

Antioxidantes y polifenoles totales de chocolate negro con incorporación de cacao (*Theobroma cacao* L.) crudo

Antioxidants and total polyphenols of a black chocolate with incorporation of unroasted cocoa (*Theobroma cacao* L.)

Clorinda Yordana chacón Ortiz¹, Pati Llanina Mori Culqui², Segundo Grimaldo Chavez Quintana^{3*}

Resumen

El cacao y su principal derivado, el chocolate, son fuente importante de compuestos antioxidantes para la nutrición humana. Los polifenoles son los principales antioxidantes presentes en el chocolate y se ven afectados por los procesos de industrialización de las almendras de cacao. En tal sentido, se estudió el efecto de la incorporación de cacao crudo durante la etapa final del proceso de refinado en la capacidad antioxidante y contenido fenólico de chocolate oscuro. Para ello se elaboraron chocolates oscuros (70%) con la incorporación de pasta de cacao crudo (10, 20 y 30% p/p) en la etapa final del conchado. A todos los tratamientos se le determinaron la capacidad antioxidante por el método DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil) y contenido fenólico total mediante el método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu. Se observó que la incorporación de cacao crudo incrementa significativamente el contenido de antioxidantes y polifenoles totales en el chocolate. A medida que se incrementa la dosis de cacao crudo, la actividad antioxidante del chocolate se incrementa linealmente ($R^2=0,996$); por otro lado, el contenido de polifenoles se incrementa de manera exponencial ($R^2=0,968$). Con solo la menor dosis (10%) se logra duplicar el contenido fenólico y la razón se reduce con dosis mayores de incorporación. Los resultados sugieren que la incorporación de cacao crudo en las formulaciones permite obtener chocolates con elevado contenido fenólico, mejorando los procesos tecnológicos de aprovechamiento del cacao producido en los Andes tropicales, para el desarrollo de chocolates bioactivos, conforme las nuevas exigencias del mercado.

Palabras clave: Alimento, nutrición, tecnología alimentaria.

Abstract

Cocoa and its main derivative, chocolate, are an important source of antioxidant compounds for human nutrition. Polyphenols are the main antioxidants present in chocolate and are affected by the industrialisation processes of cocoa beans. In this regard, the effect of incorporating raw cocoa during the final stage of the refining process on the antioxidant capacity and phenolic content of dark chocolate was studied. For this purpose, dark chocolates (70%) were made with the incorporation of raw cocoa paste (10, 20 and 30% w/w) in the final refining stage. The antioxidant capacity of all the treatments was determined by the DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and the total phenolic content by the Folin Ciocalteu spectrophotometric method. It was observed that the incorporation of raw cocoa significantly increases the content of antioxidants and total polyphenols in chocolate. As the dose of raw cocoa increases, the antioxidant activity of the chocolate increases linearly ($R^2=0.996$); on the other hand, the polyphenol content increases exponentially ($R^2=0.968$). Only the lowest dose (10%) doubles the phenolic content and the ratio decreases with higher doses of incorporation. The results suggest that the incorporation of raw cocoa in the formulations makes it possible to obtain chocolates with high phenolic content, improving the technological processes for using cocoa produced in the tropical Andes to develop bioactive chocolates, in line with new consumer demand.

Keywords: Food, food technology, nutrition.

Recibido: 28/07/2021

Aceptado: 26/09/2021

Publicado: 31/10/2021

Sección: Artículo Breve

*Autor correspondiente: segundo.quintana@untrm.edu.pe

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es el tercer cultivo más importante para los países con climas tropicales. Aunque generalmente se cree que es originario de Mesoamérica; recientes estudios señalan a la región del Alto Amazonas, de Sudamérica como la región de origen (Zarrillo *et al.*, 2018). En el norte del Perú, se cultivan variedades de cacao que guardan alta similitud genética con el cacao silvestre (Arevalo-Gardini *et al.*, 2019), resaltando la importancia de los Andes Amazónicos en el cultivo de este importante producto.

El cacao es uno de los productos más importantes de las poblaciones asentadas en los andes tropicales. Estudios

¹Facultad de Ingenierías y Ciencias Agrarias, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas - Perú. ORCID: [0000-0002-5783-1791](https://orcid.org/0000-0002-5783-1791)

²Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas - Perú. ORCID: [0000-0002-8857-6375](https://orcid.org/0000-0002-8857-6375)

³Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas - Perú. ORCID: [0000-0002-0946-3445](https://orcid.org/0000-0002-0946-3445)

Como citar: Chacón Ortiz, C. Y., Mori Culqui, P. L., & Chavez Quintana, S. G. (2021). Antioxidantes y polifenoles totales de chocolate negro con incorporación de cacao (*Theobroma cacao* L.) crudo. Revista De Investigaciones Altoandinas, 23(4), 266-273. DOI: [10.18271/ria.2021.331](https://doi.org/10.18271/ria.2021.331)



Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) Share - Adapt

recientes han demostrado una alta diversidad genética de cacao cultivado en el Perú (Oliva & Maicelo, 2020), reportando hasta seis grupos genéticos con elevado potencial industrial y nutricional (Mejía *et al.*, 2021).

