

Development of a chocolate bar from CCN-51 cocoa (*Theobroma cacao* L.) through the incorporation of its testa and *Theobroma bicolor* seeds at the Technical University of Babahoyo

Desarrollo de una barra de chocolate a partir del cacao CCN-51 (*Theobroma cacao* L.) mediante la incorporación de su testa y semillas de *Theobroma bicolor* en la Universidad Técnica de Babahoyo

Luis Humberto VÁSQUEZ CORTEZ^{1,4}, Juan Andrés VILLAMARÍN BARREIRO¹, Álvaro Martín PAZMIÑO PÉREZ¹, Benítez Velasco DANNY VIDOR¹, Miguel Sebastian URRUTIA ALVAREZ², Guillermo Enrique GARCÍA VÁSQUEZ¹, Jose Luis MONCAYO PAZ¹, Sanyi Lorena RODRÍGUEZ CEVALLOS², Jhoan Alfredo PLUA MONTIEL³

¹ Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Los Ríos, Ecuador.

² Investigador Independiente.

³ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba. Campus Internacional de Excelencia en el Sector Agroalimentario. Córdoba, España.

⁴ Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo, San Rafael, M5600APG, Argentina.

Recibido: 4/septiembre/2025. Aceptado: 22/octubre/2025.

ABSTRACT

Introduction: The CCN-51 cacao clone (*Theobroma cacao* L.) is highly productive and resistant but presents sensory limitations in specialized markets. The incorporation of by-products such as testa and related species like *Theobroma bicolor* (mocambo) can improve the organoleptic profile, enhance bioactive compounds, and strengthen production sustainability.

Objectives: To develop a chocolate bar from CCN-51 cacao incorporating testa and mocambo seeds; to evaluate physicochemical and proximal properties; to analyze sensory quality; and to quantify antioxidant capacity using the ABTS method.

Materials and Methods: A completely randomized trifactorial design (2×2×3) was applied, consisting of 12 treatments and 2 replications. Proportions of CCN-51 cacao paste

(30–35%), mocambo paste (30–35%), and testa (0–10%) were varied. pH, titratable acidity, °Brix, moisture, ash, and sensory attributes (aroma, texture, color, flavor, and acceptability) were determined using a semi-trained panel (9-point hedonic scale), along with antioxidant capacity (ABTS). Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$).

Results: The addition of testa (5–10%) increased acidity, moisture, and ash content while reducing °Brix without altering pH. Mocambo increased moisture and reduced soluble solids and minerals. Formulations with 35% cacao, 30% mocambo, and 5% testa achieved higher sensory scores ($> 4.0/5$), in contrast to those containing 10% testa ($< 2.5/5$). Treatments with higher proportions of testa and mocambo exhibited greater antioxidant capacity.

Discussion: The integration of by-products and native species improved proximal composition, sensory attributes, and antioxidant functionality. Acceptability was influenced by the balance between phenolic compounds, fiber, and fat matrix.

Conclusions: The optimal formulation combined 30–35% CCN-51 cacao, 30% mocambo, and 5% testa, achieving balance between sensory acceptability, mineral contribution, and antioxidant capacity. The study confirms the potential of val-

Correspondencia:

Luis Humberto Vásquez Cortez
lvazquezc@utb.edu.ec

orizing cacao by-products and native species to develop functional and sustainable chocolates.

KEYWORDS

Cacao CCN51, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation, physicochemical.

RESUMEN

Introducción: El clon de cacao CCN-51 (*Theobroma cacao* L.) es altamente productivo y resistente, pero presenta limitaciones sensoriales en mercados especializados. La incorporación de subproductos como la testa y especies afines como *Theobroma bicolor* (mocambo) permite mejorar el perfil organoléptico, potenciar compuestos bioactivos y fortalecer la sostenibilidad productiva.

Objetivos: Desarrollar una barra de chocolate a partir de cacao CCN-51 incorporando testa y semillas de mocambo; evaluar propiedades fisicoquímicas y proximales; analizar la calidad sensorial; y cuantificar la capacidad antioxidante mediante ABTS.

Material y Métodos: Se utilizó un diseño completamente al azar trifactorial ($2 \times 2 \times 3$), con 12 tratamientos y 2 repeticiones. Se variaron las proporciones de pasta de cacao CCN-51 (30–35%), mocambo (30–35%) y testa (0–10%). Se determinaron pH, acidez titulable, °Brix, humedad, cenizas, atributos sensoriales (aroma, textura, color, sabor y aceptabilidad) con panel semientrenado (escala hedónica 1–5) y capacidad antioxidante (ABTS). Los datos se analizaron mediante ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados: La adición de testa (5–10%) incrementó acidez, humedad y cenizas, y redujo los °Brix sin modificar el pH. El mocambo aumentó la humedad y disminuyó sólidos solubles y minerales. Las formulaciones con 35% de cacao, 30% de mocambo y 5% de testa obtuvieron mejores puntuaciones sensoriales ($>4,0/5$), frente a las que incluyeron 10% de testa ($<2,5/5$). Los tratamientos con mayor proporción de testa y mocambo mostraron más capacidad antioxidante.

Discusión: La integración de subproductos y especies nativas mejoró la composición proximal, los atributos sensoriales y la funcionalidad antioxidante. La aceptabilidad dependió del equilibrio entre compuestos fenólicos, fibra y matriz grasa.

Conclusiones: La formulación óptima combinó 30–35% de cacao, 30% de mocambo y 5% de testa, equilibrando aceptabilidad, aporte mineral y capacidad antioxidante. El estudio confirma el potencial de valorizar subproductos y especies locales para elaborar chocolates funcionales y sostenibles.

PALABRAS CLAVE

Cacao CCN51, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentación, fisicoquímico.

INTRODUCCIÓN

La industria mundial del cacao enfrenta actualmente el desafío de responder a una creciente demanda de productos con alto valor agregado, que integren atributos sensoriales diferenciados, beneficios funcionales para la salud y criterios de sostenibilidad Vásquez 2024¹. El cultivo y procesamiento de cacao genera una gran cantidad de subproductos poco aprovechados, entre los cuales la testa o cascarilla del grano representa entre el 12% y el 20% de su peso total Vásquez 2023². Tradicionalmente este residuo se destina al compostaje o a la alimentación animal, aunque su elevado contenido en fibra dietética, compuestos fenólicos y flavonoides con actividad antioxidante lo posicionan como un recurso emergente para su valorización en modelos de bioeconomía circular orientados al sector alimentario Vera 2025³.

