



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Trabajo de Integración
Curricular previa la obtención
del Grado Académico de
Ingeniería en Alimentos.

Proyecto de Investigación:

“DISEÑO Y DESARROLLO DE UN CHOCOLATE FUNCIONAL CON
INCORPORACIÓN DE CANNABIDIOL (CBD) CON FINES MEDICINALES”

Autora:

Jasury Fernanda Mazacon Galeas

Directora del Proyecto de Investigación:

Ing. Wilma Maribel Llerena Silva, MSc.

Quevedo – Los Ríos - Ecuador

2023



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Mazacon Galeas Jasury Fernanda**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Mazacon Galeas Jasury Fernanda

C.C. 1206109298

2023



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. Wilma Maribel Llerena Silva, MSc.** Docente de la Facultad de Ciencias de la Industria y Producción de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y **el Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc.**, Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

Certifican que la estudiante **Mazacon Galeas Jasury Fernanda**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**DISEÑO Y DESARROLLO DE UN CHOCOLATE FUNCIONAL CON INCORPORACIÓN DE CANNABIDIOL (CBD) CON FINES MEDICINALES**”, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, bajo nuestra dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. Wilma Llerena Silva, MSc. (UTEQ)
**DIRECTORA DEL
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc. (INIAP)
**CODIRECTOR DEL
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE PLAGIO ACADÉMICO

La suscrita **Ing. Wilma Llerena Silva, MSc.**, docente de la Facultad de Ciencias de la Industria y Producción y el **Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc.**, Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), en calidad de Auspiciantes Académicos de la Unidad de Integración Curricular certificamos que se ha usado la herramienta informática URKUND producto del análisis se obtuvo una similitud de un 1% la cual no indica en ningún momento la presencia de plagio o de falta de rigor en el documento, por consiguiente doy constancia que se ha revisado la Unidad de Integración Curricular titulada “**DISEÑO Y DESARROLLO DE UN CHOCOLATE FUNCIONAL CON INCORPORACIÓN DE CANNABIDIOL (CBD) CON FINES MEDICINALES**”, el mismo que ha sido elaborado y presentado por la estudiante Mazacon Galeas Jasury, por lo tanto, el presente trabajo cumple con los requisitos técnicos y legales de la institución.



Document Information

Analyzed document	Corr.TESIS_Chocolate_funcional_CBD.pdf (D171278878)
Submitted	6/25/2023 5:33:00 PM
Submitted by	
Submitter email	jasury.mazacon2017@uteq.edu.ec
Similarity	1%
Analysis address	wllerenas.uteq@analysis.urkund.com

Ing. Wilma Llerena Silva, MSc. (UTEQ)
**DIRECTORA DEL
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc. (INIAP)
**CODIRECTOR DEL
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“DISEÑO Y DESARROLLO DE UN CHOCOLATE FUNCIONAL CON
INCORPORACIÓN DE CANNABIDIOL (CBD) CON FINES MEDICINALES”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título
Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Cyntia Yadira Erazo Solorzano

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Nelson Ramiro Villegas Soto

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Jorge Gustavo Quintana Zamora

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2023

AGRADECIMIENTO

A mi tutora la Ing. Wilma Llerena y cotutor el Dr. Iván Samaniego por guiarme durante la realización de este proyecto, por su tiempo, apoyo y sus conocimientos impartidos que han sido plasmados en esta investigación.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias que, a través de la Estación Experimental Litoral Sur (EELS) por su contribución con el proceso de recolección y postcosecha del cacao fino de aroma, bajo la coordinación del Programa de Cacao, especialmente a Ing. James Quiroz, MSc., Ing. Natalia Parada MSc. y al Ing. Saul Mestanza, MSc.

A la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP, que brindo las facilidades para el desarrollo del trabajo experimental de este estudio, a través del proyecto de investigación "GENERACIÓN DE TECNOLOGÍAS INTEGRALES PARA LA OBTENCIÓN DE CÁÑAMO MEDICINAL E INDUSTRIAL", en las instalaciones del Departamento de Nutrición y Calidad (EESC), bajo la coordinación del Dr. Iván Samaniego, Ph.D.

A la señora Alexandra Correa de Quiroz, por abrirme sus puertas de su chocolatería “La Casa de Gonzalo” y compartirme su pasión por el chocolate.

A mi familia Mazacon Cervantes, sobre todo a mis abuelitos Don Beder y Colombita Gracias por estar siempre apoyándome en cada etapa de mi vida, por sus palabras de aliento, compañía, consejos y sobre todo el amor.

Sumoy Alvarado, Joc-ling Bailón, Bella Alcívar y Jimmy Ruiz, gracias por ser amistades incondicionales durante la elaboración de este proyecto, por darme ánimos, por escucharme y por las anécdotas compartidas.

Sin cada uno de ustedes, esto no hubiera sido posible.

Jasury Fernanda Mazacon Galeas

DEDICATORIA

A papá

Beder Fernando Mazacon Cervantes

Siempre te encontraré en la primera estrella del atardecer.

A mamá

Zoila Violeta Galeas Saltos

Porque no hay nadie más fuerte y valiente que ella.

A cada persona que

ha formado, forma y formará parte de mi vida.

Con cariño

Jasury Fernanda Mazacon Galeas

RESUMEN

Los chocolates funcionales son productos que han sido enriquecidos con compuestos bioactivos o mayor contenido de sólidos de cacao con la finalidad de aumentar la cantidad de antioxidantes presentes y lograr ofrecer un prometedor beneficio a la salud más allá del placer y el sabor. La presente investigación tiene como finalidad diseñar y desarrollar un chocolate funcional con incorporación de Cannabidiol (CBD) con fines medicinales empleando un Diseño Compuesto Central (DCC) o de superficie de respuesta con dos factores de estudio A y B, en el cual el factor A: representa la concentración del cacao, y el factor B la concentración de CBD. Para lo cual se realizaron análisis para determinar el contenido de flavonoides y polifenoles totales; la actividad antioxidante por el método FRAP y ABTS; contenido de CBD y THC; análisis sensorial hedónico y descriptivo. El análisis estadístico para los componentes bioactivos no presento diferencia significativa en los factores de estudio por lo que la concentración de cannabidiol y sólidos de cacao contribuyen a aumentar las propiedades funcionales de los chocolates. Mientras que el contenido de CBD presente en los chocolates esta únicamente ligado a la cantidad incorporada a la formulación. Las mejores propiedades funcionales para todos los análisis de compuestos bioactivos (polifenoles, flavonoides, FRAP y ABTS) las tuvo el tratamiento THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), sin embargo en el análisis sensorial, (parámetro de sabor) estadísticamente el tratamiento TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD) presento una mayor aceptación por parte de los catadores, por lo que aunque el chocolate desarrollado presente potencial funcional, es de crucial importancia que sea agradable a los futuros consumidores.

Palabras claves: CBD, chocolate funcional, optimización, cannabinoides

ABSTRACT AND KEYWORDS

Functional chocolates are products that have been enriched with bioactive compounds or a higher content of cocoa solids in order to increase the amount of antioxidants present and achieve health benefits beyond pleasure and flavor. The purpose of this research is to design and develop a functional chocolate with the incorporation of Cannabidiol (CBD) for medicinal purposes using a Central Compound Design (DCC) or response surface with two study factors A and B, in which factor A: represents the concentration of cocoa, and factor B the concentration of CBD. For which analyzes were carried out to determine the content of flavonoids and total polyphenols; antioxidant activity by the FRAP and ABTS method; CBD and THC content; hedonic and descriptive sensory analysis. The statistical analysis for the bioactive components did not present a significant difference in the study factors, so the concentration of cannabidiol and cocoa solids contribute to increasing the functional properties of the chocolates. While the CBD content present in chocolates is only linked to the amount incorporated into the formulation. The best functional properties for all the analyzes of bioactive compounds (polyphenols, flavonoids, FRAP and ABTS) were obtained by the THSC treatment (77.07% cocoa solids, 300 mg kg⁻¹ CBD), however in the sensory analysis, (flavor parameter) Statistically, the TBSA treatment (50% cocoa solids, 500 mg kg⁻¹ CBD) presented greater acceptance by tasters, so even though the developed chocolate presents good functional properties, it is of crucial importance that be pleasing to future consumers.

Keywords: CBD, functional chocolate, optimization, cannabinoids.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
1. CAPÍTULO 1	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.	3
1.1. Problema de Investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema.	4
1.1.2. Formulación del problema.....	6
1.1.3. Sistematización del problema.....	6
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo general.	6
1.2.2. Objetivos específicos.....	6
1.3. Justificación.	7
2. CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. Marco conceptual.....	9
2.2. Marco teórico	11
2.2.1. Cacao en el Ecuador	11
2.2.2. Derivados del cacao (Chocolate).....	13
2.3. Marco referencial.....	14
2.4. Marco Legal	16
3. CAPÍTULO III	18
METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN	18
3.1. Localización.....	19
3.2. Tipo de investigación.....	20
3.3. Métodos de investigación	20

3.4.	Fuentes de recopilación de información	21
3.5.	Diseño de la investigación	21
3.5.1.	Esquema ANOVA.	22
3.6.	Procedimiento experimental	23
3.6.1.	Obtención de la muestra	23
3.6.2.	Tratamiento postcosecha	23
3.6.3.	Desarrollo del chocolate	25
3.6.4.	Preparación de las muestras.....	26
3.6.5.	Caracterización de la actividad funcional.....	26
3.6.6.	Cuantificación del cannabidiol	28
3.6.7.	Análisis Sensorial	29
3.7.	Tratamiento de los datos	30
3.8.	Recursos humanos y materiales	31
3.8.1.	Recursos humanos	31
3.8.2.	Materiales	31
4.	CAPÍTULO IV	33
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1.	Caracterización de los compuestos bioactivos.....	34
4.1.1.	Flavonoides (FT)	34
4.1.2.	Polifenoles (PT).....	38
4.2.	Caracterización de la capacidad antioxidante	42
4.2.1.	Capacidad antioxidante por ABTS	42
4.2.2.	Capacidad antioxidante por FRAP	46
4.3.	Cuantificación de cannabidiol.....	50
4.5.	Análisis sensorial	54
4.5.1.	Evaluación hedónica.....	54
4.5.2.	Prueba descriptiva.....	59

4.6. Optimización del proceso de chocolates funcionales con CBD	61
5. CAPÍTULO V.....	62
5.1. Conclusiones.....	63
5.2. Recomendaciones	64
6. CAPÍTULO VI	65
BIBLIOGRAFÍA	65
6.1. Bibliografía	66
7. CAPÍTULO VII.....	74
ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Localizaciones del trabajo experimental	19
Tabla 2 Combinación de tratamientos, puntos axiales y centro del plan de experiencia para adición de CBD en una formulación para chocolate.	21
Tabla 3 Distribución de los grados de libertad en un experimento 3^2	22
Tabla 4 Valores para la optimización de respuesta maximizando compuestos bioactivos presentes en los chocolates.	61

ÍNDICE DE FIGURA

Figura. 1. Partes del fruto del cacao	11
Figura. 2. Variedades de cacao del complejo nacional	12
Figura. 3 Localizaciones geográficas para el desarrollo del proyecto.....	19
Figura. 4 Diagrama de bloques mostrando corrientes de entrada y salida del proceso de elaboración de chocolates.....	25
Figura 5 Evaluación del contenido de flavonoides en los diferentes tratamientos de chocolates con CBD	34
Figura. 6. Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de flavonoides. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).....	36
Figura. 7 Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de flavonoides en los chocolates con CBD.	37
Figura. 8 Evaluación del contenido de polifenoles en los diferentes tratamientos de chocolates con CBD.	38
Figura. 9 Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de polifenoles. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).....	40
Figura. 10 Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de polifenoles en los chocolates con CBD	41
Figura 11 Evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS de los diferentes tratamientos de chocolates con CBD.....	42
Figura 12 Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante por el método ABTS. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).	44

Figura. 13. Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante de los chocolates con CBD por el método ABTS	45
Figura. 14. Evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP de los diferentes tratamientos de chocolates con CBD.....	46
Figura 15 Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante por el método FRAP. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).	48
Figura. 16. Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante de los chocolates con CBD por el método FRAP	49
Figura 17. Evaluación del contenido de cannabidiol en los diferentes tratamientos de chocolates con CBD.	50
Figura 18 Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido CBD de los chocolates funcionales con CBD. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).....	52
Figura 19 Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido CBD de los chocolates con CBD	53
Figura. 20. Medias del efecto de los tratamientos sobre el color de los chocolates	55
Figura 21 Medias del efecto de los tratamientos sobre el olor de los chocolates.....	56
Figura. 22 Medias del efecto de los tratamientos sobre el sabor de los chocolates	57
Figura. 23 Medias del efecto de los tratamientos sobre la textura de los chocolates	58

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1 Recoleccion de la materia prima.....	75
Anexo 2 Fermentacion del cacao.	75
Anexo 3 Secado del cacao.....	76
Anexo 4 Tostado del cacao.	76
Anexo 5 Molienda y conchado del cacao.....	77
Anexo 6 Templado e incorporación del CBD al chocolate.....	77
Anexo 7 Moldeado del chocolate.....	78
Anexo 8 Desmoldado del chocolate.....	78
Anexo 9 Preparación de muestras	79
Anexo 10 Análisis de cuantificación del contenido de CBD en los chocolates.....	79
Anexo 11 Caracterización de compuestos bioactivos del chocolate con CBD.....	80
Anexo 12 Evaluacion sensorial del chocolate funcional con CBD.....	80
Anexo 13 Hoja de cata para la prueba hedónica.	81
Anexo 14. Hoja de cata para el perfil sensorial.....	83
Anexo 15 Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de color de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD.....	86
Anexo 16 Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de olor de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD.....	86
Anexo 17 Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de sabor de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD.....	86
Anexo 18 Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de Textura de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD.....	87
Anexo 19 <i>Tabla de ANOVA para flavonoides de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD</i>	87
Anexo 20 Tabla de ANOVA para polifenoles de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD	87
Anexo 21 Tabla de ANOVA para ABTS de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD	88
Anexo 22 Tabla de ANOVA para FRAP nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD.....	88

Anexo 23 Tabla de ANOVA para cannabidiol de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD	89
Anexo 24 Árbol de problema	90

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“DISEÑO Y DESARROLLO DE UN CHOCOLATE FUNCIONAL CON INCORPORACIÓN DE CANNABIDIOL (CBD) CON FINES MEDICINALES”				
Autor:	Mazacon Galeas Jasury Fernanda				
Palabras claves:	CBD	chocolate	optimización	cannabinoides	funcional
Editorial:	Quevedo: UTEQ 2023				
Resumen:	RESUMEN. - Los chocolates funcionales son productos que han sido enriquecidos con compuestos bioactivos o mayor contenido de sólidos de cacao con la finalidad de aumentar la cantidad de antioxidantes presentes y lograr ofrecer un prometedor beneficio a la salud más allá del placer y el sabor. La presente investigación tiene como finalidad diseñar y desarrollar un chocolate funcional con incorporación de Cannabidiol (CBD) con fines medicinales empleando un Diseño Compuesto Central (DCC) o de superficie de respuesta con dos factores de estudio A y B, en el cual el factor A: representa la concentración del cacao, y el factor B la concentración de CBD. Para lo cual se realizaron análisis para determinar el contenido de flavonoides y polifenoles totales; la actividad antioxidante por el método FRAP y ABTS; contenido de CBD y THC; análisis sensorial hedónico y descriptivo. El análisis estadístico para los componentes bioactivos no presento diferencia significativa en los factores de estudio por lo que la concentración de cannabidiol y sólidos de cacao contribuyen a aumentar las propiedades funcionales de los chocolates. Mientras que el contenido de CBD presente en los chocolates esta únicamente ligado a la cantidad incorporada a la formulación. Las mejores propiedades funcionales para todos los análisis de compuestos bioactivos (polifenoles, flavonoides, FRAP y ABTS) las tuvo el tratamiento THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg-1 CBD), sin embargo en el análisis sensorial, (parámetro de sabor) estadísticamente el tratamiento TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg-1 CBD) presento una mayor aceptación por parte de los catadores, por lo que aunque el chocolate desarrollado presente potencial funcional, es de crucial importancia que sea agradable a los futuros consumidores. ABSTRACT: Functional chocolates are products that have been enriched with bioactive compounds or a higher content of cocoa solids in order to increase the amount of antioxidants present and achieve health benefits beyond pleasure and flavor. The purpose of this research is to design and develop a functional chocolate with the incorporation of Cannabidiol (CBD) for medicinal purposes using a Central Compound Design (DCC) or response surface with two study factors A and B, in which factor A : represents the concentration of cocoa, and factor B the concentration of CBD. For which analyzes were carried out to determine the content of flavonoids and total polyphenols; antioxidant activity by the FRAP and ABTS method; CBD and THC content; hedonic and descriptive sensory analysis. The statistical analysis for the bioactive components did not present a significant difference in the study factors, so the concentration of cannabidiol and cocoa solids contribute to increasing the functional properties of the chocolates. While the CBD content present in chocolates is only linked to the amount incorporated into the formulation. The best functional properties for all the analyzes of bioactive compounds (polyphenols, flavonoids, FRAP and ABTS) were obtained by the THSC treatment (77.07% cocoa solids, 300 mg kg-1 CBD), however in the sensory analysis, (flavor parameter) Statistically, the TBSA treatment (50% cocoa solids, 500 mg kg-1 CBD) presented greater acceptance by tasters, so even though the developed chocolate presents good functional properties, it is of crucial importance that be pleasing to future consumers.				
Descripción:	hojas: dimensiones 29 x 21 cm + CM-ROM				
URL:					

INTRODUCCIÓN

Los consumidores juegan un papel importante al momento de innovar en nuevos productos (Sharmistha et al., 2022). En la actualidad, las necesidades de los consumidores han ido creciendo a tal punto que no buscan simplemente alimentos por sus características organolépticas; si no, que estos también deben de ser nutritivos, agradables y aportar alguna funcionalidad al momento de consumirlo (Karelakis et al., 2020). La demanda por este tipo de alimentos funcionales ha ido creciendo no solo en regiones desarrolladas, sino también en países en vías de desarrollo; debido a que existe una mayor concientización de los consumidores sobre el papel de los alimentos en la salud humana (Ashaolu & Adeyeye, 2022).

La organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022), define a los alimentos funcionales aquellos que contienen un nivel significativo de componentes biológicamente activos, que aportan potenciales beneficios a la salud más allá de la nutrición básica. Estos alimentos presentan una interfaz entre la parte nutricional y farmacológica, presentándose como una alternativa terapéutica en la prevención de enfermedades relacionadas con la nutrición y el sistema nervioso (Domínguez et al., 2020; Karelakis et al., 2020).

En este contexto, el Cannabidiol (CBD) proveniente del cáñamo (*Cannabis Sativa*) es considerado como un ingrediente prometedor para el desarrollo de futuros alimentos funcionales (Chen & Pan, 2021). La planta del *Cannabis* posee dos variedades de el mismo género conocida por sus nombres coloquiales como marihuana y cáñamo. El cáñamo se caracteriza por poseer altas dosis de Cannabidiol (CBD) y una baja concentración de delta 9-tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC), siendo este el principal compuesto psicoactivo (Jooste et al., 2021).

El CBD es un fitocannabinoide no tóxico, debido a su falta de psicoactividad; por lo que, ha ido ganando popularidad e interés para fines terapéuticos y funcionales. Las propiedades de este metabolito se basan en la interacción con el sistema endocannabinoide del cuerpo, por lo que su interacción ayuda a regular diversos procesos fisiológicos del organismo como el estado de ánimo, la memoria, el apetito y estabilidad neuro-motriz del organismo. A su vez

se lo ha asociado con efectos analgésicos, antiinflamatorios, anticonvulsivos, ansiolíticos y antipsicóticos (Baque & Santana, 2021; Narouze et al., 2021). En la actualidad, todas las partes de la planta de cáñamo a excepción de la raíz, están siendo económicamente aprovechadas (Kladar et al., 2021).

Por otro lado, el chocolate amargo con un alto contenido de sólidos de cacao ha ganado popularidad desde hace varias décadas atrás, debido a sus grandes beneficios para la salud, gracias a sus componentes bioactivos como polifenoles, flavonoides, vitaminas y minerales. Estos componentes, regulan positivamente el sistema inmunológico en humanos, llegando a considerarse un alimento funcional para las personas de todas las edades que los consumen con frecuencia (Sharmistha et al., 2022). Considerando que este producto de confitería es consumido por personas de todos los segmentos de la sociedad alrededor del mundo, es un buen candidato para la incorporación de compuestos cannabinoides (CBD); sin alterar las características organolépticas y potenciando su calidad funcional.

CAPÍTULO 1
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

1.1.Problema de Investigación.

1.1.1. *Planteamiento del problema.*

En Ecuador, antes del año 2019 se negaba la despenalización del Cannabis en todas sus especies, debido a que era relacionado de forma directa o indirecta con actos narcodelictivos, por tanto, se prohibía utilizar estas muestras como objeto de estudio. Sin embargo, la despenalización de esta planta en los países vecinos, se permitió conocer los beneficios que implicaría la legalización de esta planta, en desarrollos científicos, industriales y terapéuticos (L. Andrade & Cedeño, 2019).

