

## Theobromas de la Amazonia Colombiana: una alternativa saludable

Raquel O. Díaz y María S. Hernández\*

Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas - Sinchi, Avenida Vázquez Cobo entre calles 15 y 16, Leticia-Colombia (correo-e: [shernandez@sinchi.org.co](mailto:shernandez@sinchi.org.co))

\* Autor a quién debe ser dirigida la correspondencia.

Recibido Sep. 14, 2019; Aceptado Nov. 15, 2019; Versión final Ene. 17, 2020, Publicado Abr. 2020

---

### Resumen

Se determina y analiza la composición fitoquímica y capacidad antioxidante de granos frescos y masas de tres diferentes especies de *Theobroma* obtenidos en la Amazonía Colombiana. Las especies estudiadas son: cacao (*Theobroma cacao*), copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y maraco (*Theobroma bicolor*). Se determinó el contenido de cafeína, teobromina y polifenoles totales, la capacidad antioxidante y el perfil de ácidos grasos tanto en granos frescos como en masas, y el color instrumental de las masas. Copoazú y maraco presentaron menor contenido de cafeína, teobromina y polifenoles totales, color más claro, capacidad antioxidante cercana a la del cacao y mayor contenido de ácidos grasos insaturados que el cacao, incluyendo ácidos grasos de cadena larga. Con base en estos resultados se concluye que la ingesta de los productos obtenidos de copoazú y maraco puede tener un efecto positivo en la salud de los consumidores, de manera similar a los productos de cacao.

*Palabras clave:* *Theobroma grandiflorum*; *Theobroma bicolor*; *Theobroma cacao*; perfil de ácidos grasos; capacidad antioxidante; polifenoles

## Theobromas from the Colombian Amazon: a healthy alternative

### Abstract

The phytochemical composition and antioxidant capacity from different *Theobroma* fresh grains and liquors, obtained in the Colombian Amazon are determined and analyzed. The species considered in this study are: cocoa (*Theobroma cacao*), copoazú (*Theobroma grandiflorum*) and maraco (*Theobroma bicolor*). Instrumental color of liquors, caffeine, theobromine and total polyphenols contents, antioxidant capacity, and fatty acid profile of both fresh grains and liquors were assessed. Copoazú and maraco showed lower caffeine, theobromine and total polyphenols contents, lighter color, an antioxidant capacity close to cocoa and higher unsaturated fatty acids content, including long chain fatty acids. Based on these results, it is concluded that copoazú and maraco's products intake may have a positive effect on consumer's health, similar to cocoa products.

*Keywords:* *Theobroma grandiflorum*; *Theobroma bicolor*; *Theobroma cacao*; fatty acids profile; antioxidant capacity; polyphenols

## INTRODUCCIÓN

El género *Theobroma*, ubicado recientemente en la familia Malvaceae agrupa 22 especies nativas de los bosques tropicales de Centro y Sur América, nueve de las cuales son nativas de la Amazonia, siendo el centro-oriente de esta región el centro sugerido de distribución genética. Este género ampliamente difundido a través de la cuenca amazónica y la orinoquía, es uno de los más antiguos y con mayor potencial para su uso local, regional y mundial. Cacao (*Theobroma cacao*), copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y maraco (*Theobroma bicolor*) son las especies más explotadas económicamente, principalmente el cacao para elaboración de chocolates a partir de sus granos, y en menor cuantía el copoazú y el maraco para uso de sus pulpas en derivados como jugos, confites y helados y de sus granos en la elaboración de los análogos del chocolate, “copolate” y “bacalate” (Barrera et al., 2006; Martini et al., 2008a; Araujo et al., 2014).

La masa, pasta o licor es el producto primario que se obtiene del proceso de beneficio del cacao, el cual involucra varias etapas: fermentación, secado/tostado y molienda que permiten desarrollar el sabor, color, aroma y textura característicos del chocolate (Vázquez-Ovando et al., 2016). Brevemente, los granos, constituidos por cerca del 53% de grasa y 15-20% de proteína que a su vez está compuesta principalmente por albúminas (52%) y globulinas (43%), se someten a un proceso de fermentación en el cual la proteína se degrada por endo y exoproteasas producidas por la actividad secuencial de diferentes microorganismos, para dar oligopéptidos. Posteriormente los granos fermentados se secan y tuestan y en este proceso los oligopéptidos reaccionan con azúcares y polifenoles para producir compuestos de aroma que permanecen en la masa obtenida por la molienda fina de estos granos tostados y descascarillados, y que es la materia prima para la producción de chocolates, mantecas y polvos de cocoa (Martini et al., 2008a).

Es sabido que los granos de otras especies del género *Theobroma* pueden beneficiarse aplicando la misma secuencia de operaciones empleadas en el beneficio del cacao (fermentación, secado/tostado y molienda) para obtener productos análogos a los obtenidos con este, ampliando así sus usos potenciales (Barrera et al., 2006). En estas especies, los procedimientos de beneficio deben adaptarse a las características morfológicas y bioquímicas particulares de los granos para obtener productos de alta calidad sensorial (Reisdorff et al., 2004).

