

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

Contenido de Ácidos Grasos de la manteca proveniente de mezclas, en distintas fracciones, de semillas de Theobroma cacao y Theobroma bicolor y su uso en la manufactura de chocolate.

CLAUDIA LORENA ARRIAGA

QUIMICA

Guatemala Mayo de 2007

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Angel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

ÍNDICE

DESCRIPCIÓN	PÁGINA
1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 Marco Teórico.....	5
• <u>Theobroma cacao</u> L.....	5
• <u>Theobroma bicolor</u> Humb. & Bonpl.....	6
• El Chocolate y su Tecnología.....	6
3.2 Trabajos Previos.....	10
4. JUSTIFICACIÓN.....	12
5. OBJETIVOS.....	14
6. HIPÓTESIS.....	15
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
8. RESULTADOS.....	24
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	31
10. CONCLUSIONES.....	36
11. RECOMENDACIONES.....	38
12. REFERENCIAS.....	39
13. ANEXOS.....	42

1. RESUMEN

La manteca de cacao, que se extrae de las semillas del árbol de T. cacao, es un ingrediente muy importante en la formulación de distintos productos en la industria del chocolate y también es la responsable de la mayor parte de las propiedades que estos productos poseen.

En Guatemala crece no solo la especie T. cacao, sino que también un familiar cercano, el T. bicolor, ambas nativas de la región mesoamericana y así como se obtiene grasa de las semillas de T. cacao, se puede obtener una grasa semejante de las semillas de T. bicolor. En general esta grasa es similar a la manteca de cacao, pero difiere en algunas de sus propiedades químicas y físicas.

El presente trabajo investigativo de tesis consistió principalmente en analizar ciertos aspectos de la composición química de distintas mezclas de semillas de las especies T. bicolor y T. cacao, así como la determinación del contenido de ácidos grasos de dichas mezclas de semillas mediante el uso de la técnica cromatográfica de gases. Fueron realizadas 5 mezclas, utilizando en cada una proporciones distintas de las semillas de las especies ya mencionadas.

También se llevo a cabo la fabricación de 5 productos de chocolatería, utilizando las cinco mezclas realizadas, los cuales fueron posteriormente evaluados en un panel de aceptabilidad.

Los resultados de los análisis de composición química, arrojaron datos interesantes. El contenido de humedad de las mezclas trabajadas, fue en general bastante bajo, pues las semillas habían sido sometidas a un proceso de tostado, previo al análisis de composición química. Los resultados obtenidos varían entre 1.79 % valor máximo obtenido por la mezcla 50% T.cacao-50% T.bicolor y 1.43 % el cual fue el valor mínimo reportado por la mezcla 25% T.cacao-75% T.bicolor.

En cuanto al análisis de contenido de cenizas se refiere, este mostró una tendencia a aumentar, mientras se incrementaba en las mezclas de semillas el porcentaje de T. bicolor. Obteniéndose para la mezcla 100% T.cacao un valor de 3.01 % y para la mezcla 100% T. bicolor, 3.88 %. Otro parámetro que reportó el mismo tipo de tendencia fue el de proteína cruda, pues el contenido de proteína cruda aumentó en la medida que hubo un porcentaje mayor de T. bicolor presente en las muestras. Para la mezcla 100% T.bicolor se obtuvo 20.38 % y en el caso de la mezcla 100% T.cacao fue de 14.57 %.

Para el contenido graso se encontró un comportamiento inverso al explicado en el contenido de cenizas y proteína cruda, pues existió un incremento en el contenido graso a medida que aumentó el porcentaje de T. cacao en las muestras. Encontrándose un valor mínimo de 40.91% para la mezcla 100% T.bicolor y un valor máximo de 50.88 % para la mezcla 100% T. cacao

La determinación del contenido de ácidos grasos de las mezclas examinadas, mostró que hay presentes 4 ácidos grasos, ácido esteárico, ácido oleico, ácido palmítico y ácido linoleico. Claramente se evidenció el aumento de ácido esteárico y ácido linoleico a medida que aumentaba el contenido de T. bicolor en las mezclas. El ácido palmítico, mostró por otro lado, un aumento a medida que el contenido de T. cacao en las muestras fue mayor.

En cuanto a la evaluación de aceptabilidad se encontró que existen diferencias entre los 5 productos, siendo el producto fabricado con la mezcla 75% T. cacao-25% T. bicolor el que posee una aceptabilidad favorable y similar a la obtenida por el producto fabricado con la mezcla 100% T. cacao

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cultivo de Theobroma cacao L. se ha extendido fuera de América, continente de donde es endémico; países asiáticos y africanos se dedican de igual manera a cultivarlo. La demanda que el cacao tiene a nivel mundial, no solo ha incentivado el exhaustivo estudio de dicha especie sino también de otras especies del género Theobroma. La especies del genero Theobroma tienden a desarrollarse en regiones donde el clima proporciona una gran cantidad de lluvias y las temperatura son moderadamente altas. En Guatemala crece además de la especie T. cacao, otra especie comúnmente conocida como patashte o cushta, cuyo nombre científico es Theobroma bicolor Humb. & Bonpl.

De las semillas de T. bicolor, se obtiene también una manteca de contenido graso muy similar a la del cacao, por lo que potencialmente puede ser utilizada para los mismos fines, que la costosa manteca de cacao. Varios autores de investigaciones relacionadas con esta especie recomiendan la grasa de T. bicolor como posible sustituto de la manteca de cacao o bien utilizar mezclas de ambas grasas. Otras especies del genero Theobroma han sido mencionadas con ese mismo propósito. Sin embargo no existen reportes de que se hayan desarrollado productos de tales características, por lo menos en cuanto a la industria de alimentos se refiere.

La manteca de T. bicolor, sería de mucha utilidad específicamente en la industria del chocolate y sus subproductos, pues algunos costos se podrían reducir en esta industria, mediante el uso de materia prima, cuya producción y cultivo representarían ventajas económicas con respecto a T. cacao y es que uno de los pormenores que implica el trabajar con las semillas y manteca de cacao, es el alto costo que representa su cultivo, lo que provoca el aumento de su precio en el mercado. Este hecho se debe principalmente al especial cuidado que conlleva el cultivo de T. cacao, ya que esta especie es altamente susceptible al ataque de diversas enfermedades. Por el contrario T. bicolor es una especie más resistente, lastimosamente en nuestro país no está establecido su cultivo formal, pero esto no disminuye en absoluto el potencial que T. bicolor podría tener, en su aplicación en la industria de alimentos.

Es así como a través del análisis proximal y de ácidos grasos llevados a cabo en el presente trabajo, se exponen una serie de características notables que posee el T. bicolor como posible fuente nutricional y sustituto en ciertos productos alimenticios ya sea que se utilice en mezclas con otros cereales o no.

3. ANTECEDENTES

3.1 MARCO TEÓRICO

3.1.1 THEOBROMA CACAO

El Theobroma es un género de árboles endémico de las regiones de Centro y Sudamérica. De las 22 especies conocidas en la región, el T. cacao es la única especie que se cultiva comercialmente (12.1).

Este árbol es una especie muy exigente, pues no prospera en lugares demasiados altos, demasiado secos o fríos, y requiere estar protegido del viento y el sol excesivos. También necesita protección de los animales salvajes que se alimentan de sus vainas, y puede marchitarse fácilmente debido a la acción de diversos tipos de hongos (12.2).

Sus hojas son verde oscuro y alcanzan de promedio unos 30 cm de longitud. Sus flores, pequeñas y de color rosáceo, crecen formando densas inflorescencias directamente del tronco y de las ramas principales sobre unas pequeñas protuberancias almohadilladas y muy parecidas al fruto de la coliflor. Después de la polinización, las flores tardan aproximadamente unos cinco meses en desarrollar las vainas del cacao. Y cuando lo hacen se produce una verdadera explosión de color, pues las vainas pueden ser de un matiz rojo brillante, verde, púrpura o amarillo, colores que van cambiando durante el proceso de maduración. Las vainas maduras alcanzan unos 20 cm de longitud, son de forma oval y puntiaguda, y cada una contiene entre 20 y 40 granos de cacao, envueltos en un suave hollejo blancuzco (12.3).

Cada grano consta de dos cotiledones y del pequeño embrión de la planta, todos cubiertos por la piel (cáscara). Los cotiledones almacenan el alimento para el desarrollo de la planta y dan lugar a las dos primeras hojas de la misma cuando la semilla germina. El almacén de alimentos consta de grasa, conocida como manteca de cacao, que conforma casi la mitad del peso seco de la semilla (12.3).

El cacao es una planta muy susceptible a plagas y enfermedades producidas por hongos. Organismos como Phytophthora spp y Oncobasidium theobromae, endémicos de las áreas cacaoteras, son responsables de hasta un 50% de las pérdidas en la producción (12.4).

3.1.2 THEOBROMA BICOLOR

El T. bicolor, es una planta silvestre que crece en América desde México hasta Brasil. En México y Centro América es conocido como pataste, patashte o cushta. Se encuentra en territorio guatemalteco, en las áreas que corresponden a la selva húmeda al norte de Huehuetenango, así como en las tierras planas, especialmente al pie de las montañas frente al Océano Pacífico y también en Alta Verapaz, Chiquimula, Santa Rosa, Suchitepequez y Quetzaltenango (12.5).

El árbol de T. bicolor produce aproximadamente de 15 a 40 frutos por cosecha. La etapa de florecimiento inicia en Mayo. Al madurar el fruto las hojas que lo rodean se caen, indicando que es tiempo de cosechar. La cosecha se hace durante los meses de Junio a Agosto y, si hay abundancia de agua, los árboles producen frutos todo el año (12.6).

3.1.3 EL CHOCOLATE Y SU TECNOLOGÍA

a. Procesamiento de las Semillas

Las semillas de cacao deben tratarse antes de molerse y preparar el chocolate. Puede hacerse en forma casera o industrial. Dicho tratamiento tiene sus orígenes en épocas prehispánicas y aún hoy, a pesar de los avances tecnológicos, sigue haciéndose de manera similar (12.7).

Esta serie de procesos se inicia básicamente con la recolección de las semillas de cacao, para luego proceder a limpiarlas y a remover cualquier tipo de material extraño.

La primera etapa consiste en la fermentación de las semillas, que tiene una duración de 5 a 6 días. Durante este periodo, se producen diversos procesos químicos y biológicos, por los cuales la pulpa blanca se transforma en líquida y se escurre. También ocurre un germinado corto que es imprescindible para que el producto final (chocolate) tenga su sabor característico. Estos cambios, no solo producen el desarrollo del sabor a chocolate sino que también provocan el cambio de color de las semillas. Los granos deben moverse varias veces por día y tener una temperatura constante de 45° a 50° (esto también es importante para el resultado final). Los granos pierden en esta etapa, parte de su astringencia (12.7).

El proceso de secado toma de 1 a 2 semanas, generalmente se realiza al sol, sobre esteras o bandejas, donde pierden más de la mitad de su peso (12.8).

Las semillas están listas para ser sometidas al tratamiento de tostado. Es mediante este proceso que los granos de cacao adquieren propiedades características de sabor y aroma. La temperatura y tiempo de tostado dependen del tipo de semilla utilizada y el tipo de chocolate, que el proceso requiera.