A raíz de la despenalización del cáñamo el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) en conjunto con el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) vienen trabajando en investigaciones sobre la producción del cáñamo con fines industriales y medicinales. Además de trabajar en la caracterización del perfil cannabinoides (THC y CBD) y compuestos bioactivos (polifenoles, capacidad antioxidante) en cultivos de cáñamo y para así conocer los usos que se le puede dar, los cuales permitan darle un valor agregado (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2021). El cáñamo se ha cultivado tradicionalmente para usos industriales en el desarrollo de textiles, papeles, biodiesel y materiales de construcción; sin embargo, no se ha aprovechado todos los componentes presentes en la planta, como en cannabidiol (CBD). Este bioactivo se encuentra en mayor concentración en esta variedad de cannabis no psicotrópica, aportando propiedades antiinflamatorias, anticonvulsivas, ansiolíticas y antipsicóticas al consumo; con un gran potencial para diseñar nuevos alimentos funcionales (Narouze et al., 2021).

Por este motivo, la incorporación de CBD para el aprovechamiento del cáñamo en la producción de alimentos funcionales aún no se ha visto potenciada en Ecuador; entre las razones que afectan su desarrollo industrial; es la falta de normativas técnicas oficiales (INEN) que especifiquen umbrales de consumo y adición de CBD. Así también, se dificulta incorporarlo como ingrediente funcional en la industria alimentaria, debido a la falta de laboratorios especializados con metodologías analíticas acreditadas y validadas destinadas a identificación y cuantificación de cannabinoides (Kladar et al., 2021).

Pronóstico.

En el año 2019, se reforma en Ecuador el código orgánico integral penal, excluyendo al cáñamo y sus derivados como sustancias sujetas a fiscalización, siempre y cuando su porcentaje de THC sea menor al 1% en peso seco. Aun así, persiste una gran asociación del cannabis no psicoactivo (cáñamo) con el cannabis psicoactivo (marihuana), causando así, neofobia el consumir productos que contengan derivados de cáñamo como el Cannabidiol (CBD). Debido al desconocimiento de los usos y propiedades funcionales que este nos puede llegar a ofrecer se está perdiendo la oportunidad de implementar y explorar cultivos comerciales de cannabis medicinal.

A pesar de la legalización para el uso y consumo del cáñamo se presenta aun obstáculos que afectan el futuro del mercado para el desarrollo de productos alimenticios que incorporen CBD; entre estos se encuentran las estrictas regulaciones y licencias para la adquisición, producción y venta, a la cual se le suma los problemas tecnológicos para producir/extraer CBD a nivel industrial. Actualmente a nivel nacional no se cuenta con infraestructuras industriales para la extracción de CBD a gran escala, lo que influye en los costos de producción y el precio de futuros productos con CBD.

Diagnóstico.

En los últimos años, las personas han desarrollado una mayor conciencia respecto al papel de la alimentación en la salud, lo que ha llevado a la preferencia de consumo alimentos con propiedades funcionales (Sharmistha et al., 2022). Si no se trabajaría en el desarrollo de un chocolate con la incorporación de Cannabidiol (CBD) en su formulación, no se contaría con alternativas de productos alimentarios funcionales con el uso del cáñamo, desaprovechando así las propiedades que este ofrece. Por lo que, se perdería la oportunidad de producir alimentos de alto valor biológico, desperdiciando el esfuerzo y los recursos públicos destinados a la investigación agronómica, fitoquímica y alimentaria por parte del MAG en conjunto con los técnicos del INIAP.

1.1.2. *Formulación del problema.*

¿El diseño y desarrollo de un chocolate con la incorporación de Cannabinoides (CBD) influirá en el aprovechamiento de derivados procedentes del cáñamo para el desarrollo de alimentos potencialmente funcionales?

1.1.3. *Sistematización del problema.*

¿Cómo se podrá optimizar el proceso de adición de CBD en las formulaciones de chocolate elaborados con cacao Nacional?

¿Cuál será el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad de antioxidantes de chocolate con CBD medicinal?

¿Mediante que métodos se evaluará el contenido de cannabinoides, THC y CBD en chocolates?

¿Los chocolates con CBD, tendrán buenas características organolépticas?

1.2. Objetivos.

1.2.1. *Objetivo general.*

“Diseñar y desarrollar un chocolate potencialmente funcional con la incorporación de Cannabidiol (CBD) con fines medicinales”.

1.2.2. *Objetivos específicos.*

- Optimizar el proceso de adición de CBD en diferentes formulaciones de chocolates elaborados con cacao Nacional.
- Evaluar el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidantes de los chocolates con CBD medicinal.
- Evaluar el contenido de cannabinoides, THC y CBD medicinal en los chocolates elaborados con cacao Nacional.
- Evaluar las características organolépticas del producto, mediante un análisis sensorial.

1.3.Justificación.

La despenalización del uso el cáñamo industrial y medicinal abre una serie de recursos que han sido mínimamente explorados dentro del país. Por esta razón, se requiere de investigaciones a través de la experimentación, no solo en la aplicación de técnicas analíticas para la cuantificación del perfil de cannabinoides si no también en cuanto a la utilización de estos compuestos en el procesamiento de alimentos. Debido a las investigaciones previas que han demostrado los beneficios que aporta el cáñamo a la salud, la utilización de CBD en productos alimenticios procesados se puede clasificar dentro del grupo de los alimentos funcionales o nutraceuticos (Fuentes & Acurio, 2020).

En este contexto, esta investigación tiene como propósito diseñar y desarrollar un chocolate funcional explorando los umbrales de incorporación de Cannabidiol (CBD) en formulaciones de chocolate, para establecer valores de dosificación sin afectar las propiedades sensoriales del producto. Para garantizar que el producto desarrollado cumpla con los parámetros de regulación, se aplicara un análisis de cromatografía líquida (HPLC) para la cuantificación de THC ($< 0,3\%$) y CBD, generando así bases de conocimiento para futuras aplicaciones en productos funcionales.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.Marco conceptual

Chocolate

El chocolate es el nombre genérico otorgado a aquellos productos homogéneos que se obtienen del proceso de fabricación a partir de materias de cacao que pueden combinarse con productos lácteos, azúcares, emulsiones, aromas, etc. (NTE INEN 621:2010 Chocolates Requisitos, 2010).

Alimento funcional

Se define como alimentos funcionales, a aquellos que están destinados a ser consumidos como parte de la dieta normal y que contienen componentes biológicamente activos que ofrecen un potencial de mejora a la salud o de reducción del riesgo de enfermedades (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022).

Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos se definen como componentes de los alimentos que tienen un impacto en las actividades fisiológicas o celulares en quienes los consumen. Estos componentes incluyen flavonoides, antocianinas, taninos, betalainas, carotenoides, esteroides vegetales y glucosinolatos; que en general se caracterizan por sus efectos antioxidantes (Kumar et al., 2019)

Cáñamo

El cáñamo (*Cannabis sativa L.*) es una planta herbácea anemófila que pertenece a la familia Cannabinaceae, originaria de Asia Central. Históricamente ha sido valorada y cultivada por su fibra, usos en alimentos y usos medicinales (Iftikhar et al., 2021; Rupasinghe et al., 2020).

Cannabinoides.

Los cannabinoides consisten en productos naturales capaces de interactuar directamente con los receptores de cannabinoides del cuerpo humano. Se han identificado más de 100 cannabinoides activos dentro de la planta *Cannabis sativa*; sin embargo, los dos cannabinoides más estudiados son Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) (Narouze et al., 2021).

Cannabidiol (CBD).

El cannabidiol (CBD) es un componente no intoxicante de Cannabis sativa que ha sido objeto de un creciente interés debido a su falta de psicoactividad y sus potenciales efectos beneficios terapéuticos, ganando popularidad e interés en su uso clínico como potencial analgésico, antiinflamatorio, anticonvulsivo, efectos ansiolíticos y antipsicóticos (Johnson et al., 2022; Narouze et al., 2021).

Δ 9-tetrahidrocannabinol (THC).

El THC es el cannabinoide psicoactivo que provoca el "efecto alucinógeno", buscado por los usuarios recreativos. Al actuar en los receptores CB₁ en diferentes partes del cerebro y en los ojos, altera la percepción, ralentiza el tiempo de reacción, interfiere con la coordinación, la memoria, el apetito, altera el pensamiento, el juicio; provocando una sensación de euforia y psicosis, si se consume en dosis altas (Beal, 2019).

Compuestos psicoactivos.

Sustancia o compuesto que actúa sobre el sistema nervioso, alterando las funciones psíquicas (Real Academia Española, 2022).

Derivados del cáñamo.

Compuestos que son extraídos directamente de la planta, tal como el extracto de Cannabidiol (CBD), Cannabigerol (CBG), Cannabicromenos (CBC), Cannabinol (CBN) y otros compuestos obtenidos de la planta. Para su utilización como materia prima, es indispensable que el THC sea inferior a 1%, en peso seco. Las principales fuentes de estos compuestos son los aceites, resinas, tinturas, extractos crudos u otras innovaciones obtenidas del Cannabis No Psicoactivo o Cáñamo (Agencia Nacional de Regulación Control y Vigilancia Sanitaria, 2021)

2.2.Marco teórico

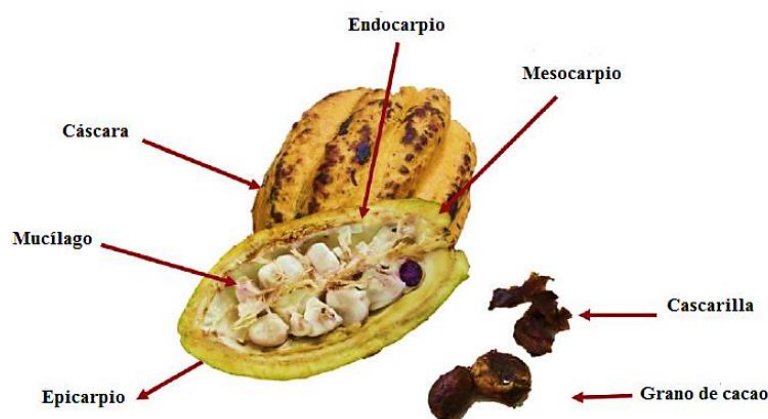
2.2.1. *Cacao en el Ecuador*

Ecuador ha sido reconocido gracias a su producción de cacao fino y de aroma, convirtiéndose en un cacao muy apetecido y valorado en el mercado internacional, su reconocimiento se debe a su corta fermentación teniendo como resultado un chocolate de buen aroma y sabor suave para la elaboración de chocolates finos. El país aporta con el 60 % de la producción mundial de cacao aromático denominado “Arriba” proveniente del genotipo Nacional (Quevedo et al., 2020; Quiroz et al., 2021)

El árbol del cacao (*Theobroma cacao* L., orden Sterculiaceae), es una especie nativa de los bosques húmedos tropicales de las laderas ecuatoriales bajas de los Andes, en América del Sur (Caligiani et al., 2016). El cacao ha demostrado a lo largo de los años ser de gran importancia económica y social en muchas culturas del continente americano (Andrade et al., 2019).

Figura. 1.

Partes del fruto del cacao



ELABORADO POR: (Orozco, 2020)

Los principales fitonutrientes antioxidantes presentes en el grano de cacao son los polifenoles y los flavonoides. El 10% del peso seco del grano de cacao está compuesto por polifenoles mientras que los flavonoides que más abundan en el cacao en polvo son las catequinas, las antocianinas y las proantocianidinas (Sharmistha et al., 2022). Es debido a la presencia de esos compuestos que se reconocen los beneficios en la salud, como el control de enfermedades cardiovasculares, inflamatorias y las derivadas del estrés celular (Ortiz S. et al., 2019).

2.2.1.1 Cultivo y variedades de cacao

En Ecuador se cultivan dos tipos de cacao: el complejo Nacional (Forastero, Criollo y Trinitario), y el clon CCN-51(Colección Carlos Naranjal 51)

- **Complejo nacional**

La calidad sensorial del Complejo Nacional es reconocida mundialmente. (Garcia Briones et al., 2021)

Figura. 2. Variedades de cacao del complejo nacional



El cacao Criollo, se lo encuentra especialmente en la zona norte de Ecuador, Colombia, Venezuela y Centroamérica, ha sido reconocido gracias a su calidad ya que cuenta con un agradable sabor y aroma convirtiéndolo en ideal para la elaboración de chocolatería de alta calidad. Sus mazorcas presentan rugosidades con surcos pronunciados, mientras que las almendras en su mayoría son de color blanco marfil. Debido a su bajo contenido de taninos no aporta tanta astringencia al paladar (Durán & Dubón, 2016).

El cacao forastero tiene su procedencia en la cuenca alta del río Amazonas, denominado silvestre por la Amazonia de Ecuador, Colombia, Perú, Venezuela y Brasil, desde donde se fue diseminando a los diferentes continentes donde se produce actualmente (Quevedo et al., 2020). Este representa alrededor del 85% de la producción mundial de cacao debido a su facilidad de cultivo y resistencia a las enfermedades. Sin embargo, es considerado de menor calidad ya que sus almendras confieren poco aroma y sabor al chocolate elaborado con estas. Sus mazorcas poseen una apariencia amelonada mayormente lisa, con ligeras rugosidades y surcos poco profundos (Caligiani et al., 2016).

- **Cacao CCN-51 (Colección Carlos Naranjal 51)**

El cacao CCN 51 es un clon obtenido por Homero Castro a partir de los cruces (*ICS95 x IMC 67*) *x* *Oriente 1* en su finca ubicada en Naranjal, Provincia del Guayas. Es cultivado comercialmente desde 1980 y se obtiene una mayor productividad, pero una menor calidad que en los cacaos Nacionales (García Briones et al., 2021).

2.2.2. Derivados del cacao (Chocolate)

Los derivados del cacao son reconocidos por tener una naturaleza rica y compleja. Esto depende en gran medida de la genética del cacao, el terreno en donde se produce y las condiciones de proceso, de los diferentes pasos de transformación y de la formulación final del producto (Mayorga-Gross & Montoya-Arroyo, 2023).

La importancia del chocolate para el consumidor es muy alta debido a su delicadeza y beneficios para la salud. El proceso de elaboración de chocolate consiste en una serie de pasos tales como fermentación, secado, tostado, molienda, conchado y templado. Durante este procedimiento prolongado, la pérdida de nutrientes es bastante notable. El contenido de polifenoles cae casi 10 veces desde su forma original y algunos flavonoides disminuyen. Por esta razón, los compuestos antioxidantes varían desde las materias primas hasta los productos terminados (Sharmistha et al., 2022).

2.3.Marco referencial

Entre cientos de productos derivados del cannabis, existe una demanda creciente de cannabinoides, principalmente CBD, con propiedades terapéuticas y nutricionales muy diversas. Cada vez más personas en todo el mundo tienden a usar diferentes formas de cannabinoides, por lo que, existe una competencia feroz entre las empresas para formular y recibir la aprobación de nuevos productos. Esto ha marcado gran parte del futuro inmediato del CBD es la industria farmacéutica y alimentaria (Iftikhar et al., 2021).

Según diversos estudios (Pellati et al., 2018; Rupasinghe et al., 2020), el Cáñamo y el CBD han demostrado tener aplicaciones alimentarias y valor agregado como nutraceutico, por sus propiedades terapéuticas potenciales, en modelos animales y humanos. El CBD es uno de los compuestos más interesantes, con muchos efectos farmacológicos (ansiolítico, antidepresivo, neuroprotector, antiinflamatorio e inmunomodulador) contribuyendo a la prevención y el tratamiento de varias patologías. Presentando un potencial como un valioso ingrediente alimentario y funcional (Pellati et al., 2018; Rupasinghe et al., 2020).

En la actualidad existe, diferentes productos alimenticios que incorporan cáñamo como ingrediente funcional de productos farináceos como pan, galletas y pastas. Teterycz y colaboradores (2021), trabajaron en el desarrollo de una pasta enriquecida con semillas de cáñamo (*Cannabis sativa L.*). Estos autores evaluaron propiedades fisicoquímicas y calidad del producto final. La incorporación de 30% de harina de cáñamo y 10 % de torta de aceite de semilla de cáñamo, conducen a un aumento en el contenido de proteína, fibra dietética total, ceniza y grasa en las muestras de pasta (Teterycz et al., 2021).

Mikulec y colaboradores (2019), evaluaron la harina de cáñamo como componente valioso para enriquecer las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del pan de trigo. Demostrando que esta contribuye en la disminución de la calidad del pan, con un aumento del contenido de proteína (19,29 g/100 g M.S.) en comparación con el pan de trigo tradicional (11,02 g/100 g M.S.). En el contenido de polifenoles el pan de trigo (256,43 mg GAE•kg⁻¹) puede mejorar su potencial antioxidante, presentando un valor superior en pan con 50% de harina de cáñamo (673,59 mg GAE•kg⁻¹) (Mikulec et al., 2019).

De acuerdo con la investigación desarrollada por Ertaş & Aslan (2020), las propiedades antioxidantes y fisicoquímicas de galletas que contienen harina de cáñamo cruda y tostada (0, 5, 10, 15 y 20 %) permiten incrementar los valores de ceniza, proteína, grasa, el contenido fenólico total y la actividad antioxidante. Las galletas con la formulación más alta (20 %), demostraron que el cáñamo se puede utilizar como ingrediente alternativo en el desarrollo de alimentos funcionales (Ertaş & Aslan, 2020).

Para Ramírez & Viveros (2021), algunas empresas cerveceras están produciendo cervezas infusionadas con aceites de CBD derivados del cáñamo, estas cervezas siguen el proceso de elaboración convencional, sin embargo, proporcionan un espectro más amplio de terpenos, mejoran el sabor de la bebida, sin generar efectos psicotrópicos. Esto aporta efectos benéficos para la salud de los consumidores; expandiendo el mercado de cervezas en el futuro (Ramírez & Viveros, 2021).

De acuerdo a Kaushal y colaboradores (2020), existe un efecto de mejora de la semilla de cáñamo (*Cannabis sativa*) contra los cambios cardiovasculares asociados al hipercolesterolemia. Estos autores desarrollaron ensayos in vivo con ratas wistar, que tenían problemas causados por la hipercolesterolemia inducida. Estas recibieron una dieta complementaria con un 10% de semillas de cáñamo, presentando efectos positivos como la disminución de los niveles de colesterol, lipoproteínas de baja densidad y triglicéridos. Además, aumento los niveles de lipoproteínas de alta densidad, disminuyo la placa y deposición de grasa y el daño de la pared arterial (Kaushal et al., 2020).

Linares y colaboradores (2019), trabajaron en el estudio del efecto del Cannabidiol en una prueba simulada de hablar en público. Estos autores evaluaron los efectos agudos de diferentes dosis de CBD (150 mg, 300 mg, 600 mg) y su efecto placebo en voluntarios sanos. El tratamiento de 300 mg de CBD redujo significativamente la ansiedad durante el discurso; sin embargo, no se observaron diferencias significativas en las puntuaciones de VAMS entre los grupos que recibieron CBD 150 mg, 600 mg y placebo. Sus hallazgos confirman las propiedades ansiolíticas del CBD y con los resultados de estudios en animales que describen curvas de dosis-respuesta en forma de campana (Linares et al., 2019).

Devinsky y colaboradores (2018), estudiaron el efecto del cannabidiol en las convulsiones por el síndrome de Lennox-Gastaut. Estos autores probaron un régimen antiepiléptico con Cannabidiol durante 28 días, en dosis de 10 a 20 mg·kg⁻¹ al día y un placebo, a niños y adultos de 2 a 55 años edad, que padecían el síndrome de Lennox-Gastaut. La adición de Cannabidiol resultó redujo la frecuencia de crisis epilépticas/convulsivas a comparación del placebo (Devinsky et al., 2018).

En el estudio realizado por Hughes y colaboradores (2019), el Cannabidiol en la ansiedad y el sueño puede presentar efectos benéficos. Se trató a 103 pacientes de 18 a 70 años, con problemas de ansiedad o sueño como preocupación principal. Las puntuaciones del sueño demostraron una mejora leve con dosis de 25 a 175 mg·kg⁻¹ día. Las puntuaciones de ansiedad disminuyeron durante el primer mes y luego permanecieron disminuidas durante la duración del estudio por lo tanto el cannabidiol puede tener también beneficios para los trastornos relacionados con la ansiedad (Hughes et al., 2019).

2.4.Marco Legal

Grandes cambios se aproximan en Ecuador, gracias a la actual situación jurídica del cáñamo. Donde una serie de modificaciones en los artículos han abierto las puertas al aprovechamiento de esta planta, ya sea con fines comerciales (producción e importación de materia prima y derivados de cáñamo) o industriales, impulsando y desarrollando la obtención de productos derivados del cáñamo industrial (Gallegos, 2021).

La Asamblea Nacional mediante consejo reforma el Código integral penal el 24 de diciembre del 2019 en el cual el Art. 127, menciona que “se excluyen de sustancias sujetas a fiscalización al cannabis no psicoactivo o cáñamo, entendiendo como la planta de cannabis y cualquier parte de dicha planta, cuyo contenido de delta-9-tetrahidrocannabidiol (THC) es inferior al 1% en peso seco, cuya regulación es competencia de la Autoridad Agraria Nacional” (Ley Orgánica Reformatoria Al Código Orgánico Integral Penal, 2019).

El 19 de octubre del 2020 el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) expide el Acuerdo ministerial No. 109 el cual establece un reglamento para la importación, siembra, cultivo, cosecha, post cosecha, almacenamiento, transporte, procesamiento,

comercialización y exportación de cannabis no psicoactivo o cáñamo y cáñamo para uso industrial (Acuerdo Ministerial No. 109, 2020).

Posterior a esto en el mismo año el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) expide esta vez el tarifario de licencias para importación, comercialización, siembra, cultivo, producción y uso industrial del cannabis no psicoactivo o cáñamo (Acuerdo Ministerial No. 141, 2020).