El producto más importante del cacao es el chocolate. Registros históricos indican que los Mayas lo consumían como una bebida a la que lo conocían como “alimento de los dioses”, esto debido a los efectos positivos que experimentaban luego de su consumo; sin embargo, no fue sino hasta la llegada de los europeos, que se difundió por el resto del mundo, quienes quedaron fascinados con este grano, de tal manera que modificaron su preparación obteniendo el chocolate tal como lo consumimos actualmente (Montagna *et al.*, 2019).

El cacao y sus derivados, principalmente el chocolate, deben sus características organolépticas a su variedad, lugar de cultivo, prácticas post cosecha y tratamiento industrial para su obtención. Normalmente los consumidores apreciaban a este producto por su calidad sensorial muy atractiva; sin embargo, en los últimos años se está poniendo más interés en su composición nutricional y su contenido de antioxidantes (Ferreira de Oliveira *et al.*, 2021).

El chocolate es considerado un súper alimento, en especial el chocolate negro, el cual presenta un alto contenido de polifenoles; debido a su alto contenido de licor de cacao (Glicerina *et al.*, 2016; Medina-Mendoza *et al.*, 2021). No obstante su alta diversidad de compuestos antioxidantes, son los compuestos fenólicos los de mayor importancia en la bioactividad del chocolate (Magrone *et al.*, 2017) por lo que su estudio se hace relevante desde cualquier enfoque.

Es sabido que el cacao es una fuente de antioxidantes y polifenoles en general, contiene entre 4 y 6% de estas sustancias, entre las que destacan los flavonoides (Urbańska & Kowalska, 2019) como la epicatequina, catequina y procianidina (Cárdenas-Mazon *et al.*, 2018). Su composición depende directamente de la variedad y lugar de procedencia; sin embargo, otros factores como la fermentación y el secado del grano, generan la pérdida de hasta un 70% de estas sustancias (Fang *et al.*, 2020; Kumari *et al.*, 2018). Teniendo en cuenta que para obtener el chocolate, los granos de cacao fermentado seco, son tostados a elevadas temperaturas, para desarrollar los compuestos aromáticos y sensoriales característicos de este alimento a través de la reacción de Maillard (Aydın *et al.*, 2021) y, que los compuestos fenólicos antioxidantes se deterioran con el procesamiento, se ha evidenciado que afecta negativamente a las propiedades funcionales de cacao; es en esta etapa en donde se pierde la mayor cantidad de antioxidantes y polifenoles, debido

a la exposición a temperaturas que oscilan entre los 110 y 160 °C (Di Mattia *et al.*, 2017; Urbańska & Kowalska, 2019). Mientras más alta sea la temperatura de tueste y más prolongado el tiempo de tostado, mayor es la pérdida de antioxidantes y polifenoles (Oracz & Nebesny, 2019).

Estudios preliminares han determinado que a medida que se incrementa la temperatura de tueste, se observan cambios en los carbohidratos, lípidos y compuestos fenólicos del cacao, además las modificaciones difieren en función a la variedad de cacao empleado (Oracz & Nebesny, 2019). Resultados más precisos obtuvieron Urbańska y Kowalska (2019), quienes al elaborar chocolates con granos tostados y crudos, encontraron diferencias significativas en los contenidos de polifenoles y antioxidantes.

Teniendo en cuenta que los granos de cacao sin tostar son una fuente importante de antioxidantes y polifenoles (Cárdenas-Mazon *et al.*, 2018; Pallares *et al.*, 2016); la sustitución parcial de licor de cacao tostado por licor de cacao obtenido de granos sin tostar (crudos) incrementará el contenido de antioxidantes en el chocolate. Por otro lado, no se ha estudiado aún a detalle cómo cambia el contenido fenólico y antioxidantes de chocolates cuando se realizan distintos niveles de incorporación de cacao crudo. Por lo tanto, el objetivo de investigación fue evaluar el cambio del contenido de antioxidantes y polifenoles totales de chocolates negros con la incorporación de cacao sin tostar.