En Ecuador, reconocido internacionalmente como productor de cacao fino y de aroma, se cultiva extensivamente el clon CCN-51 (*Theobroma cacao* L.), caracterizado por su elevada productividad, plasticidad agronómica y resistencia a enfermedades⁴. No obstante, el clon CCN-51 presenta un perfil sensorial particular, caracterizado por notas astringentes y una menor complejidad aromática en comparación con los cacaos finos de aroma Vera 2022⁵. Estas características, lejos de constituir una limitación, ofrecen un punto de partida para el diseño de formulaciones innovadoras que potencien su perfil organoléptico mediante la incorporación de ingredientes funcionales y especies afines. En este sentido, la optimización de sus atributos sensoriales, acompañada de un incremento en su valor funcional, se proyecta como una estrategia prioritaria para fortalecer su posicionamiento en mercados especializados y ampliar la competitividad del sector cacaotero ecuatoriano Vásquez 2023⁶.

El *Theobroma bicolor* (mocambo), especie nativa de la Amazonía y subutilizada en la industria alimentaria, posee semillas con alto contenido de proteínas, lípidos y compuestos bioactivos con capacidad antioxidante Vera 2024⁷. Su incorporación en matrices chocolateras no solo diversifica la oferta de productos con identidad territorial, sino que también promueve la valorización de cultivos ancestrales y el uso sostenible de la biodiversidad Vásquez 2025⁸.

La combinación de cacao CCN-51 con testa y semillas de *T. bicolor* plantea, por tanto, una alternativa prometedora para desarrollar chocolates funcionales que integren propiedades fisicoquímicas mejoradas, mayor capacidad antioxidante y atributos sensoriales optimizados. En este sentido, la presente investigación evalúa el efecto de estas incorporaciones sobre parámetros químicos, proximales y organolépticos, así como sobre la actividad antioxidante medida por ABTS, con el propósito de identificar formulaciones óptimas que aporten valor agregado y fortalezcan la sostenibilidad de la cadena de cacao en Ecuador.

MÉTODOS

Localización

El estudio se desarrolló en la Ciudad de Babahoyo, ubicada en la región litoral del Ecuador, tanto la recepción de las materias primas de las mazorcas de cacao y las fases analíticas de laboratorio se efectuaron en la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FACIAG) de la Universidad Técnica de Babahoyo, situada en el kilómetro 7,5 de la vía Babahoyo – Montalvo, cantón Babahoyo, provincia de Los Ríos, región litoral del Ecuador. Su localización geográfica corresponde a una latitud de -1.81667 y una longitud de -79.53333 (01° 49' 00" S; 79° 32' 00" O), con una altitud promedio de 8 m s.n.m

Diseño Experimental

En el presente estudio se empleó un diseño completamente al azar con arreglo trifactorial ($2 \times 2 \times 3$), conformado por 12 tratamientos y 2 repeticiones, lo que generó un total de 24 unidades experimentales. Cada tratamiento correspondió a tabletas de chocolate de 50 g. El factor A estuvo representado por la proporción de pasta de cacao CCN-51 (30% y 35%); el factor B, por la incorporación de almendras de *Theobroma bicolor* (30% y 35%); y el factor C, por la inclusión de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres niveles (0%, 5% y 10%). Los datos experimentales se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% ($p < 0,05$), y para la comparación de medias se aplicó la prueba de Tukey, a fin de identificar diferencias estadísticas y establecer grupos homogéneos entre tratamientos. El procesamiento estadístico se realizó mediante el software InfoStat de acceso libre, garantizando confiabilidad y precisión en la interpretación de los resultados.

Esquema de ANDEVA

Se visualiza en la Tabla 1 la estructura de Andeva de los tratamientos y factores de estudio, para la realización de este trabajo de investigación.

Procedimiento de producto

El desarrollo experimental se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad Técnica de Babahoyo, siguiendo protocolos estandarizados de buenas prácticas de manufactura (BPM) para asegurar la inocuidad del producto. El procedimiento comprendió las siguientes etapas:

Selección y acondicionamiento de la materia prima:

Se seleccionaron granos de cacao CCN-51 y semillas de *Theobroma bicolor* (mocambo), descartando aquellos defectuosos o con signos de contaminación. Las muestras se sometieron a fermentación controlada por 144 h en cajones de madera, cubiertos con mantas de yute para mantener la temperatura y permitir el desarrollo de precursores de aroma y sabor. Posteriormente, los granos fueron secados mecánicamente hasta alcanzar humedad <8% Intriago 2024⁹.

Tabla 1. Estructura de Andeva

Fuente de variación(FV)		Grados de libertad
Tratamiento	T – 1	11
Factor pasta cacao ccn-51	(Ca – 1)	1
Factor pasta T. bicolor	(Tb – 1)	1
Factor % de cascarilla	(Cs-1)	2
Int. Ca * Tb	(Ca-1) (Tb-1)	1
Int. Ca * Cs	(Ca-1) (Cs-1)	2
Int. Tb * Ca	(Me-1) (Ca-1)	2
Int. Ca * Tb *Cs	(Ca-1) (Tb-1) (Cs-1)	2
Cacao experimental	(Ca * Tb * Cs) (R-1)	12
Total	(Ca * Tb * Cs * R - 1)	23

Tostado y descascarillado: Los granos secos fueron tostados en horno de convección a 120–135 °C durante 20–30 min para realzar las notas aromáticas y facilitar el desprendimiento de la testa. Seguidamente, se realizó el descascarillado manual, separando la cascarilla de los nibs, que constituyeron la base para las formulaciones experimentales Alvarado 2023¹⁰.

Molienda y obtención de pastas: Los nibs de cacao y las semillas de mocambo fueron sometidos a molienda hasta obtener pasta de cacao CCN-51 y pasta de *T. bicolor*. Paralelamente, la cascarilla previamente separada fue molida hasta obtener partículas finas para su inclusión en los tratamientos Vera 2024¹¹.

Formulación y mezclado: Se elaboraron 12 tratamientos experimentales de tabletas de 50 g cada una, variando las proporciones de pasta de cacao CCN-51 (30% y 35%), pasta de mocambo (30% y 35%) y cascarilla (0%, 5% y 10%). La formulación incluyó manteca de cacao, azúcar y lecitina como emulsionante. Los ingredientes fueron mezclados y sometidos a conchado para lograr homogeneidad, reducción de tamaño de partícula y desarrollo del perfil sensorial.

Moldeado, enfriado y envasado: La masa conchada se vertió en moldes de policarbonato y se sometió a enfriamiento controlado (15–18 °C) para favorecer la cristalización estable de la manteca de cacao. Una vez solidificadas, las tabletas fueron desmoldadas y envasadas en fundas de polipropileno selladas, etiquetadas y almacenadas en condiciones controladas de temperatura y humedad Erazo 2025¹².

