

## Caracterización vibracional de grupos funcionales en granos de cacao durante el tostado usando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier

Vibrational characterization of functional groups in cocoa beans during roasting with Fourier transform infrared spectroscopy

Leydy Ariana Domínguez-Pérez<sup>1</sup>, Laura Mercedes Lagunes-Gálvez<sup>1</sup>, Juan Barajas-Fernández<sup>2</sup>,  
María de los Ángeles Olán-Acosta<sup>2</sup>, Ricardo García-Alamilla<sup>3</sup>, Pedro García-Alamilla<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA), Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT). C.P. 86280. Carretera Villahermosa-Teapa Km. 25, La Huasteca, Centro, Tabasco. México. \*Correo electrónico: [pedro.garciaa@ujat.mx](mailto:pedro.garciaa@ujat.mx)

<sup>2</sup>División Académica de Arquitectura e Ingeniería (DAIA), Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT). C.P. 86690. Carret. Cumnduacán-Jalpa de Méndez Km 1. Col. La Esmeralda. Cunduacán, Tabasco. México

<sup>3</sup>Instituto Tecnológico de Ciudad Madero (ITCM). C.P. 89440. Juventino Rosas esq. Jesús Urueta, Col. Los Mangos, Ciudad Madero, Tamaulipas, México

\*Autor de correspondencia

### Resumen

Este trabajo muestra la potencialidad de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier para evaluar los cambios vibracionales de grupos funcionales durante el tostado de cacao. Treinta asignaciones fueron identificadas en las regiones de vibración, doble enlace y huella dactilar. La segunda derivada del espectro identificó más de 50 picos. Durante el tiempo de tostado, los cambios fueron en intensidad, pero no en las señales. La influencia del contenido de grasa se mostró al desgrasar las muestras. Los cambios principales durante el tostado se presentaron en la región de huella dactilar, identificados por la presencia de señales asignadas a los aminoácidos libres, catequinas, azúcares reductores y metilxantinas identificados de forma principal en el espectro obtenido a partir de la segunda derivada. La espectroscopía de infrarrojo permitió encontrar los cambios estructurales que presentan las muestras de granos de cacao a diferentes tiempos de tostado.

**Palabras clave:** infrarrojo; segunda derivada; granos de cacao tostado.

### Abstract

This work shows the potentiality of Fourier transformed infrared spectroscopy to evaluate the vibrational changes of functional groups during cocoa roasting. Thirty assignments were identified in the regions of vibration, double bond and fingerprint. With the second derivative, more than 50 peaks were identified in the spectrum. Through the roasting time, changes were recorded in the intensity and not in the signals; however, the influence of the fatty content was shown when the samples were defatted. Changes during the roasting process of cocoa beans occurred in the fingerprint region, identified by signals assigned to the free amino acids, catechins, reducing sugars, and methylxantines identified principally in the second derivative of the spectrum. Infrared spectrum allowed to find structural changes in cocoa to different roasting times.

**Keywords:** Infrared spectroscopy; second derivative; cocoa beans roasting.

Recibido: 18 de diciembre de 2017

Aceptado: 20 de septiembre de 2018

Publicado: 23 de octubre de 2019

**Como citar:** Domínguez-Pérez, L. A., Lagunes-Gálvez, L. M., Barajas-Fernández, J., Olán-Acosta, M. A., García-Alamilla, R., & García-Alamilla, P. (2019). Caracterización vibracional de grupos funcionales en granos de cacao durante el tostado usando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier. *Aniversitaria* 29, e2172. doi: <http://doi.org/10.15174/au.2019.2172>

## Introducción

En el tostado de granos de cacao se llevan a cabo simultáneamente procesos de transferencia de masa y energía que involucran reacciones químicas, que en conjunto representan un sistema complejo y heterogéneo. Los cambios se manifiestan en las propiedades físicas, químicas y sensoriales. Durante el tostado de granos de cacao, reacciones químicas como Maillard, caramelización de los azúcares, degradación de proteínas, formación de compuestos volátiles y la síntesis de compuestos azufrados están presentes (Cros, 1998; Luna, Crouzillat, Cirou & Bucheli, 2002; Sacchetti *et al.*, 2016). Este tipo de reacciones permite los cambios en color, sabor y aroma desde el punto de vista sensorial, que serán apreciados en un producto final como el chocolate, la cocoa o la manteca. La disminución o incremento en estas características dependen de los compuestos de origen, el tipo de cultivar, las condiciones edafoclimáticas, el tratamiento poscosecha y el tostado (Saltini, Akkerman & Frosch, 2013).

El cotiledón de los granos de cacao sin fermentar contienen un alto contenido de grasa, fibra y agua, así como de carbohidratos, proteínas, polifenoles, purinas y minerales (da Silva, Fonseca, Spínola & da Silva, 2011). Estos compuestos serán modificados durante el proceso de fermentación mediante actividad microbiana en el mucílago y enzimática en el cotiledón, con intercambio de transporte de compuestos entre ambas regiones (Schwan & Wheals, 2004). En el mucílago, lo deseable es que los azúcares asimilables se transformen en alcohol y posteriormente en ácido acético mediante la acción de levaduras y bacterias acéticas, respectivamente. Sin embargo, la fermentación no es un proceso biológico con cultivos homogéneos es un proceso por contaminación endógena, por lo que existe la presencia de grupos de levaduras, bacterias lácticas, bacterias acéticas y bacilos. Lo anterior conlleva a la formación de una gran cantidad de compuestos volátiles (ácidos, alcoholes, ésteres, aldehídos). Simultáneamente, en el cotiledón los cambios incluyen la degradación de proteínas por proteasas, generando péptidos y aminoácidos; además de cambios en los azúcares reductores, estas sustancias serán la base para las reacciones de Maillard durante los procesos de deshidratación (secado y tostado) (Hashim, Selamat, Kharidah & Ali, 1998). El contenido de compuestos fenólicos disminuyen ampliamente durante los días de fermentación, además migran del interior del cotiledón hacia el mucílago, pasando a través de la testa; simultáneamente, las purinas (Teobromina y cafeína) son eliminadas por exudación (Timbie, Sechris & Keeney, 1978).

En el tostado de los granos de cacao se llevan a cabo cambios de naturaleza química y estos dependen de la forma en que ocurren los procesos de transferencia de calor y de variables como temperatura y tiempo. Se ha detectado la presencia de más de 600 compuestos volátiles como pirazinas, aldehídos, ésteres, tiazoles, fenoles, cetonas, alcoholes y furanos en los granos de cacao. Las pirazinas y aldehídos son los principales compuestos formados durante el tostado (Huang & Barringer, 2011).

El mecanismo de transferencia de calor más utilizado durante el tostado de los granos de cacao es el tostado convectivo (tostado por aire caliente), mediante el cual los granos son sometidos a temperaturas dentro del intervalo 150 °C - 250 °C por tiempos de 30 min a 120 min (Zzaman & Yang, 2013). Los cambios físicos y químicos que ocurren durante el proceso son sumamente complejos, de tal forma que los métodos instrumentales usados para la determinación de los compuestos que se forman o desaparecen durante esta etapa requieren de diversas técnicas instrumentales de separación (Rivera, Velasco & Rincón, 2013). Por lo tanto, se ha reportado que el uso de la espectroscopia en el infrarrojo mediano ha demostrado ser una herramienta útil para el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras complejas, sin la necesidad de etapas previas de separación, proporcionando un mapeo de la composición química y estructural de los mismos. Además, es un detector casi ideal para ser acoplado a sistemas con flujo (Fareez, Noor & Bong, 2015; Gallignani, Torres, Ayala & Brunetto, 2008).

El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto del tiempo de tostado siguiendo los cambios vibracionales que ocurren en los grupos funcionales característicos de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) medidos mediante espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.