Material y métodos

Reactivos y materiales

Los reactivos utilizados: éter de petróleo, metanol, reactivo de Folin Ciocalteu, carbonato de sodio, ácido gálico, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) y antioxidante Trolox fueron de Sigma Aldrich.

El cacao criollo en grano seco se adquirió de la Cooperativa Agropecuaria y de Servicios Múltiples APROCAM, cosechadas en junio de 2021, de parcelas de la provincia de Utcubamba, Amazonas, Perú.

Obtención el licor de cacao

Se seleccionó 1 kg de granos de cacao uniforme, libre de daño físico por insectos y materias extrañas. A continuación se procedió a realizar el tostado en una estufa (Climacell 110) durante 30 min a temperaturas entre 100 y 120 °C. Se descascarillaron tanto los granos tostados como los crudos, para separar la cáscara de los nibs y luego se trituraron con la ayuda de una licuadora doméstica (Oster). Posteriormente se realizó el conchado

(45°C) por separado (granos tostados y crudos) durante 5 horas para obtener el licor de cacao (Dala-Paula *et al.*, 2021).

Elaboración de chocolate con granos crudos

A partir de una formulación de chocolate oscuro al 70%, elaborado en base a la formulación descrita por Dala-Paula *et al.* (2021), con la única modificación de que no se adicionó lecitina de soja; se realizó tres sustituciones de licor de cacao tostado por crudo como se muestra en la tabla 1. Se continuó con el proceso de conchado por 7

horas, luego se hizo el temperado elevando la temperatura hasta 50°C en baño maría, se dejó reducir hasta 28°C y moldeó a 32°C en tabletas seccionadas de 50 g de peso. Se llevó a refrigeración por 10 minutos para facilitar el desmoldado.

Los chocolates se envasaron en papel aluminio y bolsas de polietileno herméticamente cerradas y se guardaron en un recipiente limpio y seco hasta su posterior análisis.

Todos los tratamientos se hicieron por triplicado.

Tabla 1. Formulación del chocolate negro al 70% con incorporación de cacao crudo.

% cacao crudo	Cacao tostado (g)	Cacao crudo (g)	Total, cacao	Manteca de cacao (g)	Azúcar (g)	Total, chocolate (g)
10	175,5	19,5	195,0	15,0	90,0	300
20	156,0	39,0	195,0	15,0	90,0	300
30	136,5	58,5	195,0	15,0	90,0	300

Desgrasado del chocolate

Para el desgrasado del chocolate se siguió el procedimiento descrito por Suazo *et al.* (2014) con algunas modificaciones. Para lo cual un 1 g de muestra de chocolate fue colocado en un tubo de ensayo de 10 ml, se mezcló con 5 mL de éter de petróleo agitándose durante 1 min en un equipo Vórtex (Velp. Scientifica, TX4). Seguidamente, la mezcla se centrifugó a 3000 rpm a temperatura ambiente, durante 15 min a temperatura ambiente, haciendo uso de una centrifuga PrO-Analytical. Se eliminó el sobrenadante y se recuperó el polvo de chocolate desgrasado; se dejó reposar durante 24 h en un ambiente oscuro para eliminar el solvente y evitar la degradación por la luz.

Preparación de los extractos

Para la obtención de los extractos se utilizó el método reportado por (Jonfia-Essien *et al.*, 2008), con algunas modificaciones. Se tomó 0,25 g de muestra desgrasada, se mezcló con 12 mL de solución metanólica al 30%, se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min a temperatura ambiente, se filtró en papel (Whatman N° 40 – 2,5 µm). El sobrenadante fue almacenado en frascos ámbar con tapa en condiciones de refrigeración hasta su posterior análisis.

Determinación de contenido fenólico total

Para determinar el contenido de polifenoles totales se empleó el método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu descrito por Pallares-Pallares *et al.* (2016) con algunas modificaciones. Se tomaron 400 µL del

extracto y 100 µL de agua ultrapura, se añadieron 2,5 mL de Folin Ciocalteu diluido 1:10 y 2 mL de carbonato al 7,5%. Se llevó a estufa a 50°C por 5 min y se registró la absorbancia a 725 nm en espectrofotómetro UV-vis. Por otro lado se obtuvo la curva de calibración con ácido gálico y los resultados se expresan en mg de ácido gálico equivalente por gramo de materia seca. Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