Evaluaciones experimentales: Cada tratamiento fue sometido a análisis fisicoquímicos (pH, acidez titulable, °Brix), proximales (humedad y cenizas), sensoriales (aroma, color, textura, sabor y aceptabilidad general con panel semientrenado) y capacidad antioxidante mediante el método ABTS Vázquez 2025⁴.

Procesamiento de datos: Los resultados obtenidos se registraron en matrices experimentales y fueron procesados mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey ($p < 0,05$) utilizando el software InfoStat. Este análisis permitió identificar diferencias significativas entre tratamientos y establecer la formulación óptima.

Instrumento de Investigación

Para garantizar la validez, confiabilidad y reproducibilidad de los resultados, en el presente estudio se emplearon diversos instrumentos de investigación orientados a la evaluación fisicoquímica, proximal, sensorial y funcional de las barras de chocolate elaboradas con cacao CCN-51, semillas de *Theobroma bicolor* y cascarilla de cacao. La selección de los instrumentos se realizó conforme a normativas internacionales reconocidas (AOAC, ISO e INEN), lo que asegura la calidad metodológica y la comparabilidad de los datos obtenidos Vázquez 2024¹³.

En el análisis fisicoquímico se determinó el pH utilizando un potenciómetro digital previamente calibrado con soluciones buffer a pH 4, 7 y 10, siguiendo la norma NTE INEN-ISO 1842. La acidez titulable se cuantificó mediante titulación ácido-base con NaOH 0,1 N y fenolftaleína como indicador, de acuerdo con la metodología AOAC 970.21, empleando como instrumentos principales una bureta graduada y un agitador magnético para asegurar la homogeneidad de la mezcla. Adicionalmente, el contenido de sólidos solubles se estableció con un refractómetro digital calibrado, siguiendo la norma NTE INEN-ISO 2173 Vázquez 2024¹³.

En cuanto a la composición proximal, el contenido de humedad se evaluó mediante el método gravimétrico en estufa a 105 °C, utilizando cápsulas de aluminio y una balanza analítica de precisión de 0,001 g, conforme a AOAC 925.10. El contenido de cenizas se determinó mediante incineración en mufla a 550 °C, siguiendo AOAC 923.03, empleando crisoles refractarios y desecador para garantizar la estabilidad de los residuos minerales Vázquez 2023⁶.

La capacidad antioxidante se midió aplicando el método ABTS bajo la norma UNE-EN 15792:2010, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis a 734 nm. Los resultados se expresaron en equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol TE/g}$). Para esta determinación se utilizaron micropipetas automáticas, cubetas de cuarzo y un baño María que permitió controlar la temperatura de las reacciones Vázquez 2025⁴.

En la evaluación sensorial se contó con la participación de un panel semientrenado conformado por 20 catadores, quienes valoraron los atributos de aroma, color, textura, sabor y aceptabilidad general. Las pruebas se realizaron bajo la metodología ISO 4121:2003, en cabinas individuales con iluminación controlada, empleando hojas de evaluación estructuradas en una escala hedónica de 1 a 5, junto con vasos y espátulas desechables para la degustación de las muestras.

Finalmente, los resultados experimentales fueron organizados en matrices de datos y procesados mediante el software estadístico InfoStat en su versión libre. El análisis de los datos incluyó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $p < 0,05$, complementado con la prueba de Tukey para la comparación de medias y la identificación de grupos homogéneos entre los tratamientos.

RESULTADOS

Variables físicas-químicas

Los coeficientes de variación fueron bajos en todos los parámetros evaluados (acidez 5,56%; humedad 0,59%; cenizas 0,49%; pH 0,39; sólidos solubles 2,06%), lo que confirma la solidez estadística de los efectos. En cuanto a la acidez titulable, los factores cacao y cascarilla resultaron altamente significativos, mientras que el mocambo no mostró efecto aislado ($p=0,1804$). La acidez aumentó con la adición de cascarilla (5–10%), intensificándose al combinarse con mocambo ($p=0,0004$) y en interacciones cacao–mocambo ($p < 0,0001$). Los valores oscilaron entre 0,60% y 0,91%, con mínimos en formulaciones sin cascarilla y máximos con mayor nivel de inclusión.

La humedad mostró efectos significativos en la interacción triple ($p < 0,0001$), destacándose la cascarilla como principal factor de retención, con máximos de 1,51% y mínimos de 0,70%. Aunque la interacción cacao–cascarilla no fue relevante ($p=0,85$), la cascarilla elevó consistentemente la humedad, especialmente con 35% de mocambo.

En el contenido de cenizas, la cascarilla incrementó los valores de forma sostenida (1,21–1,99%), con aportes adicionales de cacao y mocambo ($p < 0,0001$) y significancia en todas las interacciones, incluidas las triples ($p=0,0009$). El pH se mantuvo estable en un rango estrecho (5,44–5,80), aunque con diferencias significativas para cacao, mocambo y sus interacciones.

Los sólidos solubles fueron los más sensibles, disminuyendo conforme aumentaron mocambo y cascarilla, desde 6,96 en el control (30–30–0) hasta 1,00 en la formulación con 35% cacao, 35% mocambo y 10% cascarilla.

Los valores específicos por tratamiento pueden consultarse en la Tabla 2.

Tabla 2. Efecto del cacao CCN-51, mocambo y cascarilla en las propiedades fisicoquímicas del chocolate experimental

Factor			Variable									
CCN-51	Mocambo	Cascarilla	%Acidez Titulable		%Humedad		%Ceniza		pH		°Brix	
30	30	0	0,60		0,70		1,21		5,69		6,96	
		5	0,86		1,01		1,51		5,59		6,08	
		10	0,79		1,10		1,70		5,59		4,02	
	35	0	0,40		0,91		1,30		5,55		6,00	
		5	0,70		1,19		1,61		5,71		3,02	
		10	0,81		1,31		0,80		5,80		3,04	
35	30	0	0,31		1,00		1,29		5,80		4,04	
		5	0,75		1,40		1,71		5,69		2,90	
		10	0,65		1,41		0,81		5,62		2,06	
	35	0	0,41		1,40		1,40		5,51		3,95	
		5	0,7		1,40		1,91		5,48		1,03	
		10	0,81		1,51		1,99		5,44		1,00	
		CV	5,56		0,59		0,49		0,59		2,06	
		EEM ±	0,03		0,01		0,01		0,02		0,05	
		DMS	0,14246		0,02807		0,03139		0,13067		0,29985	
Prob.	%Cacao		<0,0001	**	<0,0001	**	<0,0001	**	0,0005	*	<0,0001	**
	%Mocambo		0,1804	ns	<0,0001	**	<0,0001	**	0,0001	*	<0,0001	**
	%Cascarilla		<0,0001	***	<0,0001	**	<0,0001	**	0,3338	ns	<0,0001	**
	Cacao*Mocambo		<0,0001	**	<0,0001	**	<0,0001	**	<0,0001	**	<0,0001	**
	Cacao*Cascarilla		0,0771	ns	<0,0001	**	<0,0001	**	0,0002	*	<0,0001	**
	Mocambo *Cascarilla		0,0004	*	<0,0001	**	0,0001	**	<0,0001	**	<0,0001	**
	Cacao*Mocambo *Cascarilla		0,0533	ns	<0,0001	**	0,0009	*	0,0106	*	<0,0001	