Según la norma técnica NTE INIEN 2587:2011 para alimentos funcionales menciona que los alimentos que se declaren propiedades funcionales deberán ser demostrados y documentados mediante sustentos científicos del componente activo, con estudios en humanos o laboratorio que hayan sido aprobados por el ministerio de Salud Pública, CODEX Alimentarius, o la FDA, (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2011).

CAPÍTULO III

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.Localización

Tabla 1.
Localizaciones del trabajo experimental

INVESTIGACIÓN	LOCALIZACIÓN
Postcosecha de cacao	Estación Experimental Litoral Sur del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Yaguachi, Guayas.
Formulación del chocolate	Chocolatería, Babahoyo, Los Ríos.
Análisis fisicoquímico y antioxidantes	Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Mejía, Pichincha
Análisis sensorial	Estación Experimental Litoral Sur del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Yaguachi, Guayas.

ELABORADO: AUTORA

Figura. 3
Localizaciones geográficas para el desarrollo del proyecto.



OBTENIDO POR: Google Earth.

3.2.Tipo de investigación

Para la realización del presente proyecto se aplicó una investigación de tipo exploratorio y cuantitativa, debido a que no se cuenta con las bases de estudio suficientes sobre la incorporación de Cannabidiol (CBD) en el desarrollo de productos de confitería (chocolate) funcional.

- **Investigación exploratoria**

La investigación exploratoria tiene un enfoque metodológico en el cual investiga las preguntas las cuales no han sido previamente estudiadas en profundidad, por lo general es aplicable cuando el tema a estudiar es nuevo (Tegan, 2021). Con la aplicación de este tipo de investigación se buscó saber cómo interacciona la incorporación de CBD en formulaciones de chocolate, debido a que es escaso el conocimiento preexistente en cuando al potencial de CBD como alimento funcional.

- **Investigación cuantitativa**

La investigación cuantitativa se basa en la verificación de la hipótesis a través de la observación, y el experimento; usando la recolección de datos para probar la hipótesis con base a la medición numérica y el análisis estadístico (Hernandez, 2014). Con la aplicación de esta investigación se pudo aceptar o rechazar las hipótesis planteadas según la comparación de los resultados en los diferentes tratamientos.

3.3.Métodos de investigación

- **Inductivo-deductivo.**

Para la ejecución del trabajo de investigación se aplicó el método inductivo-deductivo partiendo de un problema como fue el bajo aprovechamiento de cannabinoides procedentes del cáñamo en el desarrollo de alimentos funcionales. Este método permitió trabajar en la búsqueda de soluciones para el aprovechamiento del Cannabidiol presente en el cáñamo como una alternativa para el desarrollo de chocolates potencialmente funcionales con fines medicinales.

- **Métodos estadísticos.**

Para el análisis estadístico de los resultados se empleó el software statgraphics, mediante el cual se realizó la comparación de los datos obtenidos en la investigación.

3.4.Fuentes de recopilación de información

Para el desarrollo de este trabajo investigativo, se utilizó como fuente primaria la información obtenida por medio de la recolección de datos experimentales provenientes del trabajo de campo realizado; mientras que las fuentes secundarias provinieron de libros, artículos de revisión, revistas científicas, tesis e informes relacionados al tema de estudio.

3.5.Diseño de la investigación

La evaluación del efecto de la incorporación de Cannabidiol (CBD) en una formulación para chocolates, se determinó a través de un Diseño Compuesto Central (DCC) o de superficie de respuesta con dos factores de estudio A y B, en el cual el factor A: representa la concentración del cacao, y el factor B la concentración de CBD. Generándose un total de nueve formulaciones como se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2

Combinación de tratamientos, puntos axiales y centro del plan de experiencia para adición de CBD en una formulación para chocolate.

Tratamientos	Códigos	Simbología	A	B	Factor A	Factor B
					Cacao (%)	Cannabidiol (mg•kg ⁻¹)
T1	TBSB	1	-1	-1	50	100
T2	TASB	A	1	-1	70	100
T3	TBSA	B	-1	1	50	500
T4	TASA	AB	1	1	70	500
T5	TCSC	Centro	0	0	60	300
T6	TLSC	-αA	-1,4142	0	42,93	300
T7	THSC	+αA	1,4142	0	77,07	300
T8	TCSL	-αB	0	-1,4142	60	41,44
T9	TCSH	+αB	0	1,4142	60	641,44

ELABORADO: AUTORA

Donde: **T:** Cacao Nacional, **S:** Cannabidiol (CBD), **A:** Concentración Alta (1), **B:** Concentración Baja (-1), **H:** Axial (+α), **L:** Axial (-α), **C:** Centro (0).

Planteándose las siguientes hipótesis experimentales

- **H₀:** $\mu_1 = \mu_2$ H₀: No existe un efecto principal o de interacción lineal o cuadrática, por la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las formulaciones de chocolate.
- **H₁:** $\mu_1 \neq \mu_2$ H₁: Existe un efecto principal o de interacción lineal o cuadrática, por la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las formulaciones de chocolate.

3.5.1. Esquema ANOVA.

En la Tabla 3, se presenta el esquema del ANOVA para el Diseño Compuesto Central (DCC) aplicado en la presente investigación.

Tabla 3

Distribución de los grados de libertad en un experimento 3²

Efectos medidos	Grados de libertad	Tipo de relación	Simbología utilizada
Principales	2	Lineal	A; B
Principales	2	Cuadrática	A ² ; B ²
De interacción	1	Lineal	AB
De interacción	2	Lineal/cuadrática	AB ² ; A ² B
De interacción	1	Cuadrática	A ² ; B ²

ELABORADO: AUTORA.

3.6.Procedimiento experimental

3.6.1. Obtención de la muestra

3.6.1.1 Materia prima

- **Cannabidiol**

La obtención del Cannabidiol (CBD) purificado se realizó por medio del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación experimental Santa Catalina como parte del proyecto “Generación de Tecnologías Integrales para la Producción de Cáñamo Medicinal e Industrial”. donde el INIAP cuenta con el permiso para sembrar y elaborar derivados de cáñamo medicinal para fines industriales y alimentarios.

- **Otros ingredientes.**

La manteca, la leche empleada “la vaquita” de la maca Nestlé., la azúcar blanca granulada de la marca Valdez, y la manteca de cacao fueron adquiridos en un comisariato de la localidad (Babahoyo, Los Ríos, Ecuador).

- **Muestreo.**

Las muestras de cacao Nacional se recolectaron en la Estación Experimental Litoral Sur del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicado en el cantón Yaguachi, provincia del Guayas. En donde se escogieron al azar arboles de cacao fino de aroma de la colección de árboles de INIAP-EELS, y sometidos a fermentación.

3.6.2. Tratamiento postcosecha

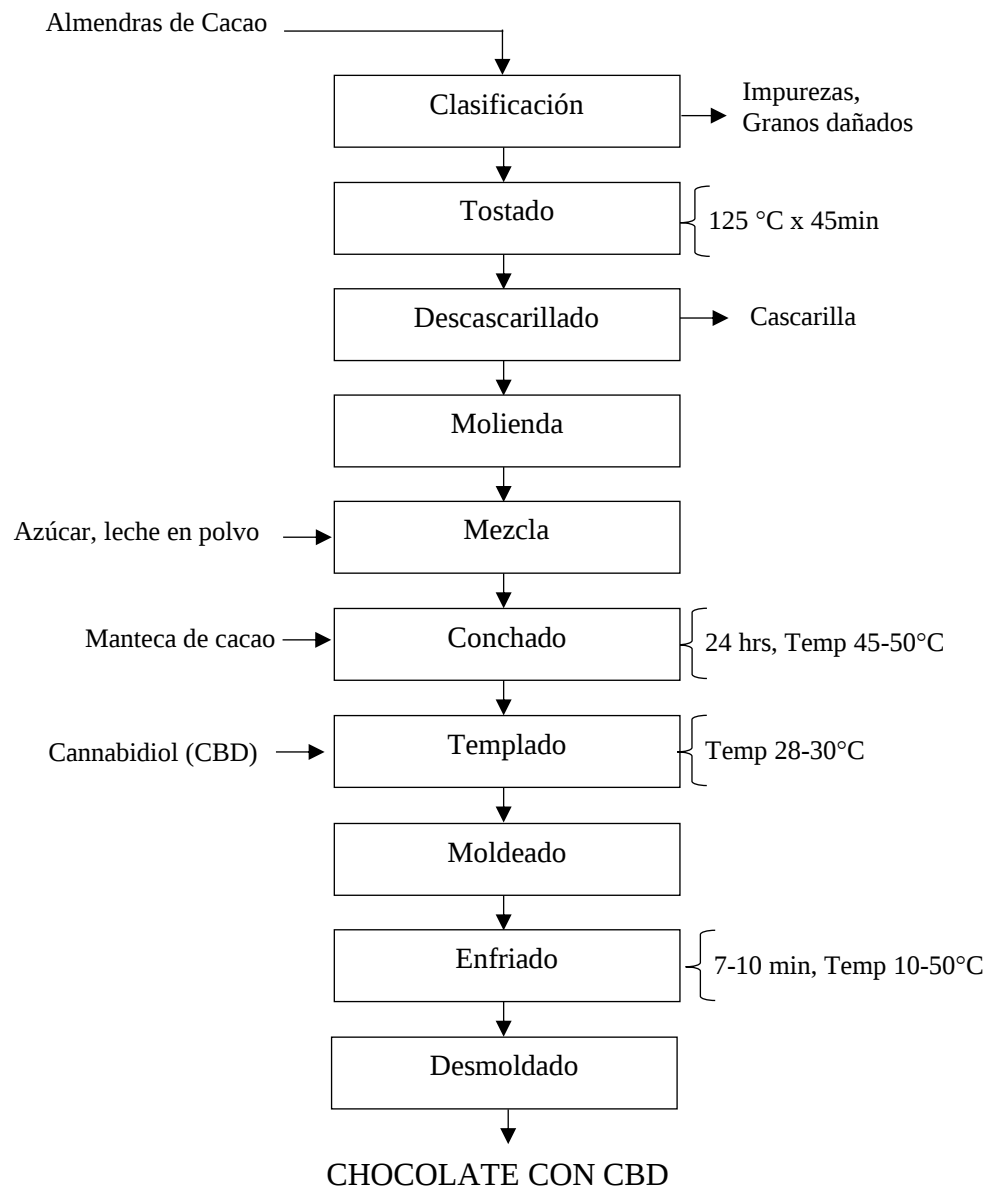
El proceso de postcosecha de fermentación y secado del cacao se lo realizó en las instalaciones del programa de cacao de la Estación Experimental Litoral Sur. De cada fruto se extrajo los granos obteniendo una masa de 15kg, la fermentación se realizó en cajas de polietileno (dimensiones aprox de alto:47.5cm, ancho: 88.2cm, profundidad: 42.0cm) con capacidad de 25kg.

El proceso de fermentación para Cacao Nacional se realizó durante cuatro días, con remociones masa cada 24 horas. Posteriormente las almendras fermentadas fueron expuestas al sol durante tres semanas hasta obtener una humedad de aproximadamente 5-7%.

3.6.3. Desarrollo del chocolate

Figura. 4

Diagrama de bloques mostrando corrientes de entrada y salida del proceso de elaboración de chocolates.



3.6.4. Preparación de las muestras

La preparación de la muestra fue de vital importancia para obtener resultados analíticos confiables, para ellos se realizaron los siguientes pasos.

➤ Molienda

Para esto se tomaron 30g de chocolate que fueron previamente congelados, los cuales se trituraron con un molino, hasta obtener un polvo fino. La muestra triturada fue recolectada en un frasco plástico y cerrado herméticamente

➤ Desengrasado

Para el desengrasado de las muestras se tomó papel filtro de 16cm, donde se añadieron 10g del polvo de chocolate, para ser transferidos al dedal de extracción. Las muestras se llevaron a los balones de destilación y se le agregaron 180mL de solución de hexano, dejándolo extraer durante cuatro horas. El polvo desengrasado se lo dejó secar durante un lapso de 24 horas para posteriormente ser transferido a viales de vidrio. Las muestras se almacenaron en ausencia de luz y oxígeno.

3.6.5. Caracterización de la actividad funcional

➤ Método de extracción de componentes bioactivos.

La extracción de los compuestos antioxidantes de chocolate con CBD se realizó siguiendo el método propuesto por Hue y colaboradores (Hue et al., 2014). Para esto se pesó 0,1 g de muestra desengrasada en un tubo de centrífuga y se añadió 1mL de solución metanólica (acetona/agua/acido fórmico; 70/30/0,1; v/v/v). El proceso de extracción se realizó durante cinco ciclos combinados de agitación de 1 min con FastPrep (FastPrep-24, MP Biomédica) y posteriormente fueron centrifugadas durante 20 minutos a una velocidad de 4100 min⁻¹ y fuerza centrífuga relativa 1879*g, (Centrifuga, Cole-Parmer modelo 8892; Chicago, USA). El extracto bruto de cada ciclo de extracción se recolectó en un balón volumétrico para ser aforado a 10mL con solución metanólica.

3.6.5.1 *Caracterización de compuestos bioactivos*

- **Flavonoides totales.**

El contenido de flavonoides totales (TFC) se realizó de acuerdo con el método descrito por Llerena y colaboradores. Para esto se tomó una alícuota de la muestra de chocolates con CBD previamente extraída en una solución metanólica a la cual se le realizó una dilución 1:2 y se hace reaccionar con Nitrato de Sodio, Cloruro de Aluminio e Hidróxido de Sodio. La absorbancia de la mezcla se mide con la ayuda de un Espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2.600 (Shimadzu, Kyoto, Japón) a 490nm. Los resultados se expresaron en mg de Catequina (CAT) por cada g de peso en base seca (BS) (Llerena et al., 2020).

- **Polifenoles totales.**

Para determinar el contenido de polifenoles totales (TPC) en las muestras de chocolate con CBD se realizó mediante el método descrito por Samaniego y colaboradores. Para esto se tomó una alícuota de la muestra de chocolate previamente extraída en una solución metanólica a la cual se le realizó una dilución 1:2. A un 1 mL de la dilución se le añadió 6 mL de agua destilada y 1 mL del reactivo Folin-Ciocalteu, pasado 3 min se le añadió 2 mL Na_2CO_3 al 20%, se calentó a baño maría a 40°C durante 2 min. La absorbancia se midió utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2.600 (Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 760 nm. El TPC se expresa en términos de mg de Ácido Gálico (GAE) por cada g de muestra (Samaniego, Espín, et al., 2020a).

3.6.5.2 *Caracterización de la capacidad antioxidante*

- **Método de ABTS**

La capacidad antioxidante de los nueve tratamientos propuestos se determinó por el método del ABTS. Para esto se utilizó una fuente de radicales empleando disolución de persulfato de potasio (2,45mM) y una disolución de ABTS (7mM) en una relación 1:1, la cual se y se dejó reposar durante 16 horas a temperatura ambiente y oscuridad. A partir de la fuente de radicales se preparó una disolución de trabajo en una proporción 1:15 con disolución amortiguadora de fosfatos pH 7,0 (75 m mol•L⁻¹ fosfato de sodio monobásico 0,2 mol•L⁻¹ y fosfato de sodio dibásico 0,02 mol•L⁻¹). La disolución de trabajo se diluyó antes de cada ensayo hasta obtener una absorbancia de $1,1 \pm 0,01$ a 734 nm.

Posteriormente, se mezclaron 200 μL de extracto metanólico del chocolate funcional previamente diluido con 3800 μL de disolución de trabajo y se dejó reposar durante 45 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.

La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó por espectrofotometría UV-VIS (Espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2200, Kyoto, Japón) frente a una curva estándar de Trolox (0-800 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Los resultados se expresan como μmol de Trolox equivalentes ($\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) de muestra seca.

- **Método de FRAP.**

La capacidad antioxidante por FRAP se realizó siguiendo el método descrito por Samaniego y colaboradores (Samaniego, Brito, et al., 2020). Para lo cual se tomó 1 mL de extracto bruto previamente diluido (1:7) de la muestra de chocolate con CBD y se mezcló con 2,5mL de solución tampón de fosfatos pH 6,6 (fosfato de sodio monobásico 0,2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y fosfato de sodio dibásico 0,02 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) y 2,5mL de la solución de Ferrocianida de Potasio 1% (p/v). La mezcla se debe incubar a 50 °C (baño María) durante 20min. Luego de la incubación se añaden 2,5mL de la solución de Acido tricloroacético al 10 % (p/v), 2,5mL de agua destilada y 0,5mL de cloruro férrico al 1% (p/v). La solución obtenida se deja reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.

La cuantificación de la capacidad antioxidante se mide a 700 nm por espectrofotometría UV-VIS (Espectrofotómetro Shimadzu modelo 2600, Kioto, Japón) frente a una curva estándar de Trolox (0-700 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). Los resultados se reportan como mol Trolox equivalentes ($\text{TE}\cdot\text{g}^{-1}$) de muestra seca.

3.6.6. Cuantificación del cannabidiol

El contenido de THC y CBD de los chocolates se determinó utilizando el método AOAC 2018.11, para lo cual se pesó 1 g de chocolate desengrasado en un tubo de centrífuga de 15 mL, se adicionó 10 mL de acetonitrilo para ser sometido a un proceso de extracción en un equipo FAST PREP a una velocidad de 6m/s por 1 minuto, posteriormente se agitó en un baño ultrasonido por 15 minutos y se centrifuga a 4000 rpm por 10 minutos. Se separa el extracto y se inyecta 10 μL en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) acoplado a detector de arreglo de diodos DAD a una longitud de onda de 240 nm.

La cuantificación se realizó sobre una curva de calibración elaborada previamente con estándares puros de THC y CBD en concentraciones de 0 a 100 ppm. Los resultados se expresarán en gramos de THC y/o CBD por cada 100 g de muestra.

3.6.7. *Análisis Sensorial*

- **Aceptabilidad sensorial**

El análisis organoléptico para la selección del mejor tratamiento de chocolates con CBD, se realizó mediante una evaluación hedónica empleando escalas no estructuradas en base a parámetros de color, olor, sabor y textura. Aplicando un diseño de bloques incompletos ($T=9$, $k=4$, $r=8$, $b=18$ $\lambda=3$, $e=0,84$ tipo II) con un arreglo factorial para 18 catadores con la finalidad de disminuir el efecto de fatiga del panel seleccionado (Saltos S, 2011).

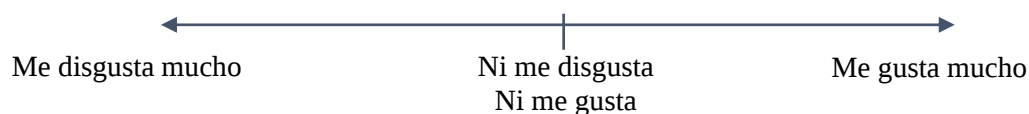


Tabla 6

Arreglo factorial para el diseño de bloques incompletos equilibrados (DBIE)

Bloque	Reps, I, II, III y IV				Bloque	Reps, V, VI, VII y VIII			
1	1	4	6	7	10	1	2	5	7
2	2	6	8	9	11	2	3	5	6
3	1	3	8	9	12	3	4	7	9
4	1	2	3	4	13	1	2	4	9
5	1	5	7	8	14	1	5	6	9
6	4	5	6	9	15	1	3	6	8
7	2	3	6	7	16	4	6	7	8
8	2	4	5	8	17	3	4	5	8
9	3	5	7	9	18	2	7	8	9

En un DBIE, el modelo lineal que se aplica es siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

Donde:

μ = media global

T_i = efecto debido a los tratamientos

B_j = efecto debido a los catadores

E_{ij} = residuo o error experimental

Planteándose las siguientes hipótesis experimentales:

- **$H_0: \mu_1 = \mu_2$ H_0 :** No existe diferencia significativa en la aceptabilidad de los parámetros de color, olor, sabor y textura en los chocolates funcionales con incorporación de CBD, todas las muestras gustan por igual.
- **$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$ H_1 :** Existe diferencia significativa en la aceptabilidad de los parámetros de color, olor, sabor y textura de los en los chocolates funcionales con incorporación de CBD, todas las muestras gustan por igual.

Tabla 7
ANOVA para análisis de varianza intrabloque

Fuente de variación	de Grados de libertad	Suma de cuadrados	de Cuadrados medios	Razón F
Caradores	6-1=5	4.605	0.921	0.84
Trat. (ajust.)	4-1=3	3.243	1.081	
Residuo	11-8=3	3.862	1.287	
Total	11	11.71		

- **Perfil sensorial**

A través de una evaluación sensorial de tipo descriptiva se determinó las características de las diferentes formulaciones de chocolates, empleando escalas estructuradas de 5 puntos. Mediante esta prueba sensorial se evaluaron parámetros como color, aspecto, olor, aroma, sabor, textura y palatabilidad, con estas características se logró desarrollar los perfiles sensoriales para los nueve tratamientos.

3.7.Tratamiento de los datos

Para el tratamiento de los datos se empleó el software statgraphics, mediante el cual se realizó la comparación de los datos obtenidos en la investigación.

3.8. Recursos humanos y materiales

3.8.1. Recursos humanos

Para la realización de esta investigación se contará con los siguientes recursos humanos:

- Ing. Wilma Llerena Silva M.sc. Directora del proyecto de Investigación.
- Dr. Iván Samaniego Maigua, Codirector del proyecto de Investigación.