Determinación de la actividad antioxidante

A los extractos desgrasados también se les determinó la actividad antioxidante empleando el método descrito por Todorovic *et al.* (2015). Se tomaron 3 mL de solución DPPH (20 µL/L) y se le añadió 35 µL del extracto, se dejó reposar por 10 min en un lugar oscuro y se leyó la absorbancia a 516 nm en espectrofotómetro UV-vis (Unico). Con el antioxidante Trolox, se hizo la curva estándar para que los resultados puedan ser expresados en mmol de trolox equivalente (TE) por cada 100 g de muestra. Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

Análisis de datos

Para determinar los cambios del contenido fenólico total y capacidad antioxidante en función del grado de incorporación de cacao crudo en la formulación de chocolate oscuro, se realizó análisis de regresión curvilínea, buscando los ajustes a modelos lineales, cuadráticos y exponenciales, con el software estadístico SPSS v.25.

Resultados

Tabla 2. Especificaciones de los tres modelos de regresión para actividad antioxidante en función del grado de incorporación de cacao crudo en la elaboración de chocolate oscuro.

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
Cuadrático	0,996	0,993	0,993	1,195
Cúbico	0,996	0,993	0,992	1,213
Lineal	0,996	0,993	0,993	1,179

La Tabla 2 muestra las especificaciones de los modelos de cambio de la capacidad antioxidante en función del grado de incorporación de cacao crudo en el procesamiento de chocolate oscuro. El modelo lineal explica con una

elevada precisión el cambio (0,993) del contenido de compuestos antioxidantes, tal como se puede observar gráficamente en la Figura 1.

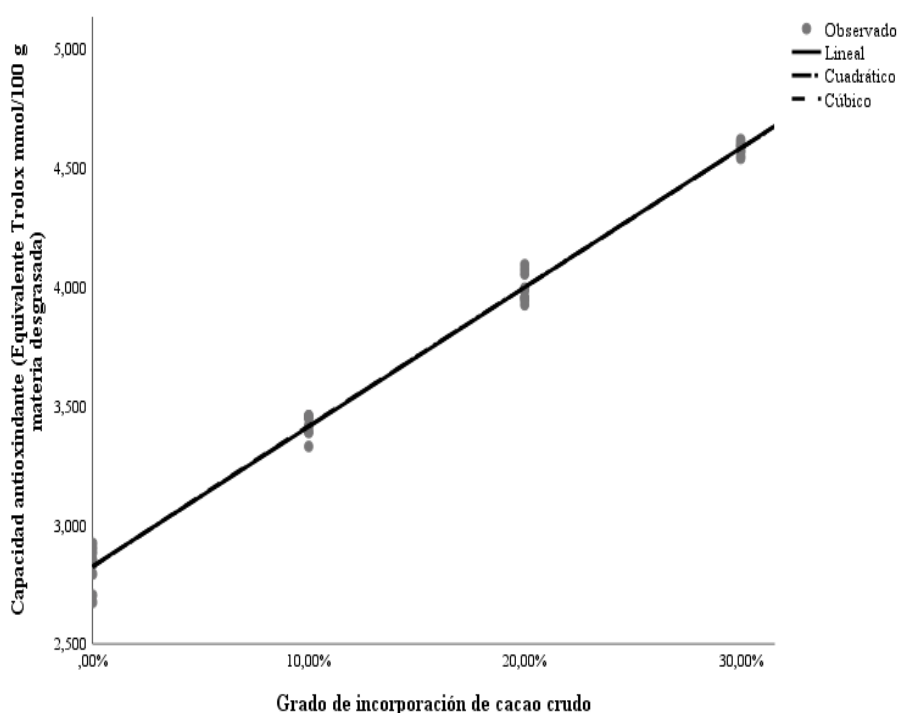


Figura 1. Modelos de regresión de la actividad antioxidante en función del grado de incorporación de cacao crudo en la elaboración de chocolate oscuro.

A medida que se incrementa la dosis de incorporación de cacao crudo, la capacidad antioxidante del chocolate, se incrementa, de tal manera que con 30 %

de incorporación, se logra duplicar el contenido de compuestos antioxidantes en el producto final.

Tabla 3. Especificaciones de los tres modelos de regresión para contenido fenólico total en función del grado de incorporación de cacao crudo en la elaboración de chocolate oscuro.

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
Cuadrático	0,968	0,937	0,934	1,759
Cúbico	0,994	0,989	0,988	0,749
Lineal	0,920	0,846	0,842	2,116

Tal como se observa en la Tabla 3, los cambios en el contenido fenólico de los chocolates se ajustan mejor a un modelo cúbico (0,989), a diferencia de la capacidad antioxidante de los chocolates. En la Figura 2 se puede observar que con solo el 10% de inclusión de cacao crudo

se duplica el contenido fenólico total del chocolate, el mismo que se mantiene cuando se duplica la cantidad de inclusión (20%) y vuelve a incrementar ligeramente cuando se eleva al 30% de incorporación.