En el perfil proteico de copoazú y maraco se encuentran moléculas similares a las encontradas en el cacao, tales como vicilina, inhibidores de tripsinas y carboxipeptidasas, todos involucrados en la generación de precursores de aroma del chocolate, sin embargo, el perfil proteico varía entre las tres especies (Reisdorff et al., 2004; Pérez-Mora et al., 2018), así como el contenido y ubicación de otros compuestos como la grasa, la cual puede intervenir en las reacciones de degradación de proteína al dificultar el contacto de sustratos (Martini et al., 2008a); estas diferencias pueden generar características específicas de aroma y sabor, así como nutricionales, pues por ejemplo, entre las proteínas específicas para las especies, se encontraron precursores de flavonoides en el copoazú (Pérez-Mora et al., 2018).

El chocolate, obtenido de los granos procesados de cacao, tiene un alto valor nutricional debido a su alta concentración de carbohidratos, lípidos, proteínas, y más de 300 compuestos bioactivos (Araujo et al., 2014). La cantidad y calidad de los compuestos antioxidantes en el cacao es alta. Experimentos con modelos animales e *in vitro* han encontrado que la mayoría de las fracciones de polifenoles del cacao tienen actividad antioxidante y es posible que tengan efectos benéficos en la salud (Misnawi et al., 2004).

El consumo de cacao y sus productos se ha relacionado con efectos positivos para la salud como la inhibición de arterioesclerosis y la reducción del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y metabólicas, pues controlan la presión sanguínea, la resistencia a la insulina, el perfil lipídico, la presión arterial sistólica y diastólica y la dilatación vascular, inactivan los radicales superóxido e hidroxilo, así mismo inhiben o reducen la peroxidación lipídica LDL *in vitro* e *in vivo*, contribuyen a reducir el daño hepático y la apoptosis y a la disminución de biomarcadores de inflamación, debido a un aumento en la defensa antioxidante (Bustamante Zapata et al., 2015; de Oliveira et al., 2015; Barokah et al., 2016).

Entre los compuestos fenólicos del cacao predominan los flavonoides: catequinas, antocianinas y procianidinas que presentan funciones fisiológicas que incluyen la modulación de la síntesis de eicosanoides, aumento de la síntesis de óxido nítrico, inhibición de la activación de plaquetas, estimulación de la producción de citocinas anti inflamatorias e inhibición de las citocinas pro inflamatorias (Carrillo et al., 2014); los flavonoides reducen el número de radicales libres involucrados en enfermedades cardiovasculares y cáncer, tienen propiedades anti envejecimiento y aparentemente protegen las neuronas del daño inducido por neurotoxinas, reducen la inflamación y promueven la memoria, el aprendizaje y las funciones cognitivas (Araujo et al., 2014).

Aunque la mayoría de los estudios indican que los efectos benéficos en la salud del cacao y sus productos son atribuibles a los polifenoles, también debe notarse que el cacao también es rico en metilxantinas, que

representan cerca del 3,2% de la composición del chocolate sin azúcar y sin grasa. Las principales metilxantinas del cacao son teobromina y cafeína, y estas han sido asociadas con diversos efectos fisiológicos en varios sistemas del cuerpo humano, como el nervioso central, el gastrointestinal, el respiratorio y el renal (Carrillo et al., 2014). Los extractos de cacao tienen potencial para actuar como terapia natural para atenuar la disfunción/activación endotelial en la preeclampsia, probablemente debido a la interacción de los alcaloides y polifenoles del cacao con los precursores del óxido nítrico y la enzima arginasa (Barokah et al., 2016).

El cultivo de copoazú y maraco como parte de arreglos agroforestales en la Amazonía Colombiana es una estrategia para la sustitución de cultivos ilícitos, la mitigación de la deforestación y de los efectos negativos del cambio climático, siendo su procesamiento una industria incipiente que requiere de herramientas para su promoción, por lo que la caracterización del contenido de compuestos bioactivos en comparación con el cacao, tanto en fresco como en un producto primario como es la masa, es pertinente, pues aunque es claro que existen similitudes bioquímicas entre cacao, copoazú y maraco que determinan la viabilidad para la producción de derivados similares, se deben identificar las características que pueden determinar su potencial en el mercado, no solo sensorialmente sino en sus posibles efectos en la salud de los consumidores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se describe la procedencia de las muestras analizadas y los materiales y métodos empleados para determinar el contenido de cafeína, teobromina, polifenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de ácidos grasos en granos frescos y masas de los tres theobromas evaluados, y el color instrumental de las masas. Todos los reactivos y solventes empleados tenían la calidad necesaria para el tipo de análisis, ya sea grado analítico, grado HPLC o estándares certificados.