Generalmente toma de 70 a 115 minutos entre 99°-104° C para chocolate; y el mismo tiempo pero a un rango de temperatura entre 116°-121° C para fabricar cocoa¹. El tostado es necesario para que los granos de cacao adquieran muy buen sabor y aroma. Toman un color marrón intenso y se deshacen fácilmente entre los dedos. Durante este proceso también disminuye su astringencia (12.9).

El proceso industrial de fabricación de chocolate utiliza normalmente una maquina descascarilladora, para remover el endocarpio de los granos y dejar la semilla desnuda (12.7).

Posteriormente, las semillas son molidas para obtener el licor de cacao², que consiste básicamente en partículas de cacao suspendidas en manteca de cacao³. El licor de cacao es producido a través de la molienda de los granos de cacao sin cáscara. La calidad del licor de cacao dependerá de los granos utilizados. A menudo, los fabricantes mezclan diversos tipos de granos para lograr la calidad, el aroma y el sabor requeridos. Este producto puede sufrir posteriormente un tostado y alcalinización para alterar su color y sabor, y por ende su composición química (12.10).

b. Obtención de la Manteca

La grasa o manteca de cacao puede ser extraída del grano de diversas formas. Por ejemplo, la manteca pura es extraída a partir de la masa o licor de cacao a través del uso de una prensa hidráulica horizontal. Los granos de cacao de calidad inferior a la estándar pueden someterse a presión sin ser descascarados, usando para ello prensas continuas tipo expeller. La manteca pura de cacao obtenida por presión horizontal no necesita un tratamiento posterior pero a menudo es desodorizada. La manteca de cacao obtenida por presión de los granos de cacao sin cáscara presentan las siguientes propiedades: fácil fracturamiento por debajo de 20°C, punto de fusión cercano a los 35°C con suavizamiento de su textura alrededor de los 30 – 32 °C (12.8) .

La cantidad de grasa contenida en los granos, y sus propiedades, tales como su punto de fusión y dureza, dependen de la variedad de cacao y de las condiciones ambientales (12.11).

1,2,3 Véase Glosario en Anexos

Los glicéridos encontrados en la manteca de cacao y la manteca de otras especies de Theobroma, son combinaciones de glicerol con varios ácidos grasos. Estos ácidos grasos son compuestos de cadenas largas típicamente representados por el ácido palmítico y el ácido esteárico (12.12).

Composición de Ácidos Grasos en la Manteca de Cacao	
Ácido Graso	%
Ácido Láurico	< 0.1
Ácido Mirístico	< 0.2
Ácido Linolenico	< 0.3
Ácido Linoleico	2 – 4
Ácido Palmítico	23 – 30
Ácido Oleico	30 -37
Ácido Estearico	32 - 37

Todos los ácidos están unidos a la glicerina y forman un número importante de triglicéridos que dan como resultado la manteca de cacao. De estos ácidos, el 80% son triglicéridos disaturados, de los cuales el 20% son del tipo SOS, un 55% POS y el 5% restante POP, significando:

S	Ácido Esteárico
P	Ácido Palmítico
O	Ácido Oléico

Esta composición en triglicéridos es la que rige el comportamiento físico y químico de la manteca de cacao, principalmente en las propiedades de fusión y solidificación. (12.12).

Los triglicéridos presentes en mayor porcentaje en la manteca, se cristalizan en diferentes formas y pueden llegar a tener cinco puntos diferentes de fusión, dando origen a lo que denominamos, grasas polimorfitas (12.13).

Tanto el tipo de chocolate como sus ingredientes ejercen influencia en la resistencia al calor y el punto de fusión del producto terminado. La fundición (derretimiento) del chocolate es importante para la sensación bucal y el sabor que éste producirá al ser ingerido. En el chocolate, los compuestos grasos constituyen la fase continua en la cual el resto de ingredientes están contenidos. Por consiguiente, las características de derretimiento de la grasa utilizada son importantes en la estabilidad del chocolate en los climas tropicales. Es por ello que el proveedor de chocolates debe ser capaz de brindar la información necesaria acerca del punto de fusión y del contenido de grasa sólida del producto respecto a un rango de temperaturas dado (12.13)

El punto de fusión debe ser de 36°C o ligeramente por encima de este valor, para asegurarse de que el producto se derrita en la boca. Si es muy alto, se

producirá una sensación cerosa en la boca sin lograrse una completa fusión. En contraste, si éste es muy bajo el producto puede mostrarse inestable durante el almacenamiento en las épocas de verano o en climas cálidos. Esto se debe a que las grasas se derriten dentro de un rango de temperaturas, y por lo tanto a cualquier temperatura que se encuentre por debajo del punto de fusión, la grasa se presentará parcialmente en forma sólida y líquida (12.12).

c. Procesamiento del Licor

Una vez obtenido el licor de cacao, se inicia la fabricación propia de lo que conocemos como chocolate, para lo cual es necesario añadir una cantidad extra de manteca de cacao. También son añadidos otros ingredientes como el azúcar, leche en polvo y agentes emulsificantes. Las proporciones en que los distintos ingredientes son agregados dependen del tipo de chocolate que se quiera producir (12.13).

d. Enchonado y Temperado del chocolate

Una vez realizada la mezcla de los ingredientes para producir el chocolate, este es sometido a una serie de procesos de refinamiento a través de varios rodillos, hasta que una pasta suave y uniforme se forma. El refinamiento mejora la textura del chocolate. (12.14)

El proceso de enchonado ayuda a desarrollar el sabor y la textura. Consiste básicamente en un proceso de amasar y suavizar la pasta de chocolate. La velocidad, duración y la temperatura del proceso afecta directamente el sabor del chocolate. Por eso en ocasiones el enchonado del chocolate se sustituye por un proceso alternativo, en el cual se utiliza una maquina que trabaja como una batidora. (12.15)

La mezcla de chocolate es posteriormente temperada, lo cual significa que es calentada y enfriada repetidamente, a temperaturas específicas (12.15).

El temperado es una etapa necesaria para asegurar que el chocolate tenga el tiempo de vida en anaquel requerido. Este proceso es llevado a cabo de manera continúa, durante el cual el chocolate se enfría y la manteca de cacao forma los núcleos o semillas de cristales estables e inestables (12.16).

La manteca de cacao es polimórfica y contiene más de 6 formas diferentes de cristales, de las cuales sólo los de forma V o beta poseen la resistencia térmica y las propiedades de fusión necesarias. El temperado es vital para asegurarse que sólo los cristales beta estables sean formados durante la elaboración del producto final, la masa de chocolate requiere ser temperada antes de su solidificación (12.13).

En el temperado el chocolate es calentado a una temperatura intermedia entre los puntos de fusión de las dos formas de cristales beta estables de la manteca

de cacao, esto es entre 31 y 32 °C para el chocolate de leche y entre 32 y 33 °C para el chocolate semidulce. El chocolate de leche es temperado a menores temperaturas debido a que la grasa de la leche inhibe la formación de los núcleos de los cristales. Aún más, las temperaturas de este proceso variarán dependiendo de los ingredientes utilizados y de la calidad de los mismos. En este punto la mayor parte de los cristales inestables son fundidos, quedando solamente unos pocos. El tiempo de temperado también es importante debido a que los núcleos de formación de los cristales necesitan un tiempo determinado para crecer en tamaño y madurar. Es por esto que el chocolate debe pasar por un tiempo de “residencia” antes de ser usado en la planta de moldeado o bañado. El período de tiempo requerido variará dependiendo de la intención de uso del chocolate (12.17).

Finalmente, el chocolate temperado necesita ser enfriado bajo las condiciones apropiadas para promover el crecimiento preferencial de los cristales estables. La mejor temperatura para este proceso es 13-15 °C (12.17).

El temperado previene la decoloración y la separación de la grasa, ya que como se mencionó previamente, en el proceso se favorecen las formaciones cristalinas más estables de la manteca.

La etapa final de la manufactura del chocolate consiste en colocar la pasta en moldes y guardar en cámaras de enfriamiento (12.18).

3.2 INVESTIGACIONES PREVIAS

Las semillas de T. cacao han sido extensamente investigadas. Principalmente aquellos especímenes originarios de las regiones latinoamericanas. Países como Venezuela y Brasil se caracterizan por poseer una base de datos realmente extensa en lo que se refiere al cultivo, producción y manejo de la industria del cacao.

Se han realizado estudios en la región de cultivares criollos e híbridos de T. cacao provenientes del Banco del Germoplasma de la colección del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP) en Venezuela. Estos comprenden la caracterización química proximal de los cotiledones de los granos de cacao, y el estudio del perfil y composición de sus ácidos grasos (12.19).

También otras especies del género Theobroma han sido sometidas a evaluación. La composición lipídica de semillas de T. subincanum ecuatorianas, por ejemplo fue evaluada en cuanto a su contenido de tocoferoles y ácidos grasos. La obtención de esta grasa fue efectuada por extracción con fluidos supercrítico y los análisis realizados por cromatografía en capa fina preparativa, seguida de cromatografía de gases. Los resultados mostraron que T. subincanum contenía ácidos grasos de cadena más larga y concluyeron que la manteca de T. subincanum presenta una calidad inferior a la manteca de cacao (12.20).

En Guatemala, Furlán y Bressani, realizaron ya una descripción botánica del T. bicolor y compararon la composición química del T. bicolor y del T. cacao. Concluyendo que los datos presentados indicaban que el T. bicolor es una especie que tiene potencial para ser utilizado con T. cacao, en la elaboración de productos de Chocolate y otros subproductos (12.5).

Furlán, A. hace también referencia a los resultados encontrados en Costa Rica y Brasil acerca de la similitud de la grasa de T. bicolor con la manteca de cacao. Dichos estudios reportan que las semillas de T. bicolor poseen un 20 % menos de ácido palmítico y 15 % más de ácido oleico que la manteca de cacao. Lo cual implica que la manteca de T. bicolor posea mayor suavidad y un punto de fusión levemente menor al de T. cacao.(12.6)

Por su parte el T. bicolor mexicano presenta puntos de fusión, índice de yodo y saponificación muy similares a grasa de las almendras de cacao. Diferenciándose únicamente por la presencia de concentraciones altas de ácido esteárico y la presencia de ácido araquídico y behénico. (12.6)

Así mismo el contenido graso de las semillas de T. bicolor guatemalteco ha sido evaluado, por Ortiz, J. en su tesis para optar al grado de maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad del Valle, encontrando menores contenidos de los ácidos palmítico y esteárico, en comparación a T. cacao y mayores contenidos de ácido oleico (12.21).

La grasa de T. bicolor ha sido considerada por estudios previos como una manteca de buena calidad, ya que presenta una actividad antioxidante comparable o mayor que el BHT, presumiblemente por su contenido de ácidos salicílico, transcinámico, sinapínico, clorogénico, protocatequínico, gálico y p-hidroxibenzoico, por lo que se estudia su posible uso como antioxidante en alimentos, especialmente en aceites (12.22).