3.8.2. Materiales

- **Materia Prima.**

- Cacao Nacional
- Cannabidiol (CBD)
- Manteca de cacao
- Azúcar
- Leche en polvo

- **Material de laboratorio**

- | | |
|------------------------------------|---|
| – Tubos de ensayo de 10 mL | – Buretas |
| – Balones de aforo 10, 25, 50 mL | – Pinzas para bureta |
| – Probetas | – Soporte universal |
| – Tubos de centrifuga de 1 y 15 mL | – Pipetas volumétricas de 10 ml |
| – Puntas para micropipeta | – Guantes de nitrilo pack/50 |
| – Pissetas | – Jeringas desechables |
| – Gradillas | – Filtros de membrana milipore de 0,22 µm |
| – Viales de 2 mL y 15 mL | |
| – Papel filtro | |

- **Reactivos.**

- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| – Fosfato de sodio monobásico | – Trolox |
| – Fosfato de sodio dibásico | – Reactivo Folin & Ciocalteu |
| – Ferrocianida de potasio | – Carbonato de sodio |
| – Acido tricloroacético | – Etanol grado p.a |
| – Cloruro férrico | – Estándar de Cannabidiol (CBD) |

- Metanol grado reactivo 99,5%
- Ácido gálico monohidratado
- Nitrato de Sodio
- Cloruro de Aluminio
- Agua destilada
- Acetonitrilo grado HPLC
- Ácido fórmico grado HPLC
- Hidróxido de Sodio

- **Equipos.**

- Medidor de humedad Mini GAC
- Congelador
- Balanza analítica
- Cronómetro
- Baño maría
- Molino de café
- Cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC)
- Espectrofotómetro
- FastPrep
- Centrífuga Vortex
- Ultrasonido

- **Materiales de oficina.**

- Cuaderno de laboratorio
- Lapiceros
- Computadora
- Pendrive
- Calculadora
- Impresora

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de los compuestos bioactivos

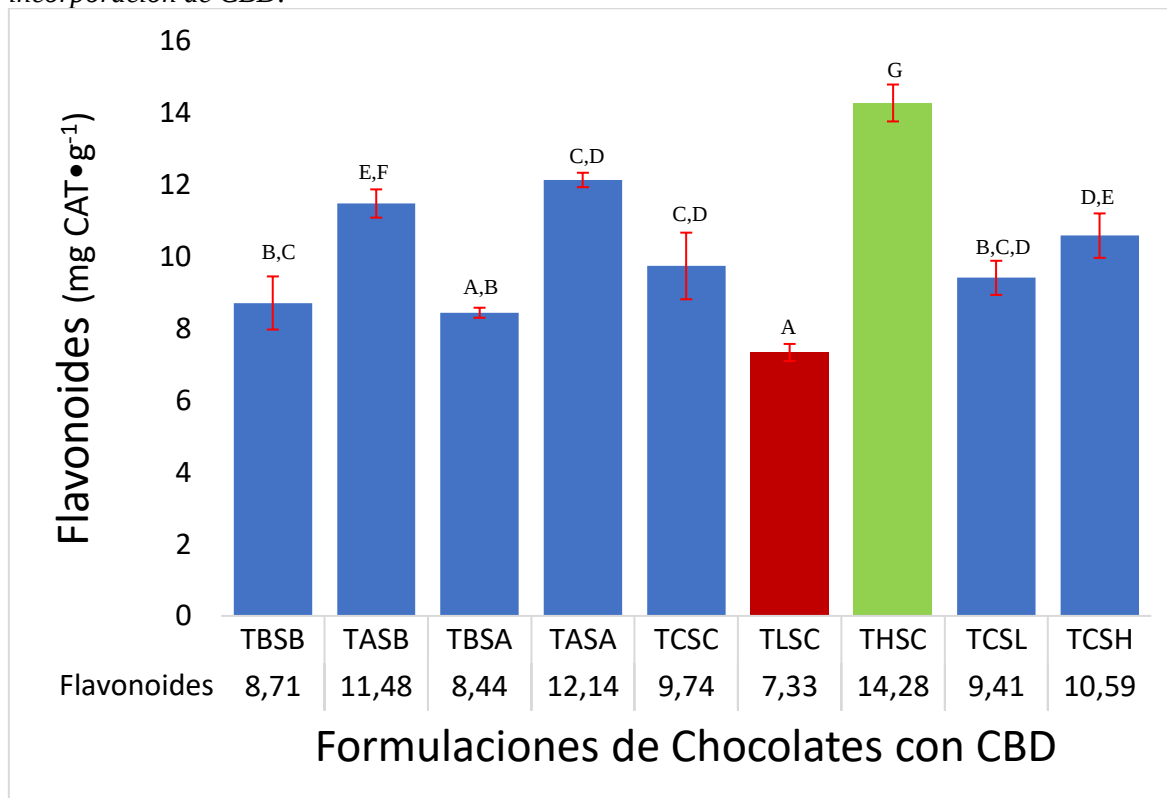
En el desarrollo e innovación de alimentos, además de obtener formulaciones de productos se realizan diferentes análisis que determinen la calidad y funcionalidad de estos. Dentro del desarrollo de una formulación de chocolate con CBD se determinó diferentes propiedades bioactivas, como se detalla a continuación:

4.1.1. Flavonoides (FT)

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 5, la concentración de sólidos de cacao y la cantidad de CBD empleados en el desarrollo de chocolates funcionales, pueden influir en el contenido de flavonoides totales. En las formulaciones desarrolladas este bioactivo varía de 7,33 a 14,28 mg CAT·g⁻¹, siendo el tratamiento THSC con 77,07% sólidos de cacao y 300 mg·kg⁻¹ CBD el que mayor contenido de FT presenta, mientras que TLSC con 42,93% sólidos de cacao y 300 mg·kg⁻¹ CBD, el más bajo.

Figura 5

Evaluación del contenido de flavonoides en los diferentes tratamientos de chocolates con la incorporación de CBD.



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de estos valores, se puede establecer que existe un efecto de los sólidos de cacao sobre la concentración de este fitonutriente; puesto que se incrementa o disminuye en función de la cantidad de cacao presente en la formulación. Jacimovic y colaboradores, (2022), en su investigación reportaron un contenido de FT de 15.46, 14.92, 26.68 y 47.47 mg CAT•g⁻¹ muestras comerciales de chocolate negro elaborados con 49, 56, 77 y 88 % de sólidos de cacao, en ese orden.

A pesar de que las muestras presentaron un comportamiento similar en cuanto al aumento del contenido de bioactivos a mayor cantidad de sólidos de cacao, las formulaciones desarrolladas en este trabajo de investigación presentaron una menor concentración de FT (7.33 a 14.28 mg CAT•g⁻¹). Según Samaniego y colaboradores (2020), existe un efecto del área de cultivo y la variedad de cacao, sobre el contenido de compuestos bioactivos, llegando a tener un impacto en el contenido fitoquímico de los cacaos las almendras y sus derivados.

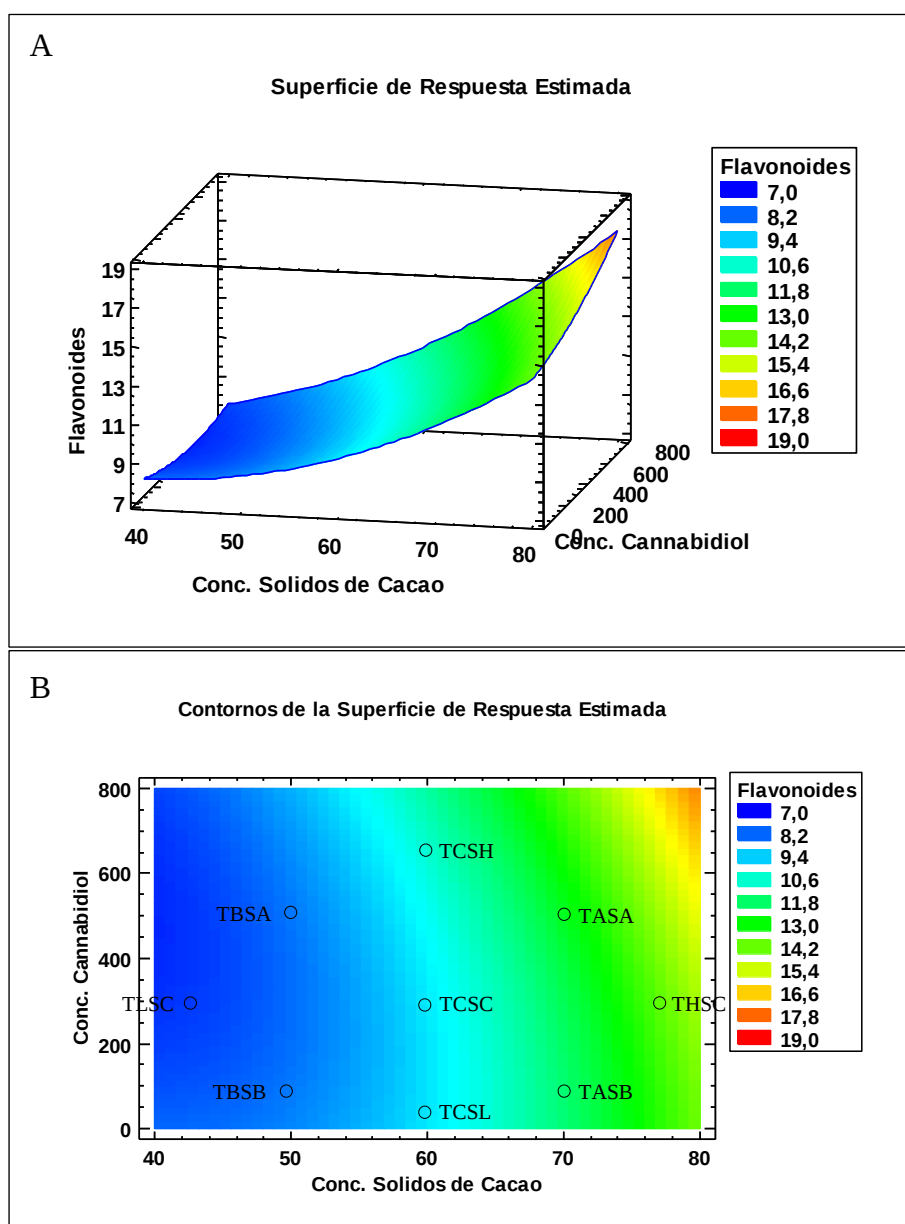
Las almendras de cacao contienen entre un 12 y 18% de flavonoides entre flavonoles, flavonas y flavan 3-ols como la (+)-catequina, (-)-epicatequina y sus procianidinas oligoméricas y poliméricas, que además de aportar propiedades bioactivas son los responsables del amargor, palatabilidad y las propiedades organolépticas de chocolates con altos contenidos de sólidos de cacao (Gültekin et al., 2016; Sharmistha et al., 2022). Mientras que, el extracto de *Cannabis sativa* es rico en flavonoides como flavonoles, rutina, quercetina-3-glucósido, kaempferol-3-o-glucósido, quercetina y kaempferol, flavonas (cannflavina A y B, luteolina-7-o-glucósido, apigenina-7-o-glucósido, luteolina, apigenina), flavanoles (catequina, epicatequina) y flavanonas (naringenina) (Yi et al., 2022)

Los flavonoides del cacao son ampliamente estudiados por su efecto benéfico en la salud y fotoprotector para la piel; mientras que, los compuestos fenólicos del cáñamo poseen propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas y neuroprotectoras (Gallegos, 2021)

Con la finalidad de identificar el factor (sólidos de cacao o CBD) que aporta el mayor contenido de flavonoides en las formulaciones de chocolate, se aplicó un diseño de superficie de respuesta (Figura 6); donde se determinó que las concentraciones más altas de sólidos de cacao (70%) y de CBD (500 ppm), permiten obtener un chocolate con una concentración de flavonoides (12,14 mg CAT•g⁻¹).

Los tratamientos TASB y THSC con una alta concentración de sólidos de cacao y bajo contenido de cannabidiol presentaron con contenido de flavonoides entre 11 y 15 mg CAT•g⁻¹. De igual manera, los tratamientos TCSH y TASA elaborados con altos contenidos de sólidos y CBD, estuvieron en un rango de flavonoides parecidos. Sin embargo, un bajo contenido de CBD y sólidos de cacao disminuyen los FT hasta un 7 y 8 mg CAT•g⁻¹.

Figura. 6. Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de flavonoides. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).

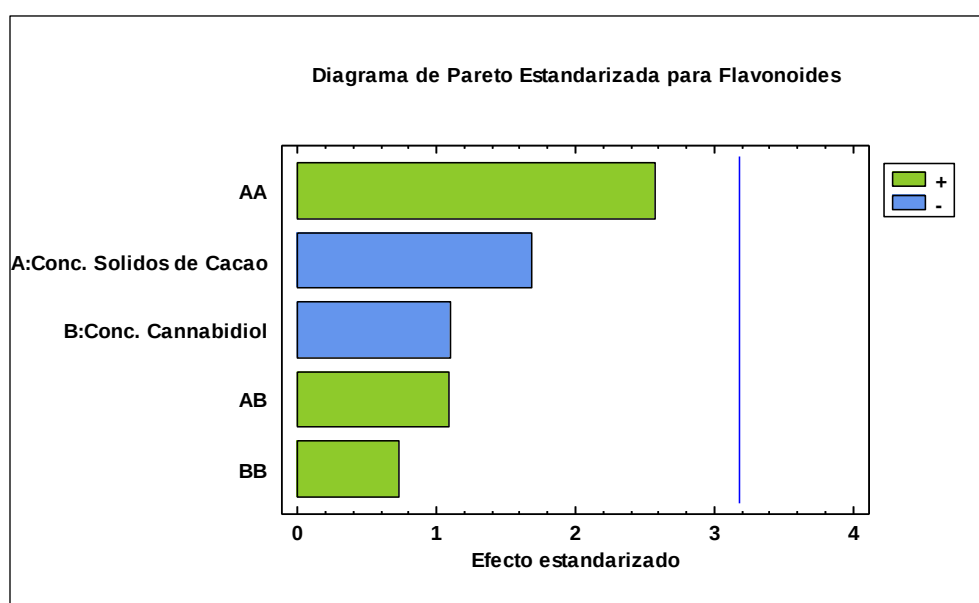


TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg•kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg•kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg•kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg•kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg•kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg•kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg•kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg•kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg•kg⁻¹ CBD).

A partir de la metodología de superficie de respuesta y mediante un análisis de regresión multivariante, se obtuvo el modelo matemático que explica el efecto de la incorporación de sólidos de cacao (Factor A) y cannabidiol (Factor B) sobre el contenido de flavonoides de los chocolates con CBD. Sin embargo, no existe un efecto significativo individual ($p \geq 0,05$), interacción lineal ($p \geq 0,05$) o cuadrática ($p \geq 0,05$) de la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre el perfil bioactivo de las formulaciones desarrollada sobre el contenido de flavonoides totales (Figura 7), demostrando (acepto H_0) que la combinación de ambos componentes favorece incremento de FT.

Figura. 7

Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de flavonoides en los chocolates funcionales con CBD.



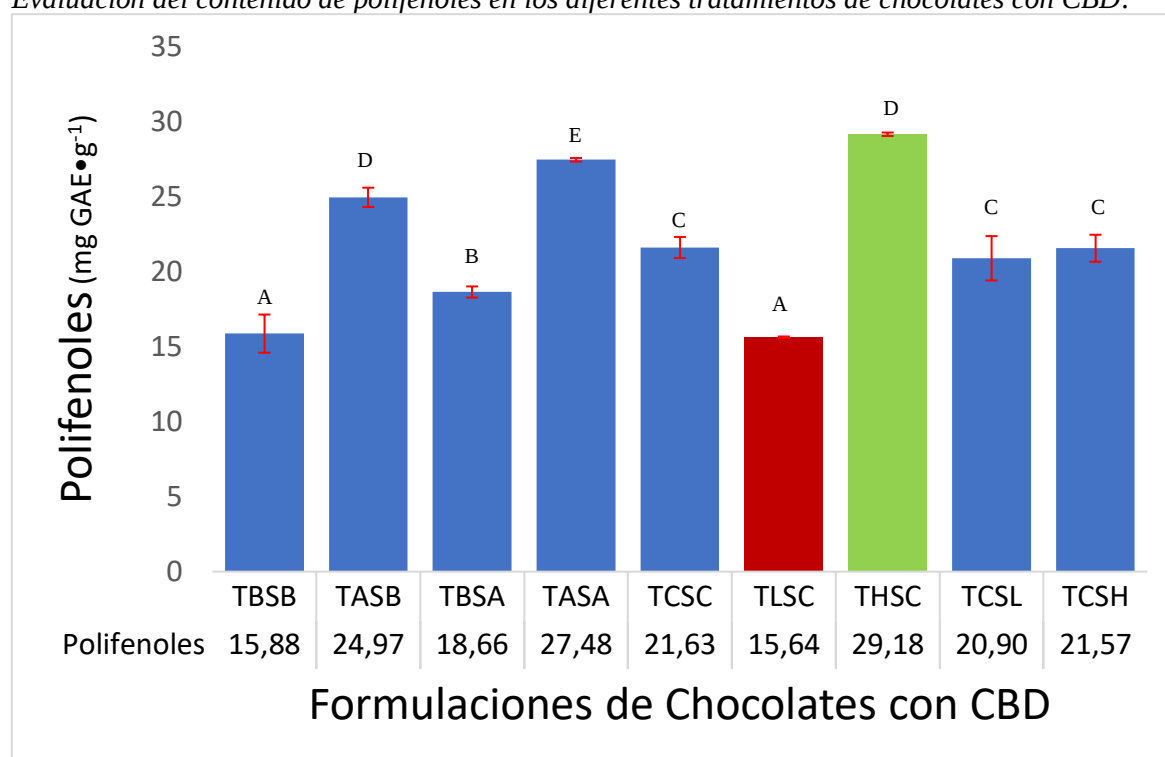
A: Concentración de Sólidos de Cacao; **B:** Concentración de Cannabidiol; **AA:** Efecto cuadrático de la concentración de Sólidos de cacao; **BB:** Efecto cuadrático de la concentración de cannabidiol; **AB:** Interacción de la concentración de los sólidos de cacao y Cannabidiol.

4.1.2. Polifenoles (PT)

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 8 la concentración de sólidos de cacao y la cantidad de CBD empleados en el desarrollo de chocolates potencialmente funcionales, pueden influir en el contenido de polifenoles totales. En las formulaciones desarrolladas este bioactivo varía de 15,64 – 29,18 mg GAE·g⁻¹ siendo el tratamiento THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD) el que contiene un mayor contenido de polifenoles con 29,19 mg GAE·g⁻¹; y por el contrario TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD) el de menor contenido con 15,64 mg GAE·g⁻¹, repitiéndose el patrón presentado en los resultados de flavonoides, siendo la concentración de sólidos de cacao quien influye más en el contenido fenólico del chocolate resultado (Polifenoles totales y Flavonoides totales).

Figura. 8

Evaluación del contenido de polifenoles en los diferentes tratamientos de chocolates con CBD.



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de estos valores, se puede establecer que existe un efecto de los sólidos de cacao sobre la concentración de este fitonutriente (PT); puesto que se incrementa o disminuye en función de la cantidad de cacao presente en la formulación.

Los demás tratamientos tienen un comportamiento similar puesto que los tratamientos con menor contenido de cacao presentaron baja concentración de PT. A pesar de que, los tratamientos TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD) y TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD) contengan un 50% de sólidos de cacao (SC) presentan un ligero aumento de polifenoles el uno del otro probablemente debido a la diferencia de concentración de cannabidiol incorporada.

En el trabajo de Calva y colaboradores, (2020), se hace una recopilación del contenido de polifenoles en chocolates negros. En este trabajo se comparó muestras con 60% SC de origen ecuatoriano (60% de SC, Nacional), venezolano (74% SC, Criollo), mexicano (66% SC, Trinitario; 70% SC; Criollo), mismas que presentaron una concentración de PT de 8,94 mg GAE·g⁻¹; 13,97 mg GAE·g⁻¹, 14,55 mg GAE·g⁻¹ y 21,15 mg GAE·g⁻¹; respectivamente. Con base en estos resultados se puede concluir que, independientemente del contenido de SC, los chocolates oscuros, presentan una variación en el contenido de antioxidantes, asociado al origen y proceso de postcosecha del cacao, lo que puede llegar a afectar el contenido de polifenoles.