### *Procedencia de las muestras*

Las muestras de granos frescos y masas de cacao, copoazú y maraco fueron obtenidas de un muestreo al azar. Los procesos para la producción y beneficio de estos theobromas fueron aplicados por emprendedores campesinos del municipio de Belén de los Andaquíes, en el Departamento de Caquetá-Colombia, de acuerdo a la transferencia de tecnología desarrollada por el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – Sinchi. En el proceso de beneficio los granos frescos de cacao, copoazú y maraco pasaron por operaciones de fermentación, secado, tostado, descascarillado y molienda, que permitieron obtener masas a partir de las cuales se pueden elaborar diferentes productos alimenticios como chocolate, copolate o bacalate, de taza o de confitería. Dicho proceso de beneficio estandarizado (Barrera et al., 2006) tiene en cuenta para las operaciones unitarias las diferencias morfológicas y de contenido de macronutrientes de los granos, para obtener masas con el mejor perfil sensorial.

### *Obtención de extractos*

Los extractos se obtuvieron de acuerdo a la metodología descrita por Carrillo et al. (2014) con algunas modificaciones. Los granos frescos y las masas de cacao, maraco y copoazú, se molieron finamente utilizando un mortero. Se pesaron  $100\text{mg} \pm 1\text{mg}$ , y se desengrasaron adicionando 2mL de hexano, agitando en vortex 5 minutos, centrifugando 10 minutos a 5000 rpm y decantando, repitiendo este procedimiento 3 veces. La grasa de cada muestra se recuperó por evaporación a presión reducida y una temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$  del hexano empleado anteriormente y se reservó para determinar el perfil de ácidos grasos. Las muestras desengrasadas fueron extraídas para determinar el contenido de cafeína y teobromina, polifenoles totales y capacidad antioxidante con 1.6mL de solución acuosa de 2-propanol (60%, pH 9.0) por 60 minutos en un baño de ultrasonido a  $30^{\circ}\text{C}$ , y centrifugadas por 15 minutos a 5000 rpm, tomando el sobrenadante y filtrándolo una membrana de PTFE de  $0,45\mu\text{m}$ . Las muestras se almacenaron en la oscuridad a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

### *Contenido de cafeína y teobromina*

El contenido de cafeína y teobromina en miligramos por cada gramo de grano o masa, se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Carrillo et al. (2014) con algunas modificaciones. Se empleó un cromatógrafo Agilent 1200 series, equipado con autoinyector y detector de arreglo de diodos DAD. La separación de los compuestos se logró utilizando una columna BIO-Rad C18 de fase reversa RP-318 (250mm x 4.6mm). La fase móvil fue agua acidificada con ácido acético 0.1% como eluyente A y metanol HPLC como eluyente B, con un gradiente lineal así: 0min, 6% A; 7min, 25%A; isocráticamente hasta el minuto 10 y finalmente un ciclo de acondicionamiento de 3 minutos con las condiciones iniciales para el siguiente análisis. El volumen de inyección fue  $10\mu\text{L}$ . Los compuestos separados se detectaron con el detector de arreglo de diodos DAD a 280nm y grabando el espectro de los picos entre 200 y 400nm. Cafeína y teobromina fueron identificadas y cuantificadas comparando los tiempos de retención, áreas de pico y el espectro con estándares certificados.

### Contenido de polifenoles totales

Dada la variedad de polifenoles presentes en la muestra, la concentración de polifenoles totales se calcula en términos de masa equivalente de ácido gálico por unidad de masa de muestra (mg EAG/g muestra). De acuerdo al método de Cicco et al. (2009), 100µL del extracto fueron mezclados con 400µL del reactivo de Folin - Ciocalteu (diluido 1:10 en agua destilada) durante 2 min. Acto seguido se adicionaron 1600µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 700mM y se dejó continuar la reacción en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción fue vertida en una celda de cuarzo limpia y seca y analizada en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesis 10S-UV-Vis a 710nm. La concentración de polifenoles totales fue calculada en términos de miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por cada gramo de grano o masa, cotejando la absorbancia alcanzada de las muestras con la curva de calibración obtenida por la reacción del reactivo de Folin – Ciocalteu con diferentes concentraciones de ácido gálico (15 – 150 ppm), el cual es el polifenol de referencia estándar.

### Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó para los radicales DPPH y ABTS, por espectrofotometría de acuerdo a los métodos propuesto por Rufino et al. (2011), usando el método a microescala con el objetivo de cumplir los principios de la química verde. (i) Radical DPPH: 40µL de extracto se mezclaron con 1960 µL de una solución metanólica de DPPH (60µM). Se leyó la absorbancia a 515nm tras 30 minutos, tiempo en el que la reacción alcanza el equilibrio; y 8ii) Radical ABTS: Se preparó una solución del radical ABTS\*<sup>+</sup> (producido por la reacción de una solución stock 7mM de ABTS con persulfato de potasio 2,45mM, en cantidades volumétricas equivalentes). Esta solución se llevó a reposo por 12 – 16h antes de su uso y se diluyó a temperatura ambiente con metanol a una absorbancia de 0,70 ± 0,02 UA a 658nm. Se mezclaron 100 µL del extracto con 3,9mL de la solución diluida de ABTS\*<sup>+</sup>, y se realizó la lectura de la absorbancia pasados 30 min, tiempo en el que la reacción alcanza el equilibrio.