## Materiales y Métodos

### Material experimental

Se utilizaron granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) limpios, libres de impurezas físicas, fermentados y secos, los cuales se obtuvieron de la comercializadora Intercambio Mexicano de Comercio (IMCO), S. A. de C. V., ubicada en la carretera Cárdenas-Comalcalco S/N, en la ciudad de Cárdenas, en el estado de Tabasco, México. Los granos de cacao que comercializa IMCO son una mezcla de cultivares de cacao de una región conocida con el nombre de la Chontalpa en el estado de Tabasco. Esta mezcla corresponde a una cruce natural del cacao criollo (*T. Cacao* ssp. *cacao*) y del cacao forastero (*T. Cacao* ssp. *Sphaerocarpum*) que recibe el nombre de Trinitario. Predominan principalmente las formas del fruto amelonado y calabacillo (López, Delgado & Azpeitia, 1996).

### Tostado de cacao

Para cada experimento se utilizaron 2.5 kg de granos de cacao. El proceso de tostado se realizó en un sistema rotatorio marca 100%MEX ([www.mye100mex.com.mx](http://www.mye100mex.com.mx)). El equipo consiste en un horno rotatorio con capacidad para 3 kg de cacao. El horno cuenta con dos sistemas de medición de temperatura, los cuales registran la temperatura en la superficie y en el seno este. Cuenta con una unidad de extracción de aire y una unidad de enfriamiento justo a la salida del tambor. A través de la extracción de aire se permite el enfriamiento homogéneo de las partículas. Las pruebas de tostado se realizaron a 100 °C, 140 °C y 180 °C; el muestreo se realizó en los tiempos de 0 min, 21 min y 50 min de tostado.

### Caracterización por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR)

Todos los espectros se obtuvieron de polvos de granos de cacao tostado con y sin grasa a temperatura ambiente. Para ello, las muestras de cacao tostadas fueron separadas de la cascarilla y los cotiledones fueron molidos y tamizados a través de una malla estándar # 20 (850 µm, Montinox "Manufacturado por Montiel inoxidable México").

Las muestras se desgrasaron mediante el método de Soxhlet utilizando como medio de extracción éter de petróleo de acuerdo con la NMX-F-615-NORMEX-2004 (Diario Oficial de la Federación [DOF], 2004).

En la caracterización por FT-IR se utilizó un equipo Perkin Elmer (modelo *Spectrum One*), empleando un ATR de diamante controlado con *software* para *Windows*®. Las muestras de polvo de cacao con y sin grasa fueron analizadas en la región de 4000 cm<sup>-1</sup> - 400 cm<sup>-1</sup>, con 16 scans por espectro y resolución de 4 cm<sup>-1</sup>. Los datos de los espectros fueron exportados en formato ASCII y se analizaron utilizando *Originpro 8*.

## Resultados y Discusión

### Cambios espectrales durante el tostado de cacao

Los cambios en las características espectrales se estudiaron en función del tiempo y temperatura de tostado de granos de cacao en el tambor rotatorio. La figura 1 y 2 muestran los espectros a diferente temperatura y tiempo de tostado comparándolos entre sí. La figura 1 compara los diferentes espectros a los 21 min de tostado en la búsqueda de cambios en las señales, encontrando que no existen cambios significativos. En la figura 2 se consideró la temperatura de 180 °C en tres diferentes tiempos, buscando encontrar diferencias con respecto al tiempo cero que indica cacao sin tostar. Las señales mostraron similitud en la posición de los picos obtenidos entre los espectros a diferentes temperaturas y tiempos, indicando que idénticos compuestos están presentes durante el tostado. La diferencia se presentó en la intensidad de los picos. Estos resultados evidenciaron cambios en los porcentajes de transmitancia durante el presente estudio; un comportamiento similar se ha reportado en el tostado en almendras (Ng, Lasekan, Muhammad, Sulaiman & Hussain, 2014). Durante el proceso de tostado de cacao, el tratamiento térmico aplicado da inicio a reacciones entre azúcares reductores y aminoácidos o péptidos de cadena corta, lo que reduce la concentración de estos compuestos (Frauendorfer & Schieberle, 2008); sin embargo, los cambios en el contenido son pequeños, comparados con la concentración de otros componentes como el de lípidos. También se presenta liberación de ácidos volátiles de bajo peso molecular. En la tabla 1 se muestran las frecuencias y asignaciones correspondientes al espectro de la figura 1 identificadas con números consecutivos (1 - 29) para el tiempo cero; señales del mismo tipo se observan en las muestras a 21 min a 100 °C, por lo que los análisis reportados se toman a partir de los cambios observados como función del tiempo.

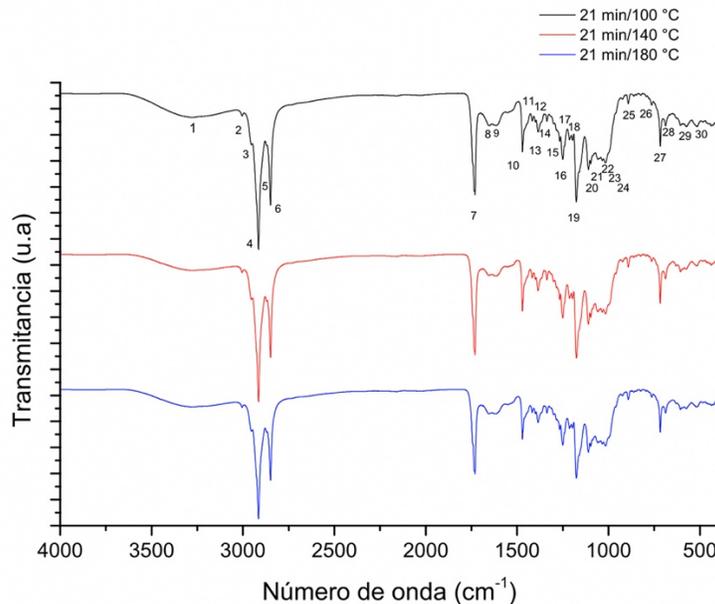


Figura 1. Espectros FT-IR de muestras de granos de cacao obtenidas a 21 min a diferentes temperaturas durante el tostado en sistema de tambor rotatorio.

Fuente: Elaboración propia.

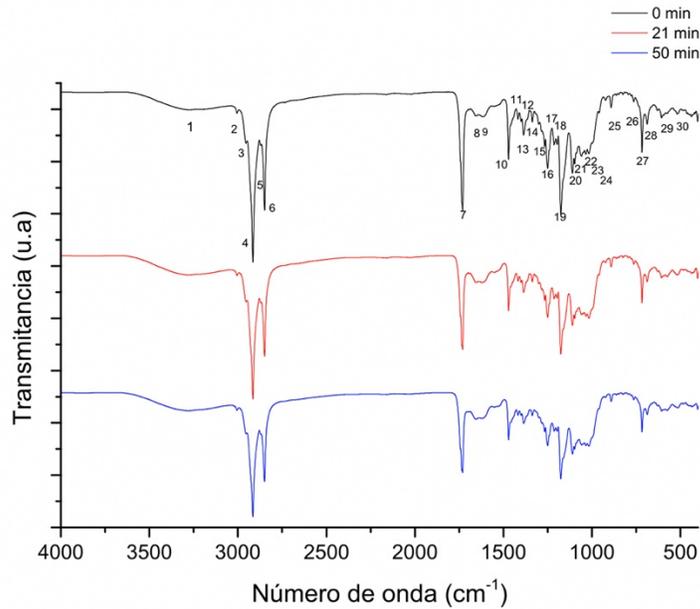


Figura 2. Espectros FT-IR de muestras de granos de cacao obtenidas a diferentes tiempos durante el tostado a 180 °C en tambor rotatorio.  
Fuente: Elaboración propia.

En la región de vibración de extensión X-H ( $4000\text{ cm}^{-1}$ - $2500\text{ cm}^{-1}$ ), vibraciones de extensión de enlaces C-H características se identificaron en el presente estudio a  $3285\text{ cm}^{-1}$  y  $2848\text{ cm}^{-1}$  (1-6), las cuales identifican una gran variedad de grupos funcionales, entre ellos alcoholes, aminas, lípidos y compuestos fenólicos, así como compuestos hetero-aromáticos como piridinas, pirazinas, pirroles, furanos y tiofenos (Silverstein, Xebster & Kiemle, 2005). De acuerdo con Aprotosoia, Luca & Miron (2016) y Silwar (1988), entre 500 y 600 compuestos volátiles se han identificado durante el tostado de los granos de cacao, de los cuales, 120 de estos compuestos están relacionados con el aroma de cacao, donde los grupos químicos más comunes son glúcidos, aldehídos, alcoholes, cetonas, ácidos, ésteres, furanos, pirroles, y pirazinas. Lo anterior confirma que los seis modos vibracionales identificados en la región de extensión no son independientes, sino que están acoplados a grupos adyacentes y confirman la complejidad del material (Hu *et al.*, 2016; Silverstein *et al.*, 2005).

