalasp/docdetail.action?docid=10647451&p00=cacao>

<http://site.ebrary.com/lib/utmachalasp/docdetail.action?docid=10608885&p00=cacao>

<http://site.ebrary.com/lib/utmachalasp/docdetail.action?docid=10646809&p00=cacao>

<http://site.ebrary.com/lib/utmachalasp/docdetail.action?docid=10592555&p00=teobromina%20del%20cacao>

9. ANEXOS



Anexo 1. Obtención de la materia prima o mazorcas de cacao por variedad.



Anexo 2. Deshuesado o retiro de la corteza de las mazorcas de cacao por variedad.



Anexo 3. Deshuesado o retiro de la corteza de las mazorcas de cacao de la variedad criollo y trinitario (CCN-51).



Anexo 4. Deshuesado o retiro de la corteza de las mazorcas de cacao de la variedad Forastero y Nacional.



Anexo 5. Obtención de las semillas de cacao después del deshuesado de la variedad Criollo y Trinitario (CCN-51).



Anexo 6. Obtención de las semillas de cacao después del deshuesado de la variedad Forastero y Nacional.



Anexo 7. Pesado de las semillas de cacao para determinar su densidad, después de ser acondicionadas para su molienda.



Anexo 8. Determinación de la densidad de las semillas de cacao después de ser acondicionadas para su molienda utilizando el método de Arquímedes para determinar la densidad de sólidos.



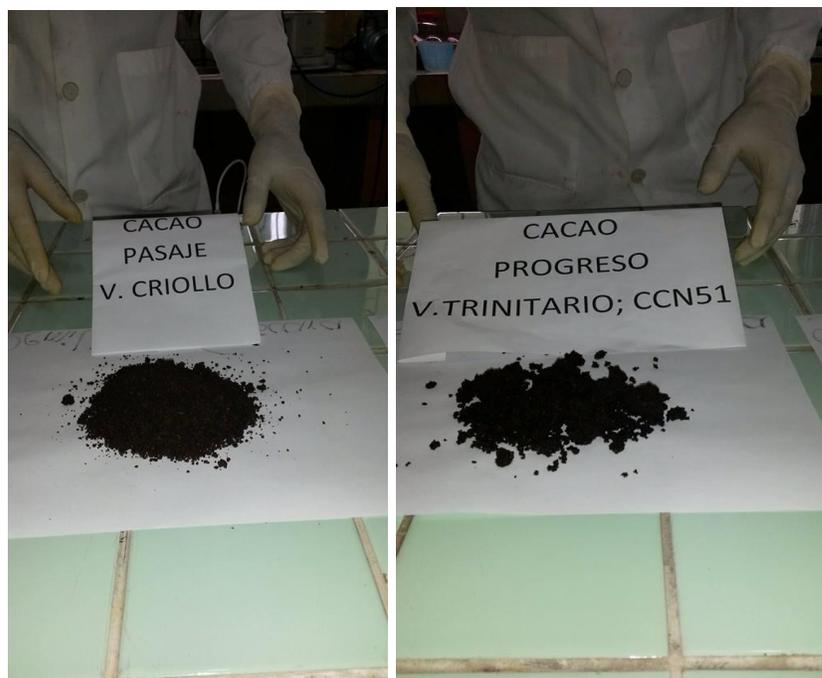
Anexo 9. Pesado de las semillas de cacao después de ser acondicionadas para su molienda.



Anexo 10. Molienda de las semillas de cacao por variedad



Anexo 11. Obtención del polvo de cacao después de la molienda de sus semillas de la variedad Nacional y Forastero.



Anexo 12. Obtención del polvo de cacao después de la molienda de sus semillas de la variedad Criollo y Trinitario (CCN-51).



Anexo 13. Polvo o harina de cacao después de la molienda de sus semillas de todas las variedades en investigación.



Anexo 14. Calentamiento y agitación constante de la muestra en el baño maría durante 20 min a (45 grados Celsius) aproximadamente.



Anexo 15. Calentamiento a reflujo durante 30 min a (70 a 80 grados Celsius) aproximadamente.



Anexo 16. Calentamiento a reflujo de la muestra en investigación.



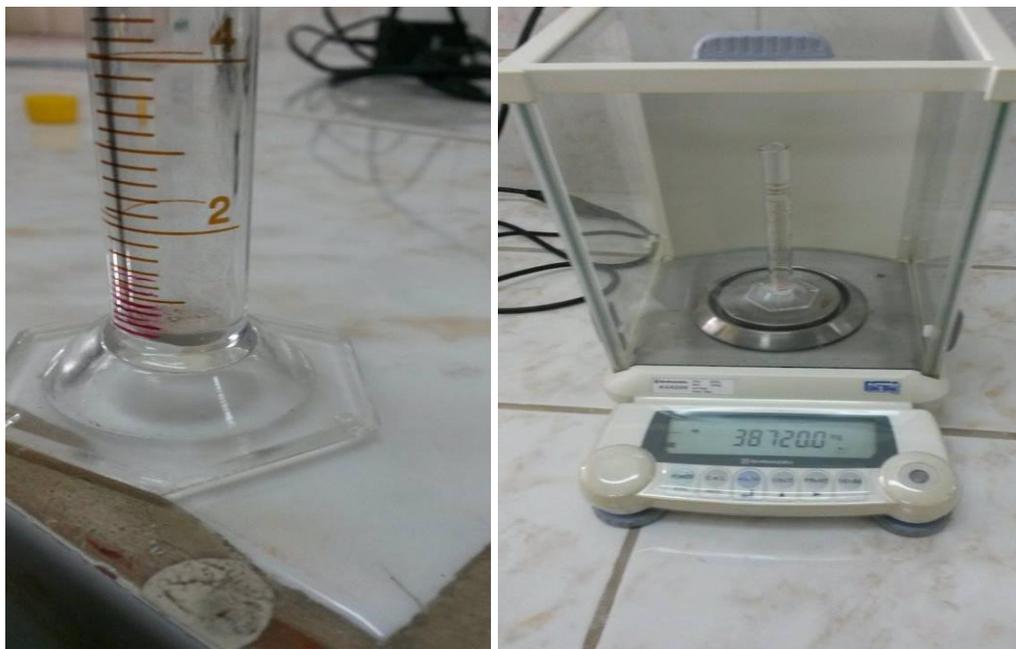
Anexo 17. Destilación de la muestra en estudio, para recuperación del cloroformo adicionado tiempo aproximando 10 a 15 min.



Anexo 18. Proceso de destilación



Anexo 19. Pesado de la teobromina obtenida de cada variedad de semilla.



Anexo 20. Pesado de la teobromina.