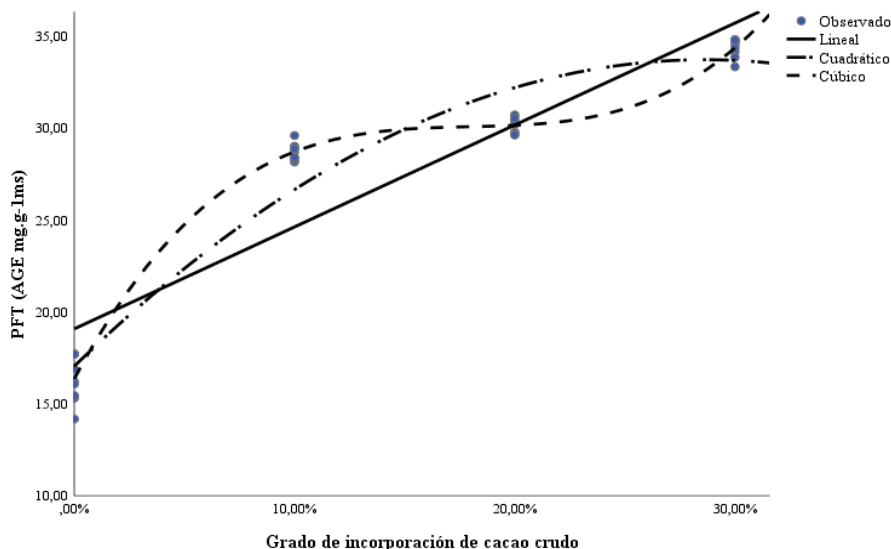


Figura 2. Modelos de regresión del contenido fenólico total en función del grado de incorporación de cacao crudo en la elaboración de chocolate oscuro.

Tabla 4. Capacidad antioxidante y polifenoles totales de chocolate oscuro con cuatro niveles de incorporación de cacao crudo.

Grado de incorporación (%)	Capacidad antioxidante (TE mmol.g ⁻¹ .ms)	PFT (mg.g ⁻¹ .ms)
0	58,81 ± 1,78d	16,36 ± 1,25d
10	71,15 ± 0,89c	28,70 ± 0,46c
20	83,24 ± 1,28b	30,14 ± 0,45b
30	95,39 ± 0,55a	34,35 ± 0,51a

Nota. Se muestra los promedios y desviaciones estándar (n=9). Letras diferentes significan grupos estadísticamente diferentes.

Con la incorporación de grano de cacao sin tostar de hasta 30%, la capacidad antioxidante de los chocolates se incrementó desde 58,81 hasta 95,39 mmol TE.g⁻¹.ms y el contenido de polifenoles totales de 16,36 hasta 34,35 mg AGE.g⁻¹.ms (Figura 4)

Discusión

A medida que se incorpora más cacao crudo a la fórmula de chocolate, aumenta también significativamente el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. Debido a que durante el tostado los granos de cacao son sometidos a altas temperaturas (100-120 °C), deteriorando los compuestos fenólicos presentes (Stanley *et al.*, 2018). Al respecto, Żyżelewicz *et al.* (2016) encontraron que mientras más altas son las temperaturas de tostado de las almendras de cacao, mayor es la pérdida de su contenido bioactivo; reduciendo el contenido de epicatequina, epigallocatequina, procianidinas, tetrámero

de cinamtanina presentes en el grano sin tostar. Por lo que la incorporación de granos de cacao sin tostar (Oracz & Nebesny, 2019), repone en parte el contenido de compuestos bioactivos al licor para la obtención de chocolate.

De maneara análoga, la capacidad antioxidante del chocolate aumenta de forma lineal (Figura 1) cuando se incorpora cacao sin tostar; sin embargo, el cambio en el contenido de polifenoles totales se ajusta mejor a un modelo cúbico. Con 10% de incorporación, se logra duplicar el contenido fenólico y con dosis de 20 y 30% la razón de cambio se reduce (Figura 2); esto podría deberse a que aunque los polifenoles son los principales antioxidantes del cacao (Vásquez-Ovando *et al.*, 2016), también están presentes otras sustancias antioxidantes entre ellas, metilxatinas como la teobromina y en menor cantidad la cafeína (Katz *et al.*, 2011); también podría deberse a que a mayor cantidad de cacao crudo

incorporado, parte de los compuestos antioxidantes de éste sufre deterioro (Di Mattia *et al.*, 2017). Adicionalmente, se debe tener en cuenta que los ácidos grasos, componentes mayoritarios del cacao (Oliva-Cruz *et al.*, 2021), también tienen propiedad antioxidante (Gustinelli *et al.*, 2018) y podrían verse afectados por las condiciones de proceso.