Para ambos radicales, la capacidad antioxidante se determinó como la concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>), parámetro que refleja la concentración de extracto en gramos de grano o de masa por litro (g/L), necesaria para obtener la reducción del 50% del radical. Este parámetro se determinó de acuerdo a los métodos propuestos por Doroteo et al. (2012), midiendo la absorbancia en el equilibrio de cinco diluciones con concentraciones diferentes por cada extracto y calculando el porcentaje de actividad antioxidante total en cada concentración de acuerdo a la ecuación 1.

$$\%AAT = \left( \frac{AC - AM - AB}{AC} \right) \times 100 \quad (1)$$

Dónde: %AAT: porcentaje de actividad antioxidante total; AC: absorbancia del blanco de reactivo (DPPH o ABTS + solución de extracción); AM: absorbancia de la muestra + DDPH o ABTS; y AB: absorbancia del blanco de muestra (solución de extracción). El porcentaje de actividad antioxidante se graficó con respecto a la concentración de extracto y mediante regresión lineal de la recta obtenida se calculó la concentración de extracto con la que se obtiene un %ATT del 50%, la cual corresponde a la concentración efectiva 50, CE<sub>50</sub>.

### Perfil de ácidos grasos

La grasa obtenida de cada muestra se derivatizó para obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos, mediante la reacción con metanol en hidróxido de sodio utilizando hexano como solvente, las muestras así derivatizadas fueron inyectadas en un cromatógrafo Agilent GC/MS 7890B equipado con una columna capilar Agilent HP5 de 60m x 0.250 mm, con las siguientes condiciones: temperatura de inyector: 250°C; gas de arrastre y flujo de columna: Helio 36psi, presión constante; temperatura de columna: 100°C por 3 minutos, seguida de una rampa de aumento de 5°C por minuto hasta 200°C, y 10°C por minuto hasta 300°C; volumen de inyección: 1µL; detector de masas Agilent Technologies 5977A en modo scan entre 45 y 700 con umbral de 150 (masa m/z) con una temperatura de 230°C y energía de 70 eV en la fuente de iones. La determinación de la identidad y área de los picos se logró con el software de adquisición de datos MSD chemstation F01.01.2317, y la comparación de tiempos de retención obtenidos por estándar certificado FAME Supelco 37 37 mix (Sigma Aldrich, Germany). El perfil de ácidos grasos fue cuantificado mediante la comparación de las áreas de los picos obtenidos, y por tanto los datos son expresados en términos de concentración relativa de ácidos grasos (%).

### Color instrumental de las masas

El color de las masas de los tres theobromas se determinó instrumentalmente en el espacio de color Hunter Lab (coordenadas L, a, b) con un colorímetro Hunterlab miniscan EZ utilizando un iluminante D65°/10 observador ASTM E308, con estándar blanco (X:80.10; Y:85.12; Z:90.77) y determinando cinco repeticiones al azar por muestra.

### Análisis estadístico de los datos obtenidos

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA seguido de comparación múltiple por mínima diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) con el software Statistix 9.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de cafeína, teobromina y polifenoles totales (Tabla 1) fue mayor para cacao, seguido de copoazú y maraco; las diferencias en el contenido de los granos frescos con respecto a la masa de cada especie obedecen a diferentes reacciones químicas que sufren estos compuestos en el proceso de beneficio. La importancia de estos compuestos para la salud de los consumidores radica en su bioactividad, las metilxantinas (cafeína y teobromina) son conocidos estimulantes del sistema nervioso central, y los polifenoles presentan diferentes funciones fisiológicas que pueden contribuir a mejorar o evitar enfermedades cardiovasculares, cáncer y procesos inflamatorios y de envejecimiento, adicionalmente, estos compuestos no volátiles inciden de manera directa en el sabor y palatabilidad de las almendras y de manera indirecta sobre los precursores de sabor y aroma que se desarrollan durante la fermentación y secado/tostado de los granos de theobroma (Misnawi et al., 2004; Araujo et al., 2014; Carrillo et al., 2014; Vázquez-Ovando et al., 2016).

Tabla 1. Contenido de alcaloides y polifenoles totales de theobromas amazónicos (promedio  $\pm$  desviación estándar, diferentes letras en las filas indican diferencias significativas  $\alpha=0,05$ )

Compuestos bioactivos	Cacao Grano	Cacao Masa	Copoazú Grano	Copoazú Masa	Maraco Grano	Maraco Masa
Cafeína (mg/g)	1.44 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.94 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.37 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.53 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	0.20 $\pm$ 0.02 <sup>e</sup>	0.40 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>
Teobromina (mg/g)	6.44 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	12.91 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	2.24 $\pm$ 0.06 <sup>cd</sup>	2.42 $\pm$ 0.22 <sup>c</sup>	0.66 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	1.75 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>
Polifenoles totales (mg EAG/g)	13.80 $\pm$ 1.23 <sup>a</sup>	0.87 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	2.51 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.43 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	1.62 $\pm$ 0.12 <sup>bc</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>