Efecto de la interacción del cacao CCN-51, mocambo y cascarilla sobre las propiedades fisicoquímicas del chocolate

El análisis sensorial evidenció diferencias significativas entre las formulaciones elaboradas con cacao CCN-51, Theobroma bicolor (mocambo) y cascarilla de cacao. La representación tipo radar permitió visualizar de forma integrada el

comportamiento de los atributos evaluados: aroma, color, textura, sabor y aceptabilidad.

Los tratamientos con mayor proporción de cacao (35%) y mocambo (30%), junto con una adición moderada de cascarilla (5%), alcanzaron las calificaciones más altas en aroma y aceptabilidad, superando los 4,0 puntos en la escala hedónica. Esta respuesta indica que una combinación equilibrada

con mocambo favorece el desarrollo de notas aromáticas complejas y mejora la percepción global del producto.

En contraste, las formulaciones con niveles elevados de cascarilla (10%) registraron disminuciones en sabor y textura, con valores inferiores a 3,0, lo que sugiere un efecto negativo cuando este subproducto se incorpora en exceso. Las preparaciones con 30% de cacao y ausencia de mocambo mostraron puntuaciones intermedias, con menor complejidad aromática y aceptación moderada.

El atributo color se mantuvo estable en la mayoría de los tratamientos, con valores superiores a 3,5, independientemente de las proporciones de mocambo o cascarilla. La textura fue más favorable en las formulaciones con 35% de cacao y 5% de cascarilla, con calificaciones superiores a 3,5, lo que refleja una sensación más uniforme y agradable al paladar.

Estos resultados confirman que la combinación de cacao CCN-51, mocambo y cascarilla puede optimizar las características sensoriales, destacándose la formulación con 35% de cacao, 30% de mocambo y 5% de cascarilla como la de mayor potencial para el desarrollo de chocolates funcionales con buena aceptación. Los valores específicos pueden consultarse en la Figura 1.

Capacidad antioxidante de las formulaciones (ABTS)

La capacidad antioxidante determinada mediante el método ABTS mostró diferencias significativas entre las formulaciones, con valores que variaron entre 18,5 y 31,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$, lo que confirma la influencia combinada de la cascarilla y el nivel de cacao en la actividad bioactiva. El tratamiento T1 (50% cacao, 50% mocambo y 0% cascarilla) registró la menor actividad (18,5 $\pm$ 0,4 $\mu\text{mol Trolox/g}$), lo que refleja un efecto limitado asociado únicamente a los compuestos fenólicos presentes en cacao y mocambo.

En contraste, el tratamiento T12 (58,3% cacao, 58,3% mocambo y 16,7% cascarilla) alcanzó el valor más alto (31,0 $\pm$ 0,9 $\mu\text{mol Trolox/g}$), equivalente a un incremento del 67% respecto al control sin cascarilla. Las formulaciones con 5% de cascarilla (T2, T5, T8 y T11) mostraron aumentos consistentes, con valores entre 23,8 y 26,2 $\mu\text{mol Trolox/g}$, lo que indica que niveles moderados favorecen el enriquecimiento antioxidante sin comprometer otros atributos del producto.

Las formulaciones con 10% de cascarilla (T3, T6, T9 y T12) registraron las actividades más elevadas (28,6–31,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$), evidenciando un efecto dependiente de la dosis. Asimismo, el incremento en la proporción de cacao CCN-51