Los chocolates obtenidos en esta investigación, tuvieron valores superiores de compuestos fenólicos (34,35 mg AGE.g⁻¹) a los reportados por Urbańska y Kowalska (2019) quienes reportaron un contenido de 32,13 mg AGE por cada gramo de chocolate con cacao sin tostar de Perú. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el grado de aceptación sensorial podría verse disminuido, conforme reportan Cempaka (2021) para chocolates con la incorporación de cacao sin fermentar. Sin embargo, los resultados son de gran utilidad para los desarrolladores de chocolates bioactivos con propiedades beneficiosas en la salud, conforme ha sido demostrado en trabajos previos (Magrone *et al.*, 2017).

Siguiendo los lineamientos descritos por Escobar-Mamani *et al.* (2020), los resultados aportan de manera significativa al desarrollo tecnológico sobre el aprovechamiento de un recurso oriundo de los andes amazónicos (Motamayor *et al.*, 2008), que puede considerarse montaña conforme lo detallado por Haller y Branca (2020), que básicamente es exportado como materia prima.

La incorporación de cacao crudo al proceso de elaboración de chocolate oscuro, es una técnica novedosa que junto a técnicas de adición de extractos ricos en fenoles (Martini *et al.*, 2018), son las alternativas más valoradas para la elaboración de chocolates con elevado potencial bioactivo teniendo en cuenta además que el cacao producido en la región Amazonas, tiene bajo contenido de grasa (Mejía *et al.*, 2021) y elevado contenido fenólico.

Conclusión

La adición del cacao crudo al chocolate aumenta significativamente su contenido de antioxidantes, siendo el tratamiento 3 (adición del 30% de cacao crudo) el que presentó la mayor cantidad de estas sustancias; sin embargo, los polifenoles aumentaron considerablemente con la adición del 10% del cacao crudo y luego la razón de crecimiento se reduce, por lo que con la incorporación de hasta el 10% de cacao crudo al final del proceso de conchado, se logra obtener chocolates oscuros con elevada contenido fenólico y alta capacidad antioxidante.

Este trabajo, permite conocer el grado de incremento del contenido de compuestos bioactivos en chocolate oscuro mediante la incorporación de cacao crudo en el

proceso. Información fundamental en el desarrollo de nuevos productos con elevado potencial funcional, cuya demanda se encuentra en constante crecimiento.

Además, el conocimiento generado permitirá fortalecer el desarrollo de tecnologías de aprovechamiento industrial del cacao nativo producido en los Andes Amazónicos del Perú.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido ejecutada en el marco del Proyecto “Chocolates finos frutados y aromatizados con cacao Amazonas-Perú”, Contrato N° 12-2018-Fondecyt-BM-IADT-AV.

Referencias

- Arevalo-Gardini, E., Meinhardt, L. W., Zuñiga, L. C., Arévalo-Gardni, J., Motilal, L., & Zhang, D. (2019). Genetic identity and origin of “Piura Porcelana”- a fine-flavored traditional variety of cacao (*Theobroma cacao*) from the Peruvian Amazon. *Tree Genetics and Genomes*, 15(1). DOI: [10.1007/s11295-019-1316-y](https://doi.org/10.1007/s11295-019-1316-y)
- Aydın, N., Kian-Pour, N., & Toker, O. S. (2021). Caramelized white chocolate: effects of production process on quality parameters. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 3182–3194. DOI: [10.1007/s11694-021-00890-1](https://doi.org/10.1007/s11694-021-00890-1)
- Cárdenas-Mazon, N. V., Cevallos-Hermida, C. E., Salazar-Yacelga, J. C., Romero-Machado, E. R., Gallegos-Murillo, P. L., & Cáceres-Mena, M. E. (2018). Uso de pruebas afectivas, discriminatorias y descriptivas de evaluación sensorial en el campo gastronómico. *Dominio de Las Ciencias*, 4(3), 253–263. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6560198>
- Cempaka, L. (2021). Consumer Acceptance on Chocolate Drink Made from a Mixture of Commercial Cocoa Powder and Unfermented Cocoa Beans. *Pelita Perkebunan*, 37(2). DOI: [10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v37i2.479](https://doi.org/10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v37i2.479)
- Dala-Paula, B. M., Deus, V. L., Tavano, O. L., & Gloria, M. B. A. (2021). In vitro bioaccessibility of amino acids and bioactive amines in 70% cocoa dark chocolate: What you eat and what you get. *Food Chemistry*, 343(August 2020), 128397. DOI: [10.1016/j.foodchem.2020.128397](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128397)
- Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Serafini, M. (2017). From cocoa to chocolate: The impact of processing on in vitro antioxidant activity and the effects of chocolate on antioxidant markers in vivo. *Frontiers in Immunology*, 8(SEP), 1–7. DOI: [10.3389/fimmu.2017.01207](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01207)