Las vibraciones de extensión simétricas y asimétricas de los enlaces H-O-H se localizan aproximadamente entre  $3490\text{ cm}^{-1}$ - $3280\text{ cm}^{-1}$ , vibraciones correspondientes al enlace o grupo N-H (Amida A y B) están incluidas en la misma región, lo que hace difícil su identificación (Castorena-García, Rojas-López, Delgado-Macuil & Robles-de la Torre, 2011). Las bandas centradas a  $2919\text{ cm}^{-1}$  y  $2848\text{ cm}^{-1}$  son asignadas a vibraciones asimétricas y simétricas de extensión del grupo C-H de los lípidos (Hu *et al.*, 2016; Ng *et al.*, 2014; Veselá *et al.*, 2007).

**Tabla 1.** Asignación de modo vibracional y atribución a la frecuencia de muestras de granos de cacao obtenidas durante el tostado.

ID	(cm <sup>-1</sup> )	Modo vibracional	Atribución principal
1	3285	v(OH)	Alcohol, Fenol, Flavonoide
2	3002	v <sub>s</sub> (=CH)	
3	2952	v <sub>AS</sub> (CH <sub>3</sub> )	
4	2919	v <sub>AS</sub> (CH <sub>2</sub> )	Lípidos
5	2872	v <sub>s</sub> (CH <sub>3</sub> )	
6	2848	v <sub>s</sub> (CH <sub>2</sub> )	Lípidos, aldehídos
7	1730	v(C=O)	Éster, lípidos, aldehídos
8	1657	v(C=O)	Amida I, aldehídos, cetonas
9	1613	v(C=O), v(CC)	Flavonoides
10	1471	ρ(CH <sub>2</sub> )	Lípidos
11	1416	ρ <sub>s</sub> (CH <sub>3</sub> ), v <sub>s</sub> (COO <sup>-</sup> )	Flavonoides
12	1399	δ <sub>s</sub> (CH <sub>3</sub> ),	Proteínas
13	1382	v(C=O), ρ(CH), ρ(NH), ρ(CH <sub>3</sub> )	Proteínas
14	1339	v(CH), v(CH <sub>2</sub> )	Polifenoles, lípidos, cetonas
15	1302	v(CN), ρ(NH)	Amida III
16	1265	ρ <sub>AS</sub> (CCO), ρ(OH)	Flavonoides
17	1252	v(C-O), v(C-N),	Amida III
18	1215	v(CCOC), ρ(CCOC),	Cetonas
19	1195	v <sub>AS</sub> (OC=C)	Ésteres, pirazinas
20	1178	v(CC), v(CN), v(CO),	Proteínas, cetonas
21	1112	v <sub>s</sub> (COC)	Éster aromático; polifenoles
22	1095	v(CO)	Éster
23	1058	v(CC), v(=COC), ρ(CO)	Alcohol primario; flavonoides;
24	1031	v(CC), v(CN), v(CO)	Doble anillo ciclohexano
25	1014	v(CC), v(CN), v(CO)	Alcoholes secundarios
26	892	v(CH), v(CC)	Mono y disacárido
27	760	v(CH)	
28	713	v(CH)	
29	686	v(CH)	

v: extensión, ρ: flexión, δ: tijeo, S: simétrico, AS: asimétrico

Fuente: Elaboración propia.

En la región del doble enlace (2000 cm<sup>-1</sup>-1550 cm<sup>-1</sup>) se identifica un pico a 1730 cm<sup>-1</sup> (7), que identifica la presencia del grupo carbonilo C=O asociado al éster de los triglicéridos, la cual es característica de aceites o grasas (Hu *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2012; Ng *et al.*, 2014). Dependiendo de qué más esté unido al grupo carbonilo, existirán otros picos que se puedan buscar para diferenciar entre aldehídos, cetonas y ácidos grasos. Los lípidos son los compuestos que se encuentran en mayor proporción en los granos de cacao con un porcentaje entre 47% - 55% en base seca de cotiledón (Lehrian & Patterson, 1983; Wood & Lass, 1987). Los granos de cacao tienen tres clases de triglicéridos (saturados, monoinsaturados y poli-insaturados), con aproximadamente un 25% de ácido palmítico, 35% de ácido oléico y 35% de ácido esteárico (Torres-Moreno, Torrescasana, Salas-Salvadó & Blanch, 2015), por lo que señales asociadas a alcanos y alquenos están presentes. Por lo anterior, las señales de mayor intensidad (4, 6, 7, 19) en la figura 2 están asociadas a los ácidos y ésteres de los lípidos presentes en el cacao. Los aldehídos en el cacao están presentes desde antes del proceso de tostado y contienen principalmente 3 metil-butanal (Frauendorfer &

Schieberle, 2008), por lo que las señales 6 y 7 pueden también definir a los grupos funcionales de aldehídos y cetonas. Dos picos de menor intensidad a  $1657\text{ cm}^{-1}$  y  $1613\text{ cm}^{-1}$  (8 y 9) identifican amida I y flavonoides, respectivamente (Hu *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2012; Schulz & Baranska, 2007; Veselá *et al.*, 2007), así también al grupo funcional de los aldehídos a  $1657\text{ cm}^{-1}$ .

Las amidas muestran una banda de absorción del grupo carbonilo conocida como banda de la amida I. Las amidas primarias y secundarias muestran una banda o varias bandas en la región  $1650\text{ cm}^{-1}$ - $1515\text{ cm}^{-1}$  causado por el grupo  $\text{NH}_2$ . En el caso de sólidos, la región de absorción es aproximadamente en los  $1650\text{ cm}^{-1}$  (Silverstein *et al.*, 2005). En el presente estudio, el pico a  $1657\text{ cm}^{-1}$ , de acuerdo con Schulz & Baranska (2007) y Movasaghi, Rehman & Ur Rehman (2008), corresponde a una estructura helicoidal de amida I. Por otro lado, el pico a  $1613\text{ cm}^{-1}$  identifica a una estructura de anillo C-C del grupo fenil (Hu *et al.*, 2016; Movasaghi *et al.*, 2008). Los compuestos fenólicos constituyen uno de los compuestos de mayor interés en el cacao debido a su función como antioxidantes y constituyen alrededor del 12% - 18% de la composición química en granos de cacao sin fermentar. El contenido principal son flavan-3-ol y flavan-3-ols (catequina y epicatequina), compuestos monoméricos de polifenoles. Durante el tratamiento poscosecha se presentan cambios bioquímicos que disminuyen su contenido; y durante el tostado, alrededor del 70% de estos compuestos son degradados debido al prolongado calentamiento (Zzaman & Yang, 2013). Los flavonoides tienen una estructura común de difenilpropanos ( $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ ) que consiste en dos anillos aromáticos ligados a través de tres carbonos que forman usualmente un heterociclo oxigenado (Wollgast & Anklam, 2000). Por lo anterior, el pico a  $3285\text{ cm}^{-1}$  y  $1613\text{ cm}^{-1}$  se conjugan identificando estructuras de los compuestos fenólicos.

En la región de huella dactilar ( $1500\text{ cm}^{-1}$ - $600\text{ cm}^{-1}$ ), el espectro es complejo y difícil de interpretar, diversos grupos funcionales absorben en esta región, pero esta singularidad permite la identificación como huella dactilar. En el espectro en esta región se pueden identificar al menos 20 picos, sin embargo, existen señales ocultas o traslapadas, por lo que fue necesario para su identificación aplicar la segunda derivada del espectro infrarrojo.