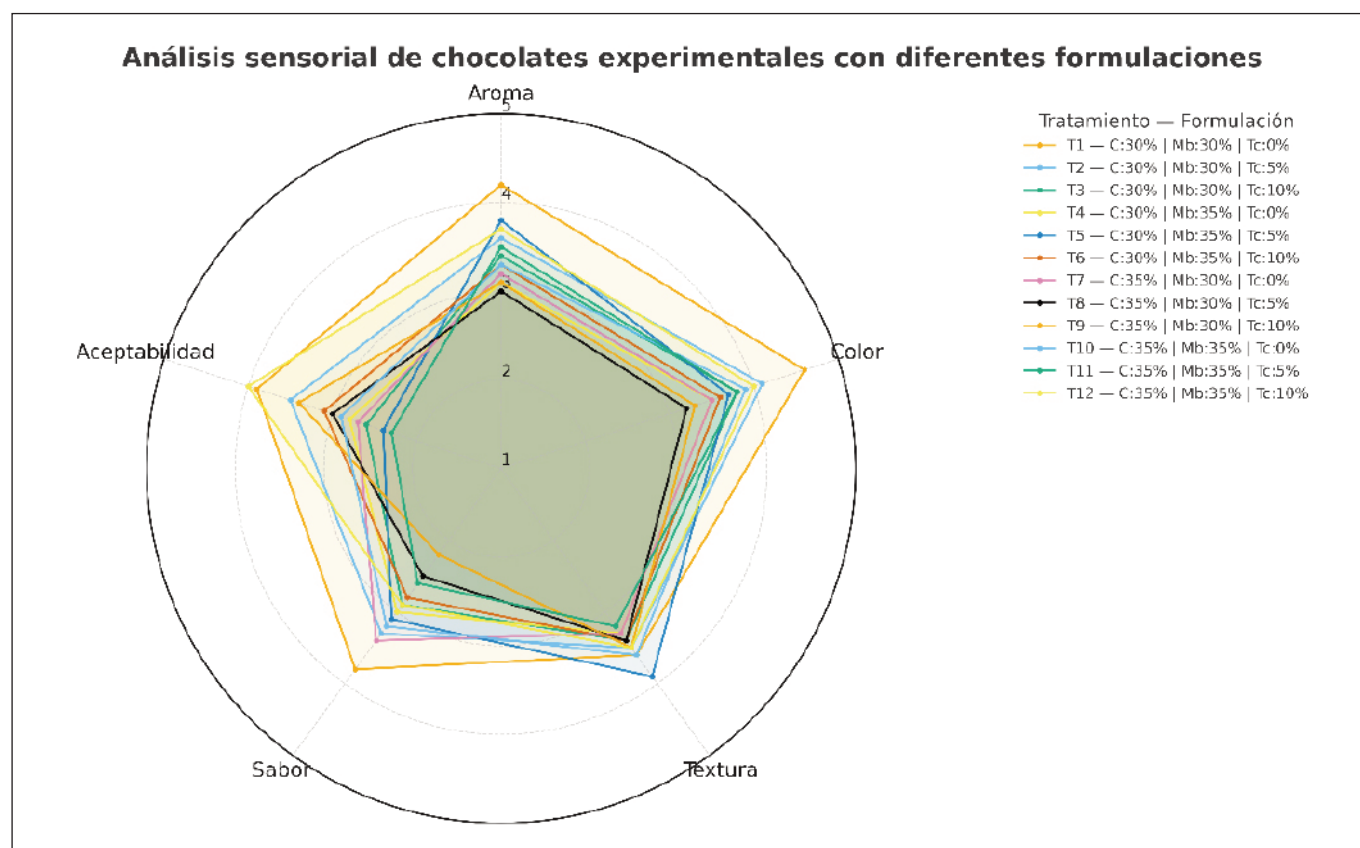


Figura 1. Interacción entre porcentajes de pasta de cacao, porcentaje de pasta de *Theobroma bicolor* y porcentaje de cascarilla de cacao

(58,3 g frente a 50 g) contribuyó positivamente al aumento de la capacidad antioxidante, aunque con menor impacto que la cascarilla. Esto se refleja en los tratamientos T7 ($20,0 \pm 0,5 \mu\text{mol Trolox/g}$) y T10 ($21,0 \pm 0,5 \mu\text{mol Trolox/g}$), que superaron ligeramente a sus equivalentes sin ajuste de cacao.

Los valores detallados pueden consultarse en la Figura 2 para una visualización comparativa.

DISCUSIÓN

En los estudios realizados la acidez titulable aumentó de forma sostenida con la adición de cascarilla (5-10%) alcanzados valores máximos cuando esta se combinó con mayores niveles de mocambo. Este comportamiento puede mencionarse por el contenido de ácidos orgánicos residuales (acético, láctico y cítrico) generados en la fermentación del cacao y retenidos en la cascarilla, los cuales incrementan la fracción titulable sin necesariamente modificar de manera marcada el pH del producto final. Además, las fibras y polifenoles de la cascarilla pueden liberar grupos carboxilo durante la hidrólisis, lo que también contribuye a la percepción ácido en matrices sólidas.

Estudios previos han reportado hallazgos similares Vera 2024¹⁴ mostraron que la dinámica de fermentación en cacao modula directamente la acumulación de ácidos orgánicos y

reduce el pH, con efectos diferenciales según la microflora y el tiempo de fermentación: Sin embargo Alvarado 2023¹⁰ confirmaron que el tostado modula el equilibrio ácido, reduciendo ácido acético pero conservando notas ácidas residuales, por otro lado Hernández 2024¹⁵ demostraron que las infusiones de cascarilla liberan ácidos y minerales que intensifican en la acidez libre; la cascarilla actúa como un modulador ácido, cuyo impacto se amplifica en sinergia con mocambo; el cacao por sí solo muestra un comportamiento amortiguado debido a su capacidad amortiguadora, pero la interacción con fibras y metabolitos del mocambo refuerza la acidez percibida.

En el presente trabajo osciló valores entre 0,60 y 0,91% valores que se incrementaron al aumentar la cascarilla y su interacción con mocambo, estos resultados son consistentes con reportes de chocolates oscuros donde la acidez varía entre 0,50 y 1,20% en función de la fermentación y del grado de tostado Calvo 2021¹⁶.

Los incrementos significativos en humedad observados con cascarilla y mocambo hasta 1,51%, responden de alta capacidad de retención de agua (WHC) y absorción (WAC) de la fibra dietética presente en ambos ingredientes. La cascarilla contiene pectinas, hemicelulosa y lignina, componentes higroscópicos que atrapan agua a través de interacciones con grupos hidroxilo y carboxilo. El mocambo, por su parte, aporta