- Escobar-Mamani, F., Branca, D., & Haller, A. (2020). Investigación de montaña sobre y para la región andina. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 22(4), 311–312. DOI: [10.18271/ria.2020.191](https://doi.org/10.18271/ria.2020.191)
- Fang, Y., Li, R., Chu, Z., Zhu, K., Gu, F., & Zhang, Y. (2020). Chemical and flavor profile changes of cocoa beans (*Theobroma cacao L.*) during primary fermentation. *Food Science and Nutrition*, 8(8), 4121–4133. DOI: [10.1002/fsn3.1701](https://doi.org/10.1002/fsn3.1701)
- Ferreira de Oliveira, A. P., Milani, R. F., Efraim, P., Morgano, M. A., & Tfouni, S. A. V. (2021). Cd and Pb in cocoa beans: Occurrence and effects of chocolate processing. *Food Control*, 119(June 2020), 107455. DOI: [10.1016/j.foodcont.2020.107455](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107455)
- Glicerina, V., Balestra, F., Dalla, M., & Romani, S. (2016). Microstructural and rheological characteristics of dark, milk and white chocolate: A comparative study. *Journal of Food Engineering*, 169, 165–171. DOI: [10.1016/j.jfoodeng.2015.08.011](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.011)
- Gustinelli, G., Eliasson, L., Svelander, C., Alminger, M., & Ahrné, L. (2018). Supercritical CO₂ extraction of bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) seed oil: Fatty acid composition and antioxidant activity. *Journal of Supercritical Fluids*, 135(January), 91–97. DOI: [10.1016/j.supflu.2018.01.002](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.01.002)
- Haller, A., & Branca, D. (2020). Montología: una perspectiva de montaña hacia la investigación transdisciplinaria y el desarrollo sustentable. *Journal of High Andean Research*, 22(4), 313–332. DOI: [10.18271/ria.2020.193](https://doi.org/10.18271/ria.2020.193)
- Jonfia-Essien, W. A., West, G., Alderson, P. G., & Tucker, G. (2008). Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food Chemistry*, 108(3), 1155–1159. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.12.001](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.001)
- Katz, D. L., Doughty, K., & Ali, A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(10), 2779–2811. DOI: [10.1089/ars.2010.3697](https://doi.org/10.1089/ars.2010.3697)
- Kumari, N., Grimbs, A., D'Souza, R. N., Verma, S. K., Corno, M., Kuhnert, N., & Ullrich, M. S. (2018). Origin and varietal based proteomic and peptidomic fingerprinting of *Theobroma cacao* in non-fermented and fermented cocoa beans. *Food Research International*, 111(May), 137–147. DOI: [10.1016/j.foodres.2018.05.010](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.010)
- Magrone, T., Russo, M. A., & Jirillo, E. (2017). Cocoa and dark chocolate polyphenols: From biology to clinical applications. *Frontiers in Immunology*, 8(JUN), 1–13. DOI: [10.3389/fimmu.2017.00677](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00677)
- Martini, S., Conte, A., & Tagliazucchi, D. (2018). Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. *Food Research International*, 112(May), 1–16. DOI: [10.1016/j.foodres.2018.06.020](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.020)
- Medina-Mendoza, M., Rodríguez-Pérez, R. J., Rojas-Ocampo, E., Torrejón-Valqui, L., Fernández-Jeri, A. B., Idrogo-Vásquez, G., Cayo-Colca, I. S., & Castro-Alayo, E. M. (2021). Rheological, bioactive properties and sensory preferences of dark chocolates with partial incorporation of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L.*) oil. *Heliyon*, 7(2). DOI: [10.1016/j.heliyon.2021.e06154](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06154)
- Mejía, A., Meza, G., Espichán, F., Mogrovejo, J., & Rojas, R. (2021). Chemical and sensory profiles of Peruvian native cocoas and chocolates from the Bagua and Quillabamba regions. *Food Science and Technology*, 2061, 1–7. DOI: [10.1590/fst.08020](https://doi.org/10.1590/fst.08020)
- Montagna, M. T., Diella, G., Triggiano, F., Caponio, G. R., De Giglio, O., Caggiano, G., Di Ciaula, A., & Portincasa, P. (2019). Chocolate, “food of the gods”: History, science, and human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(24). DOI: [10.3390/ijerph16244960](https://doi.org/10.3390/ijerph16244960)
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva e Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao L.*). *PLoS ONE*, 3(10). DOI: [10.1371/journal.pone.0003311](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311)
- Oliva-Cruz, M., Mori-Culqui, P. L., Caetano, A. C., Goñas, M., Vilca-Valqui, N. C., & Chavez, S. G. (2021). Total Fat Content and Fatty Acid Profile of Fine-Aroma Cocoa From Northeastern Peru. *Frontiers in Nutrition*, 8(July), 1–9. DOI: [10.3389/fnut.2021.677000](https://doi.org/10.3389/fnut.2021.677000)
- Oliva, M., & Maicelo, J. L. (2020). Identificación y selección de ecotipos de cacao nativo fino de aroma de la zona Nor oriental del Perú. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 4(2), 31. DOI: [10.25127/aps.20202.556](https://doi.org/10.25127/aps.20202.556)
- Oracz, J., & Nebesny, E. (2019). Effect of roasting parameters on the physicochemical characteristics of high-molecular-weight Maillard reaction products isolated from cocoa beans of different *Theobroma cacao L.* groups. *European Food Research and Technology*, 245(1), 111–128. DOI: [10.1007/s00217-018-3144-y](https://doi.org/10.1007/s00217-018-3144-y)
- Pallares-Pallares, A., Perea-Villamil, J. A., & López-Giraldo, L. J. (2016). Impacto de las condiciones de beneficio sobre los compuestos precursores de aroma en granos de cacao (*Theobroma cacao L.*) del clon CCN-51. *Respuestas*, 21(1), 120–133. DOI: [10.22463/0122820x.726](https://doi.org/10.22463/0122820x.726)
- Pallares, A., Estupiñán, M. R., Perea, J. A., & López, L. J. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51 Impact of fermentation and drying in polyphenol content and antioxidant