Los alcaloides están asociados con el amargor de los productos de cacao, y la relación teobromina/cafeína es un indicador de su calidad, puesto que la teobromina es hasta 11 veces más amarga que la cafeína, por lo que entre más pequeña sea esta relación, más fino de sabor y aroma es el cacao (Vázquez-Ovando et al., 2016). En los tres theobromas estudiados, el contenido de teobromina fue superior que el de cafeína (Tabla 1), tanto en los granos frescos como en las masas. El cacao presentó el mayor contenido de cafeína y teobromina, seguido de copoazú y maraco. La teobromina es el principal alcaloide derivado de la purina que se encuentra en los granos de cacao, y usualmente se encuentra en niveles mucho más altos que la cafeína. Los principales alcaloides derivados de la purina en el copoazú son teacrina (ácido 1,3,7,9 tetrametilurico) y liberina (ácido D2,3,O(2),1,9-trimetilurico) con un contenido cercano al 0,25% en base seca en los cotiledones. La teacrina es el principal alcaloide en granos de 11 especies de *Theobroma* (Ashihara et al., 2008), lo que puede explicar los menores contenidos de cafeína y teobromina en copoazú y maraco, al no ser estos los alcaloides derivados de la purina predominantes en estas especies; un mayor estudio en estas diferencias fitoquímicas, especialmente en el caso del maraco, es necesario para elucidar mejor los efectos que puede tener en la salud de los consumidores.

La teobromina y la cafeína en el chocolate estimulan el sistema nervioso central, aumentando la resistencia muscular y actuando como diuréticos y estimulantes del apetito (Araujo et al., 2014). La teacrina, tiene propiedades antiinflamatorias, analgésicas y neuro-locomotoras, con reportes de que contribuye a la regulación del perfil lipídico, aumenta la sensación de energía, reduce la fatiga, y de que tiene fuertes efectos en la mejora de la concentración y la motivación para ejercitarse, sin generar hábito (Taylor et al., 2016).

El contenido de polifenoles en los granos de los tres theobromas evaluados (Tabla 1) corresponde a lo encontrado por Martini et al. (2008b), con un mayor contenido para el cacao, seguido del copoazú y del maraco, en orden descendente. Los polifenoles incluyen compuestos precursores de color, y esta es la razón por la que copoazú y maraco se conocen en la amazonía colombiana como "cacaos blancos", pues este menor contenido de polifenoles los hace menos oscuros, sin implicar esto que la fermentación haya sido insuficiente, siendo esta una de las características diferenciales a tener en cuenta en el proceso de beneficio, pues el punto óptimo de fermentación se determina visualmente mediante pruebas de corte. El color de los alimentos es una variable importante porque la apariencia es el principal factor que determina la preferencia de los productos. De acuerdo a los datos obtenidos en la medición del color instrumental (Tabla 2), las masas de maraco y copoazú son significativamente más claras que la masa de cacao, pues tienen mayor luminosidad

(coordenada L), con tonos más rojizos (coordenada a positiva mayor) y amarillos (coordenada b positiva mayor), lo cual se relaciona con el menor contenido de compuestos fenólicos (Tabla 1) que le dan el color oscuro característico al chocolate, y al mayor contenido de grasa, que es de color blanco amarillento.

Tabla 2. Color Instrumental de masas de theobromas amazónicos (promedio  $\pm$  desviación estándar, diferentes letras en las filas indican diferencias significativas  $\alpha=0,05$ )

Coordenada	Cacao Masa	Copoazú masa	Maraco masa
L	23.78 $\pm$ 2.79 <sup>c</sup>	43.81 $\pm$ 5.38 <sup>b</sup>	62.84 $\pm$ 2.85 <sup>a</sup>
a	6.77 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>	8.62 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	9.00 $\pm$ 1.83 <sup>a</sup>
b	4.98 $\pm$ 0.35 <sup>c</sup>	16.26 $\pm$ 1.99 <sup>b</sup>	25.09 $\pm$ 2.36 <sup>a</sup>

El proceso de beneficio disminuye el contenido de polifenoles en los tres theobromas estudiados, es de esperarse que en copoazú y maraco, al igual que en el cacao, durante la fermentación estos compuestos se modifiquen mediante reacciones bioquímicas de oxidación, polimerización y enlazamiento con proteína, lo cual reduce su solubilidad y efecto astringente (que se produce por la habilidad de los polifenoles de enlazarse con proteínas), y que posteriormente durante el secado y tostado se reduzca sustancialmente la cantidad de polifenoles, principalmente por pardeamiento enzimático (Misnawi et al., 2004). La masa de maraco conserva el 34% del contenido de polifenoles totales de los granos, mientras que la de copoazú conserva el 17% y el cacao, sólo el 6%, esto puede deberse a las diferencias en el perfil de compuestos fenólicos, su cantidad y ubicación en los granos como sustratos de las reacciones, y en el contenido de azúcares en la pulpa, que afectan la microbiota específica que actúa en la fermentación; adicionalmente, las diferencias morfológicas de tamaño y grosor de la cascarilla de los granos, que influencia los procesos de secado y tostado. Se requiere más estudio específico en los perfiles de polifenoles y los diferentes mecanismos de degradación de estos compuestos en el beneficio de theobromas.