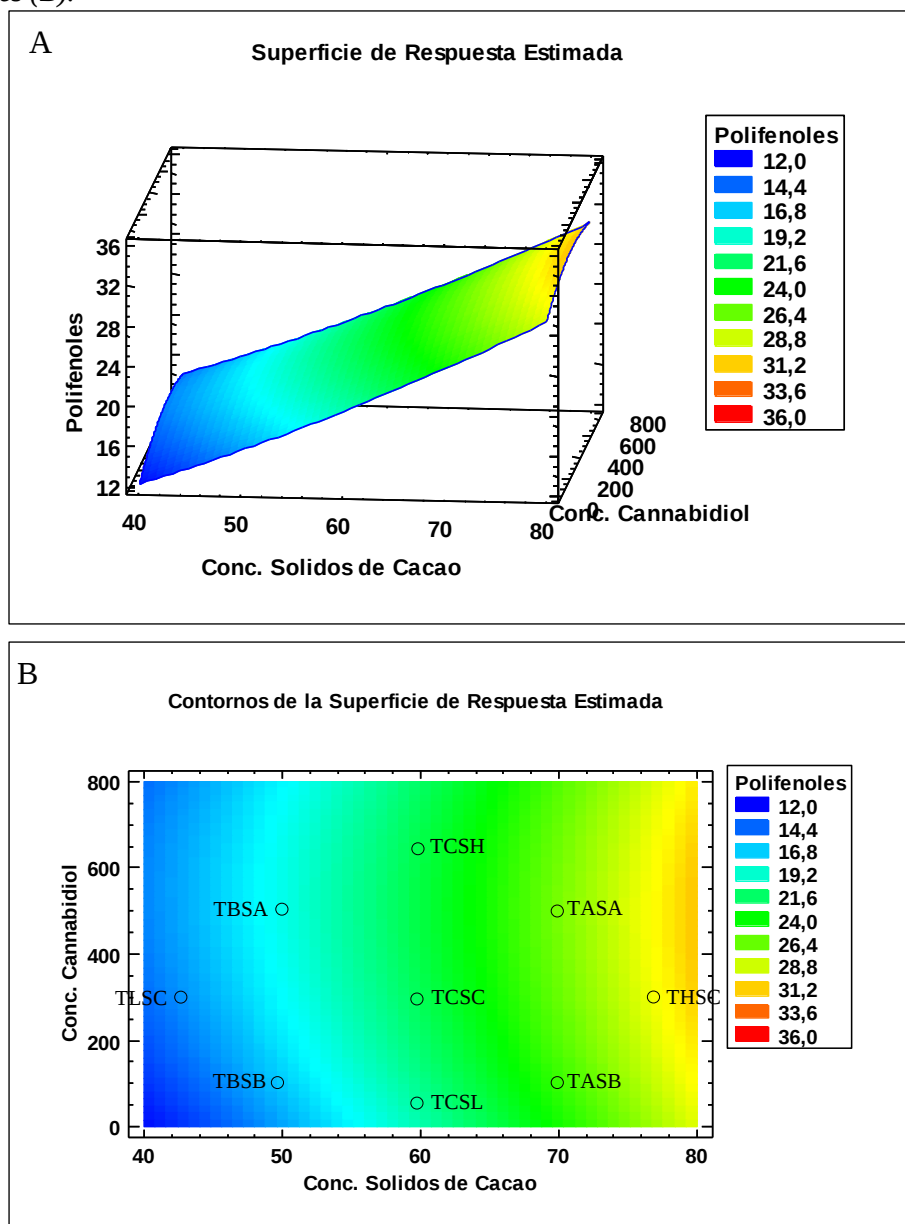
En un trabajo desarrollado por Medina y colaboradores, (2021), las muestras de chocolate oscuro al 70% de SC, presentó valores de 18,76 mg GAE·g⁻¹, en un rango menor que los presentados en este estudio (24,97 y 27,48 mg GAE·g⁻¹). Estos autores remplazan parcialmente la manteca de cacao por aceite de sacha inchi, aunque los niveles agregados no influyeron en la cantidad de PT, en comparación con el control, por lo que se sostiene que el contenido de sólidos de cacao es quien influye directamente en la concentración fenólica en los chocolates negros.

Con la finalidad de identificar el factor (sólidos de cacao y CBD) que aporta el mayor contenido de flavonoides en las formulaciones de chocolate, se aplicó un diseño de superficie de respuesta (Figura 9); donde se determinó que las concentraciones más altas de sólidos de

cacao (70%) y de CBD (500 ppm), permiten obtener un chocolate con más contenido en flavonoides (29,18 mg GAE·g⁻¹).

Figura. 9

Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de polifenoles. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).

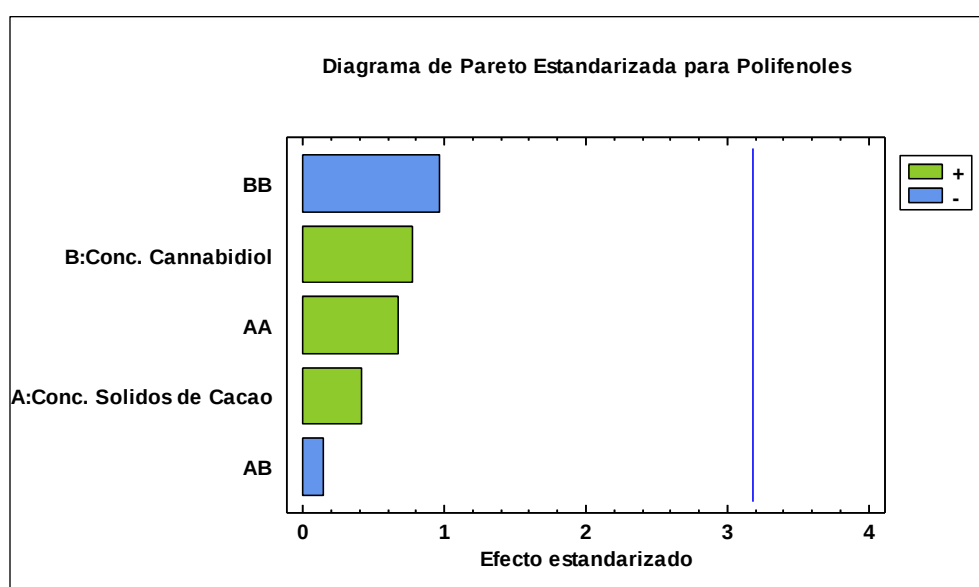


TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de la metodología de superficie de respuesta y mediante un análisis de regresión multivariante, se obtuvo el modelo matemático que explica el efecto de la incorporación de sólidos de cacao (Factor A) y cannabidiol (Factor B) sobre el contenido de polifenoles de los chocolates potencialmente funcionales. Sin embargo, no existe un efecto significativo individual ($p \geq 0,05$), interacción lineal ($p \geq 0,05$) o cuadrática ($p \geq 0,05$) de la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre el perfil bioactivo de las formulaciones desarrollada sobre el contenido de flavonoides totales (Figura 10), demostrando (acepto H_0) que la combinación de ambos componentes favorece incremento de PT.

Figura. 10

Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido de polifenoles en los chocolates con CBD



A: Concentración de Sólidos de Cacao; **B:** Concentración de Cannabidiol; **AA:** Efecto cuadrático de la concentración de Sólidos de cacao; **BB:** Efecto cuadrático de la concentración de cannabidiol; **AB:** Interacción de la concentración de los sólidos de cacao y Cannabidiol.

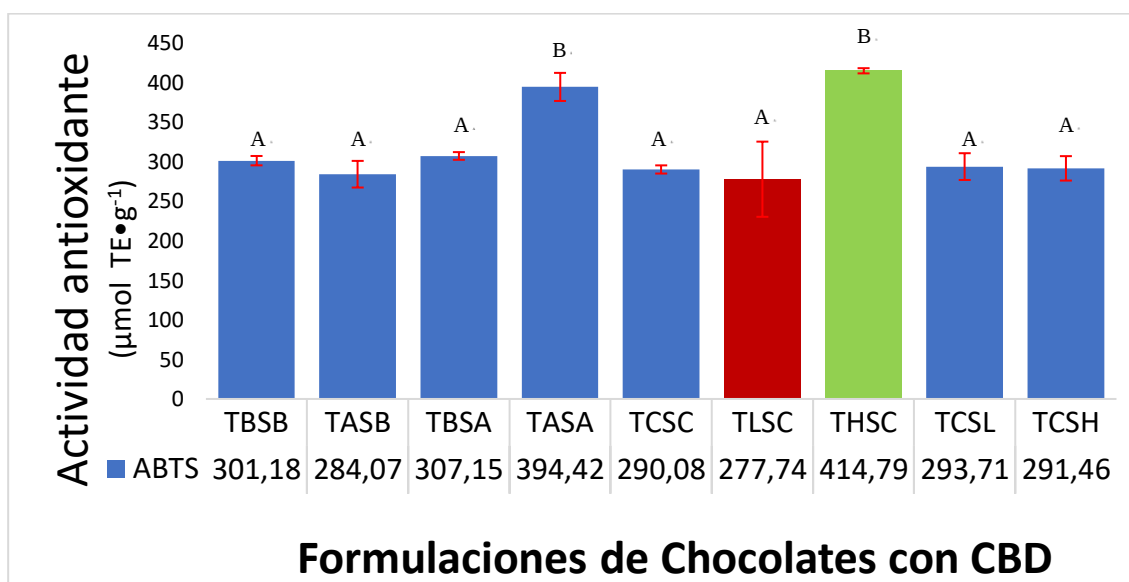
4.2. Caracterización de la capacidad antioxidante

Los antioxidantes desempeñan un papel fundamental en el bienestar humano, ya que tienen la capacidad de detener o retardar las reacciones de oxidación indeseadas y, de esta manera, prevenir el estrés oxidativo asociado a enfermedades como la hipertensión arterial, los trastornos neurodegenerativos y el cáncer (Rumpf et al., 2023).

4.2.1. Capacidad antioxidante por ABTS

La capacidad antioxidante de las nueve muestras de chocolates potencialmente funcionales se evaluó mediante el método ABTS con la finalidad de conocer la influencia en la incorporación de CBD de cada tratamiento. De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 11, el tratamiento THSC con 77,07% sólidos de cacao y 300 mg·kg⁻¹ CBD, presenta mayor capacidad antioxidante (414,7 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) en comparación con los demás tratamientos. Mientras que la menor concentración del factor A (TLSC 42,93% sólidos de cacao) y con 300 mg·kg⁻¹ CBD presentó la menor capacidad antioxidante con 277,7 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$

Figura 11 Evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS de los diferentes tratamientos de chocolates con CBD



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de estos valores, se puede establecer que existe un efecto de los sólidos de cacao sobre la capacidad antioxidante; puesto que, los chocolates con una alta actividad antioxidante fueron aquellos con altos contenidos de sólidos de cacao.

Según el estudio realizado por Perea y colaboradores, (2009), existe un efecto del procesamiento del cacao a chocolate en las propiedades antioxidantes, encontrando que la materia prima (cacao) tiene una actividad antioxidante de $361,45 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ superior al licor de cacao ($270,117 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) y al chocolate comercial elaborado con licor cacao, lecitina de soya, azúcar y saborizantes ($129,70 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$). En esta investigación la actividad antioxidante de las muestras va de $277,77$ a $414,7 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$; similar a los valores obtenidos por estos autores en muestras de licor de cacao. La actividad antioxidante fue inclusive superior en algunos casos, probablemente debido a la incorporación de CBD a la formulación.

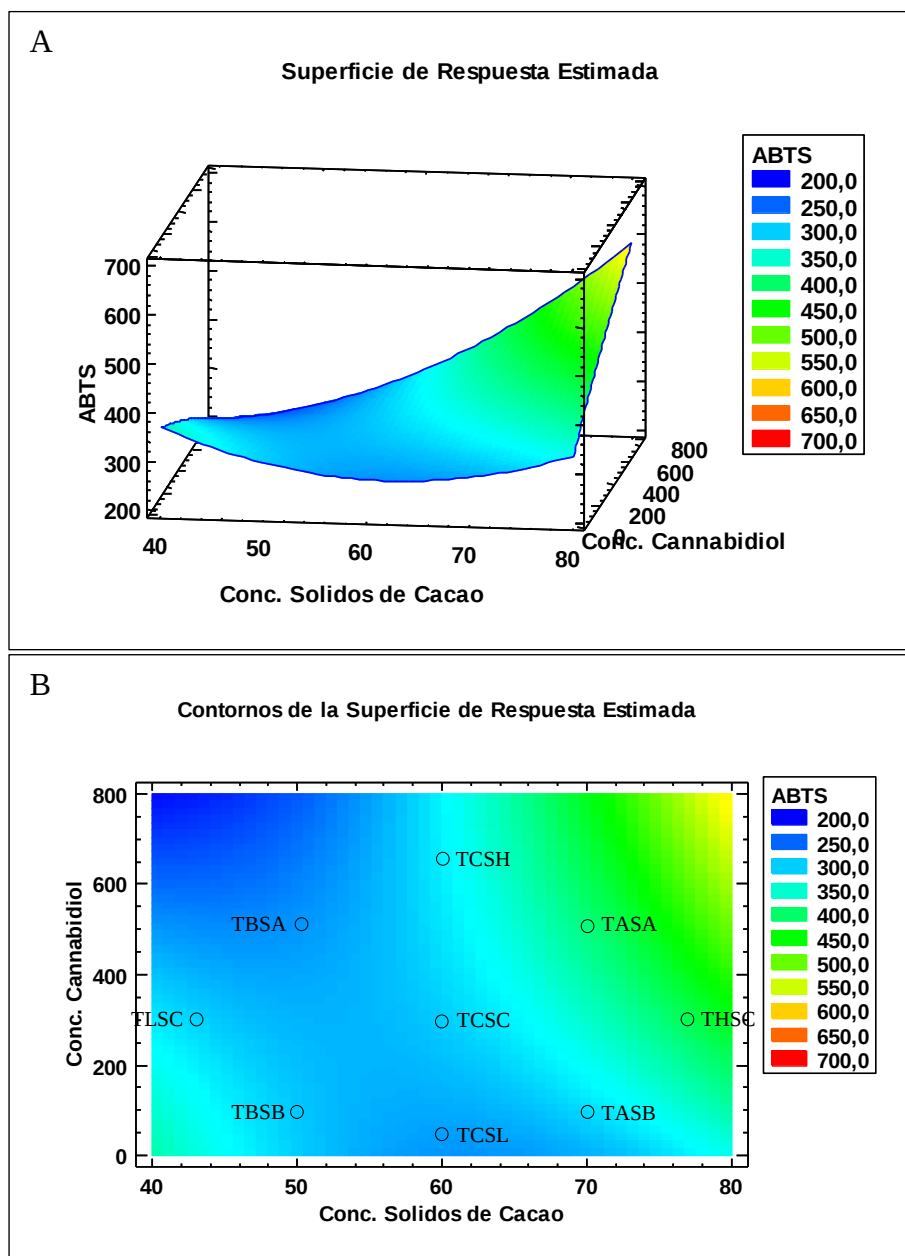
Los antioxidantes de origen natural tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres durante el proceso de oxidación en el cuerpo, lo que ayuda a prevenir diversas enfermedades. El chocolate oscuro, en particular, es reconocido por su abundancia de polifenoles y se considera uno de los principales alimentos antioxidantes, después de las frutas y verduras, que pueden formar parte de una dieta saludable. Por lo tanto, el cacao y el chocolate pueden ser considerados como alimentos funcionales (Baldera et al., 2021; Tafurt et al., 2020).

Con la finalidad de identificar el factor (sólidos de cacao y CBD) que aporta el mayor contenido de antioxidantes en las formulaciones de chocolate desarrolladas, se aplicó un diseño de superficie de respuesta (Figura 12), donde se determinó que las concentraciones más altas de sólidos de cacao (77%) y de CBD (500ppm), permiten obtener el chocolate con la mayor actividad antioxidante $414,79 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$

En los resultados proyectados en el gráfico de las superficies de respuesta, se observa cómo va aumentando el pico de capacidad antioxidante a medida que aumenta la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol teniendo un efecto de ambos factores, confirmando que al aumentar la concentración de cannabidiol permite obtener un ligero aumento de la capacidad antioxidante.

Figura 12

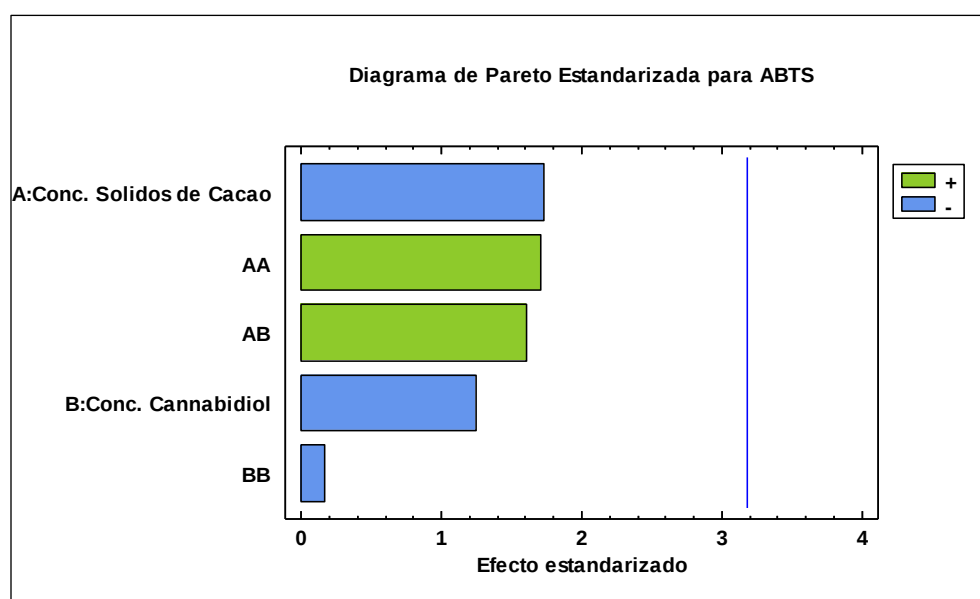
Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante por el método ABTS. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de la metodología de superficie de respuesta y mediante un análisis de regresión multivariante, se obtuvo el modelo matemático que explica el efecto de la incorporación de sólidos de cacao (Factor A) y cannabidiol (Factor B) sobre el contenido de antioxidantes de los chocolates. Sin embargo, no existe un efecto significativo individual ($p \geq 0,05$), interacción lineal ($p \geq 0,05$) o cuadrática ($p \geq 0,05$) de la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre la capacidad antioxidante de las formulaciones desarrollada (Figura 13), demostrando (acepto H_0) que la combinación de ambos componentes favorece incremento de la actividad antioxidante.

Figura. 13. *Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante de los chocolates con CBD por el método ABTS*



A: Concentración de Sólidos de Cacao; **B:** Concentración de Cannabidiol; **AA:** Efecto cuadrático de la concentración de Sólidos de cacao; **BB:** Efecto cuadrático de la concentración de cannabidiol; **AB:** Interacción de la concentración de los sólidos de cacao y Cannabidiol.

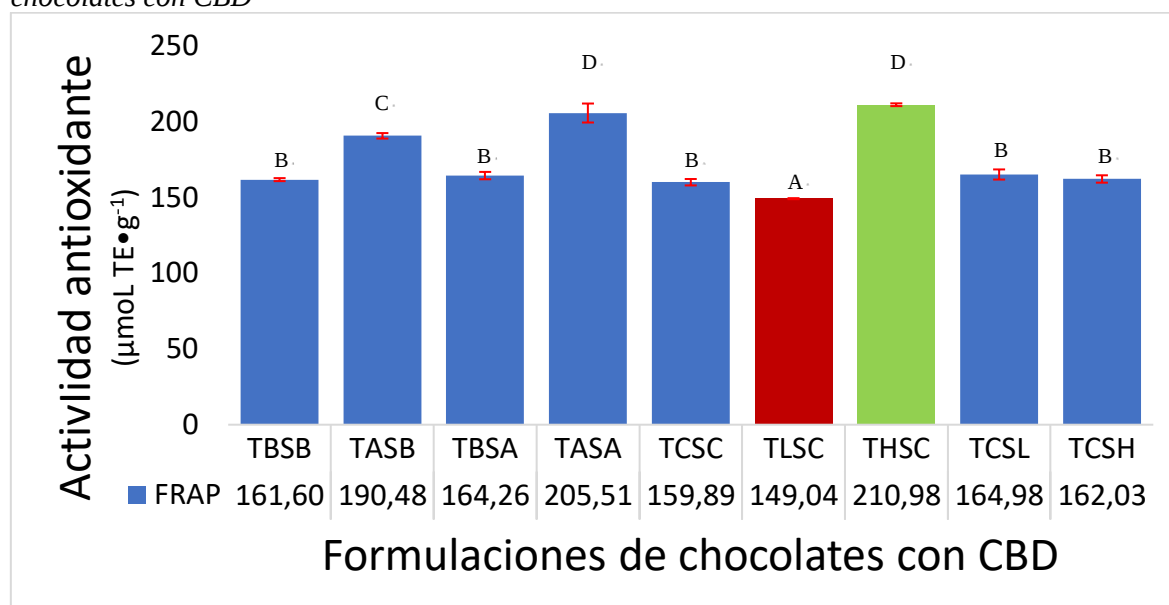
4.2.2. Capacidad antioxidante por FRAP

La capacidad antioxidante de los chocolates medida mediante el método FRAP puede variar dependiendo de diversos factores, como el contenido de cacao, el proceso de fabricación y la formulación específica del chocolate (Andrade et al., 2019). Se evaluó la actividad antioxidante de las nueve formulaciones, en las que de acuerdo con los resultados presentados en la Figura 14, la concentración de sólidos de cacao y la cantidad de CBD empleados en el desarrollo de chocolates funcionales, pueden influir en sus propiedades fitoquímicas.

En las formulaciones desarrolladas, se pudo observar que la actividad antioxidante medida por FRAP varía de 149,04 a 210,98 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ siendo el tratamiento THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD) quien presenta mayor capacidad antioxidante con 201,98 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$, muy seguido de TASA (70% sólidos de cacao, 500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD) con un 205,51 $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ de igual manera, en este parámetro, se observa un efecto predominante de la adición de sólidos de cacao en las propiedades funcionales de las diferentes formulaciones de chocolate.

Figura. 14.

Evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP de los diferentes tratamientos de chocolates con CBD



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD).

A partir de estos valores, se puede establecer que existe un efecto de los sólidos de cacao sobre la concentración de este fitonutriente; puesto que se incrementa o disminuye en función de la cantidad de cacao presente en la formulación. Según el estudio realizado por Chire & Ureña, (2023) en formulaciones de chocolate con 70% de sólidos de cacao la capacidad antioxidante – FRAP presenta un valor de $67,0 \mu\text{mol eq trolox/g}^{-1}$ el. Estos valores fueron inferiores obtenidos en este trabajo de investigación. Sin embargo, es importante resaltar que el 90% del contenido de sólidos de cacao empleados por estos autores corresponden a cacao Nacional y el 10% a CCN-51. Lo que podría afectar en su actividad bioactiva final.