4. JUSTIFICACIÓN

Pocos alimentos tienen la popularidad de la que goza el chocolate. De hecho la industria del chocolate tiene a su cargo la elaboración de una infinidad de productos que tienen gran demanda en el mercado mundial. Es importante señalar que, el apetito de las personas por el chocolate data desde los tiempos prehispánicos cuando era considerado por las civilizaciones Maya y Azteca como “alimento de los dioses” (12.17).

La demanda por la semilla de cacao así como la de su manteca, provocan el constante aumento de sus costos, principalmente en lo que a la manteca respecta, este hecho ha dado pauta a la sofisticación de los métodos para su producción (12.8).

Los elevados costos de la manteca de cacao, también han generado que se busquen sustitutos de este producto natural, tanto sintéticos como naturales (12.8). Sin embargo según las exigencias actuales del mercado, podrían ser más adecuados los sustitutos de origen natural, que provengan de semillas de plantas similares al cacao, es decir de plantas que pertenezcan al genero Theobroma.

Debido a que el Theobroma cacao, es una especie bastante susceptible al ataque de plagas y otras enfermedades producidas por hongos, han sido realizados estudios sobre entrecruzamientos para la selección de plantas de cacao de alto rendimiento y alta resistencia a enfermedades e insectos, pero ésta ha sido muy lenta e incierta (12.23).

Es por eso que la investigación sobre otras especies de Theobroma como posibles sustitutos de fuentes de semillas, para la extracción de manteca, representan una alternativa para disminuir algunos costos en la industria del chocolate.

Se han realizado con anterioridad estudios y perfiles de las semillas de Theobroma bicolor y se sabe que contienen una cantidad considerable de manteca de buena calidad, al igual que un contenido alto de antioxidantes. Diversos estudios recomiendan la grasa de T. bicolor como un excelente sustituto de la manteca de cacao, ya sea sola o en mezclas (12.24).

T. bicolor es de hecho una especie que ha sido bien caracterizada, principalmente en lo que se refiere a su composición de grasa, carbohidratos y proteínas (12.5). Sin embargo, hasta la fecha no se ha utilizado como sustituto de la manteca de cacao en la industria chocolatera, pues es un producto que no goza de la misma difusión mundial en comparación con su pariente el Theobroma cacao (12. 25).

El presente estudio sería de gran utilidad tanto para impulsar el cultivo de Theobroma bicolor, como para la industria chocolatera en nuestro país, ya que se plantea la elaboración de un producto de chocolatería utilizando para ello, la manteca a extraer de una serie de mezclas de semillas, tanto de Theobroma cacao como de Theobroma bicolor, observando la variación en las características del producto a medida que se varíen las proporciones de ambas semillas y evaluando los cambios en la composición de la grasa mediante un perfil de ácidos grasos de cada mezcla de semillas.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de ácidos grasos mediante un análisis cromatográfico de gases de la manteca agregada a los productos de chocolatería, los cuales serán elaborados a partir de distintas mezclas de semillas de Theobroma Bicolor Hump. & Bonpl y Theobroma cacao L.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 5.2.1 Llevar a cabo un análisis proximal de cada una de las mezclas de semillas, donde se evaluarán los parámetros de Humedad, Cenizas, Proteína y Grasa.
- 5.2.2 Realizar un perfil de ácidos grasos, de la manteca que será extraída de cada una de las mezclas de semillas de Theobroma bicolor y Theobroma cacao a realizar, de dichas mezclas se obtendrá la manteca que se utilizara para desarrollar los distintos productos de chocolatería.
- 5.2.3 Utilizar la tecnología de la elaboración del chocolate, para obtener los productos deseados a partir de varias mezclas de semillas de Theobroma bicolor y Theobroma cacao.
- 5.2.4 Determinar la aceptabilidad general, de cada producto de chocolatería a obtener, con un grupo de consumidores.

6. HIPOTESIS

H₀: No existe diferencia en la aceptabilidad de todos los productos elaborados a partir de mezclas de semillas de T. bicolor y T. cacao.

H_a: Al menos un producto elaborado a partir de mezclas de semillas de T. bicolor y T. cacao presentaran aceptabilidad diferente.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO

5 mezclas en proporciones distintas de las semillas de T. cacao y las semillas de T.bicolor.

Mezcla No. 1:	100 % T. cacao
Mezcla No .2:	75% T.cacao – 25% T. bicolor
Mezcla No. 3:	50% T.cacao – 50% T. bicolor
Mezcla No. 4:	25% T.cacao – 75% T. bicolor
Mezcla No. 5:	100% T. bicolor

7.2 SELECCIÓN DE MUESTRA

Las semillas de T. cacao pertenecen a una cosecha realizada en el departamento de Retalhuleu durante el mes de diciembre del año 2004. Estas semillas de T. cacao serán sometidas a un periodo de fermentación de 6 días. Así mismo las semillas de T. bicolor provienen de una cosecha realizada en Patulúl durante el mes de enero de 2005, las cuales serán sometidas al mismo periodo de fermentación, que las semillas de T.cacao.

7.3. MATERIALES

7.3.1 MATERIAL

- Quince libras de semillas de T. cacao
- Quince libras de semillas de T. bicolor
- Bolsas plásticas para guardar las mezclas de semillas.
- Sesenta libras de azúcar glass
- Quince libras de leche en polvo
- Un kilogramo de lecitina

7.3.2 EQUIPO

- Un Tostador eléctrico, de metal, con capacidad para 2500 g y Termómetro incorporado con rango de 0°C - 200°C.
- Horno Fisher Modelo 5166
- Mufla Thermolyne Modelo F 62735
- Pinzas para Mufla
- Balanza Analítica Denver Instruments de sensibilidad 0.1 mg
- Una Estufa Corning Modelo PC-428

- Equipo de digestión y destilación Kjeldahl-LabConco.
- Campana
- Licuadora Osterizer
- Molino tipo industrial
- Prensa hidráulica
- Cromatógrafo de Gases de Alta resolución HP 5890 II con Software Chem Station.

7.3.3 CRISTALERIA

- 10 Cápsulas de porcelana
- 10 Crisoles
- 10 Balones de digestión
- 6 Balones Kjeldahl esmerilados de 1000 ml
- 10 Erlenmeyer esmerilados de 250 ml
- Un extractor y destilador Soxhlet esmerilado 24/40
- 10 Balones aforados de 25 ml
- Pipeta Volumétrica de 3 ml
- Pipeta Volumétrica de 5 ml
- 10 Pipetas Pasteur
- Beakers de 100 ml
- Beakers de 250 ml
- 10 Viales de 4 ml
- Una desecadora

7.3.4 REACTIVOS

- 20 g de Na_2SO_4
- 10 g de HgO
- 30 ml de H_2SO_4
- 1.25 L de hexano
- 5 ml de rojo de metilo al 1 % p/v
- 100 ml de ácido bórico 10 % p/v
- 50 ml de Tiosulfato de sodio 8 % p/v
- 150 ml de NaOH 40% p/v
- 100 ml de HCl 0.1 N
- 50 ml de NaOH 0.5 N disuelto en metanol
- 50 ml de Trifluoruro de boro al 20 % en metanol
- 150 ml Solución saturada de NaCl en agua
- 50 ml de heptano

7.4 METODOLOGÍA

Cada una de las 5 mezclas de semillas descritas en la sección de Universo de Trabajo corresponde a una muestra distinta.

7.4.1 Análisis de Humedad de acuerdo a los Métodos Oficiales de Análisis Association of Official Analytical Chemists (AOAC)

- Pesar de 2 a 3 g de cada una de las 5 muestras en una cápsula de porcelana puesta previamente a peso constante.
- Secar en el horno hasta peso constante.
- Enfriar en el desecador.
- Pesar.

7.4.2 Cenizas de acuerdo al Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Subirán, México.

Las cenizas corresponden al residuo inorgánico que queda cuando la materia orgánica ha sido quemada o calcinada, aunque no corresponde exactamente a la composición del material mineral de la muestra presente, pues a la temperatura empleada puede presentarse pérdida por la volatilización.

- Pesar 5 g de cada una de las 5 muestras en un crisol puesto previamente a peso constante.
- Carbonizar la muestra en una estufa, hasta que no haya desprendimiento de humo.
- Calcinar 2 horas en la mufla a 500°C.
- Enfriar en el desecador y pesar.
- Regresar el crisol a la mufla por 30 min.
- Enfriar en el desecador y pesar.
- Repetir los dos últimos pasos hasta llegar a peso constante.

7.4.3 Determinación del Porcentaje de Grasa por el Método Soxhlet de acuerdo al Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Subirán, México.

La fracción de lípidos de los alimentos es obtenida por medio de la extracción con solventes como éter de petróleo, éter etílico, cloroformo, hexano, etc; y se reporta como grasa cruda. Esta fracción contiene a las ceras, fosfátidos, esteroides, pigmentos, aceites volátiles y algunas hormonas.

- Pesar 5 g de de cada una de las 5 muestras en un pedazo de papel filtro.
- Envolver la muestra en papel filtro y formar un paquete o cartucho.
- Llevar previamente a peso constante un erlenmeyer de 250 ml.
- Colocar el cartucho de muestra en el extractor.
- En la parte inferior del extractor colocar el erlenmeyer.

- Añadir 125 ml de hexano en el erlenmeyer.
- Abrir la llave del refrigerante.
- Conectar la fuente de calor.
- Realizar la extracción por 16 horas.
- Suspender el calentamiento.
- Evaporar el solvente.
- Colocar el erlenmeyer en la desecadora hasta que llegue a peso constante.

7.4.4 Determinación de Proteínas de acuerdo al acuerdo al Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Subirán, México.

La proteína cruda comprende además del nitrógeno proteínico, el nitrógeno de sustancias no proteicas como los nitratos y nitritos.

El método de Kjeldahl para la determinación de N total consta de dos pasos: una digestión y una destilación. Se coloca la muestra con una mezcla digestora o catalizadora formada por Na_2SO_4 , que incrementa el punto de ebullición y un catalizador, que puede ser una sal de Hg. La oxidación llevada a cabo con ayuda del H_2SO_4 provoca que el nitrógeno se convierta en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, el amonio luego se destila y se recibe en un exceso de ácido bórico estandarizado y se valora el ácido no neutralizado por medio de una titulación.

b) Digestión:

- Pesar 0.2500 g de cada una de las 5 muestra en un matraz Kjeldahl de fondo redondo.
- Añadir 1.5 g de Na_2SO_4 , 0.1 g HgO , 3 ml H_2SO_4 .
- Colocar los balones en la parrilla de calentamiento y llevar a cabo la digestión dentro de una campana extractora.
- Calentar.
- A partir de que el liquido este transparente, calentar 30 min. Más.
- Enfriar y proceder con la destilación.

c) Destilación:

- Colocar en el tubo terminal del refrigerante del aparato, un Erlenmeyer con 10 ml de ácido bórico + 2 gotas de rojo de metilo.
- Prender las parrillas y abrir la llave de refrigerante.
- Añadir 300 ml de H_2O destilada al matraz con la muestra digerida previamente enfriada.
- Disolver bien.
- Adicionar 13 ml de NaOH al 40% p/v y 5 ml de solución de Tiosulfato al 8% p/v.
- Conectar el matraz a la trampa y agitar.
- Destilar aproximadamente 250 ml.
- Apagar la parrilla e inmediatamente sacar la terminal del refrigerante del Erlenmeyer.

d) Titulación:

- Titular el líquido destilado con HCl 0.1 N.
- El punto final de la titulación será cuando al adicionar una gota más del ácido, haya un viraje de amarillo a rosa .