Con respecto a la capacidad antioxidante (Tabla 3) cuanto mayor sea el valor de la concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>), menor es la capacidad antioxidante, pues se va a requerir más cantidad del producto (grano o masa) para alcanzar una actividad antioxidante del 50%, de acuerdo a esto, la capacidad antioxidante del radical DPPH de los granos frescos de cacao es mayor que la de maraco y copoazú, en orden descendente, y para el radical ABTS es mayor para copoazú, seguida de cacao y maraco. El procesamiento influencia este parámetro, en el caso de cacao y copoazú, disminuyendo la capacidad antioxidante, y en el caso de maraco, aumentándola para el radical ABTS. Los mecanismos de reacción de la inhibición de ambos radicales evaluados se relacionan con diferentes especies reactivas de oxígeno. Un estudio comparativo de masas de cacao y copoazú encontró que, a pesar de la mayor capacidad antioxidante *in vitro* de la masa de cacao, la masa de copoazú puede tener ventajas en relación a los posibles efectos en la salud, debidas a su perfil diferencial de flavonoides y al menor contenido de ácidos grasos saturados (de Oliveira y Genovese, 2013). Los resultados obtenidos sugieren ampliar el estudio en cuanto a los posibles beneficios del consumo de maraco debidos a un perfil de compuestos bioactivos diferente al del cacao y el copoazú, que requiere ser dilucidado.

Tabla 3. Capacidad antioxidante de granos y masas de theobromas amazónicos (promedio  $\pm$  desviación estándar diferentes letras en las filas indican diferencias significativas  $\alpha=0,05$ )

CE <sub>50</sub> (mg/L)	Cacao grano	Cacao Masa	Copoazú grano	Copoazú masa	Maraco grano	Maraco masa
DPPH	45.90 $\pm$ 1.22 <sup>c</sup>	72.07 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	75.64 $\pm$ 2.95 <sup>b</sup>	104.40 $\pm$ 4.99 <sup>a</sup>	53.80 $\pm$ 0.79 <sup>c</sup>	109.01 $\pm$ 6.01 <sup>a</sup>
ABTS	5.64 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>	6.80 $\pm$ 0.14 <sup>d</sup>	2.67 $\pm$ 0.31 <sup>f</sup>	14.37 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	19.27 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	10.66 $\pm$ 0.43 <sup>c</sup>

A pesar del menor contenido de polifenoles, muy relacionado a la capacidad antioxidante, que a su vez se relaciona con los efectos benéficos en la salud, las diferencias fitoquímicas en el perfil de estos compuestos en los granos y masas de copoazú y maraco y su interacción con otros constituyentes de la matriz alimentaria pueden explicar algunos efectos benéficos sobresalientes, por ejemplo, en la masa de copoazú se ha identificado un perfil de flavonoides similar al de los granos frescos, con compuestos predominantes ausentes en la masa de cacao. Estas diferencias fitoquímicas entre el cacao y el copoazú pueden determinar que el consumo de los productos de copoazú actúe de manera diferente sobre la salud de los consumidores. Al comparar el efecto metabólico de la ingesta de extractos ricos en polifenoles de masas de cacao y de copoazú en ratas con dieta alta en grasa, se encontró que ambas masas atenuaron el daño hepático asociado a la dieta rica en grasa mediante la disminución de la peroxidación lipídica y el aumento de la capacidad

antioxidante del plasma y el tejido. A pesar de la mayor concentración de compuestos fenólicos en la masa de cacao, notablemente, solo los polifenoles de la masa de copoazú fueron capaces de mejorar la tolerancia a la glucosa mediante el aumento de la sensibilidad a la insulina (de Oliveira et al., 2015).

Con respecto al perfil de ácidos grasos (Tabla 4), para las tres especies estudiadas, el contenido de ácidos grasos saturados aumenta debido al procesamiento, especialmente en cacao, lo cual se puede explicar por la degradación de las grasas insaturadas durante el tostado. La masa de cacao presenta el mayor contenido de ácidos grasos saturados, mientras que maraco presenta el mayor contenido de ácidos grasos insaturados tanto en fresco como en la masa, incluyendo ácido oléico (C18:1) y ácido gadoléico (C20:1) y copoazú presenta la mayor variedad de ácidos grasos, incluyendo el mayor contenido de ácidos grasos de cadena larga, como ácido araquídico (C20) y ácido behénico (C22).

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de theobromas amazónicos (promedio  $\pm$  desviación estándar, diferentes letras en las filas indican diferencias significativas, ND: no detectado)