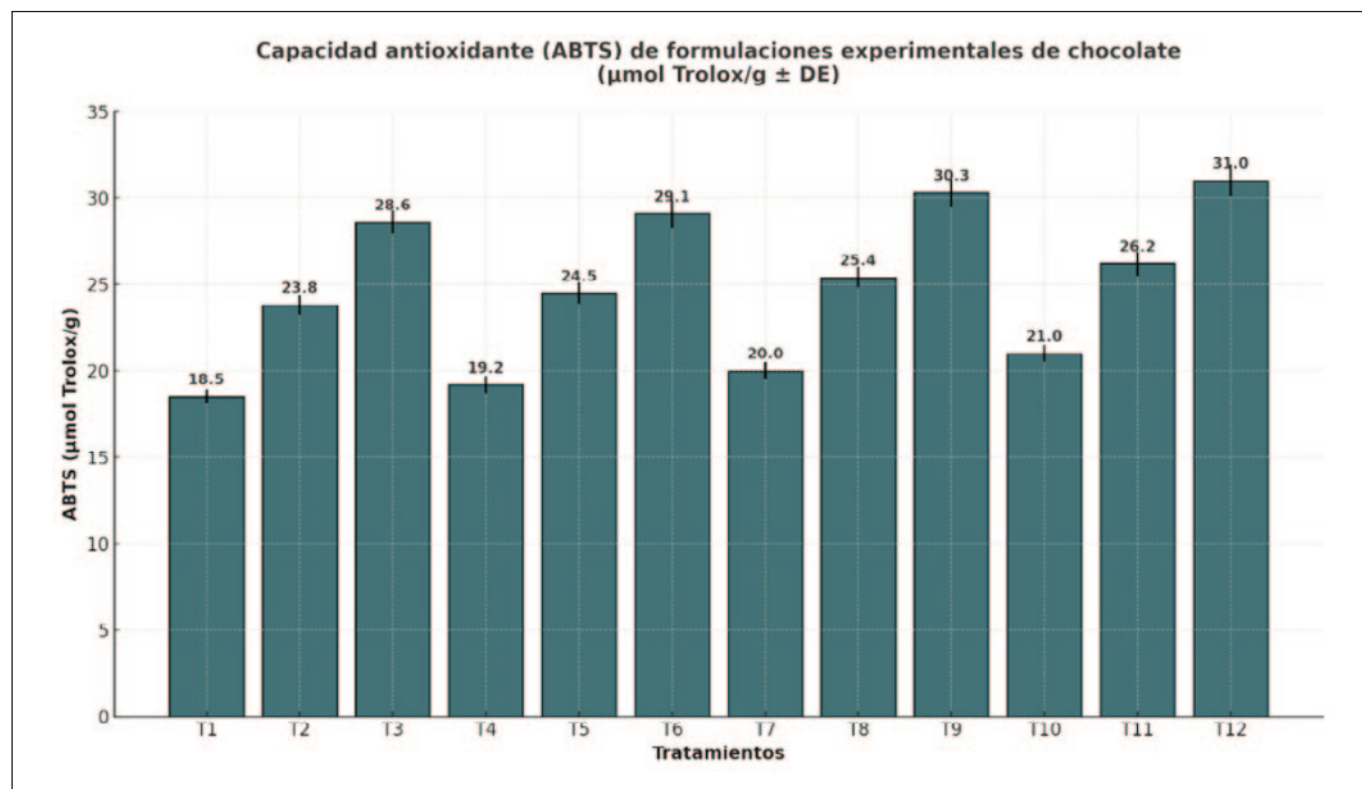


Figura 2. Capacidad antioxidante (ABTS) de las formulaciones experimentales de chocolate elaboradas con cacao CCN-51, mocambo y cascarilla

fibras solubles e insolubles que incrementan la viscosidad y favorecen la retención de agua en el producto final.

La humedad fluctuó entre 0,70 y 1,51%, dependiendo de la interacción entre los factores de estudios. Estos datos son coherentes con lo establecido en la elaboración de chocolate amargo, que recomienda una humedad máximo de <2,0 para garantizar estabilidad microbiológica y vida útil Delgado 2021¹⁷ reportaron humedades de 1,2 -1,8% en chocolates con fibra de cascarilla, mientras que Vásquez 2023⁶ hallaron valores similares tras extrusión, con aumento de humedad hasta 1,6% por mayor retención de agua; los hallazgos se ubican dentro del rango recomendado, lo que indica que el incremento de cascarilla no compromete la estabilidad, aunque humedad >1,5% pueden acelerar recristalización de azúcares.

El aumento sostenido en contenido de cenizas (1,21-1,99%) con niveles crecientes de cascarilla se explica por la alta concentración de minerales en este subproducto (K, Mg, Ca, P, Fe) que se transfiere directamente a la formulación. A esto se suma la contribución de mocambo, también reportado como fuente rica en macro y micronutrientes.

Los valores encontrados de ceniza, lo cual es superior al rango típico de chocolates convencionales (0,8 – 1,5%) reportado por Soares 2022¹⁸. En la investigación de Monedero 2024¹⁹ encontraron que la incorporación de cascarilla incrementa cenizas hasta 1,8-2,0. Por su lado Sánchez 2023²⁰ observaron resultados similares en extractos funcionales, con niveles minerales altos. En los datos encontrados el rango superior correspondió a 1,99% es más alto que el convencional, pero aceptable en chocolates enriquecidos, lo que abre posibilidades de posicionarlo como fuente de minerales funcionales.

El rango estrecho de pH (5,44-5,80) confirma que el sistema mantiene un equilibrio de retención propio del producto final, en el que los cambios en acidez titulable no siempre se reflejan directamente en pH. Este comportamiento es esperado: el cacao posee una alta capacidad amortiguadora debido a su contenido mineral y de proteínas en el caso de mocambo aporta ácidos y polifenoles que modulan, pero no alteran de forma drástica el pH; Vásquez 2022²¹ demostraron que el pH del cacao tras fermentación y tostado se mantiene en rangos similares (4,8-5,8), con modificaciones leves según el grado de tostado. Calvo 2021¹⁶ reportaron que la fermentación reduce progresivamente el pH pero con estabilización tras la fase acética.

Los °Brix fue una variable más sensible a las interacciones, mostrando descensos drásticos al aumentar mocambo y cascarilla (mínimo de 1,00 frente a 6,96 en el control). Este efecto responde a dos mecanismos: la dilución de azúcares al sustituir parte de la formulación con ingredientes ricos en fibras y bajos en azúcares simples, y la retención de agua no asociada a solutos solubles, que reducen la concentración efectiva de sólidos.

En la investigación como se menciona que el °Brix disminuyó de 6,96 siendo este el control a valores más bajos a 1,00 en las formulaciones con mayor cascarilla y mocambo. En chocolates comerciales, los sólidos solubles suelen oscilar entre 5,0 y 8,0 ° Brix. Dependiendo del contenido de azúcar y edulcorante añadidos.

Los resultados mostraron de 3,0 a 4,2 en el análisis sensorial con respecto a la nota aroma, con mayor aceptación en T1 y T5 (>4,0). Esto confirma que las formulaciones con cacao CCN-51 y mocambo en equilibrio, junto con 5% de cascarilla, potencian el desarrollo de un perfil aromático más apreciado. La explicación reside en la liberación de compuestos volátiles derivados de la fermentación y tostado, como aldehídos, alcoholes y pirazinas que definen notas agradables a cacao. Estudios recientes reportan valores similares Vásquez 2023²² encontraron que chocolates oscuros con mayor contenido de sólidos de cacao alcanzaron puntajes de aroma entre 3,8 – 4,5; asociados a mayor concentración de volátiles aromáticos. Le 2023²³ destacaron que la adición de matrices ricas en polifenoles por ejemplo en la cascarilla puede modificar la liberación aromática, modulando la percepción sensorial. Vásquez 2023⁶ reportaron que fermentaciones controladas aumentan significativamente la aceptabilidad aromáticas con puntajes >4,0 en chocolates premium. Los valores de aroma tienen un máximo de 4,2 lo cual son consistentes con el rango reportado en chocolates artesanales y funcionales (3,5-4,5).

El atributo color obtuvo valores de 3,6-4,8 con mayor aceptación en T1 (4,8) y T2 (4,5). La reducción observada en T8 y T9 (3,6-3,8) se explica por el efecto de la cascarilla al 10% que aporta fibras y compuestos fenólicos, reduciendo la luminosidad. Estudios recientes confirman estos hallazgos por Vásquez 2023²⁴ reportaron que la incorporación de cascarilla genera un color más oscuro y opaco, reduciendo la puntuación visual. En su efecto Vera 2024¹⁴ evidenció que chocolates con frutas deshidratadas o cascarilla presentaron valores de color sensorial entre 3,5-4,2 coherente a los encontrados en la presente investigación, los cuales son aceptables y se alinean con el rango típico en chocolates enriquecidos, donde valores >4 indican buena aceptabilidad visual.