7.4.5 Análisis de Ácidos Grasos de acuerdo a los Métodos Oficiales de Análisis Association of Official Analytical Chemists (AOAC)

Las grasas y los aceites constituyen los lípidos más abundantes e importantes en el estudio de los alimentos. Ambos grupos están constituidos por triacilgliceridos. El perfil de ácidos grasos se establecerá mediante el uso de cromatografía de gases, para lo cual las grasas se trataran previamente, pues los derivados metílicos de los triglicéridos que conforman a estas grasas, son especies cuya formación es primordial, ya que su volatilidad les permite ser sometidas al análisis cromatográfico de gases.

Preparación de las muestras:

- Derretir la grasa a temperatura moderada en una estufa.
- Colocar 20 gotas de la grasa o aceite en un balón de 25 ml.
- Agregar 5 ml de NaOH 0.5 N aforado en metanol.
- Colocar en una estufa y calentar a 70 °C por 10 minutos hasta que se saponifique totalmente.
- Agregar 3 ml de BF₃ en metanol al 20%.
- Agregar 5 ml de heptano.
- Agregar solución saturada de NaCl hasta el aforo.
- Trasvasar la capa superior (heptano + ácidos grasos) a un vial de 4 ml que contenga 0.5 g de Na₂SO₄ anhidro.

Determinación por cromatografía:

- Utilizar una Columna SPB-5 (30m x 0.53mm di x 1 microm)
- Ajustar el Nitrógeno a 43 psi con split 94:1 y acarreador 2.4 ml/min. 2 psi en la columna.
- Establecer la temperatura del inyector a 245 °C y el Detector FID a 260° C (H₂ 13 psi, Aire 36 psi)
- Programar el Horno a 100°C, con rampa de 10 °C / min. hasta 250°C, 10 min.
- Inyectar 1 µl de las muestras a analizar.
- Monitorear con el Sistema cromatográfico HP 5890 II/ ChemStation.

7.4.6 Elaboración de los Productos de Chocolatería

- Recolección de las semillas de T. bicolor y T. cacao.
- Fermentación de las semillas: Apilación de estas en un espacio al aire libre, cubiertas de hojas de banano. Dejar reposar durante 7 días.

- Secado de las semillas al aire libre, expuestas al sol, durante 2 días.
- Tostado de las semillas en un tostador eléctrico, en porciones de 2,000 g a 115 °C por 1 hora.
- Descascarado manual de las semillas de T.cacao y T.bicolor.
- Mezcla de las semillas en las proporciones en peso siguientes:
 100% semillas de Theobroma cacao – 0% semillas de Theobroma bicolor
 75% semillas de Theobroma cacao – 25% semillas de Theobroma bicolor
 50% semillas de Theobroma cacao – 50% semillas de Theobroma bicolor
 25% semillas de Theobroma cacao – 75% semillas de Theobroma bicolor
 0% semillas de Theobroma cacao – 100% semillas de Theobroma bicolor
- Molienda de cada una de las mezclas de semillas con un molino de discos, para obtener el licor de cacao y de patashte.
- Prensado de una porción de la mezclas de semillas mediante una prensa hidráulica, para obtener la grasa necesaria.
- Adición de leche en polvo, azúcar, lecitina y manteca a las fracciones de licor de cacao y de patashte obtenidas previamente.
- Temperado del Chocolate
- Elaboración de las tabletas de chocolate a partir del chocolate producido.

7.4.7 Determinación de la aceptabilidad de los productos elaborados

- Escoger a un grupo de aproximadamente 50 consumidores.
- Evaluar los 5 productos elaborados mediante una hoja de test de escala hedónica. (ver Anexos página.46)

7.5 CÁLCULOS

- Humedad

Peso del recipiente con la muestra = P_A

Peso del recipiente con la muestra seca = P_B

Peso de la Muestra = P_M

$$((P_A - P_B) / P_M) * 100 = \% \text{ de Humedad}$$

- Cenizas

Peso del Crisol con cenizas = P_A

Peso del Crisol = P_C

Peso de la muestra = P_M

$$((P_A - P_C) / P_M) * 100 = \% \text{ de Cenizas}$$

- Grasa

Peso del Erlenmeyer con grasa = P_G

Peso del Erlenmeyer = P_E

Peso de la Muestra = P_M

$$((P_G - P_E) / P_M) * 100 = \% \text{ de Grasa}$$

- Proteína

Volumen de ácido utilizado en la titulación en ml = V_A

Peso molecular del Nitrógeno en mg = PM_N

Normalidad del ácido utilizado en la titulación = 0.1

Peso de la muestra = P_M

Factor protéico = 6.25

Porcentaje de Nitrógeno = %N

$$(V_A * PM_N * 0.1 * 100) / P_M = \%N$$

$$\%N * 6.25 = \% \text{ de Proteína}$$

7.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los parámetros a evaluar en el análisis proximal se realizaron por duplicado utilizando como recurso estadístico la media y la desviación estándar.

Así mismo el perfil de ácidos grasos a evaluados en cada una de las mezclas de semillas se realizó por duplicado. Por lo que el tratamiento de dichos datos se llevó a cabo haciendo uso de la media y la desviación estándar.

Para realizar el tratamiento estadístico de los resultados que se obtuvieron de la prueba de aceptabilidad se ejecutó un Diseño de Bloques Completos al Azar, en donde los tratamientos representan a los productos obtenidos de las mezclas de semillas de T. bicolor y T. cacao y los bloques representan a los jueces. El orden en que los productos fueron proporcionados al consumidor fue aleatorio.

Juez	T_{X1}	T_{X2}	T_{X3}	T_{X4}	T_{X5}
1					
2					
3					
4					
"n"					

Donde T_X = Tratamiento.

Tipo de Análisis: Prueba de Friedman (Análisis de varianza no paramétrico)

En base a las dos hipótesis planteadas (véase página 15) si H_0 se rechazara se harían comparaciones pareadas (todos vrs todos) de la suma de rangos a una cola, para establecer cuál o cuáles tratamientos son diferentes (mayor aceptabilidad).

$$H_0 : R_i \leq R_j$$

$$H_a : R_i > R_j$$

En donde R_i y R_j representan a la suma de rangos de los grupos i ésimo y j ésimo respectivamente.

$$R_i - R_j = \text{es positivo cuando } R_i > R_j$$

$$R_i - R_j = \text{es negativo cuando } R_i < R_j$$

8. RESULTADOS

TABLA No. 1

CONTENIDO DE HUMEDAD EN LAS MUESTRAS LUEGO DE SER SOMETIDAS AL PROCESO DE TOSTADO

Mezcla	Humedad (%)		Promedio \pm DS
	No. 1	No. 2	
100 % <u>T. cacao</u>	1.78	1.66	1.72 \pm 0.085
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	1.89	1.46	1.68 \pm 0.30
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	1.65	1.92	1.79 \pm 0.19
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	1.29	1.57	1.43 \pm 0.20
100 % <u>T. bicolor</u>	1.68	1.43	1.56 \pm 0.18

TABLA No. 2

CONTENIDO DE CENIZAS EN LAS MUESTRAS LUEGO DE SER SOMETIDAS AL PROCESO DE TOSTADO

Mezcla	Cenizas (%)		Promedio \pm DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	3.03	2.98	3.01 \pm 0.035
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	3.16	3.24	3.20 \pm 0.057
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	3.39	3.50	3.45 \pm 0.078
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	3.55	3.60	3.58 \pm 0.035
100 % <u>T. bicolor</u>	3.89	3.86	3.88 \pm 0.021

TABLA No. 3

CONTENIDO DE PROTEÍNA CRUDA PRESENTE EN LAS DISTINTAS MEZCLAS DE SEMILLAS TRABAJADAS

Mezcla	Proteína (%)		Promedio ± DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	14.28	14.85	14.57 ± 0.40
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	16.03	16.93	16.48 ± 0.64
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	18.62	18.89	18.76 ± 0.19
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	19.89	19.90	19.895 ± 0.007
100 % <u>T.bicolor</u>	20.84	19.91	20.38 ± 0.66

TABLA No. 4

CONTENIDO DE GRASA EXTRAÍDA DE LAS DISTINTAS MEZCLAS DE SEMILLAS TRABAJADAS

Mezcla	Grasa (%)		Promedio ± DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	51.02	50.73	50.88 ± 0.21
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	49.41	49.82	49.62 ± 0.29
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	48.81	48.38	48.60 ± 0.30
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	46.23	45.94	46.09 ± 0.21
100 % <u>T.bicolor</u>	40.72	41.09	40.91 ± 0.26

TABLA No. 5**PUNTO DE FUSIÓN DE LA GRASA EXTRAIDA DE CADA UNA DE LAS MEZCLAS DE SEMILLAS TRABAJADAS**

Mezcla	Punto de Fusión (°C)		Promedio ± DS
	No. 1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	25.5	25.7	25.6 ± 0.14
75% <u>T. cacao</u> - 25% <u>T.bicolor</u>	26.9	27.4	27.15 ± 0.35
50% <u>T. cacao</u> - 50% <u>T.bicolor</u>	27.5	27.6	27.55 ± 0.07
25% <u>T. cacao</u> 75% <u>T.bicolor</u>	27.8	28.0	27.9 ± 0.14
100% <u>T. bicolor</u>	29.6	29.9	29.75 ± 0.21

TABLA No. 6**PORCENTAJE DE ACIDO ESTEÁRICO PRESENTE EN CADA MEZCLA DE SEMILLAS, DE ACUERDO AL PERFIL DE ACIDOS GRASOS REALIZADO**

Mezcla	Acido Esteárico (%)		Promedio ± DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	43.19	----	43.19
75% <u>T. cacao</u> - 25% <u>T.bicolor</u>	38.64	38.07	38.36 ± 0.40
50% <u>T. cacao</u> - 50% <u>T.bicolor</u>	48.76	51.05	49.91 ± 1.62
25% <u>T. cacao</u> - 75% <u>T.bicolor</u>	43.07	55.33	49.20 ± 8.67
100% <u>T. bicolor</u>	44.87	44.98	44.93 ± 0.078

TABLA No. 7

PORCENTAJE DE ACIDO PALMITICO PRESENTE EN CADA MEZCLA DE SEMILLAS, DE ACUERDO AL PERFIL DE ACIDOS GRASOS REALIZADO

Mezcla	Acido Palmitico (%)		Promedio \pm DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	28.73	----	28.73
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	20.22	21.43	20.83 \pm 0.86
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	17.78	17.59	17.69 \pm 0.13
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	10.94	11.72	11.33 \pm 0.55
100 % <u>T.bicolor</u>	6.37	6.36	6.365 \pm 0.0071