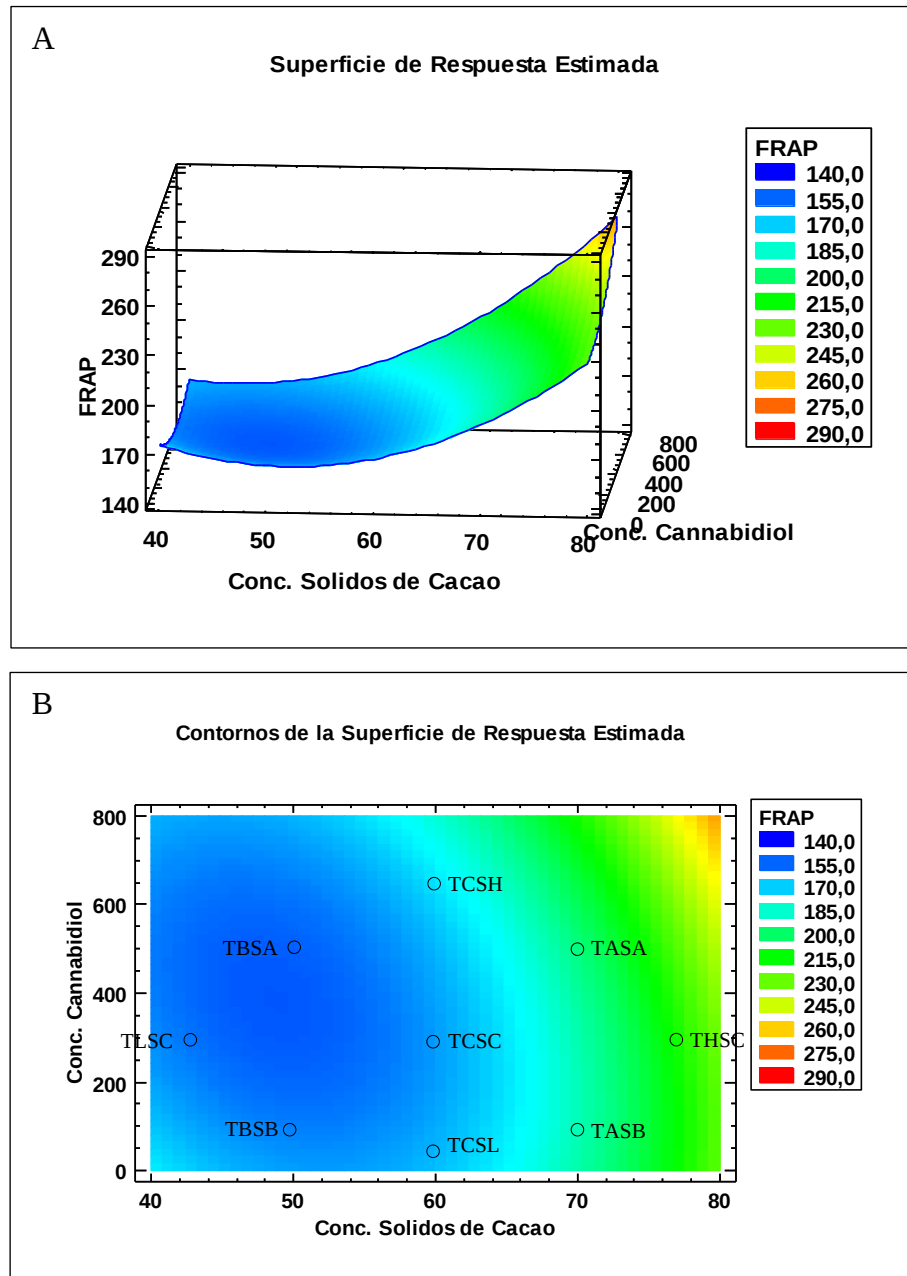
De acuerdo con Perea y colaboradores (2009), Durante el proceso de fabricación de chocolates, especialmente durante la etapa de tostado donde se utilizan altas temperaturas que, se producen una pérdida de actividad antioxidante en las semillas de cacao. Se estima que esta pérdida puede ser de aproximadamente el 24%. EA estas pérdidas se atribuyen principalmente al efecto de la temperatura y a la posible formación de otros compuestos durante la reacción de Maillard.

Dawidowicz y colaboradores (2021) presentan datos que prueban que la familia de cannabinoides (CBG, CBD, Δ^9 -THC, CBN, CBGA CBDA y Δ^9 -THCA) exhiben actividad antioxidante que se manifiesta en su capacidad para eliminar los radicales libres, proteger el proceso de oxidación y reducir los iones metálicos, comparables a la actividad biológica de la vitamina E.

Con la finalidad de identificar el factor (sólidos de cacao y CBD) que aporta el mayor contenido de flavonoides en las formulaciones de chocolate, se aplicó un diseño de superficie de respuesta (Figura 15); donde se determinó que las concentraciones más altas de sólidos de cacao (70%) y de CBD (500 ppm), permiten obtener un chocolate con una alta capacidad antioxidante ($210 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$). Sin embargo, los tratamientos con concentraciones de cacao del 50 y 60% obtuvieron rangos similares ($159,89 - 164,98 \mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$).

Figura 15

Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante por el método FRAP. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).

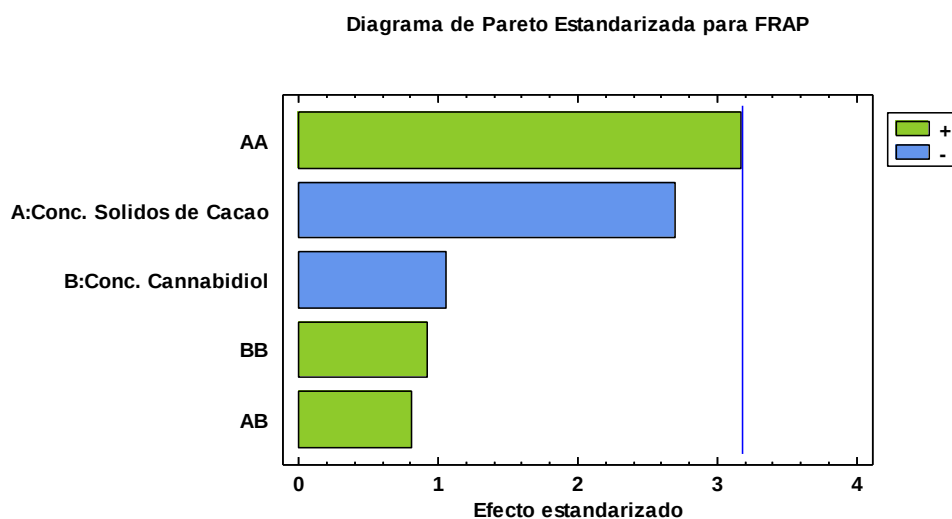


TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de la metodología de superficie de respuesta y mediante un análisis de regresión multivariante, se obtuvo el modelo matemático que explica el efecto de la incorporación de sólidos de cacao (Factor A) y cannabidiol (Factor B) sobre el contenido de flavonoides de los chocolates potencialmente funcionales. Sin embargo, no existe un efecto significativo individual ($p \geq 0,05$), interacción lineal ($p \geq 0,05$) o cuadrática ($p \geq 0,05$) de la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre la concentración de bioactivos responsables de la actividad antioxidante FRAP de las formulaciones desarrolladas (Figura 16), demostrando (acepto H_0) que la combinación de ambos componentes favorece el incremento de actividad antioxidante.

Figura. 16.

Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre la capacidad antioxidante de los chocolates con CBD por el método FRAP



A: Concentración de Sólidos de Cacao; **B:** Concentración de Cannabidiol; **AA:** Efecto cuadrático de la concentración de Sólidos de cacao; **BB:** Efecto cuadrático de la concentración de cannabidiol; **AB:** Interacción de la concentración de los sólidos de cacao y Cannabidiol.

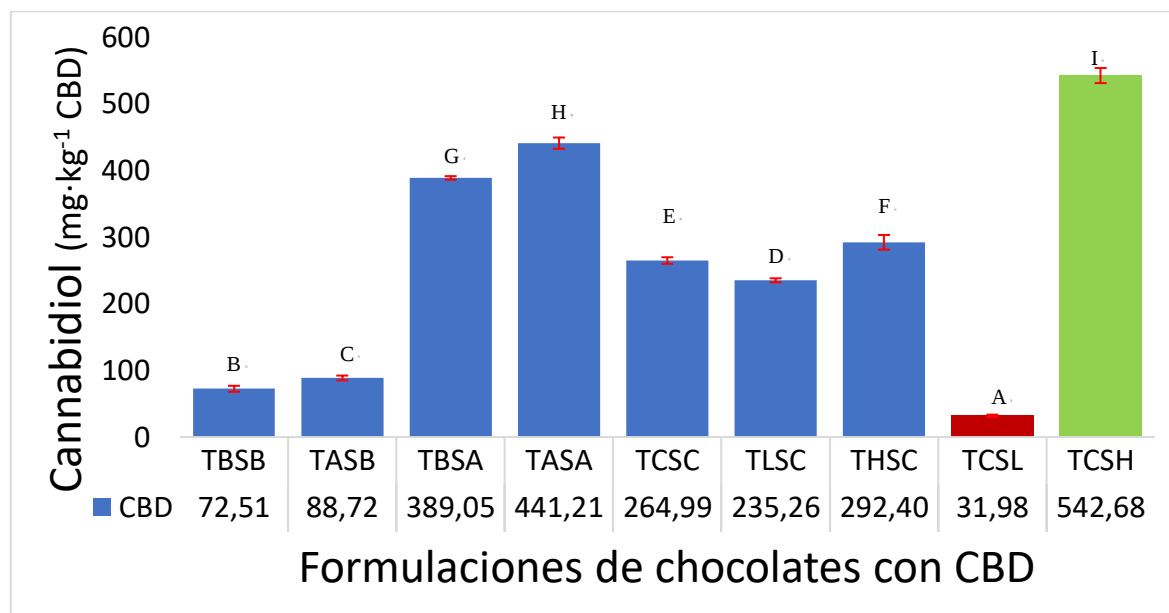
4.3. Cuantificación de cannabidiol

En los últimos tiempos, diversos estudios han revelado que los componentes nutricionales y bioactivos presentes en el cáñamo pueden tener un papel importante en la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades, lo que sugiere que este podría ser un ingrediente valioso en la alimentación funcional, especulando que la presencia de CBD incluso en cantidades mínimas podría brindar ciertos beneficios para la salud (Rupasinghe et al., 2020)

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 17, la concentración de cannabidiol empleado en el desarrollo de chocolates prometedoramente funcionales, pueden influir en el contenido de CBD por los tanto los tratamientos. TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD) tiene la concentración más alta de CBD con 542,68 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD, siendo este también el axial positivo, mientras que le axial negativo TCSL tiene una concentración con 31,98 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD.

Figura. 17

Evaluación del contenido de cannabidiol en los diferentes tratamientos de chocolates con CBD



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ CBD).

A partir de estos valores, se puede establecer que existe un efecto directo entre la concentración de cannabidiol incorporada y concentración de este en la formulación de este fitonutriente; puesto que a mayor concentración de cannabidiol mayor concentración de CBD. Los demás tratamientos tienen un comportamiento similar puesto que los tratamientos con menor contenido de cannabidiol presentaron menor cantidad de este compuesto.

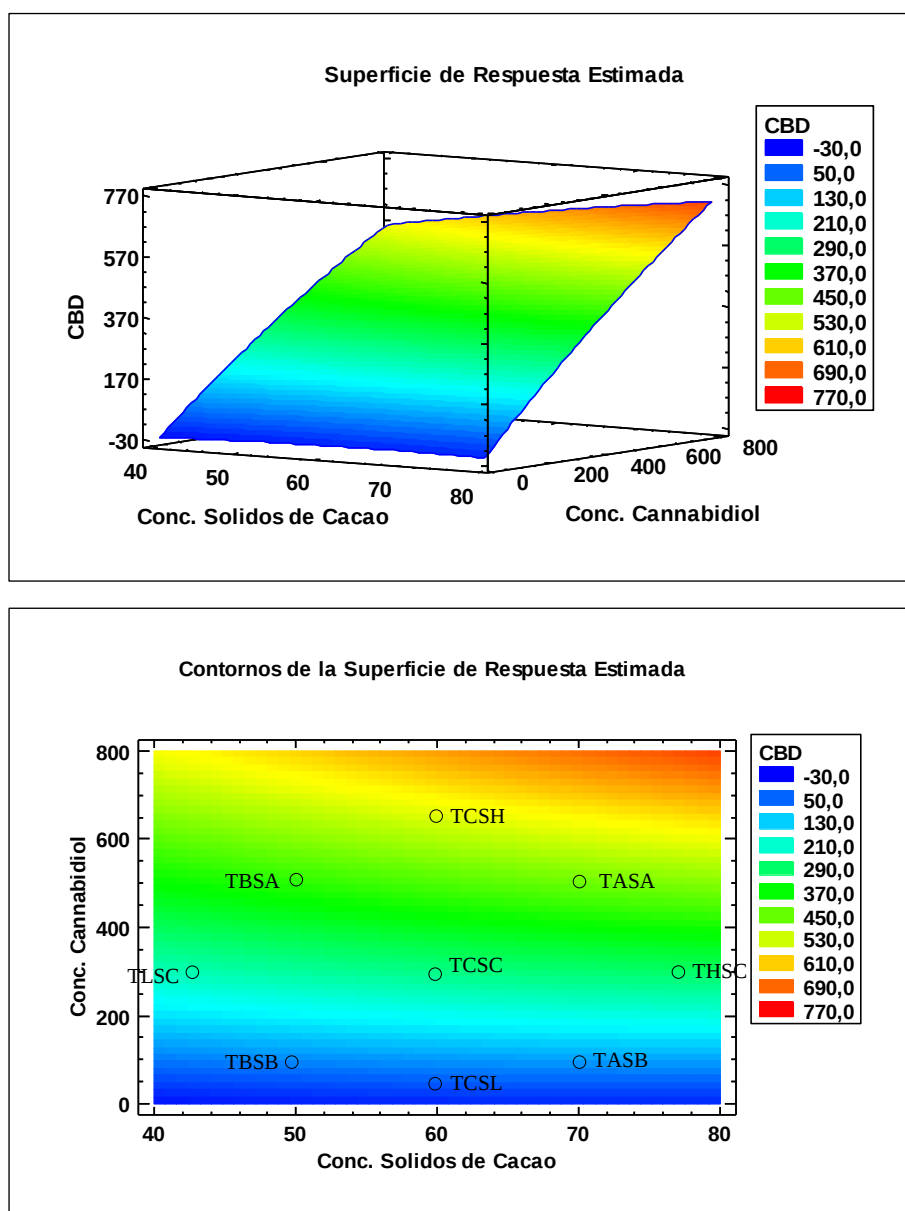
De acuerdo con Sharmistha y colaboradores, (2022) los componentes bioactivos son muy sensibles por lo que pueden llegar a destruirse fácilmente con la luz, el calor o los componentes químicos fuertes, por este motivo, se sugiere que el Cannabidiol debe agregarse después del proceso de conchado. Según el proceso (Figura 4) aplicado, existe una disminución aproximada del 16% entre la cantidad incorporada de CBD y la cantidad cuantificada en el chocolate; pudiendo atribuirse a diferentes factores como las pérdidas entre el pesado e incorporación a la masa de chocolate, distribución no homogénea en la masa y a la temperatura de conchado.

Actualmente, en el país se utiliza los derivados del cannabis para la elaboración de alimentos; sin embargo, estos deben tener una concentración de THC igual o menor al 0,3%; sin superar concentraciones de cannabinoides con un nivel de ingesta que no presenten una actividad terapéutica (Ministerio de salud, 2021). En el mercado ecuatoriano se encuentra la marca de chocolate “MAYU” que contiene 70% de sólidos de cacao con una concentración de CBD del 0,1% ($1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) superior a la mayor concentración añadida en este trabajo de investigación ($641,44 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Con la finalidad de identificar el componente que aporta el mayor contenido de cannabidiol en las formulaciones de chocolate, se aplicó un diseño de superficie de respuesta (Figura 18), donde se determinó como la concentración incorporada de sólidos de cacao es indiferente al contenido de CBD, ya que a mayor cantidad incorporada de Cannabidiol, mayor presencia de CBD en el producto final.

Figura 18

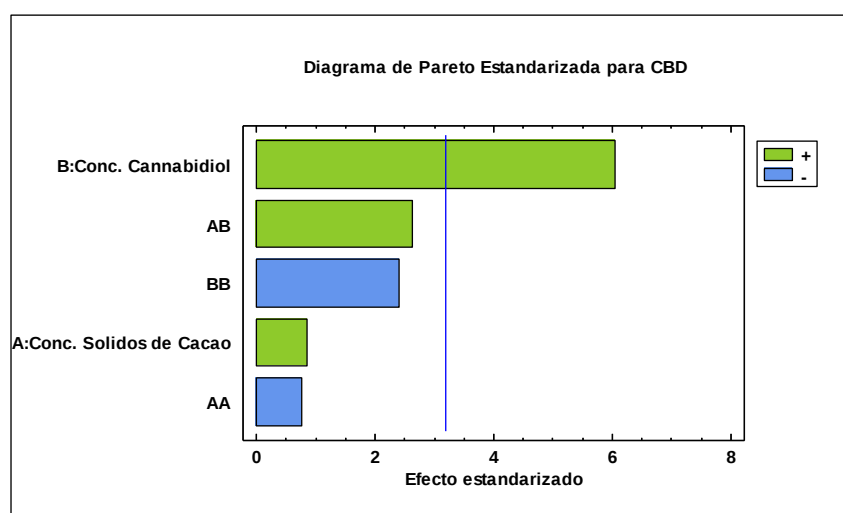
Superficie de respuesta de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido CBD de los chocolates con CBD. Superficie de respuesta en 3 dimensiones (A), Grafico de contorno en 2 dimensiones (B).



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

A partir de la metodología de superficie de respuesta y mediante un análisis de regresión multivariante, se obtuvo el modelo matemático que explica el efecto de la incorporación de sólidos de cacao (Factor A) y cannabidiol (Factor B) sobre el contenido de CBD de los chocolates potencialmente funcionales. Donde existe un efecto significativo individual ($p \leq 0,05$), del contenido de CBD en las concentraciones de Cannabinoides, donde $641,44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ CBD, permiten obtener el chocolate con el mayor contenido de Cannabidiol. Sin embargo, no existe interacción lineal ($p \geq 0,05$) o cuadrática ($p \geq 0,05$) de la concentración de sólidos de cacao y la incorporación de Cannabidiol sobre el perfil bioactivo de las formulaciones desarrollada (Figura 19). Esto demuestra que únicamente el CBD favorece el incremento de la concentración de esta variable de estudio (rechazo H_0).

Figura 19 Análisis de varianza de la concentración de sólidos de cacao y cannabidiol (CBD) sobre el contenido CBD de los chocolates con CBD



A: Concentración de Sólidos de Cacao; **B:** Concentración de Cannabidiol; **AA:** Efecto cuadrático de la concentración de Sólidos de cacao; **BB:** Efecto cuadrático de la concentración de cannabidiol; **AB:** Interacción de la concentración de los sólidos de cacao y Cannabidiol.

4.4. Análisis sensorial

La evaluación sensorial comprende un conjunto de técnicas que proporcionan información de utilidad sobre las características sensoriales del producto desarrollado (Severiano, 2019), en este caso el chocolate negro con CBD, a partir de estos parámetros se determinó el gusto, aceptación y preferencia de los consumidores hacia el producto desarrollado.

4.4.1. Evaluación hedónica

A partir de la evaluación hedónica se determinó la aceptabilidad de los catadores respecto al color, olor, sabor y textura de las formulaciones desarrolladas, como se detalla a continuación.

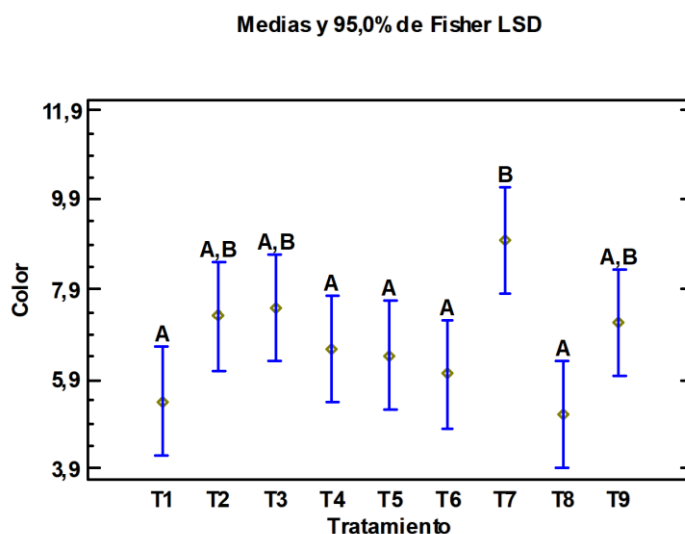
4.4.1.1 Color

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 20, no existió diferencias significativas en la preferencia los catadores por el color de las formulaciones de chocolate con CBD desarrolladas, identificándose 2 grupos de muestras. El tratamiento 7, presento la mejor puntuación sensorial (me gusta mucho) con un promedio cercano a 10. Sin embargo, el color de los tratamientos TBSB (T1: 50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (T4: 70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (T5: 60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (T6: 42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD) y TCSL (T8: 60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), presentaron una aceptabilidad menor por del panel de catadores, con puntuaciones inferiores, que van desde 4 a 8 puntos. Un tercer grupo de muestras estuvo compuesto por las muestras TASB (T2: 70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD) y TCSH (T9: 60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD). que no presentaron ni afinidad ni disgusto, entre los evaluadores.