El sabor mostró la mayor dispersión (2,2-3,8) con mejores valores en T1 – T2 (3,8) y los sabores más bajos en T9, T11 y T12 (<2,5). Esto evidencia que el exceso de cascarilla (10%) y mocambo (35%) aportó compuestos fenólicos y alcaloides (teobromina, cafeína) que intensificaron la astringencia y amargor. Resultados semejantes fueron reportados por Intriago 2024⁹ quienes observaron que el exceso de polifenoles en chocolates amargos disminuyó la aceptabilidad gustativa (<3,0). El rango obtenido (2,2-3,8) se sitúa en el límite inferior de la aceptabilidad sensorial (>3,0) para la mayoría de consumidores, evidenciando que el sabor es el atributo más crítico al reformular.

Los valores de aceptabilidad global oscilaron entre 2,0 y 4,2; con mayor aceptación en T1, T2 y T12 (4,0 – 4,2). En contraste, T0-T11 disminuyeron por debajo de 2,5 reflejando que altos niveles de cascarilla (10%) y mocambo (35%) reducen la preferencia general. Esto concuerda con Sánchez 2023²⁰ quienes demostraron que chocolates funcionales con inclusión de fibras tuvieron aceptabilidad global de 3,0-4,5, dependiendo de la intensidad del amargor.

La evaluación de la capacidad antioxidante mediante ABTS evidenció que la inclusión de cascarilla de cacao fue el principal factor determinante en el incremento de las actividades bioactivas de las formulaciones, alcanzando valores de hasta 31,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$ en T12. Estos hallazgos son consistentes con estudios que destacan a la cascarilla como una fuente concentrada de polifenoles (catequinas, epicatequina, procianidinas) y alcaloides metilxantinas que ejercen un marcado efecto captador de radicales libres. El comportamiento dosis dependientes observados, donde las formulaciones con 10% de cascarilla (T3, T6, T9 y T12) alcanzaron los valores más altos (28,6-3,10 31,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$), refuerza la evidencia de este subproducto puede fortalecer el perfil funcional de chocolate. Monedero 2024¹⁹ confirmaron que la harina de cascarilla eleva significativamente la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides.

Asimismo, la proporción de cacao CCN-51 también contribuyó al aumento de la capacidad antioxidante, aunque en menor magnitud. Esto concuerda con Calvo 2021 Calvo et al., (2021) quienes reportaron que chocolates oscuros con mayor contenido de cacao (>60%) presentan actividades antioxidantes en el rango de 20-35 31,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$. Comparables a los valores obtenidos en este estudio.

CONCLUSIONES

La interacción entre cacao CCN-51, *Theobroma bicolor* y cascarilla de cacao modificó de manera significativa las propiedades fisicoquímicas, funcionales y sensoriales del chocolate experimental. La cascarilla evidenció el mayor efecto modulador, incrementando la acidez, el contenido de cenizas y la humedad, además de potenciar la capacidad antioxidante en un patrón dosis-dependiente, alcanzando valores de hasta 31,0 $\mu\text{mol Trolox/g}$.

En términos sensoriales, las formulaciones con 35% de cacao, 30% de mocambo y 5% de cascarilla obtuvieron las puntuaciones más altas en aroma, apariencia y aceptabilidad (>4,0), mientras que niveles superiores de cascarilla (10%) redujeron la preferencia por intensificación de notas astringentes.

Los resultados no solo validan la factibilidad tecnológica del uso de estos ingredientes, sino que respaldan su potencial nutraceutico. La elevada actividad antioxidante observada, atribuible a los polifenoles del cacao, los metabolitos bioactivos del mocambo y los compuestos fenólicos de la cascarilla,

sugiere beneficios vinculados a la reducción del estrés oxidativo, la protección celular y la prevención de patologías crónicas de origen inflamatorio y metabólico.

Estos hallazgos posicionan a la formulación optimizada como una matriz alimentaria funcional con aplicaciones en salud preventiva, al tiempo que promueven la valorización sostenible de subproductos agroindustriales en la cadena cacaotera. Además, la incorporación de *Theobroma bicolor* contribuye a su aprovechamiento sostenible y promueve su conservación mediante el desarrollo de productos alimentarios saludables y funcionales, lo cual esta especie esta en riesgo siendo vulnerable en amenaza.

AGRADECIMIENTO

El presente proyecto forma parte de la 13.^a Convocatoria de Proyectos de Investigación, Desarrollo e Innovación (gestión 2025), a través del Instituto de Investigación y Desarrollo de la Universidad Técnica de Babahoyo (UTB), en la provincia de Los Ríos, Ecuador. El proyecto lleva por título: "Caracterización fisiológica y fisicoquímica de especies nativas de Malváceas en riesgo, mediante biotecnología aplicada a su germinación, adaptación y conservación". Este trabajo fue aprobado mediante la Resolución del Órgano Colegiado Superior N.º OCS-SO-08-RES-73-UTB-2025, emitida en agosto de 2025, tras la presentación institucional realizada por el Instituto de Investigación y Desarrollo, bajo el oficio IID-UTB-193-25.

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento al equipo técnico y a los miembros del proyecto, cuyo compromiso, responsabilidad y aporte científico hicieron posible el desarrollo de cada una de las etapas planteadas. Asimismo, extendemos un reconocimiento especial al señor Rector de la Universidad Técnica de Babahoyo, Ing. Marcos David Oviedo Rodríguez, Ph.D., por su liderazgo visionario, su firme compromiso con la investigación universitaria y su respaldo decidido a la generación de conocimiento científico. Su apoyo institucional ha sido determinante para impulsar iniciativas que fortalecen la innovación, la sostenibilidad y el desarrollo académico de nuestra universidad y a su vez la Vicerrectorado de Investigación y Posgrado a la Ph.D., Daysi Soto Calderon y al Lcdo. Daniel Arias Toro Ph.D.; a la Lcda. Karina De Mora Litardo, MSc. Directora del Instituto de Investigación y Desarrollo, a su vez la Facultad de Ciencias Agropecuarias al Decano. Ing. Alvaro Martín Pazmiño Perez, MSc; por el apoyo a este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vázquez L, Alvarado K, Intriago F, Raju N, Prasad R. Banana and apple extracts with efficient microorganisms and their effect on cadmium reduction in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Discov Food [Internet]*. 2024;4(163):1–13. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s44187-024-00205-5#citeas>