El pico a  $1471\text{ cm}^{-1}$  (10) es característico a la flexión de la cadena del metileno en lípidos, así como a  $1095\text{ cm}^{-1}$  (22), y se atribuye a la extensión C-O del grupo éster presente en la molécula de los triglicéridos (Rivera *et al.*, 2013), mientras que a  $1399\text{ cm}^{-1}$  y  $1382\text{ cm}^{-1}$  (12 y 13) se asigna un modo de flexión simétrico de tijereo y balanceo de los grupos metil de las proteínas (Movasaghi *et al.*, 2008), así como el grupo amida III a  $1302\text{ cm}^{-1}$  y  $1252\text{ cm}^{-1}$  (15 y 17), el cual incluye extensión C-N y flexión en el plano N-H. Hu *et al.* (2016) reportan la presencia de proteínas a  $1178\text{ cm}^{-1}$  en chocolates, encontrándose la misma banda (20) en el presente estudio.

De acuerdo con de Brito *et al.* (2001), los niveles de proteína se mantienen constantes durante el secado y tostado de cacao, no así los grupos amino terminales y aminoácidos libres totales, los cuales disminuyen durante el tostado. Los aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular y azúcares reductores son precursores del aroma y se producen durante el tratamiento poscosecha, y es durante el tostado, debido a las condiciones de temperatura y niveles de humedad reducidos, que se llevan a cabo reacciones de Maillard y degradación tipo Strecker (Caligiani, Cirlini, Palla, Ravablia & Arlorio, 2007; Cros, 1998). Paralelamente, se produce racemización de compuestos quirales de aminoácidos y polifenoles. Lo anterior permite la formación de compuesto como pirazinas, alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, furanos tiazoles, pironas, ácidos, iminas aminas, oxazoles, pirroles y éteres. El grupo carbonilo derivado de la reacción de Maillard reacciona con los aminoácidos libres durante la degradación de Strecker, por lo que cada aminoácido específico producirá un único aldehído con un único aroma (Jinap, Wan Ishak, Rahman & Nordin, 1998; Kongor *et al.*, 2016).

A  $1471\text{ cm}^{-1}$  y  $1416\text{ cm}^{-1}$  (10 y 11) se identifican señales atribuibles a polifenoles. De acuerdo a Gorinstein *et al.* (2010), la región de polifenoles muestra bandas ligeramente diferentes con respecto a los estándares, indicando los casos particulares de catequina y ácido gálico. El espectro de catequina muestra picos a  $831\text{ cm}^{-1}$ ,  $1040\text{ cm}^{-1}$ ,  $1112\text{ cm}^{-1}$ ,  $1144\text{ cm}^{-1}$ ,  $1285\text{ cm}^{-1}$ ,  $1478\text{ cm}^{-1}$ ,  $1512\text{ cm}^{-1}$  and  $1611\text{ cm}^{-1}$ , asignados a -C-H alquenos, -C-O alcoholes, C-O-H alcoholes, -OH aromáticos, C-O alcoholes, C-H alcanos, C=C anillos aromáticos y C=C alquenos, respectivamente. El ácido gálico muestra bandas de absorción a  $866\text{ cm}^{-1}$ ,  $1026\text{ cm}^{-1}$ ,  $1237\text{ cm}^{-1}$ ,  $1451\text{ cm}^{-1}$ ,  $1542\text{ cm}^{-1}$  y  $1619\text{ cm}^{-1}$ . En las muestras del estudio las bandas asignadas a polifenoles estarían asociadas a  $1471\text{ cm}^{-1}$ ,  $1416\text{ cm}^{-1}$ ,  $1339\text{ cm}^{-1}$ ,  $1265\text{ cm}^{-1}$ ,  $1112\text{ cm}^{-1}$  y  $1058\text{ cm}^{-1}$  (Liu *et al.*, 2012; Movasaghi *et al.*, 2008). De acuerdo con Caligiani *et al.* (2007), la cantidad de (+)-catequina incrementa significativamente durante el proceso de tostado como consecuencia de la isomerización de (-)-epicatequina, mientras que Payne, Hurst, Miller, Rank & Stuart (2010) encontraron que el incremento es mayor a 600%. Las señales asignadas a polifenoles antes señaladas no permiten observar el incremento debido, principalmente, a la presencia de los lípidos. En el análisis posterior de la segunda derivada y en muestras desgrasadas que se presentan en las figuras subsecuentes se aclara este incremento.

La banda de O-C-C de ésteres de alcoholes secundarios se presenta alrededor de  $1100\text{ cm}^{-1}$ , mientras los ésteres aromáticos de alcoholes primarios muestran absorción en aproximadamente a  $1111\text{ cm}^{-1}$ , por lo que el pico encontrado a  $1112\text{ cm}^{-1}$  (21) corresponde a este tipo de grupos funcionales.

La absorción para el grupo de cetonas (C-C-C extensión, C-C-(=O)-C flexión en el grupo C-C-C) dan origen a múltiples bandas en el espectro de IR. Las cetonas alifáticas absorben en el intervalo de  $1230\text{ cm}^{-1}$ - $1100\text{ cm}^{-1}$ . En nuestras muestras la señal a  $1215\text{ cm}^{-1}$  (18) y  $1195\text{ cm}^{-1}$  (19) se identifican como modos vibracionales de extensión y flexión correspondientes al grupo de cetonas que presentan picos débiles y estrechos (Movasaghi *et al.*, 2008; Ng *et al.*, 2014; Silverstein *et al.*, 2005). En el intervalo de frecuencias entre  $900\text{ cm}^{-1}$ - $750\text{ cm}^{-1}$  se encuentran presentes gran variedad de picos con baja intensidad y resulta difícil poder efectuar una asignación de los grupos funcionales, debido a bandas correspondientes a movimientos de las macromoléculas.

Los principales cambios observados fueron detectados como porcentaje de transmitancia y se presentan en aldehídos, ésteres, ácidos carboxílicos y aminas. El incremento fue observado en aldehídos, ésteres y amida III ( $2840\text{ cm}^{-1}$ ,  $1730\text{ cm}^{-1}$ ,  $1252\text{ cm}^{-1}$  y  $1112\text{ cm}^{-1}$ ), mientras que hubo una disminución en la señal de  $1657\text{ cm}^{-1}$  asignadas a amida I, aldehídos y cetonas. Estos cambios son función de los compuestos involucrados en el sabor y aroma de origen térmico, tal como menciona Frauendorfer & Schieberle (2008), quienes enfatizan que durante el tostado existen cambios cuantitativos más que cualitativos en la composición química de un pequeño conjunto de compuestos clave en el aroma. Entre estos compuestos se encuentran principalmente los aldehídos, furanos y pirazinas, formados de precursores durante el tostado. Por otro lado, Ng *et al.* (2014) establecen que la disminución o incremento de los ésteres están asociados al desarrollo de componentes de aromas ácidos y almendrados, así como a la liberación de volátiles. La disminución de aminas primarias se encuentra asociada a reacciones de Maillard con la formación de color y aroma.

## Análisis de la segunda derivada del espectro infrarrojo

Los espectros correspondientes a la segunda derivada de las muestras se presentan en las figuras 3, 4 y 5. Al aplicar la segunda derivada, diversas señales ocultas o traslapadas se encontraron en el intervalo de  $600\text{ cm}^{-1}$ - $1800\text{ cm}^{-1}$  y, de forma particular, en la región denominada de huella dactilar, los cuales difieren de los identificados previamente en el espectro IR.