TABLA No. 8

PORCENTAJE DE ACIDO OLEICO PRESENTE EN CADA MEZCLA DE SEMILLAS, DE ACUERDO AL PERFIL DE ACIDOS GRASOS REALIZADO

Mezcla	Acido Oleico (%)		Promedio \pm DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	27.28	----	27.28
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	39.73	39.16	39.45 \pm 0.40
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	32.21	30.22	31.22 \pm 1.41
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	44.28	31.61	37.95 \pm 8.96
100 % <u>T.bicolor</u>	46.94	46.75	46.85 \pm 0.13

TABLA No. 9**PORCENTAJE DE ACIDO LINOLEICO PRESENTE EN CADA MEZCLA DE SEMILLAS, DE ACUERDO AL PERFIL DE ACIDOS GRASOS REALIZADO**

Mezcla	Acido Linoleico (%)		Promedio \pm DS
	No.1	No.2	
100 % <u>T. cacao</u>	0.81	----	0.81
75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>	1.41	1.34	1.38 \pm 0.049
50% <u>T. cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>	1.24	1.14	1.19 \pm 0.071
25% <u>T. cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>	1.70	1.35	1.53 \pm 0.25
100 % <u>T.bicolor</u>	1.83	1.92	1.88 \pm 0.064

TABLA No. 10**RESULTADOS COMPARATIVOS DE LAS CINCO MEZCLAS DE SEMILLAS TRABAJADAS**

	MEZCLAS DE SEMILLAS TRABADAS				
ANALISIS	100% <u>T.cacao</u>	75% <u>T. cacao-</u> 25% <u>T.bicolor</u>	50% <u>T.cacao-</u> 50% <u>T.bicolor</u>	25% <u>T.cacao-</u> 75% <u>T.bicolor</u>	100% <u>T.bicolor</u>
% Humedad	1.72	1.68	1.79	1.43	1.56
% Cenizas	3.01	3.20	3.45	3.58	3.88
% Proteína	14.57	16.48	18.76	19.895	20.38
% Grasa	50.88	49.62	48.60	46.09	40.91
% Acido Estearico	43.19	38.36	49.90	49.20	44.92
% Acido Palmitico	28.73	20.83	17.69	11.33	6.365
% Acido Oleico	27.28	39.45	31.22	37.95	46.85
% Acido Linoleico	0.81	1.38	1.19	1.53	1.88

TABLA No. 11

PORCENTAJES DEL NIVEL DE ACEPTACIÓN DE LOS PRODUCTOS FABRICADOS

PRODUCTO EVALUADO (MEZCLA DE SEMILLAS CON LA QUE SE FABRICO)	PORCENTAJES DE RESPUESTA A LOS NIVELES DE ACEPTABILIDAD EVALUADOS				
	MGM Me Gusta Mucho	MG Me Gusta	NMGNMD Ni Me Gusta Ni Me Disgusta	MD Me Disgusta	MDM Me Disgusta Mucho
PRODUCTO 109 (100% <u>T.cacao</u>) Véase Gráfica No. 3 en Anexos	52	30	16	2	0
PRODUCTO 209 (50% <u>T.cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>) Véase Gráfica No. 4 en Anexos	14	38	38	6	4
PRODUCTO 309 (75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>) Véase Grafica No. 5 en Anexos	30	38	32	0	0
PRODUCTO 409 (25% <u>T.cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>) Véase Gráfica No. 6 en Anexos	6	32	40	20	2
PRODUCTO 509 (100% <u>T.bicolor</u>) Véase Gráfica No.7 en Anexos	0	16	42	34	8

9. DISCUSION

9.1. COMPOSICION QUÍMICA DE LAS MEZCLAS DE SEMILLAS

9.1.1 HUMEDAD

Los estudios realizados sobre la composición química de las semillas de T.cacao y T.bicolor reportan usualmente datos experimentales de aproximadamente 5 y 5.5 % de contenido de agua. (12.5) Las harinas obtenidas a partir de las distintas mezclas de semillas trabajadas, presentan porcentajes de agua menores. Lo cual indica que el tratamiento de tostado que las semillas recibieron previamente al análisis, disminuye de una manera considerable el porcentaje de humedad presente.

La tabla No. 1 muestra los valores obtenidos de porcentaje de humedad para cada mezcla de semillas trabajada, siendo la mezcla 100% T. cacao la que presenta mayor contenido de agua y la muestra 25% T.cacao-75% T.bicolor la que posee un contenido de agua menor.

El proceso de tostado es de hecho un tratamiento eficaz para reducir la actividad del agua y lograr prolongar la preservación de las harinas por un periodo de tiempo mayor. El tostado también contribuye por otra parte a acentuar el sabor y aroma de las semillas, tanto de T.cacao como de T.bicolor. (12.9)

9.1.2 CENIZAS

Los valores de cenizas encontrados no presentan diferencias significativas con los valores reportados por la literatura para las semillas de T. cacao y T bicolor. Se encuentran reportados para cada tipo semilla valores de porcentaje de 3.90 y 4.00 respectivamente. (12.6) Así mismo los valores encontrados en el presente trabajo varían entre porcentajes de 3.01 y 3.88.

Es importante hacer notar cuando se observa la tabla No. 2 de porcentaje de cenizas, que a medida que en las mezclas trabajadas se aumenta el % de T. bicolor, el valor de porcentaje de cenizas aumenta. Lo cual refleja que T. bicolor es rico en compuestos no carbonizables, implicando a su vez la presencia de mayor contenido mineral en estas semillas.

9.1.3 PROTEÍNAS

En cuanto al contenido protéico se refiere, es relevante señalar una tendencia al aumento del porcentaje de proteína cruda a medida que en las mezclas aumenta el % de T.bicolor. En la tabla No. 3 se pueden observar los resultados encontrados para el contenido de proteína cruda, lo cuales muestran un valor mínimo de 14.56 % para la mezcla 100% T. cacao y un valor máximo de 20.38 % para la mezcla 100% T.bicolor.

Las mezclas trabajadas entre estos dos extremos muestran claramente que al aumentar el contenido de T.bicolor el porcentaje de proteína cruda también presenta un aumento significativo.

Este resultado es de gran relevancia pues el uso de T. bicolor en sustitución parcial de T. cacao podría ayudar a aumentar el contenido protéico de algunos productos. Por consiguiente la determinación del tipo de aminoácidos presentes en las semillas de T.bicolor es de gran importancia en trabajos posteriores.

9.2 CARACTERIZACION DE LA GRASA

9.2.1 ASPECTOS FÍSICOS

La grasa extraída de la mezcla 100% T. bicolor es de un color amarillo levemente más intenso que la grasa obtenida de la mezcla 100% T. cacao, la cual posee una tonalidad más blancuzca. Las mezclas de semillas trabajadas van aumentando levemente la tonalidad amarilla a medida que aumenta el contenido de semillas de T.bicolor. Se pudo observar que la diferencia del color entre las mezclas 75%T.cacao-25%T.bicolor, 50%T.cacao-50%T.bicolor y 25%T.cacao -75%T.bicolor es difícil de distinguir.

En cuanto a los puntos de fusión observados experimentalmente se refiere, se observó que existe también una tendencia en el aumento de dicho valor a medida que en las mezclas aumenta el % de semillas de T.bicolor. En la tabla No. 5 se presentan los rangos de fusión de las distintas mezclas de semillas trabajadas. Obteniendo un punto máximo de 29.75 °C para la mezcla 100% T.bicolor y un punto mínimo de 25.6 °C para la mezcla 100% T.cacao. El aumento del punto de fusión esta relacionado al aumento del porcentaje de semillas de T.bicolor.

9.2.2 CONTENIDO DE GRASA

El contenido de grasa encontrado para las distintas mezclas de semillas trabajadas es significativamente mayor al reportado en trabajos previos. Es probable que este hecho se deba a dos factores, primero que los datos obtenidos en el análisis del porcentaje de grasa no están reportados en base seca, pues los valores de porcentaje de humedad necesarios para el cálculo de base seca no fueron realizados con las semillas crudas, sino con las semillas sometidas al proceso de tostado, por lo que no es válido realizar ese cálculo con los datos obtenidos bajo las condiciones de tostado previo. El otro factor influyente radica en la diferencia de las variedades analizadas en trabajos previos.

La tabla No. 4 muestra un valor máximo de 50.88 % para la mezcla 100% T. cacao y un valor mínimo de 40.90 % para la mezcla de 100 % T. bicolor. En este caso se observa una tendencia a aumentar el porcentaje de grasa en las mezclas mientras aumenta el contenido de semillas de T. cacao.

Los distintos valores de porcentaje de grasa obtenidos en las mezclas 75%T.cacao-25%T.bicolor, 50%T.cacao-50%T.bicolor y 25%T.cacao-75%T.bicolor, representan una variedad de opciones a elegir si se desea realizar un producto alimenticio con un contenido bajo en grasa con cualidades similares a aquel que utilice solamente grasa de T. cacao.

9.3 PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

Los resultados arrojan la presencia de 4 ácidos grasos, dos ácidos grasos saturados: ácido esteárico y ácido palmítico; dos ácidos grasos insaturados: ácido oleico y ácido linoleico.

La tabla No. 6 muestra los valores obtenidos para el ácido esteárico en cada una de las mezclas, se observa en ellos que existe un aumento de la presencia de este ácido, conforme se incrementa el porcentaje de T. bicolor en las muestras, siendo las mezclas 50%T.cacao-50%T.bicolor y 25%T.cacao-75%T.bicolor, las que mayores porcentajes reportan.

A pesar de que el aumento de ácido esteárico no presenta linealidad, pues la mezcla 100% T. bicolor, debería reportar un porcentaje mayor al obtenido por las mezclas 50%T.cacao-50%T.bicolor y 25%T.cacao-75%T.bicolor, si es factible concluir de los resultados, que 100% T. bicolor posee un porcentaje mayor de este ácido en comparación a 100% T. cacao.

Así mismo el ácido linoleico también muestra la misma tendencia que el ácido esteárico, pues en la muestra de 100% T. cacao esta presente en un 0.80 % y el valor se incrementa a medida que se llega a la mezcla 100 % T. bicolor, la cual reporta un valor de 1.87 %.

Si se observa la tabla No.8 el ácido oleico presento un valor máximo de 46.84 % para la mezcla 100% T.bicolor. Y un valor mínimo de 27.28 % para la mezcla 100% T. cacao. La presencia de este ácido en las mezclas trabajadas no exhibe una tendencia particular, pero si es claro que los porcentajes de ácido oleico en las mezclas 75%T.cacao-25%T.bicolor, 50%T.cacao-50%T.bicolor 25%T.cacao-75%T.bicolor son superiores al de la mezcla 100% T. cacao.

El ácido graso que presenta con mayor claridad una tendencia lineal a aumentar mientras se incrementa el porcentaje de T. cacao en las mezclas, fue el ácido palmítico. Según la tabla No. 7, los valores reportados oscilan entre un máximo de 28.73% para la mezcla 100% T. cacao y un mínimo de 6.36 % para la mezcla 100% T. bicolor.