Ácido graso (concentración relativa %)	Cacao grano	Cacao Masa	Copoazú grano	Copoazú masa	Maraco grano	Maraco masa
C16:1 Palmitoléico	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	ND	ND	ND
C16 Palmítico	3.81 $\pm$ 0.14 <sup>e</sup>	28.41 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	7.48 $\pm$ 0.27 <sup>d</sup>	9.04 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	23.16 $\pm$ 0.84 <sup>b</sup>	7.41 $\pm$ 0.26 <sup>d</sup>
C18:2 Linoléico	4.01 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	3.10 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	0.13 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.18 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	ND	ND
C18:1 Oléico	44.63 $\pm$ 1.54 <sup>a</sup>	29.90 $\pm$ 1.08 <sup>c</sup>	40.61 $\pm$ 1.40 <sup>b</sup>	38.41 $\pm$ 1.40 <sup>b</sup>	41.33 $\pm$ 1.43 <sup>ab</sup>	40.11 $\pm$ 1.45 <sup>b</sup>
C18 Esteárico	38.63 $\pm$ 1.40 <sup>c</sup>	36.39 $\pm$ 1.26 <sup>c</sup>	35.76 $\pm$ 1.30 <sup>c</sup>	36.27 $\pm$ 1.25 <sup>c</sup>	29.98 $\pm$ 1.09 <sup>c</sup>	48.63 $\pm$ 1.68 <sup>a</sup>
C20:1 Gadoléico	ND	ND	0.37 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.39 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	5.54 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	3.85 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>
C20 Araquídico	8.70 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	2.17 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	13.86 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	13.70 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	ND	ND
C22 Behénico	ND	ND	2.32 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.28 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	ND	ND
Total Saturados	51.14 $\pm$ 1.69 <sup>e</sup>	66.97 $\pm$ 1.42 <sup>a</sup>	59.42 $\pm$ 1.99 <sup>bc</sup>	61.29 $\pm$ 1.87 <sup>b</sup>	53.14 $\pm$ 1.93 <sup>de</sup>	56.04 $\pm$ 1.93 <sup>cd</sup>
Total Insaturados	48.86 $\pm$ 1.69 <sup>a</sup>	33.19 $\pm$ 1.20 <sup>e</sup>	41.17 $\pm$ 1.42 <sup>cd</sup>	39.05 $\pm$ 1.42 <sup>d</sup>	46.87 $\pm$ 1.92 <sup>ab</sup>	43.96 $\pm$ 1.93 <sup>bc</sup>

La red cristalina que forma la grasa determina el comportamiento tecnológico, las propiedades físicas, reológicas y de aceptación del chocolate (Alvis et al. 2011) y por extensión, también de productos similares elaborados con masas de otros theobromas, los cuales, en el caso de derivados de copoazú y maraco, pueden tener menor dureza y estabilidad al tener mayor contenido de ácidos grasos insaturados, debiendo considerarse en el desarrollo tecnológico de productos como copolate y bacalate.

Se ha encontrado que una mayor concentración de ácido palmítico (16:1) puede ser una desventaja para el cacao, puesto que este ácido graso saturado es conocido por inducir aterogénesis, ganancia de peso, resistencia a la insulina, inflamación y aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (de Oliveira y Genovese, 2013), lo cual puede reducir los beneficios del cacao con respecto al control de estas patologías que se relacionan con su composición de compuestos fenólicos y metilxantinas. Un reto actual de la industria de alimentos consiste en generar alternativas que sustituyan el chocolate tradicional por productos con similar carácter sensorial y menor contenido de grasas saturadas (Morón et al., 2015), en este sentido, los productos de las masas de copoazú y maraco, como copolate y bacalate, pueden convertirse en una alternativa saludable, pues tienen un menor contenido de ácidos grasos insaturados pero un perfil sensorial y un contenido de compuestos bioactivos como son xantinas y polifenoles más similar al chocolate, que los productos análogos elaborados con otras especies vegetales.

## CONCLUSIONES:

De acuerdo a los resultados de este estudio, y de su discusión y análisis se puede concluir principalmente, que el consumo de los productos derivados del beneficio de los granos de copoazú y maraco, como copolate y bacalate, pueden tener un efecto positivo en la salud de los consumidores similares a los del chocolate, o incluso mejores, dadas las diferencias en su composición fitoquímica con el cacao, especialmente en cuanto un menor contenido de ácidos grasos insaturados. Los resultados obtenidos sugieren ampliar el estudio de los posibles beneficios del consumo de maraco debidos a un perfil de compuestos bioactivos diferente al del cacao y el copoazú, que requiere ser elucidado.