En la figura 3, en el intervalo de absorción de  $1800\text{ cm}^{-1}$ - $1500\text{ cm}^{-1}$  se asignan cinco picos, destacando por su intensidad a  $1744\text{ cm}^{-1}$ ,  $1735\text{ cm}^{-1}$  y  $1730\text{ cm}^{-1}$  (2, 3 y 4), confirmando la presencia del grupo carbonilo y el doble enlace C=C, así como la banda de absorción de ésteres de ácidos grasos (Frauendorfer & Schieberle, 2008). A los tres tiempos de tostado se ubican las mismas señales, diferenciándose en la intensidad de los picos, siendo estas de mayor a menor intensidad en los tiempos de 0 min, 21 min y 51 min, respectivamente. Adicionalmente, en el intervalo de  $1500\text{ cm}^{-1}$ - $1000\text{ cm}^{-1}$  (figura 3) varios picos traslapados fueron definidos dando origen a dos o más señales, identificándose 28 señales de vibración con respecto a las 16 asignadas en el espectro de la figura 2 (tabla 1). De las nuevas asignaciones, 13 coincidieron con aquellas asignadas en el espectro normal. La señal a  $1472\text{ cm}^{-1}$ - $1471\text{ cm}^{-1}$  asignada a vibración de flexión de balance de grupos metil-metileno claramente se aprecia como el pico de mayor intensidad, identificado con el número 7 en la figura 2 y con el número 1 en la figura 4.

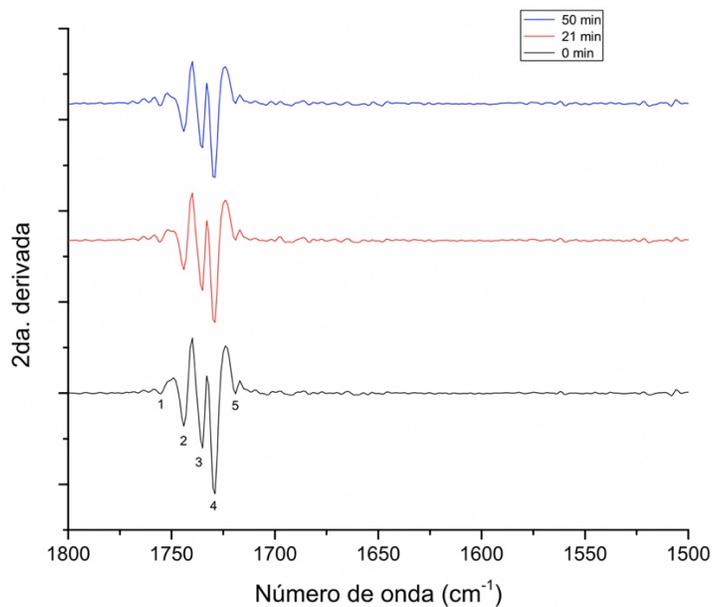
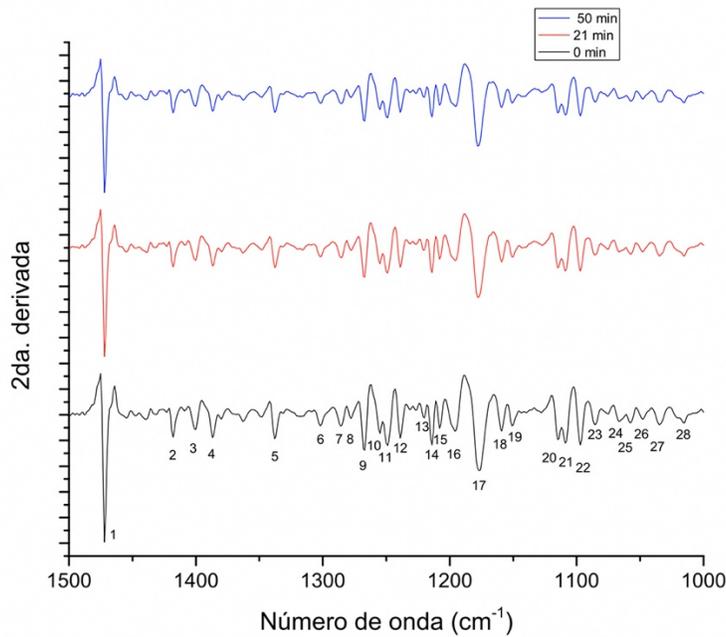


Figura 3. Segunda derivada del espectro FT-IR de muestras de granos de cacao obtenidas a diferentes tiempos durante el tostado a  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  en sistema de tambor rotatorio, en el intervalo de  $1800\text{ cm}^{-1}$ - $1500\text{ cm}^{-1}$ .

Fuente: Elaboración propia.



**Figura 4.** Segunda derivada del espectro FT-IR de muestras de granos de cacao obtenidas a diferentes tiempos durante el tostado a 180 °C en sistema de tambor rotatorio, en el intervalo de 1500 cm<sup>-1</sup>–1000 cm<sup>-1</sup>.  
Fuente: Elaboración propia.

Las diferencias entre las muestras en el tiempo de tostado siguen siendo la intensidad de los picos de mayor a menor: 0 min > 21 min > 51 min.

Para las señales en el intervalo de 1000 cm<sup>-1</sup> – 600 cm<sup>-1</sup> (figura 5) se lograron identificar alrededor de 20 picos, con respecto de los cuatro identificados en el espectro normal, confirmándose estos mismos picos en la segunda derivada. El pico a 717 cm<sup>-1</sup> mostró la mayor intensidad de todas las señales y, de acuerdo con Hansen & Spanget-Larsen (2003), bandas observadas en la región 760 cm<sup>-1</sup> -700 cm<sup>-1</sup> son asignadas a modos vibracionales de flexión OH, correspondientes a compuestos fenólicos con enlaces de hidrógeno intramolecular. Por otro lado, Liu *et al.* (2012) señalan que la intensidad relativa de los picos cercanos a 1150 cm<sup>-1</sup>, 1080 cm<sup>-1</sup>, 1029 cm<sup>-1</sup>, 1010 cm<sup>-1</sup>, 917 cm<sup>-1</sup> y 716 cm<sup>-1</sup> permiten diferenciar el contenido de carbohidratos. Redgwell, Trovato & Curti (2003) evaluaron los cambios en los carbohidratos y polisacáridos de pared celular durante el tostado, estableciendo que los azúcares reductores como glucosa y fructosa disminuyen durante el tostado, no así los no reductores. Los primeros disminuyen como función de la interacción con aminoácidos durante las reacciones de Maillard, por lo que los cambios apreciables en el intervalo antes descrito pueden atribuirse a los cambios en los azúcares reductores durante el tostado. En el presente estudio se asignaron señales a 1150 cm<sup>-1</sup>, 1086 cm<sup>-1</sup>, 1035 cm<sup>-1</sup>, 1015 cm<sup>-1</sup>, 922 cm<sup>-1</sup> y 717 cm<sup>-1</sup> que corresponderían a la presencia de carbohidratos y cuya intensidad en la segunda derivada corresponden de mayor a menor en las muestras: 0 min > 21 min > 51 min.

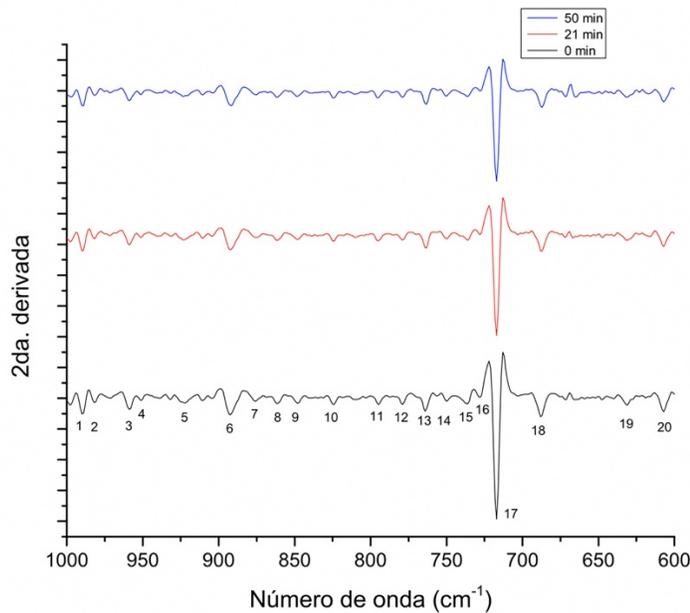


Figura 5. Segunda derivada del espectro FT-IR de muestras de granos de cacao obtenidas a diferentes tiempos durante el tostado a 180 °C en sistema de tambor rotatorio, en el intervalo de 1000 cm<sup>-1</sup>–600 cm<sup>-1</sup>.  
Fuente: Elaboración propia.