El tratamiento que obtuvo mayor aceptación por los catadores en cuanto al color fue THSC y el que menos gusto fue el primer tratamiento TBSB

Figura. 20.

Medias del efecto de los tratamientos sobre el color de los chocolates



TBSB (T1: 50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (T2: 70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (T4: 70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (T5: 60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (T6: 42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (T7: 77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (T8: 60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (T9: 60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

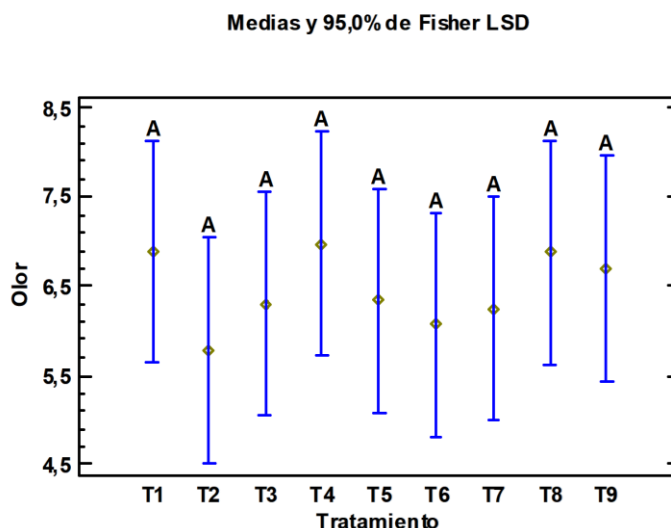
El tratamiento (THSC), puede deberse a que esta formulación presenta la más alta concentración de sólidos de cacao (77%); por lo que, el color es mucho más intenso que el resto de los tratamientos. En el resultado del análisis de varianza (Anexo 15) el valor -p calculado para los factores A ($p > 0.05$) y B ($p > 0.05$) no existe un efecto del tipo de tratamiento sobre el color del chocolate. esto indica que los evaluadores presentaron un criterio homogéneo de preferencia.

4.4.1.2 Olor

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 21, se identifica una homogeneidad en la apreciación de los nueve tratamientos, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula planteada, ya que, no existe diferencia significativa en la aceptabilidad de los parámetros de, olor en los chocolates funcionales debido a la incorporación de CBD y sólidos de cacao, todas las muestras gustan por igual. A un nivel de 95.0% de confianza, el valor -p de ambos factores (tratamientos y catadores) es mayor que 0.05.

Figura 21

Medias del efecto de los tratamientos sobre el olor de los chocolates



TBSB (T1: 50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (T2: 70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (T4: 70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (T5: 60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (T6: 42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (T7: 77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (T8: 60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (T9: 60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

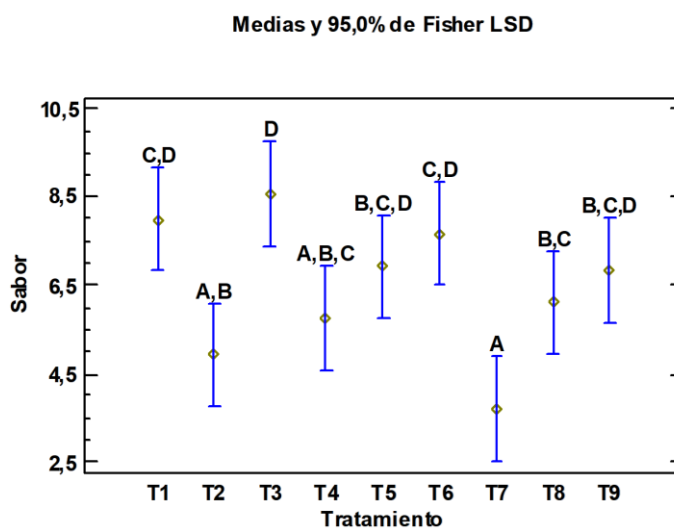
4.4.1.3 Sabor

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 22, existió diferencias significativas en la preferencia los catadores por el color de las formulaciones de chocolate con CBD desarrolladas, identificándose 4 grupos de muestras. El tratamiento TBSA (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), presento la mejor puntuación sensorial (me gusta mucho) con un promedio cercano a 10. Mientras que THSC (T7: 77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD) presento una aceptabilidad menor por del panel de catadores, con puntuación inferior a 4 puntos. Un tercer grupo de muestras estuvo compuesto por las muestras TASB (T2), TASA (T4), TCSC (T5), TCSL (T8) y TCSH (T9). que no presentaron ni afinidad ni disgusto, entre los evaluadores. El cuatro grupo con TBSB (T1) y TLSC (T6) con puntuaciones muy buenas de 7 a 9 puntos

El tratamiento que obtuvo mayor aceptación por los catadores en cuanto al sabor fue la formulación TBAS (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD). y el que menos gusto fue el THSC (T7: 77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD)

Figura. 22

Medias del efecto de los tratamientos sobre el sabor de los chocolates



TBSB (T1: 50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (T2: 70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (T4: 70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (T5: 60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (T6: 42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (T7: 77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (T8: 60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (T9: 60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

De acuerdo con la Figura 22, el tratamiento con mejor aceptabilidad de sabor fue el T3 correspondiente a TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD). Debido a la concentración tan alta de sólidos de cacao, en estos chocolates predomina el sabor y posgusto amargo como indican los catadores en el perfil. En el resultado del análisis de varianza (Anexo 17) el valor -p calculado de los factores A ($p < 0.05$) y B ($p < 0.05$), se pudo determinar que existe un efecto del tipo de tratamiento sobre el sabor del chocolate, esto indica que los evaluadores no presentaron un criterio homogéneo de preferencia.

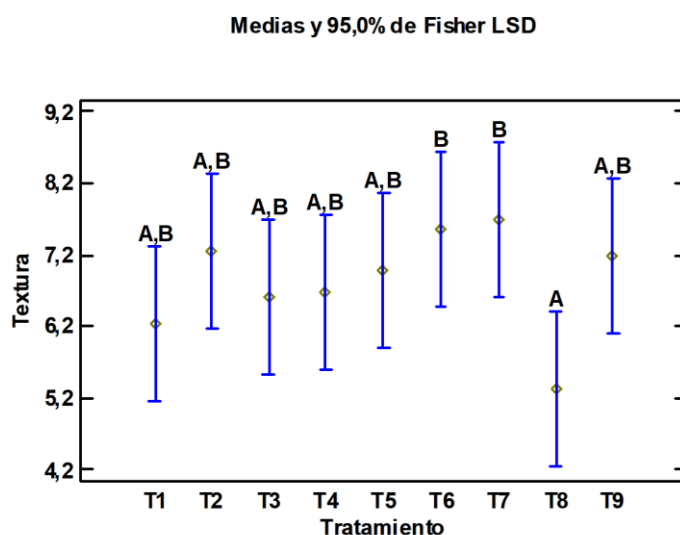
4.4.1.4 Textura

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 23, no existió diferencias significativas en la preferencia los catadores por la textura de las formulaciones de chocolate con CBD desarrolladas, identificándose 2 grupos de muestras. Los tratamientos 6 y 7, presentaron la mejor puntuación sensorial (me gusta mucho) con un promedio cercano a 10 Sin embargo, la textura de los tratamientos TBSB (T1), TASB (T2), TBSA (T3), TASA

(T4), TCSC (T5) y TCSH (T9) no presentaron ni afinidad ni disgusto, entre los evaluadores y con una aceptabilidad con puntuaciones inferiores, que van desde 5 a 8 puntos y un tercer grupo de muestras estuvo compuesto por la muestra TCSL (T8) con una puntuación inferior de 4 a 6 puntos.

Figura. 23

Medias del efecto de los tratamientos sobre la textura de los chocolates



TBSB (T1: 50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (T2: 70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (T3: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (T4: 70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (T5: 60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (T6: 42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (T7: 77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (T8: 60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (T9: 60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

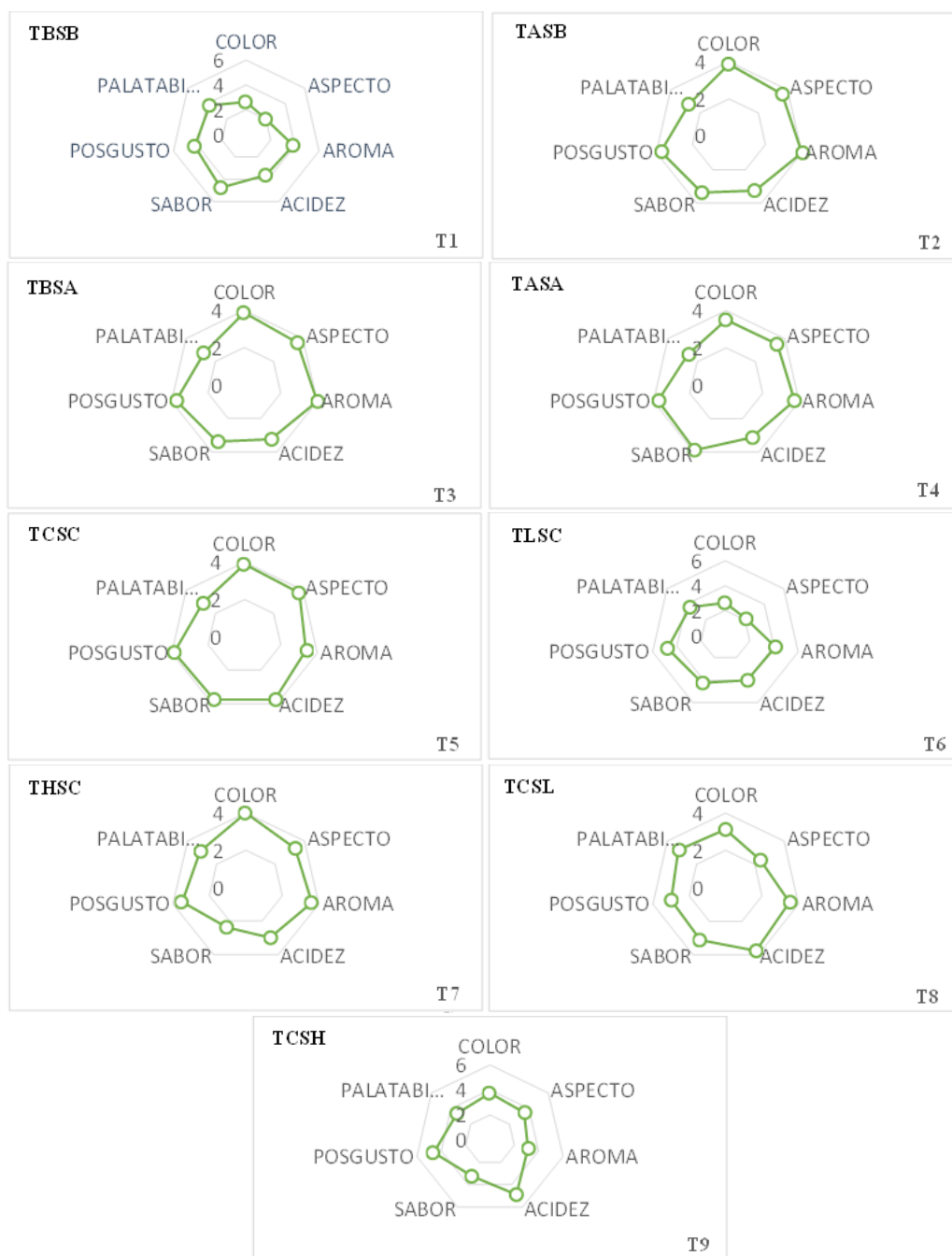
La muestra THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD); es el tratamiento que más agrado en cuanto a textura y el TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD) el que agrado menos. En el resultado del análisis de varianza (Anexo 18) el valor -p calculado para los factores A ($p > 0.05$) y B ($p > 0.05$) no existe un efecto del tipo de tratamiento sobre la textura del chocolate. esto indica que los evaluadores presentaron un criterio homogéneo de preferencia.

4.4.2. Prueba descriptiva

Las diferentes formulaciones de chocolates con CBD desarrollados, fueron evaluados mediante una prueba sensorial descriptiva, en función de parámetros como color, aspecto, aroma, acidez, sabor, postgusto y palatabilidad, con la finalidad de obtener el perfil sensorial de los nueve tratamientos.

Figura 24.

Perfil sensorial de nueve formulaciones de chocolates funcionales con CBD



TBSB (50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TASB (70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TASA (70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), TCSL (60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD).

De acuerdo con los datos recolectados en la evaluación descriptiva, las formulaciones TBSB (T1: 50% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TLSC (T6:42,93% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD) y TCSL (T8: 60% sólidos de cacao, 41,44 mg·kg⁻¹ CBD), presentan un perfil sensorial similar, por su color nogal, aspecto opaco, aroma a frutos secos y una acidez acética percibida por los catadores; sin embargo, estos tratamientos presentaron diferencias en sabor y posgusto. El TBSB presento un sabor afrutado con notas de cacao y/o café, con posgusto amargo muy característico del cacao. Mientras que, el chocolate TLSC, se caracterizó por su sabor a frutos secos, con un posgusto dulce equilibrado. La muestra de TCSL, mostró un sabor especiado con posgusto prolongado a cítrico.

Así también los tratamientos TASB (T3: 70% sólidos de cacao, 100 mg·kg⁻¹ CBD), TBSA (T2: 50% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD) y TASA (T4:70% sólidos de cacao, 500 mg·kg⁻¹ CBD), presentaron un mismo perfil sensorial similar con características de color Algarrobo y aspecto brillante, aroma a frutos secos y acidez láctica, un posgusto amargo característico del cacao, y sabor con especiados, a excepción de TASA que presento sabor a frutos secos.

En el caso de las formulaciones TCSC (60% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD) y TCSH (60% sólidos de cacao, 641,44 mg·kg⁻¹ CBD), presentan características parecidas en su color Algarrobo, aspecto brillante, aroma especiado. Sin embargo, presentan diferencias en acidez, sabor y posgusto. El tratamiento TCSC presenta una acidez acética, sabor a frutos secos y posgusto amargo, mientras que, el tratamiento TCSH tuvo una acidez cítrica con sabor especiado y posgusto dulce equilibrado.

El tratamiento THSC (77,07% sólidos de cacao, 300 mg·kg⁻¹ CBD), presento un color Algarrobo de aspecto satinado, aroma a frutos secos, acidez láctica, sabor y posgusto amargo. Según los catadores, siete de los nueve tratamientos coincidieron con que tenían una palatabilidad que no fue ni áspera ni suave, a excepción de TBSB y TLSC que fue considerados con una palatabilidad muy suave.

4.5. Optimización del proceso de chocolates funcionales con CBD

Según King (2019), la formulación de productos que incorporen derivados del cáñamo puede llegar ser un desafío para el diseño y desarrollo de nuevos alimentos ya que se buscara que la formulación del producto final aporte a las propiedades fitomedicinales, sin que eleve sus sabores amargos o herbales afectando al gusto.

Tabla 4 Valores para la optimización de respuesta maximizando compuestos funcionales presentes en los chocolates.

Variables	Concentración de Sólidos de cacao %	Concentración de Cannabidiol mg·kg ⁻¹	Valor Predicho
Flavonoides	82	800	18,3056
Polifenoles	82	476,896	32,3749
ABTS	82	800	622,056
FRAP	82	800	280,159
CBD	82	800	722,917

ELABORADO: AUTORA

Flavonoides (mg CAT·g⁻¹); Polifenoles (mg AGE·g⁻¹); ABTS y FRAP (μmol Trolox·g⁻¹); CBD (mg·kg⁻¹).

La Tabla 5 indica la concentración de sólidos de cacao (82%) y de cannabidiol (88 mg·kg⁻¹) que debería de ser incorporado a la formulación con la finalidad de obtener un chocolate con su máximo potencial funcional. Ya que con los resultados obtenidos podemos establecer que a mayor concentración de uno de estos factores mayores propiedades funcionales tendrán.

Si comparamos con los resultados presentados en la evaluación hedónica para los parámetros de color y textura (Figura 21 y 24) el tratamiento 7 (THSC) con la concentración más alta de sólidos de cacao (77%) y CBD (300 mg·kg⁻¹), presento la mayor aceptación por parte de los catadores, Sin embargo, el sabor (Figura 23) no fue del agrado del panel sensorial, debido a que su amargor fue mayor que en el resto de los tratamientos.

En el desarrollo de alimentos, las características sensoriales son un factor que se debe tener en consideración ya que, aunque un producto aporte potenciales propiedades funcionales puede llegar a fracasar a nivel comercial.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- De acuerdo con los resultados encontrados, la concentración final de CBD en las formulaciones de chocolate está estrechamente relacionada a la concentración añadida de extracto de Cannabidiol y aun que se pierde aproximadamente un 16% durante el proceso, aún se mantiene gran parte del contenido de CBD. Por lo tanto, la cantidad añadida tiene un efecto significativo en los chocolates; por lo que, dentro de la optimización, se debe maximizar el contenido de CBD en el chocolate para alcanzar el nivel de Cannabidiol deseado.
- La concentración de cannabidiol y sólidos de cacao contribuyen a las potenciales propiedades funcionales del chocolate desarrollado, puesto que la combinación de ambos factores permitió tener un buen nivel de componentes bioactivos como flavonoides (7,33 – 14,28 mg CAT•g⁻¹), polifenoles (15,64 – 29,18 mg GAE•g⁻¹). Lo que le aporta un gran poder antioxidante in vitro, medido por ABTS (277,74–414,79 µmol Trolox•g⁻¹) y FRAP (149,09–210,98 µmol Trolox•g⁻¹).
- Al trabajar con una muestra purificada de Cannabidiol aislado se garantizó de que no exista THC residual cumpliendo con lo estipulado en la resolución del ARCSA “Regulación Y Control Productos Consumo Humano Que Contengan Cannabis” que menciona que el contenido de THC debe ser inferior o igual al 0,3%
- De acuerdo con la evaluación sensorial la incorporación de sólidos de cacao y CBD no afectó significativamente al color, olor y textura de los chocolates. El sabor, presentó diferencias significativas entre los tratamientos, relacionados con el amargor de los sólidos de cacao.
- El uso de CBD, en formulaciones de chocolate podría ser adecuado a nivel organoléptico puesto que los catadores no logran distinguir su presencia en los diferentes tratamientos desarrollados.