- capacity of cocoa variety CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7–21. DOI: [10.18273/revion.v29n2-2016001](https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001)
- Stanley, T. H., Van Buiten, C. B., Baker, S. A., Elias, R. J., Anantheswaran, R. C., & Lambert, J. D. (2018). Impact of Roasting on the Flavan-3-ol Composition, Sensory- Related Chemistry, and In Vitro Pancreatic Lipase Inhibitory Activity of Cocoa Beans Todd. *Food Chemistry*, 30, 414–420. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.02.036](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.036). Impact
- Suazo, Y., Davidov-Pardo, G., & Arozarena, I. (2014). Effect of Fermentation and Roasting on the Phenolic Concentration and Antioxidant Activity of Cocoa from Nicaragua. *Journal of Food Quality*, 37(1), 50–56. DOI: [10.1111/jfq.12070](https://doi.org/10.1111/jfq.12070)
- Todorovic, V., Redovnikovic, I. R., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M., & Sobajic, S. (2015). Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 137–143. DOI: [10.1016/j.jfca.2015.01.018](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.018)
- Urbańska, B., & Kowalska, J. (2019). Comparison of the total polyphenol content and antioxidant activity of chocolate obtained from roasted and unroasted cocoa beans from different regions of the world. *Antioxidants*, 8(8). DOI: [10.3390/antiox8080283](https://doi.org/10.3390/antiox8080283)
- Vásquez-Ovando, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Bentacur-Ancona, D., & Salvador-Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 239–253. DOI: <https://cutt.ly/6RVNqCR>
- Zarrillo, S., Gaikwad, N., Lanaud, C., Powis, T., Viot, C., Lesur, I., Fouet, O., Argout, X., Guichoux, E., Salin, F., Solorzano, R. L., Bouchez, O., Vignes, H., Severt, P., Hurtado, J., Yopez, A., Grivetti, L., Blake, M., & Valdez, F. (2018). The use and domestication of Theobroma cacao during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nature Ecology and Evolution*, 2(12), 1879–1888. DOI: [10.1038/s41559-018-0697-x](https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x)
- Żyżelewicz, D., Krysiak, W., Oracz, J., Sosnowska, D., Budryn, G., & Nebesny, E. (2016). The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. *Food Research International*, 89, 918–929. DOI: [10.1016/j.foodres.2016.03.026](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.026)