### Análisis de muestras desgrasadas de las pruebas de tostado

En la figura 6 se aprecian las bandas espectrales entre el tiempo inicial sin desgrasar y desgrasado. Se identifican los picos que permanecen antes y después del desgrasado con los números asignados previamente. Una reducción de señal en los picos 4, 6, 7, 10, 16 y 27 se aprecia adecuadamente, los cuales corresponden en su mayoría a la asignación de lípidos (tabla 1). Aunque el proceso de desgrasado fue llevado a cabo (método Soxhlet), se confirma aún la presencia de grupos asignados a los lípidos. La eficiencia de extracción con solvente ha sido evaluada por Roiaini, Seyed, Jinap & Norhayati (2016), quienes demostraron que existen otros métodos alternativos para una extracción eficiente de la grasa en granos de cacao, de allí que aún estén presentes señales de lípidos. En las señales encontradas en la figura 6, la señal a 3285 cm<sup>-1</sup> designada con el valor 1 se incrementa, asociada con el grupo OH y atribuidas principalmente a los compuestos fenólicos presentes en el polvo de cotiledón de cacao. Diferentes picos presentes antes de desgrasar no aparecen y en el intervalo de la región 1800 cm<sup>-1</sup>-600 cm<sup>-1</sup> se presentan los principales cambios con la presencia de nuevos picos y otros posiblemente traslapados. En esta región, conocida como huella dactilar, están presentes una gran cantidad de señales que estarían asociadas a los compuestos presentes en el cacao. De acuerdo con Lopez & Dimick (1995), después de la grasa, los componentes en mayor composición son las proteínas (8%-10%), los polifenoles (5%-6%), almidón (4%-6%) y pentosas (4%-6%); sin embargo, como se ha descrito previamente, existen una gran cantidad de compuestos en pequeñas concentraciones en distintas clases químicas.

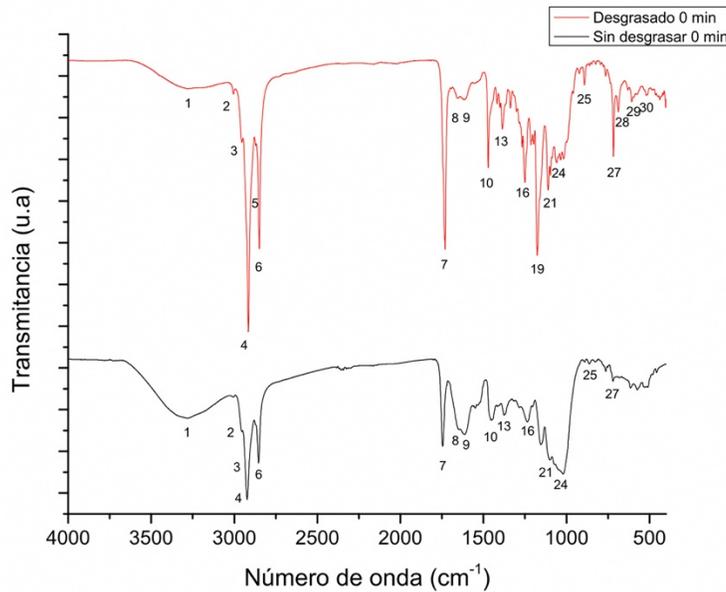


Figura 6. Espectros de FT-IR de muestra de granos de cacao desgrasadas y sin desgrasar.  
Fuente: Elaboración propia.

En la figura 7 se aprecia la reducción en las intensidades de los picos asociados a los grupos funcionales metil y metileno 4, 6, 7 y 10 ( $2919\text{ cm}^{-1}$ ,  $2848\text{ cm}^{-1}$ ,  $1730\text{ cm}^{-1}$  y  $1471\text{ cm}^{-1}$ ) de los ácidos grasos de los lípidos como función del tiempo de tostado. El proceso de tostado promueve la liberación de los lípidos de la matriz sólida, lo que indica la facilidad de extracción de la materia grasa después del tostado para la obtención del licor de cacao. Otro de los aspectos importantes entre el tiempo inicial de las muestras, con y sin grasa, es el aumento en la intensidad de la señal que se identifica como un hombro definido por la región de vibración de extensión O-H correspondiente al pico  $1\text{ cm}^{-1}$  a  $3285\text{ cm}^{-1}$ . Así también, se muestra el incremento en la región comprendida entre  $1058\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a una de las señales que complementa a las catequinas. El incremento estaría asociado a la reacción previamente comentada y señalada por Caligiani *et al.* (2007). La deformación en el intervalo comprendido entre  $1750\text{ cm}^{-1}$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$  indica la complejidad de los sistemas de reacción, no solamente entre la isomerización de los compuestos fenólicos sino también con respecto a su capacidad para reaccionar e interactuar con las proteínas y formar estructuras complejas que definen los atributos sensoriales (Abecia-Soria, Pezoa-García & Amaya-Farfan, 2005). En función de tal complejidad, diversas investigaciones han establecido los métodos espectroscópicos en la infrarrojo medio y cercano para la discriminación rápida, confiable y precisa con el uso de técnicas estadísticas de análisis multivariable para diferenciar entre los cultivares y su origen geográfico (Teye *et al.*, 2015; Teye, Huang, Dai & Chen, 2013), como función de las posiciones, intensidad relativa y forma de los picos (Liu *et al.*, 2012). Por lo tanto, en este estudio se puede comprobar que el FT-IR es viable para evidenciar cambios a través del proceso de tostado, como se ha demostrado en secado de pimiento rojo (Castañeda-Pérez, Osorio-Revilla, Gallardo-Velázquez & Proal-Nájera, 2013) y en tostado de café (Fernandes, de Souza, Da-Wen, Nixdor & Hirooka, 2014).

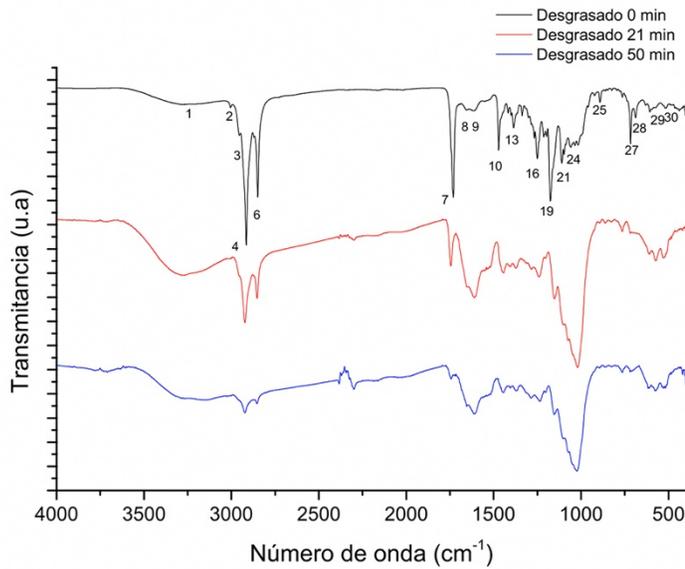


Figura 7. Espectros de FT-IR de muestras de granos de cacao desgrasadas obtenidas a diferentes tiempos durante el tostado a 180°C en sistema de tambor rotatorio.  
Fuente: Elaboración propia.