2. Vázquez L, Pulgar N, Ponce G, Palma J. Valorización del mucílago de cacao, estrategias para mitigar el desperdicio y fomentar la sostenibilidad. *InvestiGo* [Internet]. 2023;4(8):47–56. Available from: <https://www.revistainvestigo.com/EditorInvestigo/index.php/hm/article/view/58>
3. Vera R, Vera J, Vázquez L, Cobos F, Rodríguez S, Pazmiño Á, et al. Efecto del mucílago de cacao adicionando con tres niveles de vinagre y melaza como herbicida en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Rev Soc Científica del Paraguay* [Internet]. 2025;30(1):1–13. Available from: <https://sociedadcientifica.org.py/ojs/index.php/rscopy/article/view/425>
4. Vázquez L, Montoya E, Cadena L, Plua J, Camacho C, Cobos F, et al. Evaluación físico química y sensoriales del cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN51 fermentado con *Saccharomyces cerevisiae* y extracto de fruta (Mango manila) en diferentes grados de madurez. *Nutr Clínica y Dietética Hosp* [Internet]. 2025;45(3):117–28. Available from: <https://revista.nutricion.org/index.php/ncdh/article/view/1030>
5. Vera J, Intriago F, Alvarado K, Vasquez L. Inducción anaeróbica de *bradyrhizobium japonicum* en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa. *J Sci Res*. 2022;7(2):50–69.
6. Vázquez L, Rivadeneira S, Intriago F, Durazno L, Vera J, Arboleda L. Utilización de extracto de jackfruit (*Artocarpus Heterophyllus*) como estrategia para mejorar la calidad del grano de cacao. *InvestiGo* [Internet]. 2023;4(8):95–117. Available from: <https://www.revistainvestigo.com/EditorInvestigo/index.php/hm/article/view/67>
7. Vera J, Vázquez L, Valdiviezo D, Durazno L, Erazo C, Tuarez D, et al. Evaluación de la cascarilla de *Theobroma bicolor* para la obtención de una infusión. *Rev Cienc UNEMI*. 2024;17(45):96–109.
8. Vázquez L, Rodríguez S, Villamarín J, Vera J. Pigmentos de (*Justicia Spicigera*) en chocolate con dos variedades de *Theobroma bicolor*: *Theobroma bicolor* y *Theobroma cacao* de la variedad Trinitario. *Rev Científica Multidiscip InvestiGo* [Internet]. 2025;5(9):12–31. Available from: <https://www.revistainvestigo.com/EditorInvestigo/index.php/hm/article/view/159>
9. Intriago F, Cedeño J, Parraga C, Alvarado K, Vázquez L, Revilla K, et al. Induction of effective microorganisms (EM) in the fermenting mass of cacao (*Theobroma cacao* L.) and their impact on physicochemical and antioxidant characteristics. *Biotecnica* [Internet]. 2024;26(2422):1–8. Available from: <https://biotecnica.unison.mx/index.php/biotecnica/article/view/2422>
10. Alvarado K, Vera J, Vázquez L, Intriago G, Barzola J. Tiempos y temperaturas de torrefacción en almendras de tres variedades de cacao nacional, trinitario, forastero para la obtención de nibs. *Supl CICA Multidiscip* [Internet]. 2023;7(015):100–35. Available from: <https://uleam.suplementocica.org/index.php/SuplementoCICA/article/view/94>
11. Vera J, Radice M, Vázquez L, Intriago F. Perfil químico de 12 clones tipo nacional de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Univ y Soc*. 2024;16(1):126–36.
12. Erazo C, Vázquez L, Tuárez D, Avellaneda J, Alvarado K, Vera J, et al. Inducción de *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa de dos variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.) como estrategia para la disminución de cadmio. *Alternativas*. 2023;24(3):17–29.
13. Vasquez L, Alvarado K, Intriago F, Vera J, Raju N, Prasad R. Banana and apple extracts with efficient microorganisms and their effect on cadmium reduction in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Discov Food*. 2024;4(1):1–13.
14. Vera J, Vázquez L, Valverde E, Rodríguez S, Uvidia M, Palacios J, et al. Elaboración de barras de chocolate a partir de almendras de cacao de montaña (*Theobroma bicolor* Hump & Bonpl L.) con adición de pasta de frutas deshidratadas de naranja (*Citrus x sinensis*) y mango (*Mangifera indica*). *Rev Agrosicicultura y Medioambiente* [Internet]. 2024;2(1):71–90. Available from: <https://revistas.unesum.edu.ec/agricultura/index.php/ojs/article/view/38>
15. Hernández E, Espinosa V, Hernandez R, García R, Suárez C, Gallardo P, et al. Valorization of cocoa bean shell agro-industrial residues for producing functional hot water infusions. *Processes*. 2024;12(2905):1–17.
16. Calvo A, Botina B, García M, Montenegro A, Criollo J. Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Sci Rep* [Internet]. 2021;(16746):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95703-2>
17. Delgado J, Esposito L, Molina J, Pérez J, Martuscelli M, Chaves C. Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells coproducts : Effect of particle size on chemical composition, bioactive compound content and antioxidant activity. *Agronomy*. 2021; 11(401):1–15.
18. Soares T, Oliveira B. Cocoa by-products : characterization of bioactive compounds and beneficial health effects. *Molecules* [Internet]. 2022;27(5):1–23. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/5/1625>
19. Monedero I, Rebollo M, Rodríguez P, Benítez V. Uncovering cocoa shell as a safe bioactive food ingredient : Nutritional and toxicological breakthroughs. *Futur Foods*. 2024;10:1–15.
20. Sánchez M, Laca A, Laca A, Díaz M. Cocoa bean shell : A by-product with high potential for nutritional and biotechnological applications. *Antioxidants*. 2023;12(1028):1–21.
21. Vázquez L, Vera J, Erazo C, Intriago F. Induction of rhizobium japonicum in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao* L.) as a strategy for the decrease of cadmium. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2022;3(April):11354–71.
22. Vázquez L, Vera J, Alvarado K, Ochoa K, Intriago F, Naga-Raju M, et al. Calidad sensorial de cuatro cruces experimentales de cacao adicionando pasta de frutas deshidratadas. *Rev Multidisciplinaria Desarro Agropecu Tecnológico, Empres y Humanista*. 2023;5(1):1–9.
23. Le X, Zhang W, Sun G. Research on the differences in phenotypic traits and nutrition composition of acer truncatum bunge seeds from various regions. *Foods*. 2023;12(2444):1–16.
24. Vázquez L, Vera J, Alvarado K, Ochoa K, Intriago F, Naga M, et al. Calidad sensorial de cuatro cruces experimentales de cacao adicionando pasta de frutas deshidratadas. *Rev Multidisciplinaria Desarro Agropecu Tecnológico, Empres y Humanista* [Internet]. 2023;5(1):1–9. Available from: <https://dateh.es/index.php/main/article/view/112>