9.4 PANEL DE DEGUSTACION

Para mejor comprensión sobre que producto fue elaborado con cual mezcla de semillas se presenta a continuación el siguiente cuadro:

MEZCLA	PRODUCTO
(100% <u>T.cacao</u>)	PRODUCTO 109
(50% <u>T.cacao</u> -50% <u>T.bicolor</u>)	PRODUCTO 209
(75% <u>T. cacao</u> -25% <u>T.bicolor</u>)	PRODUCTO 309
(25% <u>T.cacao</u> -75% <u>T.bicolor</u>)	PRODUCTO 409
(100% <u>T.bicolor</u>)	PRODUCTO 509

Los resultados obtenidos del panel de degustación revelan que existen diferencias significativas $p < 0.05$, entre los productos 109 y 209, 109 y 409, 109 y 509, 209 y 509, 309 y 409, 309 y 509 (véase Anexos Cuadro No. 1). Lo cual significa que cada producto obtuvo una respuesta de aceptación distinta.

La tabla No. 11, en la sección de Resultados página 30, muestra los niveles de aceptación que fueron evaluados. El producto 109 es el que mayor % de respuesta MGM obtuvo, la cual representa la opción de mayor grado de aceptabilidad. Así mismo el producto 509 obtuvo el menor % de la misma respuesta, este producto por el contrario obtuvo el mayor % de respuesta MDM, respuesta que representa el menor grado de aceptabilidad evaluado. Este comportamiento también es representado en la grafica No. 1. (Ver Anexos para consultar las gráficas)

Con lo que se demuestra que el producto 109 fue el que mejor aceptación encontró en el público que participo en el panel y el producto 509 fue el menos aceptado dentro del gusto de los encuestados.

Los productos 209 y 409 muestran respuestas de aceptabilidad variadas. En la gráfica No. 2 se puede apreciar este comportamiento, el producto 209 obtuvo respuestas parecidas a las adquiridas por el producto 409 para las 5 opciones de aceptabilidad presentadas.

Observando la gráfica No. 4 se infiere que el producto 209 fue ponderado con una aceptabilidad intermedia, ya que obtuvo porcentajes de 14% para la opción MGM y reporta también un 38 % para las respuestas MG y NMGNMD, por otro lado las respuestas que representan el rechazo de este producto, obtuvieron un 4% para MD y un 6% para MDM.

Los resultados obtenidos en las respuestas MG y NMGNMD, en el caso del producto 409 son muy parecidos a los del producto 209, las variaciones radican según la gráfica No. 6, en las respuestas que se obtuvieron para las opciones MGM con un 6 %, MD con un 20% y MDM con un 2%. Comparando ambos productos, se nota claramente que para el producto 409 aumentó levemente la ponderación en las opciones de rechazo.

Es importante señalar que el objetivo de realizar este panel de degustación fue el encontrar un producto de chocolatería, fabricado con mezclas de semillas de T. cacao-T.bicolor, que tuviera igual o similar aceptación que un producto fabricado con 100% T. cacao. Es satisfactorio señalar que ese producto fue encontrado dentro de las mezclas trabajadas.

Se trata del producto 309, pues según la grafica No. 5, es el que muestra un comportamiento similar al tipo de respuesta obtenido por el producto 109, que en el presente trabajo es la mezcla 100% T. cacao. El producto 309 es de hecho el que mejor aceptabilidad presentó, de todos los productos fabricados con mezclas de semillas de T. cacao-T.bicolor, pues no muestra respuestas para las opciones MD y MDM, las cuales indican rechazo hacia los productos en prueba. Los % de aceptación favorable para el producto 309 son de un 30 % para la opción MGM y un 38 % para MG. Sin embargo también reporta un 32 % para NMGNMD, que representa cierto grado de indiferencia.

A pesar de ello el producto 309 fue ponderado favorablemente por el público encuestado, lo que lo convierte a la mezcla de semillas con que fue preparado, en una opción elegible si se deseara emplear en la fabricación de algún producto de chocolatería

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Los porcentajes de humedad obtenidos para las distintas mezclas de semillas, son bastante bajos debido al tratamiento de tostado previo al que fueron sometidas las semillas.
- 10.2 La mezcla 100% T. cacao es la que presentó un mayor contenido de humedad con un valor de 1.78 % y la muestra 25% T. cacao-75% T.bicolor es la que posee un contenido de agua menor con un valor de 1.29%
- 10.3 En términos generales fue común observar que el contenido de cenizas, proteína, grasa y ácidos grasos en las mezclas trabajadas varió de acuerdo al porcentaje presente de los ingredientes individuales.
- 10.4 Los valores encontrados para contenido de cenizas presentaron una tendencia a aumentar a medida que se incrementaba el porcentaje de semillas de T. bicolor en las mezclas analizadas, lo cual demuestra que dichas semillas son más ricas en sustancias no carbonizables, que las de T. cacao.
- 10.5 En lo que a contenido de proteína cruda se refiere, existe una tendencia al incremento de dichos valores a medida que el porcentaje de semillas de T.bicolor es mayor en las mezclas analizadas. Se observó un valor mínimo de 14.56 % para la mezcla 100% T. cacao y un valor máximo de 20.38 % para la mezcla 100% T.bicolor.
- 10.6 El contenido graso de las semillas presenta un patrón inverso a aquel reportado por la proteína cruda, en este caso se observa que el % de grasa en las mezclas trabajadas aumenta cuando el contenido de semillas de T. cacao es mayor.
- 10.7 El perfil de ácidos grasos indica la presencia de 4 ácidos grasos en las mezclas de semillas, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico.
- 10.8 El ácido esteárico, el ácido linoleico y el ácido oleico presentan porcentaje mayores en las mezclas que tienen mayor contenido de semillas de T. bicolor, por el contrario el ácido palmítico incrementa su presencia a medida que aumenta el porcentaje de semillas de T. cacao en las mezclas.

- 10.9 Con base al análisis estadístico del panel de aceptabilidad se establece que existen diferencias entre los 5 productos elaborados con las mezclas de semillas de T. cacao y de T. bicolor.
- 10.10 El producto 109 elaborado con la mezcla 100 % T. cacao fue el que obtuvo mayores porcentajes para las respuestas que representaban el mayor grado de aceptabilidad evaluado.
- 10.11 El producto 509 elaborado con la mezcla 100 % T.bicolor mostró los mayores porcentajes para las respuestas que representaban el menor grado de aceptabilidad evaluado.
- 10.12 Tanto el producto 209 como el producto 409, elaborados con las mezclas 50%T.cacao-50%T.bicolor y 25%T.cacao-75%T.bicolor respectivamente, presentan una aceptabilidad intermedia pues reportaron porcentajes similares para las 5 posibles respuestas que fueron evaluadas.
- 10.13 El producto 309 elaborado con la mezcla 75%T.cacao-25%T.bicolor muestra una aceptabilidad significativamente similar al producto 109, por lo que se considera una alternativa viable para la elaboración de ciertos productos de chocolatería.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Ya que las mezclas de semillas que contienen mayor porcentaje de T. bicolor presentan un contenido alto de cenizas, es conveniente realizar un análisis de estas cenizas por medio de absorción atómica para examinar que tipo de minerales contienen.
- 11.2 Así mismo una evaluación del tipo de aminoácidos que componen las proteínas de las cocoas elaboradas con las semillas evaluadas, es de suma importancia pues vale la pena identificar si se trata de aminoácidos esenciales o no.
- 11.3 En vista de la poca aceptabilidad que presentó el producto 509 elaborado con la mezcla 100% T. bicolor, sería interesante cambiar la formulación con que fue preparado este producto, variando la cantidad de sus ingredientes originales o agregando otros ingredientes como vainilla, canela u otras especias, que podrían mejorar de alguna forma el sabor, para luego someterlo nuevamente a una evaluación de aceptabilidad.
- 11.4 Se recomienda ampliamente seguir estudiando el uso de las mezclas de grasa y las mezclas de harinas, de las semillas de T. bicolor y de T. cacao, en otros productos de chocolatería, así como probar su funcionalidad en la elaboración de ciertos productos alimenticios.

12. REFERENCIAS

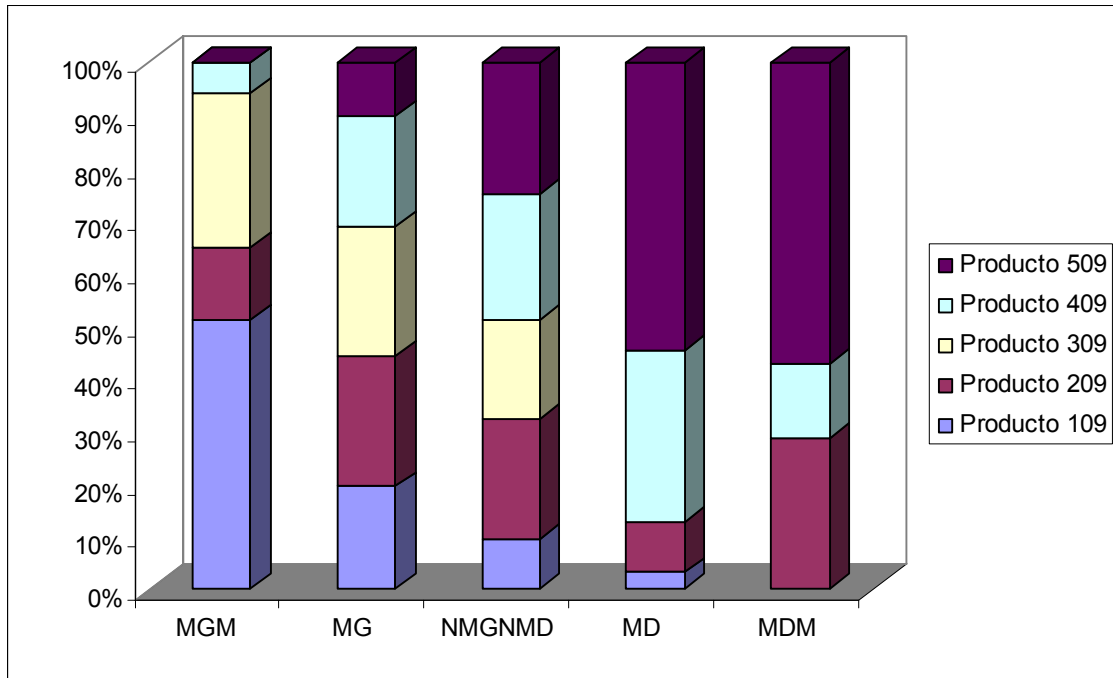
- 12.1 Tannenbaum, Ginger. 2004. Chocolate: A Marvellous Natural Product of Chemistry Journal of Education. Vol.81. No.8. August. 1131-1135 pp. (1)
- 12.2 Minifie, Bernard. 1989. Chocolate, Cocoa and Confectionary. Science and Technology. Third Edition. International Thompson Publishing Company. New York. 85-89 pp. (2)
- 12.3 Fritz, P.J., et. al. 1995. Backcross populations for genetic analysis of Theobroma cacao. Catongo X Tree (Catongo X Pound 12). Turrialba. Vol 45. 49-56 pp. (3)
- 12.4 Gilabert-Escriba, V. et. al. 2002. Fatty acid and triacylglycerol composition and thermal behaviour of fats from seeds of Brazilian Amazonian Theobroma species. Journal of Science Food & Agriculture. 1425-1431 pp. (4)
- 12.5 Bressani, R. Furlan, A. 1997. Chemical characterization of the seed and pulp of Theobroma bicolor. Coffee and Cocoa News . Vol.2. 17-22 pp. (5)
- 12.6 Courtwright, David. 2002. Las drogas y la formación del mundo moderno. Paidós Contextos. Buenos Aires. 43,47,48 pp. (6)
- 12.7 West, J.A. A Brief History and Botany of Cacao. 1992. Citado en Foster, N., Cordell, L.S. Chillies to Chocolate. University Arizona Press. 105-115 pp. (7)
- 12.8 Phillis-Mora, W. 1989. Método de inoculación y evaluación de la resistencia a Phytophthora palmivora en frutos de T. cacao. Turrialba. Vol. 39. 448-497 pp. (8)
- 12.9 Sanchez, P., Jaff, K., Muller, M.C. 1989. El género Theobroma en el territorio Federal Americano (Venezuela). I. Nota etnobotánica y consideraciones agronómicas. Turrialba. Vol 39. 440-446 pp. (9)
- 12.10 Osei, J.K., et. al. 1995. Construction of a low-density linkage map of Theobroma cacao using random amplified polymorphic DNA markers and an anthocyanin biosynthetic locus. Turrialba. Vol. 45. 128 pp. (10)
- 12.11 Furlan, A., Bressani, R. Recursos vegetales con potencial de explotación agroindustrial de Guatemala. Caracterización química de la pulpa y de las semillas de Theobroma bicolor. Sometidos a Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Caracas, Venezuela. (11)