El espectro correspondiente a la segunda derivada de cacao tostado y desgrasado es mostrado en la figura 8. Se puede observar dentro del intervalo de  $1800\text{ cm}^{-1}$ - $1500\text{ cm}^{-1}$  la asignación de más de 35 picos, que supera ampliamente las cinco asignaciones mostradas en la figura 2 y el reflejo de una composición química compleja. Los picos reflejados a tiempo 0 min también están presentes a los 21 min y 50 min, aunque la intensidad disminuye en función del tiempo de tostado. Los picos que resaltan identificados con 6, 7, 8 y 9 en el intervalo  $1758\text{ cm}^{-1}$ - $1733\text{ cm}^{-1}$  nuevamente confirman la presencia del grupo carbonilo y el doble enlace C=C, que previamente fueron asignados en la figura 3 y la banda de absorción de ésteres de ácidos grasos a  $1700\text{ cm}^{-1}$ . El pico identificado a  $1717\text{ cm}^{-1}$ (12) y aquellos de  $1686\text{ cm}^{-1}$ - $1671\text{ cm}^{-1}$ (17-20) corresponden a vibración de extensión (C=O) de la amida I, mientras que asignaciones en el intervalo  $1542\text{ cm}^{-1}$ - $1522\text{ cm}^{-1}$  son asignadas a vibración de extensión (C=N) y (C=C) de amida II. En las señales de A  $1512\text{ cm}^{-1}$  y  $1505\text{ cm}^{-1}$  se asignó a vibración de flexión en el plano de anillos fenólicos (CH), reportándose también vibración de extensión (C=C) de pigmentos celulares (Movasaghi *et al.*, 2008).

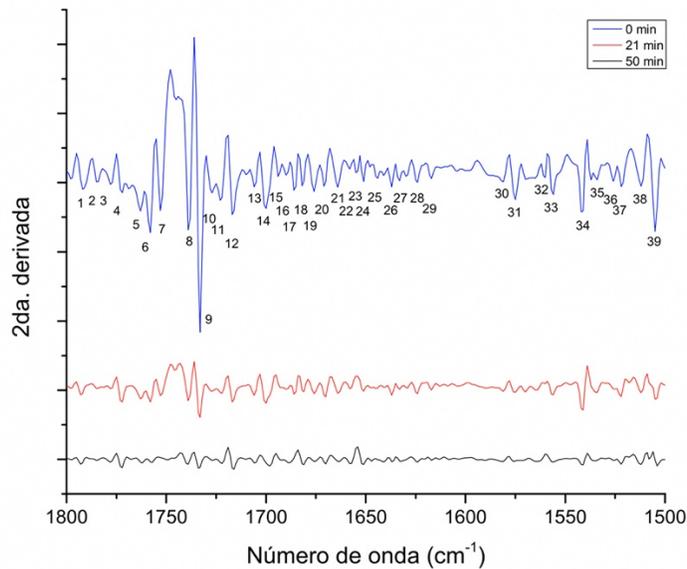


Figura 8. Segunda derivada del espectro FT-IR de muestras de granos de cacao desgrasadas obtenidas a diferentes tiempos durante el tostado a 180 °C en sistema de tambor rotatorio, en el intervalo de 1800  $\text{cm}^{-1}$ -1500  $\text{cm}^{-1}$ .

Fuente: Elaboración propia.

En la región de 1800  $\text{cm}^{-1}$ -1500  $\text{cm}^{-1}$  se presentan cambios similares a los reportados durante el tostado de café (Rivera *et al.*, 2013), enfatizando el efecto en el pico a 1650  $\text{cm}^{-1}$  entre café verde y tostado, asignado a la presencia de cafeína. De igual manera, el cacao posee cafeína y en mayor proporción teobromina, localizándose un pico a 1651  $\text{cm}^{-1}$  (21) que está asociado a la cafeína y dos picos a 1690  $\text{cm}^{-1}$  y 1664  $\text{cm}^{-1}$  (21 y 16) a la teobromina, de acuerdo con Johnson, Prakash, Prathiba, Raghunathan & Malathi (2012), donde los tres picos disminuyen como función del tiempo de tostado. Estas metilxantinas estructuralmente contienen dos grupos vibracionales carbonilos en la posición meta, por lo que bandas de 1651  $\text{cm}^{-1}$ , 1690  $\text{cm}^{-1}$  y 1664  $\text{cm}^{-1}$  están asociadas a este tipo de grupos y son del tipo de estiramiento asimétrica y simétricas. La teobromina es la principal metilxantina asociada al sabor amargo en los granos de cacao (Pickenhagen *et al.*, 1975), la cual se diferencia de la cafeína químicamente en un solo grupo metil, por lo que también presentarán una señal entre 2919  $\text{cm}^{-1}$  y 2848  $\text{cm}^{-1}$ , como se ve en las figuras 1 y 7.

## Conclusiones

La técnica de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) permitió identificar una gran cantidad de compuestos durante el tostado de granos de cacao que evidenciaron más cambios cuantitativos que cualitativos. Las bandas asignadas en el espectro normal ocultan señales presentes en las muestras de cacao por la presencia de vibraciones espectrales de los lípidos. La aplicación de la segunda derivada permitió identificar una mayor cantidad de picos en la región de 1800  $\text{cm}^{-1}$ -1500  $\text{cm}^{-1}$ , de forma particular en muestras desgrasadas. Las diferencias encontradas en el porcentaje de transmitancia están asociadas a grupos de ésteres, aldehídos, ácidos carboxílicos y aminas, las cuales evidencian cambios que se generan por reacciones tipo Maillard a partir de la interacción entre aminoácidos libres, azúcares reductores y polifenoles.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) de México por la beca 393375 de la estudiante de la Maestría en Ciencias Agroalimentarias. Al Laboratorio de Ingeniería de Procesos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) y al Instituto Tecnológico de Ciudad Madero (ITCM) donde se realizaron las pruebas de tostado y espectroscopía, respectivamente.

## Referencias

- Abecia-Soria, L., Pezoa-García, N. H., & Amaya-Farfan, J. (2006). Soluble Albumin and Biological Value of Protein in Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Beans as a Function of Roasting Time. *Journal of Food Science*, 70(4), S294-S298 doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07205.x>
- Aprotosoia, A. C., Vlad Luca, S., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91. doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Caligiani, A., Cirlini, M., Palla, G., Ravablia, R., & Arlorio, M. (2007). GC-MS Dtection of Chiral Markers in Cocoa Beans of Differents Quality and Geographic Origin. *Chirality*, 19(4), 329-334. doi: <https://doi.org/10.1002/chir.20380>
- Castañeda-Pérez, E., Osorio-Revilla, G. I., Gallardo-Velázquez, T., & Proal-Nájera, J. B. (2013). Uso de FTIR-HART y análisis multivariable para el seguimiento de la degradación de compuestos bioactivos durante el secado de pimiento rojo. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(2), 193-204.
- Castorena-García, J., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R., & Robles de la Torre, R. R. (2011). Análisis de pulpa y aceite de aguacate con espectroscopia infrarroja. *Conciencia Tecnológica*, 42, julio-diciembre, 5-10.
- Cros, E. (1998). Torrefacción. En: J. Pontillon (Ed.). *Cacao et chocolat. Production, utilisation, caractéristiques* (pp. 241-268). Paris: Tec & Doc-Lavoisier.
- Da Silva Oliveira, C., Fonseca Maciel, L., Spínola Miranda, M., & Da Silva Bispo, E. (2011). Phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity in different cocoa samples from organic and conventional cultivation. *British Food Journal*, 113(9), 1094–1102. doi: <https://doi.org/10.1108/0007070111174550>
- De Brito, E. S., Pezoa Garcia, N. H., Gallao, M. I., Cortelazzo, A. L., Fevereiro, P. S., & Braga, M. R. (2001). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 281–288. doi: [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2%3C281::AID-JSFA808%3E3.0.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2%3C281::AID-JSFA808%3E3.0.CO;2-B)
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2004). Norma Mexicana NMX-F-615-NORMEX-2004. Alimentos-determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos-método de prueba (Cancela a la NMX-F-089-S-1978:<https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-089-S-1978.PDF>). México, D.F. Recuperado el 16 de octubre de 2016 de [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=678206&fecha=21/05/2004](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=678206&fecha=21/05/2004)
- Fareez Edzuan, A. M., Noor Aliah, A. M., & Bong, H. L. (2015). Physical and Chemical Property Changes of Coffee Beans during Roasting. *American Journal of Chemistry*, 5(3A), 56–60. doi: <https://doi.org/10.5923/c.chemistry.201501.09>
- Fernandes Barbin, D., De Souza Madureira Felicio, A. L., Sun, D., Nixdor, S. L., & Hirooka, E. Y. (2014). Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview. *Food Research International*, 61, 23-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.005>
- Frauentorfer, F., & Schieberle, P. (2008). Changes in Key Aroma Compounds of Criollo Cocoa Beans During Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10244–10251. doi: <https://doi.org/10.1021/jf802098f>
- Gallignani, M., Torres, M., Ayala, C., & Brunetto, M. (2008). Determinación de cafeína en café mediante espectrometría infrarroja de transformada de Fourier. *Revista Técnica de la Falcultad de Ingeniería Universidad de Zulia*, 31(2), 159–168.

- Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Veerasilp, S., Ruamsuke, P., Namiesnik, J., Leontowicz, M., Leontowicz, H., Suhaj, M., & Sheng, G. P. (2010). Some analytical assays for the determination of bioactivity of exotic fruits. *Phytochemical Analysis*, 21(4), 355–362. doi: <https://doi.org/10.1002/pca.1207>
- Hansen, P. E., & Spanget-Larsen, J. (2003). NMR and IR spectroscopy of phenols. En: Z. Rappoport. *The Chemistry of Phenols* (pp. 333–393). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Hashim, P., Selamat, J., Kharidah, S., & Ali, A. (1998). Changes in Free Amino Acid, Peptide-N, Sugar and P y razine Concentration during Cocoa Fermentation. *Journal of Science, Food and Agriculture*, 78(4), 535–542. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199812\)78:4<543::AID-JSFA152>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199812)78:4<543::AID-JSFA152>3.0.CO;2-2)
- Hu, Y., Pan, Z. J., Liao, W., Li, J., Gruget, P., Kitts, D. D., & Lu, X. (2016). Determination of antioxidant capacity and phenolic content of chocolate by attenuated total reflectance-Fourier transformed-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 202, 254–261. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.130>
- Huang, Y., & Barringer, S. A. (2011). Monitoring of Cocoa Volatiles Produced during Roasting by Selected Ion Flow Tube-Mass Spectrometry (SIFT-MS). *Journal of Food Science*, 76(2), C279–C286. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01984.x>
- Jinap, S., Rosli, W. I. W., Russly, A. R., & Nordin, L. M. (1998). Effect of roasting time and temperatura on volatile component profile during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4), 441-448. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199808\)77:4%3C441::AID-JSFA46%3E3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199808)77:4%3C441::AID-JSFA46%3E3.0.CO;2-%23)
- Johnson, I. M., Prakash, H., Prathiba, J., Raghunathan, R., & Malathi, R. (2012). Spectral Analysis of Naturally Occurring Methylxanthines (Theophylline, Theobromine and Caffeine) Binding with DNA. *PLoS ONE*, 7(12), e50019. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050019>
- Kongor, J. E., Hinneh, M., Van de Walle, D., Afoakwa, E. O. Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile – a review. *Food Research International*, 82, 44-52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Lehrian, D. W., & Patterson, G. R. (1983). Cocoa fermentation. En: H. J. Rehm and Reed (Eds.). *Biotechnology, Vol 5: Food and Feed Production with Microorganisms* (pp. 529 – 575). VCH, Weinheim.
- Liu, X., Xu, C., Sun, S., Huang, J., Zhang, K., Li, G., Zhu, Y., Zhou, Q., Zhang, Z., & Wang, J. (2012). Discrimination of different genuine Danshen and their extracts by Fourier transform infrared spectroscopy combined with two-dimensional correlation infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 290–296. doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.06.013>
- López A. P., Delgado N. V., & Azpeitia M. A. (1996). *El cacao Theobroma cacao L. en Tabasco*. Huimanguillo, Tabasco, Libro Técnico No. 1. SARH, INIFAP, CIRGOC: Gobierno del Estado de Tabasco.
- Lopez, A. S., & Dimick, P. S. (1995). Cocoa fermentation. En: H. J. Rehm, & G. Redd, (Eds.). *Biotechnology* (pp. 562-576). Weinheim: Wiley VCH.
- Luna, F., Crouzillat, D., Cirou, L., & Bucheli, P. (2002). Chemical Composition and Flavor of Ecuadorian Cocoa Liquor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3527–3532. doi: <https://doi.org/10.1021/jf0116597>
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & Ur Rehman, I. (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. doi: <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- Ng, S., Lasekan, O., Muhammad, K., Sulaiman, R., & Hussain, N. (2014). Effect of roasting conditions on color development and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR) analysis of Malaysian-grown tropical almond nuts (*Terminalia catappa* L.). *Chemistry Central Journal*, 8(55), 1-11. doi: <https://doi.org/10.1186/s13065-014-0055-2>
- Payne, M. J., Hurst, W. J., Miller, K. B., Rank, C., & Stuart, D. A. (2010). Impact of fermentation, drying, roasting, and Dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10518-10527. doi: <https://doi.org/10.1021/jf102391q>
- Pickenhagen, W., Dietrich, P., Keil, B., Polonsky, J., Nouaille, F., & Lederer, E. (1975). Identification of the bitter principle of cocoa. *Helvetica Chimica Acta*, 58(4), 1078-1086. doi: <https://doi.org/10.1002/hlca.19750580411>

- Redgwell, R. J., Trovato, V., & Curti, D. (2003). Cocoa bean carbohydrates: roasting-induced changes and polymer interactions. *Food Chemistry*, 80(4), 511-516. doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00320-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00320-5)
- Rivera, W., Velasco, X., & Rincón, C. A. (2013). Evaluación por TGA y FTIR de los cambios de composición producidos por la tostión en granos de café. *Revista Colombiana de Física*, 45(3), 205–208.
- Sacchetti, G., Ioannone, F., De Gregorio, M., Di Mattia, C., Serafini, M., & Mastrocola, D. (2016). Non enzymatic browning during cocoa roasting as affected by processing time and temperature. *Journal of Food Engineering*, 169, 44–52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.018>
- Saltini, R., Akkerman, R., & Frosch, S. (2013). Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control*, 29(1), 167–187. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.054>
- Schulz, H., & Baranska, M. (2007). Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 43(1), 13–25. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2006.06.001>
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. doi: <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Silverstein, R., Webster, F., & Kiemle, D. (2005). Spectrometric identification of organic compounds. United States of America: John Wiley.
- Silwar, R. (1988). Quantitative determination of steam-volatile aroma constituents. *Café, Cacao, Thé*, 32(3), 243–250.
- Roiaini, M., Seyed, H. M., Jinap, S., & Norhayati, H. (2016). Effect of extraction methods on yield, oxidative value, phytosterols and antioxidant content of cocoa butter. *International Food Research Journal*, 23(1), 47-54
- Teye, E., Huang, X., Sam-Amoah, L. K., Takrama, J., Boison, D., Botchway, F., & Kumi, F. (2015). Estimating cocoa beans parameters by FT-NIRS and chemometrics analysis. *Food Chemistry*, 176, 403-410. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.042>
- Teye, E., Huang, X., Dai, H., & Chen, Q. (2013). Rapid differentiation of Ghana cocoa beans by FT-NIR spectroscopy coupled with multivariate classification. *Spectrochimica Acta Part A. Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 114, 183-189. doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.05.063>
- Timbie, D. J., Sechrif, L., & Keeney, P. G. (1978). Application of High-Pressure Liquid Chromatography to the Study of Variables Affecting Theobromine and Caffeine Concentrations in Cocoa Beans. *Journal of Food Science*, 43, 560–562. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb02354.x>
- Torres-Moreno, M., Torrescasana, E., Salas-Salvadó, J., & Blanch, C. (2015). Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food Chemistry*, 166, 125–132. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.141>
- Veselá, A., Barros, A. S., Synytsya, A., Delgadillo, I., Copíková, J., & Coimbra, M. A. (2007). Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat, nitrogen, and moisture of cocoa powder. *Analytica Chimica Acta*, 601(1), 77–86. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.08.039>
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423–447. doi: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
- Wood, G. A. R., & Lass, R. A. (1987). *Cocoa*. New York: Longman Scientific & Technical.
- Zzaman, W., & Yang, T. A. (2013). Effect of Superheated Steam and Convection Roasting on Changes in Physical Properties of Cocoa Bean (*Theobroma cacao*). *Food Science and Technology Research*, 19(2), 181–186.