## REFERENCIAS

- Alvis, A., Pérez G. y Arrazola G., *Determinación de las Propiedades de Textura de Tabletas de Chocolate Mediante Técnicas Instrumentales*, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642011000300003>, Inf. Tecnol., 22(3), 11-18 (2011).
- Araujo, Q. R., Fernandes C. A. F. y otros cinco autores, *Cocoa Quality Index A Proposal*, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.003>, Food Control, 46, 49–54 (2014).
- Ashihara, H., Sano H., y Crozier A., *Caffeine and Related Purine Alkaloids: Biosynthesis, Catabolism, Function and Genetic Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.10.029>, Phytochemistry, 69, 841–856 (2008).
- Barokah, L., Windu Baktiyani S. C. y Kalsum U., *Protective Effect of Theobroma cacao on Nitric Oxide and Endothelin-1 Level in Endothelial Cells Induced by Plasma From Preeclamptic Patients: In silico and in vitro Studies*, <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2015.11.023>, Eur J Integr Med, 8(1), 73–78 (2016).
- Barrera, J.A., Hernández M.S. y otros seis autores, *Aprovechamiento Integral de las Almendras de los Frutos de Especies Promisorias del Género Theobroma Bajo Condiciones de la Amazonía Colombiana, Potencialidades de un Banco de Germoplasma del Género theobroma, en el Enriquecimiento de los Sistemas Productivos de la Región Amazónica*, Melgarejo, L.M., M.S. Hernández y otros dos autores. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas –Sinchi y Universidad Nacional de Colombia, pp 139-179, Bogotá, Colombia (2006).
- Bustamante, S., Tamayo Tenorio A. y Rojano B. A., *Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano*, Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín, 68(1), 7497–7507 (2015).
- Carrillo, L. C., Londoño-Londoño J. y Gil A., *Comparison of Polyphenol, Methylxanthines and Antioxidant Activity in Theobroma cacao Beans from Different Cocoa-growing Areas in Colombia*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.019>, Food Res. Int., 60, 273–280 (2014).
- Cicco, N., Lanorte M. T. y otros tres autores, *A Reproducible, Rapid and Inexpensive Folin–Ciocalteu Micro-method in Determining Phenolics of Plant Methanol Extracts*, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.08.011>, Microchem. J., 91(1), 107–110 (2009).
- de Oliveira, T. B. y Genovese M. I., *Chemical Composition of Cupuassu (Theobroma grandiflorum) and Cocoa (Theobroma cacao) Liquors and Their Effects on Streptozotocin-induced Diabetic Rats*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.019>, Food Res. Int., 51(2), 929–935 (2013).
- de Oliveira, T. B., Rogero M. M. y Genovese M. I., *Poliphenolic-rich Extracts From Cocoa (Theobroma cacao L.) and Cupuassu (Theobroma grandiflorum Willd. Ex Spreng. K. Schum) liquors: A Comparison of Metabolic Effects in High-fat Fed Rats*, <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2015.01.002>, PharmaNutrition, 3(2), 20–28 (2015).
- Doroteo, V. H., Terry C., y otros tres autores, *Compuestos Fenólicos y Actividades Antioxidante, Antielastasa, Anticolagenasa y Fotoprotectora in vitro de Myrciaria dubia (Camu Camu) y Caesalpinia spinosa (Tara)*, Rev Soc Quím Perú, 78(4), 254–263 (2012).
- Martini, M. H., Lenci C. G. y otros dos autores, *Localization of the Cotyledon Reserves of Theobroma grandiflorum (Willd. ex Spreng.) K. Schum., T. subincanum Mart., T. bicolor Bonpl. and Their Analogies with T. cacao L.*, Rev. Bras. Bot., 31(1), 147–154 (2008a).
- Martini, M. H., Figueira A. y otros dos autores, *Polyphenolic Cells and Their Interrelation With Cotyledon Cells in Seven Species of Theobroma (Sterculiaceae)*, Rev. Bras. Bot, 31(3), 425–431, (2008b).
- Misnawi, A., Jinap S. y otros dos autores, *Sensory Properties of Cocoa Liquor as Affected by Polyphenol Concentration and Duration of Roasting*, [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(03\)00097-1](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00097-1), Food Qual Prefer, 15, 403–409 (2004).
- Morón, L., Caro Y. y otros dos autores, *Obtención de un sustituto de Chocolate tipo-Pasta usando Pulpa de Carao (Cassia fistula L.)*, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000600006>, Inf. Tecnol., 26(6), 39-44 (2015).
- Pérez-Mora, W., Jorrin-Novio J. V. y Melgarejo L. M., *Substantial Equivalence Analysis in Fruits from Three Theobroma Species Through Chemical Composition and Protein Profiling*, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.128>, Food Chem, 240(Julio 2017), 496–504 (2018).
- Reisdorff, C., Rohsius C. y otros tres autores, *Comparative Study on the Proteolytic Activities and Storage Globulins in Seeds of Theobroma grandiflorum (Willd ex Spreng) Schum and Theobroma bicolor Humb Bonpl, in Relation to Their Potential to Generate Chocolate-like Aroma*, <https://doi.org/10.1002/jsfa.1717>, J Sci Food Agr, 84(7), 693–700 (2004).
- Rufino, M. D. S. M., Pérez-Jiménez J., y otros cinco autores, *Açaí (Euterpe oleraceae) “BRS Pará”: A Tropical Fruit Source of Antioxidant Dietary Fiber and High Antioxidant Capacity oil*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.011>, Food Res. Int., 44(7), 2100–2106 (2011).
- Taylor, L., Mumford P., y otros cinco autores, *Safety of TeaCrine®, a Non-Habituating, Naturally-occurring Purine Alkaloid Over Eight Weeks of Continuous Use*, <https://doi.org/10.1186/s12970-016-0113-3>, J. Int. Soc. Sports Nutr, 13(2), 1–14 (2016).
- Vázquez-Ovando, A., Ovando-Medina I. y otros tres autores, *Alcaloides y Polifenoles del cacao, Mecanismos que Regulan su biosíntesis y Sus Implicaciones en el Sabor y Aroma*, Arch Latinoam Nutr, 66(3), 239–254 (2016).