- 12.12 Padilla, C. Pujals, A.C. Transcripción de una charla realizada en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina, los días 2 y 3 de agosto de 2003, en el Centro Cultural Recoleta. Taller relacionado con la exhibición multidisciplinaria “*Arte al Plato - 1ª Muestra sobre la alimentación en el Arte*” www.elportaldemexico.com/arteculinario/arteculinario.htm {Consulta 4 de Mayo 2005} (12)
- 12.13 Pinto, J. *Comparación de parámetros físico – químicos de granos tostados de cacao (Theobroma cacao L.) en dos zonas del Estado Aragua*. Venezuela. Primer Congreso del Cacao venezolano y su Industria . Sistema de información y Documentación Agrícola de Venezuela. www.cacao.sian.info.ve/memorias/html/0.2.html {Consulta 6 de Abril 2005} (13)
- 12.14 International Cocoa Organization. Questions and Answers. *Summary of the process of transforming cocoa beans into chocolate*. www.icco.org/questions/choco.htm {Consulta 8 de Abril 2005} (14)
- 12.15 University of Life Sciences. Wageningen Universiteit. Preguntas y respuestas: *¿Qué factores determinan el punto de fusión del chocolate?* The Netherlands (Holanda) www.food-info.net/es/qa/qa-fp45.htm {Consulta 8 de Abril 2005} (15)
- 12.16 Chaiser, S. et. al. 1989. Thermal Characteristics and Composition of Fats from Theobroma Species. Turrialba. Vol 39. 468-472 pp. (16)
- 12.17 Fryer, Peter. 2000. The Material Science in Chocolate. MRS Publications Bulletin. December. 1-3 pp. (17)
- 12.18 Beckett, S. T. 2000. The Science in Chocolate. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. U.K. 10-11, 38-40 pp. (18)
- 12.19 Petryck, Norberto. *Técnicas y Consideraciones Generales de la elaboración de chocolate*. www.alimentaciónsana.com.ar {Consulta 6 de Abril 2005} (19)
- 12.20 Tannenbaum, G. 1993. Lessons in Chocolate. Flinn Scientific, Batavia IL. 4 pp. (20)
- 12.21 Pinschower, Kerstin. *The Material Science in Chocolate*. Journal of Material Research. www.mrs.org/publications/bulletin {Consulta 8 de Abril 2005} (21)

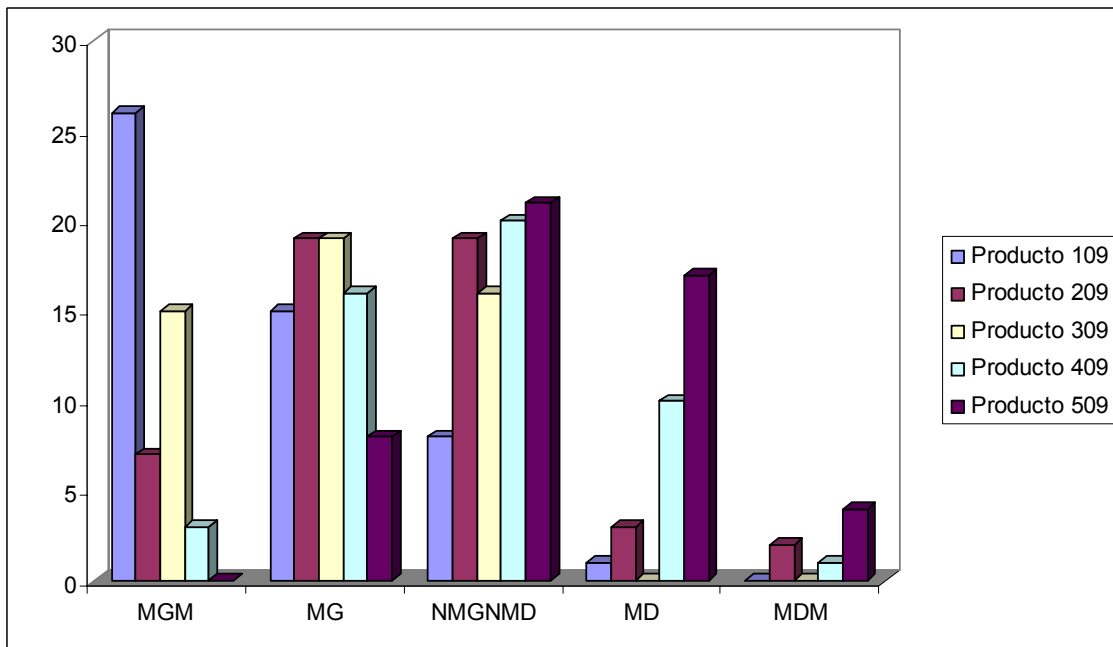
- 12.22 Padilla, F.C. 2000. Characterization of cocoa butter extracted from Hybrid cultivars of *Theobroma cacao* L. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol.50. 2-4 pp. (22)
- 12.23 Bruni, R. et. al. Lipid composition of wild ecuatorian *Theobroma subincanum* Mart seeds and comparison with two varieties of *Theobroma cacao* L. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. Vol.48. 691-694 pp. (23)
- 12.24 Ortiz, Julieta. 2004. Caracterización Fisicoquímica de la Grasa de semillas de *Theobroma Bicolor* de Guatemala. Trabajo de Investigación para optar al grado de maestría de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad del Valle de Guatemala. 1-32 pp. (24)
- 12.25 Jee, M. Composition of the fat extracted from the seeds of *Theobroma bicolor*. *Journal of American Oil Chemistry Society*. Vol.61. 751-753 pp. (25)
- 12.26 Official Methods of Analysis.1984. AOAC Inc. Association of Official Analytical Chemists. Fourteenth Edition. USA. 236-237 pp.(26)
- 12.27 Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. 1984. Departamento de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Subirán. 2da. Edición. Mexico. 128,129,133,134 pp. (27)