5.2.Recomendaciones

- El proceso post cosecha y el tostado del cacao debe llevarse de la manera óptima (respetando tiempos y temperatura), ya que son fundamentales dentro de la elaboración de chocolate, puesto que, permiten conservar los potenciales compuestos funcionales de las almendras de cacao y garantizan la calidad sensorial del chocolate como producto final.
- La incorporación del CBD debe realizarse luego de la etapa del conchado para evitar una degradación del compuesto, considerando que puede existir pérdidas de Cannabidiol por efecto de la temperatura.
- Se sugiere el uso de lecitina en formulación de chocolates para aportarle más estabilidad a las formulaciones desarrolladas.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1.Bibliografía

- Agencia Nacional de Regulación Control y Vigilancia Sanitaria. (2021). *Regulación Y Control Productos Consumo Humano Que Contengan Cannabis* (No. 398). 771, 1–18.
- Andrade, J. A., Rivera-García, J., Chire-Fajardo, G. C., & Ureña-Peralta, M. O. (2019). Physical and chemical properties of cacao cultivars (*Theobroma cacao* L.) from Ecuador and Peru. *Enfoque UTE*, 10(4), 1–12. <https://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/view/462>
- Andrade, L., & Cedeño, K. (2019). *Leonardo Alfredo Andrade Ycaza Kleber Bismark Cedeño Arteaga TUTOR*: Universidad de Guayaquil.
- Ley Orgánica Reformatoria Al Código Orgánico Integral Penal, Pub. L. No. SAN-2019-1243 Quito, 1 (2019).
- Ashaolu, T. J., & Adeyeye, S. A. O. (2022). African Functional Foods and Beverages: A Review. *Journal of Culinary Science & Technology*, 1–36. <https://doi.org/10.1080/15428052.2022.2034697>
- Baldera, J. F., Granda Santos, M. S., & Chavez Quintana, S. G. (2021). Capacidad antioxidante y polifenoles totales de infusión de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao*) y macambo (*Theobroma bicolor*). *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 5(3), 13. <https://doi.org/10.25127/aps.20213.814>
- Baque, I., & Santana, M. (2021). *Universidad De Guayaquil Facultad De Ciencias Químicas Carrera De Química Y Farmacia*. Universidad de Guayaquil.
- Beal, K. (2019). Considerations in the addition of cannabis to chocolate. *Current Opinion in Food Science*, 28, 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.02.007>
- Caligiani, A., Marseglia, A., & Palla, G. (2016). Cocoa: Production, Chemistry, and Use. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 185–190). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00177-X>
- Calva, S., Utrilla, M., Vallejo, A., Roblero, D. B., & Lugo, E. (2020). Thermal properties and volatile compounds profile of commercial dark-chocolates from different

- genotypes of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from Latin America. *Food Research International*, 136(August 2019), 109594. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109594>
- Chen, C., & Pan, Z. (2021). Cannabidiol and terpenes from hemp – ingredients for future foods and processing technologies. *Journal of Future Foods*, 1(2), 113–127. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.01.001>
- Chire, C., & Ureña, O. (2023). Aspectos de calidad de un chocolate oscuro elaborado con formulación óptima Quality aspects of a dark chocolate made with optimal formulation. *Nutricion Clinica Y Dietetica Hospitalaria*, 43(2), 75–81. <https://doi.org/10.12873/432chire>
- Dawidowicz, A. L., Olszowy-Tomczyk, M., & Typek, R. (2021). CBG, CBD, Δ^9 -THC, CBN, CBGA, CBDA and Δ^9 -THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action. *Fitoterapia*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.104915>
- Devinsky, O., Patel, A. D., Cross, J. H., Villanueva, V., Wirrell, E. C., Privitera, M., Greenwood, S. M., Roberts, C., Checketts, D., VanLandingham, K. E., & Zuberi, S. M. (2018). Effect of Cannabidiol on Drop Seizures in the Lennox–Gastaut Syndrome. *New England Journal of Medicine*, 378(20), 1888–1897. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1714631>
- Domínguez, L., Fernández, V., & Cámara, M. (2020). The frontier between nutrition and pharma: The international regulatory framework of functional foods, food supplements and nutraceuticals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), 1738–1746. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1592107>
- Durán, E., & Dubón, A. (2016). *Tipos genéticos de cacao y distribución geográfica en Honduras*.
- Ertaş, N., & Aslan, M. (2020). Antioxidant and Physicochemical Properties of Cookies Containing Raw and Roasted Hemp Flour. *Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 19(2), 177–184. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.2020.0795>
- Fuentes, E., & Acurio, L. P. (2020). Cañamo (*Cannabis sativa* L.) para uso industrial y

- farmacéutico: una visión desde la industria alimentaria. *CienciAmérica*, 9(4), 99–106.
<https://doi.org/10.33210/ca.v9i4.350>
- Gallegos, H. (2021). Aplicaciones De Cáñamo Como Alternativa Rentable a La Reactivación Económica De Ecuador Tras La Pandemia De Covid-19. *Perfiles*, 1(25), 45–53. <https://doi.org/10.47187/perf.v1i25.112>
- Garcia Briones, A., Pico Pico, B., & Jaimez, R. (2021). La cadena de producción del Cacao en Ecuador: Resiliencia en los diferentes actores de la producción. *Novasinergia Revista Digital De Ciencia, Ingeniería Y Tecnología*, 4(2), 152–172. <https://doi.org/10.37135/ns.01.08.10>
- Gültekin, M., Berktaş, I., & Özçelik, B. (2016). Influence of processing conditions on procyanidin profiles and antioxidant capacity of chocolates: Optimization of dark chocolate manufacturing by response surface methodology. *Lwt*, 66, 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.047>
- Hernandez, R. (2014). *Metodología de la Investigación* (C. Fernandez & P. Lucio (eds.); 6th ed.). 2014. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Hue, C., Brat, P., Gunata, Z., Samaniego, I., Servent, A., Morel, G., Kapitan, A., Boulanger, R., & Davrieux, F. (2014). Near infra-red characterization of changes in flavan-3-ol derivatives in cocoa (*Theobroma cacao* L.) As a function of fermentation temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(41), 10136–10142. <https://doi.org/10.1021/jf501070d>
- Hughes, S., Lee, H., Lewis, N., & Shannon, S. (2019). Cannabidiol in Anxiety and Sleep: A Large Case Series. *The Permanente Journal*, 23, 18–041. <https://doi.org/10.7812/TPP/18-041>
- Iftikhar, A., Zafar, U., Ahmed, W., Shabbir, M. A., Sameen, A., Sahar, A., Bhat, Z. F., Kowalczewski, P. Ł., Jarzębski, M., & Aadil, R. M. (2021). Applications of cannabis sativa L. In food and its therapeutic potential: From a prohibited drug to a nutritional supplement. *Molecules*, 26(24). <https://doi.org/10.3390/molecules26247699>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2011). NTE INEN 2587 Alimentos funcionales - Requisitos. In *Instituto Ecuatoriano de Normalización* (Vol. 2).

[https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/EMPLEO/2017/Indicadores ODS Agua, Saneamiento e Higiene/Presentacion_Agua_2017_05.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/EMPLEO/2017/Indicadores_ODS_Agua_Saneamiento_e_Higiene/Presentacion_Agua_2017_05.pdf)

NTE INEN 621:2010 Chocolates Requisitos, NTE Inen 621:2010 1 (2010).
<http://apps.normalizacion.gob.ec/descarga/index.php/buscar>

Jacimovic, S., Popovi, J., Saric, B., Mickovski, V., Stefanovic, Panteli, N., & Krstic, A. (2022). Antioxidant Activity and Multi-Elemental Analysis of Dark Chocolate. *Journal of Lesbian Studies*, 6(2), 9–10. https://doi.org/10.1300/J155v06n02_03

Johnson, E., Kilgore, M., & Babalonis, S. (2022). Label accuracy of unregulated cannabidiol (CBD) products: measured concentration vs. label claim. *Journal of Cannabis Research*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s42238-022-00140-1>

Jooste, J., Laurens, J. B., Jordaan, M., Marais, A. A. S., & Curlewis, L. G. (2021). The implications of the use of cannabidiol-related products in a safety-sensitive drug testing environment: A medical-legal perspective. *South African Medical Journal*, 111(10), 942–945. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2021.v111i10.15866>

Karelakis, C., Zevgitis, P., Galanopoulos, K., & Mattas, K. (2020). Consumer Trends and Attitudes to Functional Foods. *Journal of International Food and Agribusiness Marketing*, 32(3), 266–294. <https://doi.org/10.1080/08974438.2019.1599760>

Kaushal, N., Dhadwal, S., & Kaur, P. (2020). Ameliorative effects of hempseed (Cannabis sativa) against hypercholesterolemia associated cardiovascular changes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 30(2), 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.09.006>

King, J. W. (2019). The relationship between cannabis/hemp use in foods and processing methodology. *Current Opinion in Food Science*, 28, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.04.007>

Kladar, N., Čonić, B. S., Božin, B., & Torović, L. (2021). European hemp-based food products – Health concerning cannabinoids exposure assessment. *Food Control*, 129(March). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108233>

- Kumar, A., Sharma, V., & Walia, A. (2019). Role of Bioactive Compounds in Human Health. *Acta Scientific Medical Sciences*, 3(9), 25–33.
- Linares, I. M., Zuardi, A. W., Pereira, L. C., Queiroz, R. H., Mechoulam, R., Guimarães, F. S., & Crippa, J. A. (2019). Cannabidiol presents an inverted U-shaped dose-response curve in a simulated public speaking test. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 41(1), 9–14. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2017-0015>
- Llerena, W., Samaniego, I., Navarro, M., Ortíz, J., Angós, I., & Carrillo, W. (2020). Effect of modified atmosphere packaging (MAP) in the antioxidant capacity of arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.), and tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) fruits from Ecuador. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14757>
- Mayorga-Gross, A. L., & Montoya-Arroyo, A. (2023). Chapter. Cacao. In *Functional Foods and Their Implications for Health Promotion* (pp. 55–95). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823811-0.00009-2>
- Medina, M., Rodriguez, R., Rojas, E., Torrejón, L., Fernández, A., Idrogo, G., Cayo, I., & Castro, E. (2021). Rheological, bioactive properties and sensory preferences of dark chocolates with partial incorporation of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Heliyon*, 7(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06154>
- Mikulec, A., Kowalski, S., Sabat, R., Skoczylas, Ł., Tabaszewska, M., & Wywrocka-Gurgul, A. (2019). La harina de cáñamo como componente valioso para enriquecer las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del pan de trigo. *Lwt*, 102(September 2018), 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.028>
- Acuerdo Ministerial No. 109, Pub. L. No. 109, 1 (2020).
- Acuerdo Ministerial No. 141, Pub. L. No. 141, 1 (2020).
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2021). *INIAP fortalece a sus técnicos para atender solicitudes para cultivo de cáñamo*. INIAP. <https://www.agricultura.gob.ec/iniap-fortalece-a-sus-tecnicos-para-atender-solicitudes-para-cultivo-de-canamo/>
- Ministerio de salud. (2021). Reglamento para el uso terapeutico del cannabis Medicinal.

Acuerdo Ministerial 148, 10.

- Narouze, S., Roychoudhury, P., & Wang, N. N. (2021). Phytocannabinoids: Cannabidiol (CBD). In S. Narouze (Ed.), *Cannabinoids and Pain* (Vol. 177, pp. 79–86). 02-July-2021. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-69186-8_11#DOI
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2022). *Alimentos funcionales*. Octubre. <https://www.fao.org/agrovoc/index.php/es/concepts-of-the-month/alimentos-funcionales>
- Orozco, S. (2020). Apoyo al mejoramiento del sistema productivo de la asociación ACEFUVER [Universidad de Antioquia Facultad]. In *Universidad de Antioquia*. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/17271/1/OrozcoSantiago_2020_AcefuverMejoramientoProductivo.pdf
- Ortiz S., J., Chungara, M., Ibieta, G., Alejo, I., Tejeda, L., Peralta, C., Aliaga-Rossel, E., Mollinedo, P., & Peñarrieta, J. M. (2019). Determinación De Teobromina, Catequina, Capacidad Antioxidante Total Y Contenido Fenólico Total En Muestras Representativas De Cacao Amazónico Boliviano Y Su Comparación Antes Y Después Del Proceso De Fermentación. *Revista Boliviana de Química*, 1(36.1), 40–50. <https://doi.org/10.34098/2078-3949.36.1.4>
- Pellati, F., Borgonetti, V., Brighenti, V., Biagi, M., Benvenuti, S., & Corsi, L. (2018). Cannabinoids. *Toxicology Cases for the Clinical and Forensic Laboratory*, 2018, 169–176. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815846-3.00011-9>
- Perea, J., Cadena, T., & Herrera, J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes. *Revista de La Universidad Industrial de Santander*, 41(2), 128–134. <https://www.redalyc.org/pdf/3438/343835695003.pdf>
- Quevedo, J., Jácome, J., Tuz, I., García, R., & Luna, A. (2020). Análisis de diversidad fenotípica de 237 accesiones de cacao nacional (THEOBROMA CACAO L.) en la zona sur de Ecuador. *Revista Científica de La Universidad de Cienfuego*, 8(75), 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2020.125798> <https://doi.org/10.1016/j.smr.2020.02.002> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/810049> <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.197505391> <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857090409500205> <http://>

- Quiroz, J., Mestanza, S., Parada, N., Morillo, E., Samaniego, I., & Garzón, I. (2021). *Cultivares de cacao en Ecuador*.
- Ramírez, A., & Viveros, J. M. (2021). Elaboración de cerveza con Cannabis sativa vs. Humulus lupulus: una revisión. *Journal of the Institute of Brewing*, 127(3), 201–209. <https://doi.org/10.1002/jib.654>
- Real Academia Española. (2022). *Psicoactivo*, va. <https://dle.rae.es/psicoactivo?m=form>
- Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233(December 2022). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>
- Rupasinghe, H. P. V., Zheljazkov, V. D., Davis, A., Kumar, S. K., & Murray, B. (2020). Industrial Hemp (Cannabis sativa subsp. sativa) as an Emerging Source for Value-Added Functional Food Ingredients and Nutraceuticals. *Molecules*, 25(Figure 1), 1–24.
- Salto S, H. A. (2011). *Sensometría. Análisis en el desarrollo de alimentos procesados* (E. P. Freire (ed.); Primera).
- Samaniego, I., Brito, B., Viera, W., Cabrera, A., Llerena, W., Kannangara, T., Vilcacundo, Ru., Angós, I., & Carrillo, W. (2020). Influence of the Maturity Stage on the Phytochemical Composition and the Antioxidant Activity of Four from Ecuador. *Plants*, 9, 1–15. <https://doi.org/doi:10.3390/plants9081027>
- Samaniego, I., Espín, S., Quiroz, J., Ortiz, B., Carrillo, W., García-Viguera, C., & Mena, P. (2020a). Effect of the growing area on the methylxanthines and flavan-3-ols content in cocoa beans from Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis*, 88(November 2019), 103448. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103448>
- Samaniego, I., Espín, S., Quiroz, J., Ortiz, B., Carrillo, W., García-Viguera, C., & Mena, P. (2020b). Effect of the growing area on the methylxanthines and flavan-3-ols content in cocoa beans from Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis*, 88(January), 103448. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103448>
- Severiano, P. (2019). ¿Qué es y cómo se utiliza la evaluación sensorial? *Inter Disciplina*,

7(19), 47. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485705e.2019.19.70287>

- Sharmistha, S., Tanmay, S., Runu, C., Maksim, R., Mohammad, S., Muthu, T., & Kannan, R. (2022). Dark chocolate: An overview of its biological activity, processing, and fortification approaches. *Current Research in Food Science*, 5(October), 1916–1943. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.10.017>
- Tafurt, G., Suarez, O., Lares, M. del C., Álvarez, C., & Liconte, N. (2020). Capacidad antioxidante de un chocolate oscuro de granos cacao orgánico sin fermentar. *Revista Digital de Postgrado*, 10(1). <https://doi.org/10.37910/rdp.2021.10.1.e280>
- Tegan, G. (2021). *Investigación exploratoria | Definición, guía y ejemplos*. Scribbr. <https://www.scribbr.com/methodology/exploratory-research/>
- Teterycz, D., Sobota, A., Przygodzka, D., & Lysakowska, P. (2021). Pasta enriquecida con semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.): propiedades fisicoquímicas y evaluación de la calidad. *PLoS ONE*, 16(3 March), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248790>
- Yi, L., Hong-Yan, L., Sheng-Hong, L., Wei, M., Ding-Tao, W., Hua-Bin, L., Ai-Ping, X., Liang-Liang, L., Fan, Z., & Ren-You, G. (2022). Cannabis sativa bioactive compounds and their extraction, separation, purification, and identification technologies: An updated review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 149. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116554>

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1
Recoleccion de la materia prima.



Anexo 2
Fermentacion del cacao.



Anexo 3
Secado del cacao.



Anexo 4
Tostado del cacao.



Anexo 5
Molienda y conchado del cacao



Anexo 6
Templado e incorporación del CBD al chocolate.



Anexo 7

Moldeado del chocolate



Fuente: Autora

Anexo 8

Desmoldado del chocolate



Fuente: Autora

Anexo 9
Preparación de muestras



Anexo 10
Análisis de cuantificación del contenido de CBD en los chocolates.



Anexo 11

Caracterización de compuestos bioactivos del chocolate con CBD



Anexo 12

Evaluación sensorial del chocolate funcional con CBD



Hoja de cata para la prueba hedónica.



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCION
INGENIERÍA EN ALIMENTOS

HOJA DE CATA

Nombre: _____

Edad: _____ **Fecha:** _____

INSTRUCCIONES

1. Para la evaluación por favor, colocar el código de la muestra en los casilleros.
2. Tomar agua antes y entre cada muestra, durante la evaluación.
3. Frente a usted tiene 4 muestras de chocolate, por favor pruebe las muestras de izquierda a derecha
4. De acuerdo a su nivel de preferencia, trace una línea perpendicular a la recta dentro del siguiente intervalo
5. Cada tabla cuenta con una escala de puntuación, puntúe cada muestra según su preferencia con una X

Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

Ni me gusta

Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho
 Ni me gusta

Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

Ni me gusta

Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

Ni me gusta

Olor

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

Sabor

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

Textura

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

←—————|————→
Me disgusta mucho Ni me disgusta Me gusta mucho

Observaciones: _____

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Anexo 14.*Hoja de cata para el perfil sensorial.*

UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCION
INGENIERÍA EN ALIMENTOS

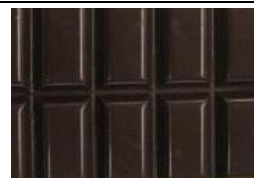
Análisis sensorial del chocolate funcional con la incorporación de cannabidiol**HOJA DE CATA: Perfil Sensorial****Nombre:** _____**Edad:** _____ **Fecha:** _____**INSTRUCCIONES**

1. Para la evaluación por favor, colocar el código de la muestra en los casilleros.
2. Evalúe las muestras de izquierda a derecha y marque con una X la característica que describe mejor los atributos de cada muestra.
3. Para evaluar el sabor, tome agua antes y entre cada muestra, durante la evaluación

<i>Avellana</i>	<i>Terracota</i>	<i>Nogal</i>	<i>Algarrobo</i>	<i>Negro</i>
				

PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
COLOR	Negro	5				
	Algarrobo	4				
	Nogal	3				
	Terracota	2				
	Avellana	1				

<i>Muy opaco</i>	<i>Muy brillante</i>
------------------	----------------------



PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
Aspecto	Muy brillante	5				
	Brillante	4				
	Satinado	3				
	Opaco	2				
	Muy opaco	1				

PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
Aroma	Frutal (Cacao, Café)	5				
	Frutos secos (Avellana, Nueces, Macadamia)	4				
	Especiado (Canela, Clavo de olor)	3				
	Tostado	2				
	Herbaceo	1				

PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
Acidez	Cítrico (frutas)	5				
	Acético (vinagre)	4				
	Láctico (leche agria)	3				
	Mineral (metálico)	2				
	Butírico (grasas rancias)	1				

PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
SABOR	Frutal (Cacao, Café)	5				
	Frutos secos (Avellana, Nueces, Macadamia)	4				
	Especiado (Canela, Clavo de olor)	3				
	Amargo	2				
	Herbáceo (Pasto recién cortado)	1				

PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
POSGUSTO	Dulce equilibrado	5				
	Amargo (cacao)	4				
	Cítrico prolongado	3				
	Astringente (herbáceo)	2				
	Sensación manchosa	1				

PARAMETRO	ESCALA	PUNTUACION	CÓDIGO			
Palatabilidad	Fundente	5				
	Muy suave	4				
	Ni espero ni suave	3				
	Ligeramente áspero	2				
	Áspero	1				

Observaciones: _____

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Anexo 15

Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de color de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD

Parámetro	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
COLOR	A: Tratamiento	76,3619	8	9,54523	1,96	0,0738
	B: Catador	103,239	17	6,0729	1,25	0,2702
	RESIDUOS	224,338	46	4,87692		
	TOTAL	391,533	71			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 16

Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de olor de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD

Parámetro	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
OLOR	A: Tratamiento	9,43185	8	1,17898	0,22	0,9856
	B: Catador	82,7094	17	4,86526	0,91	0,5687
	RESIDUOS	246,328	46	5,35496		
	TOTAL	351,326	71			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 17

Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de sabor de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD

Parámetro	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
SABOR	A: Tratamiento	127,832	8	15,979	3,44	0,0035
	B: Catador	164,578	17	9,68105	2,08	0,0249
	RESIDUOS	213,801	46	4,64784		
	TOTAL	517,21	71			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 18

Tabla de ANOVA para la evaluación hedónica de Textura de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD

Parámetro	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
TEXTURA	A: Tratamiento	28,9428	8	3,61785	0,92	0,5109
	B: Catador	91,5715	17	5,38656	1,37	0,1978
	RESIDUOS	181,405	46	3,94358		
	TOTAL	316,437	71			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 19

Tabla de ANOVA para flavonoides de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Conc. Sólidos de Cacao	0,517578	1	0,517578	2,84	0,1905
B:Conc. Cannabidiol	0,222573	1	0,222573	1,22	0,3497
AA	1,20176	1	1,20176	6,60	0,0826
AB	0,216225	1	0,216225	1,19	0,3556
BB	0,0956743	1	0,0956743	0,53	0,5210
bloques	0,000071575	1	0,0000715753	0,00	0,9854
Error total	0,546498	3	0,182166		
Total (corr.)	36,8004	9			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 20

Tabla de ANOVA

para polifenoles de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Conc. Sólidos de Cacao	0,153621	1	0,153621	0,18	0,7035
B:Conc. Cannabidiol	0,517904	1	0,517904	0,59	0,4978
AA	0,390093	1	0,390093	0,45	0,5522
AB	0,018225	1	0,018225	0,02	0,8944
BB	0,808256	1	0,808256	0,92	0,4075
bloques	0,00438317	1	0,00438317	0,01	0,9480
Error total	2,62678	3	0,875595		
Total (corr.)	180,527	9			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 21*Tabla de ANOVA para ABTS de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Conc. Sólidos de Cacao	3173,08	1	3173,08	3,00	0,1819
B:Conc. Cannabidiol	1657,93	1	1657,93	1,57	0,2996
AA	3072,43	1	3072,43	2,90	0,1871
AB	2723,8	1	2723,8	2,57	0,2072
BB	30,0925	1	30,0925	0,03	0,8769
bloques	224,328	1	224,328	0,21	0,6767
Error total	3178,12	3	1059,37		
Total (corr.)	21109,7	9			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 22*Tabla de ANOVA para FRAP nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Conc. Sólidos de Cacao	425,755	1	425,755	7,31	0,0736
B:Conc. Cannabidiol	64,45	1	64,45	1,11	0,3702
AA	585,533	1	585,533	10,05	0,0505
AB	38,2542	1	38,2542	0,66	0,4771
BB	49,3185	1	49,3185	0,85	0,4254
bloques	258,372	1	258,372	4,43	0,1259
Error total	174,817	3	58,2722		
Total (corr.)	4113,59	9			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 23*Tabla de ANOVA para cannabidiol de nueve formulaciones de chocolate con adición de CBD*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Conc. Sólidos de Cacao	34,0664	1	34,0664	0,73	0,4557
B:Conc. Cannabidiol	1710,07	1	1710,07	36,64	0,0090
AA	26,3418	1	26,3418	0,56	0,5071
AB	323,101	1	323,101	6,92	0,0783
BB	270,181	1	270,181	5,79	0,0954
bloques	213,841	1	213,841	4,58	0,1218
Error total	140,024	3	46,6746		
Total (corr.)	247536,	9			

ELABORADO: AUTORA

Anexo 24
Árbol de problema