13. ANEXOS

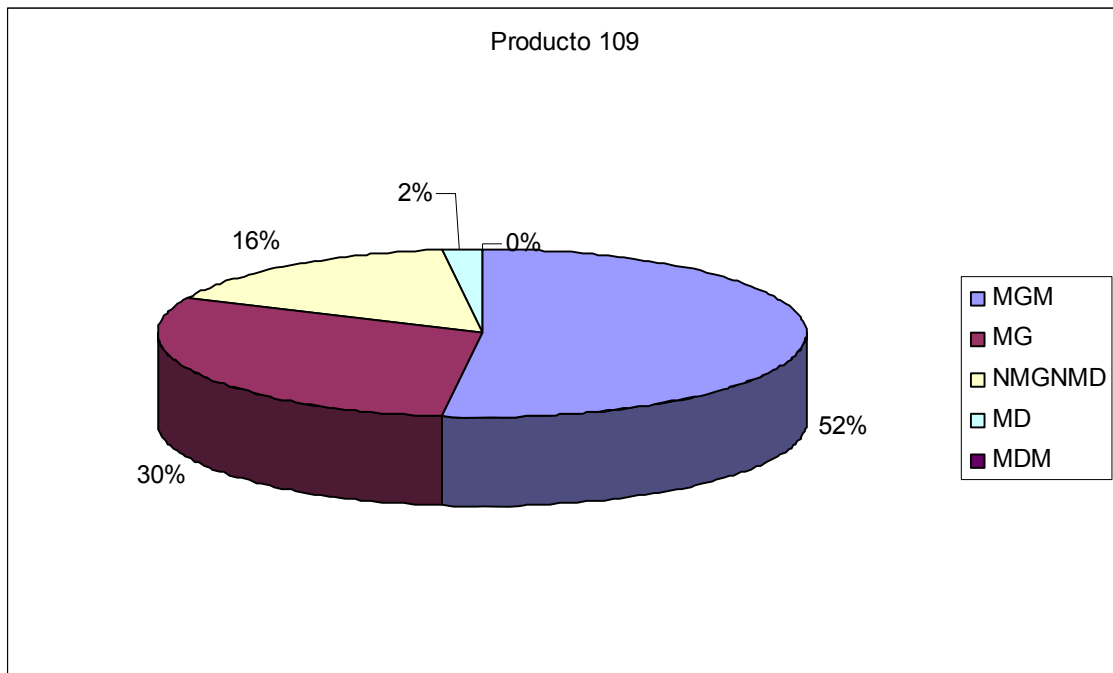
GRAFICA No. 1



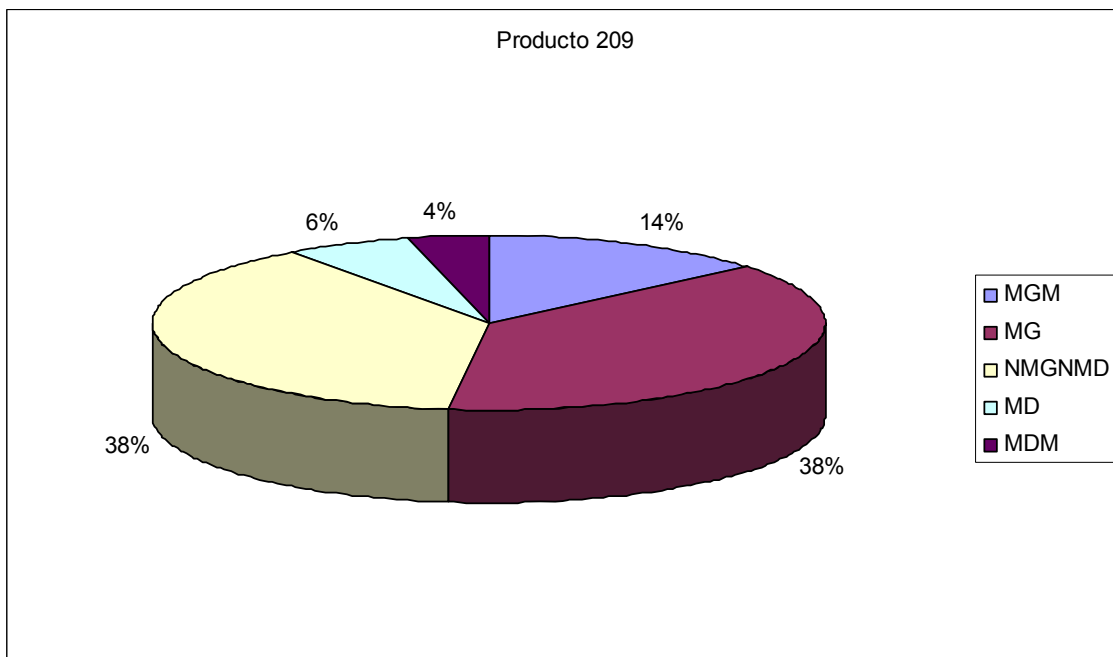
GRAFICA No. 2



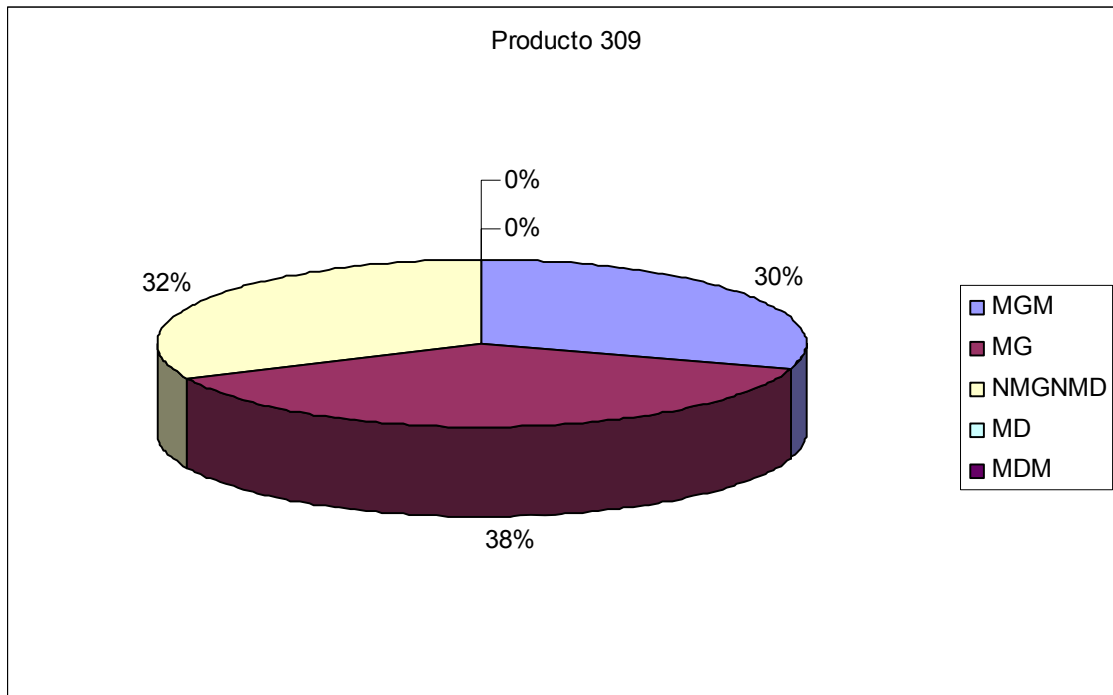
GRAFICA No. 3



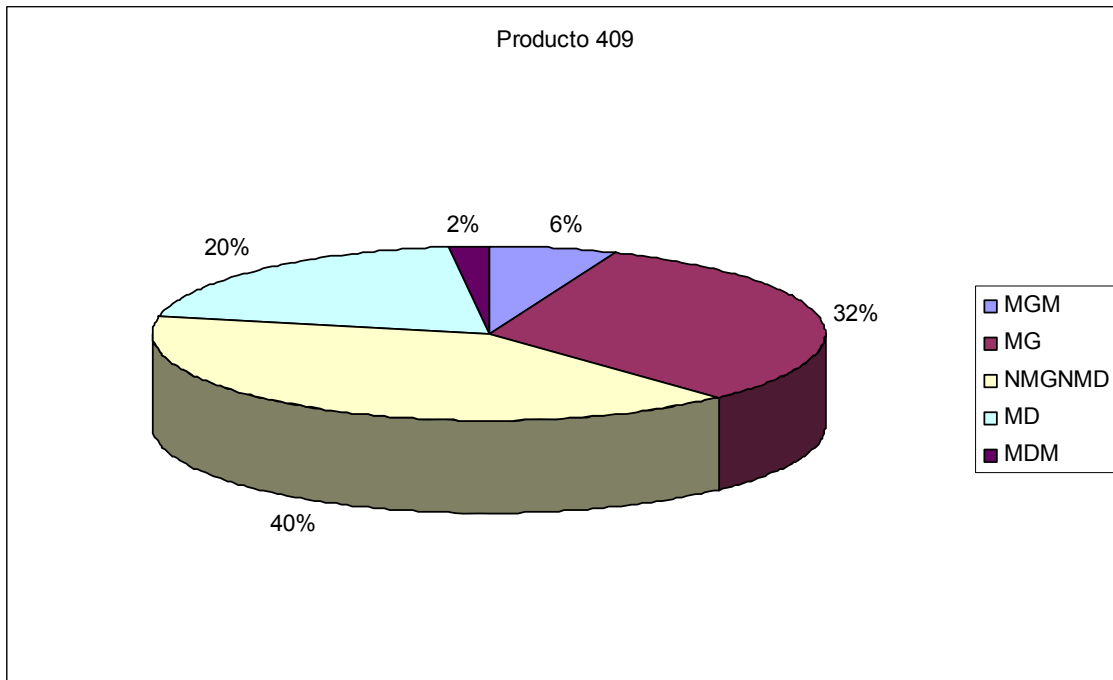
GRAFICA No. 4



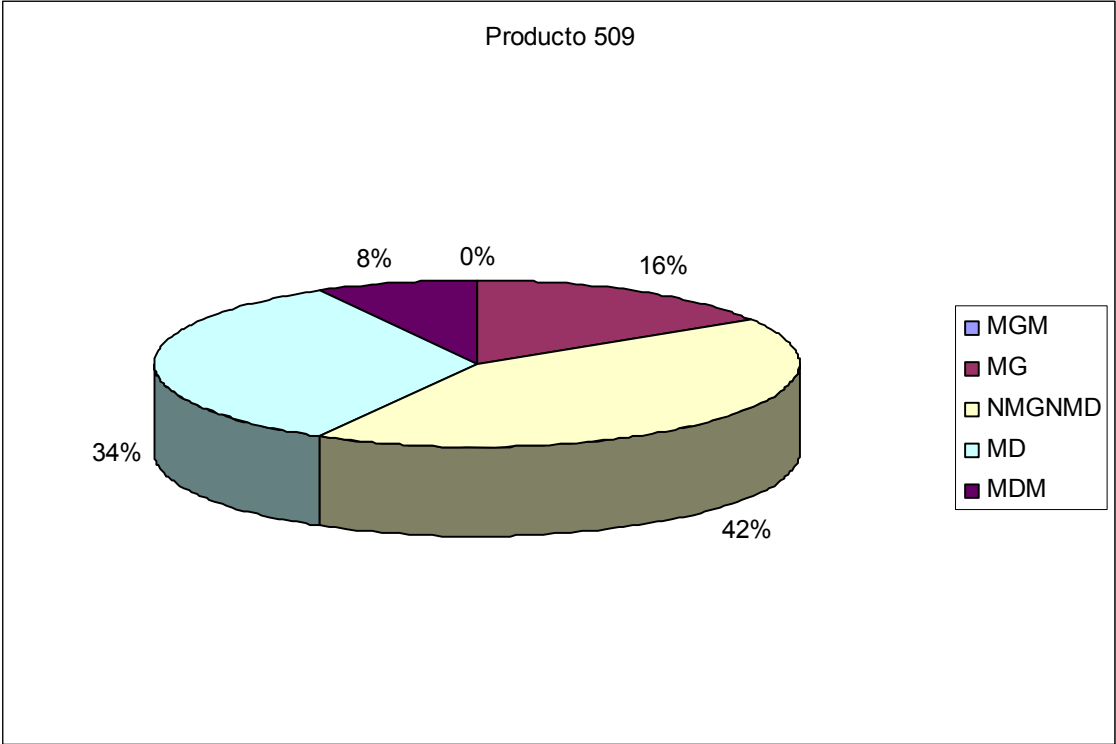
GRAFICA No. 5



GRAFICA No. 6



GRAFICA No. 7



GLOSARIO

1. Cocoa: Se trata del polvo resultante, luego de desgrasar parcialmente el licor de cacao, puede referirse a ella ya sea que le sea agregada o no el azúcar.
2. Licor de cacao: Es la masa semilíquida que se obtiene cuando las semillas previamente tostadas y descascarilladas son calentadas (70° - 80°) y molidas finamente.
3. Manteca: Se refiere a la grasa obtenida luego de someter el licor de cacao a presión y calor:
4. Chocolate: Se le llama así a la mezcla de licor de cacao, azúcar y especias (vainilla, canela, etc).

TEST DE ESCALA HEDONICA

Nombre _____
 No. Formulario _____

Fecha _____

Pruebe a continuación los productos que se le presentan y marque con una cruz el grado de percepción del alimento ofrecido, en la casilla que corresponde a cada producto.

Percepción	Producto No. 1	Producto No.2	Producto No.3	Producto No.4	Producto No.5
Me gusta mucho					
Me gusta					
Ni me gusta ni me disgusta					
Me disgusta					
Me disgusta mucho					

De los anteriores productos ¿Cuál prefiere? Marque con una X :

Producto No.1 _____ Producto No. 2 _____ Producto No.3 _____ Producto No.4 _____ Producto No.5 _____

COMPARACIONES ENTRE PRODUCTOS

Valor “ $p < \alpha$ ”

Cuadro No. 1

Comparaciones	Dif. SR (v.absoluto)	p
Producto 109 vrs Producto 209	40	0.0019
Producto 109 vrs Producto 309	17	0.1879
Producto 109 vrs Producto 409	56	<0.00001
Producto 109 vrs Producto 509	83	<0.00001
Producto 209 vrs Producto 309	23	0.0748
Producto 209 vrs Producto 409	16	0.2152
Producto 209 vrs Producto 509	43	0.0009
Producto 309 vrs Producto 409	39	0.0025
Producto 309 vrs Producto 509	66	<0.00001
Producto 409 vrs Producto 509	27	0.0565
Valor crítico ($\alpha=0.05$)	36.24	