

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“EFECTO DE LAS CONDICIONES DE FERMENTACIÓN Y SECADO, EN
LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL CACAO (*Theobroma
cacao* L.); CULTIVAR CCN 51”**

**Presentada por:
ANGEL CHÁVEZ SALAZAR**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima – Perú

2020

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“EFECTO DE LAS CONDICIONES DE FERMENTACIÓN Y SECADO, EN
LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL CACAO (*Theobroma
cacao* L.); CULTIVAR CCN 51”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

ANGEL CHÁVEZ SALAZAR

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

**Dr. Alberto Julca Otiniano
PRESIDENTE**

**Dr. Américo Guevara Pérez
ASESOR**

**M. Sc. Christian Encina Zelada
CO-ASESOR**

**Dra. Rosana Sonia Chirinos Gallardo
MIEMBRO**

**Mg. Sc. Beatriz Hatta Sakoda
MIEMBRO**

DEDICATORIA

Dedicado a mi esposa Teotista Mejía Diaz, por su amor y su apoyo en todo momento dedicación para apoyarme incondicionalmente para la elaboración y culminación del presente trabajo. a mis hijos Carlos Manuel Chávez Mejía, Ángel Alexander Chávez Mejía, Yolanda Masiel Chávez Mejía, por su motivación e inspiración para culminar este trabajo de investigación y a mi madre que en vida fue Yolanda Salazar López por haberme dado la vida, cuidarme, educarme, formarme con el ejemplo de trabajo, valores y persistencia para alcanzar los objetivos de mí vida.

AGRADECIMIENTOS

Dr. Américo Guevara Pérez, por su asesoramiento, desde la idea de generar el proyecto y durante todo el desarrollo de la investigación

Dr. Christian René Encina Zelada, por ser mi Co-Asesor, brindándome mucho apoyo en todo momento para la culminación de esta investigación hasta su publicación

Mg. Sc. Ing. Keidy Cancino Chávez por su apoyo, aportes y consejos en el desarrollo de toda la investigación

Dr. Abner Félix Obregón Lujerio por permitir realizar las pruebas y análisis físico químicos en las instalaciones del laboratorio de Investigación de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1 Antecedentes..... | 3 |
| 2.2 Bases Teóricas | 5 |
| 2.2.1 Origen y distribución de la materia prima..... | 5 |
| 2.2.2 Identificación taxonómica | 6 |
| 2.2.3 Composición químico proximal de las almendras de cacao | 6 |
| 2.2.4 Antocianinas..... | 7 |
| 2.2.5 Polifenoles..... | 8 |
| 2.2.6 Ensayo de Folin-Ciocalteu | 10 |
| 2.2.7 Efecto de las operaciones poscosecha del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)..... | 10 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 13 |
| 3.1 Lugar de ejecución..... | 13 |
| 3.2 Materia prima..... | 13 |
| 3.3 Materiales, equipos y reactivos..... | 13 |
| 3.4 Métodos de análisis físico químico | 15 |
| 3.5 Análisis estadístico | 20 |
| 3.6 Metodología experimental..... | 21 |
| 3.6.1 Descripción del flujo de operaciones del proceso de beneficio del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 | 22 |
| 3.6.2 Parte experimental..... | 23 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 26 |
| 4.1 Características del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 en baba y fermentado..... | 26 |
| 4.1.1 Composición proximal del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 en baba..... | 26 |
| 4.1.2 Evaluación del color de la almendra del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentados..... | 26 |
| 4.1.3 Contenido de polifenoles (g de Equivalente de Ácido Gálico/100g de m. s.) del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 en baba y durante la fermentación | 29 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.1.4 | Contenido promedio de antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g de m. s.) del cacao cultivar CCN 51 en baba y durante la fermentación..... | 33 |
| 4.1.5 | Variación promedio de la temperatura, sólidos solubles de la masa y pH del cotiledón antes y durante la fermentación..... | 36 |
| 4.2 | Efecto del secado de los granos de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51..... | 39 |
| 4.2.1 | Degradación de los polifenoles durante el secado de las almendras del cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51 | 39 |
| 4.2.2 | Efecto del método de secado sobre las antocianinas en almendras de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51 seco | 42 |
| 4.3 | Caracterización de las almendras de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51 secados con flujo de aire caliente..... | 44 |
| 4.3.1 | Caracterización física de almendras de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51 seco | 44 |
| 4.3.2 | Evaluación del color de almendras de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51 seco con diferentes métodos de secado..... | 45 |
| 4.3.3 | Composición físico química de almendras de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) cultivar CCN 51 secado con flujo de aire caliente..... | 46 |
| V. | CONCLUSIONES | 49 |
| VI. | RECOMENDACIONES..... | 50 |
| VII. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 51 |
| VIII. | ANEXOS..... | 64 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Análisis proximal (% base seca) de las almendras de cacao frescas y fermentadas | 7 |
| Tabla 2. Contenido de polifenoles totales de almendras de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Forastero y CCN 51 evaluadas en estado fresco y durante la fermentación.. | 10 |
| Tabla 3. Valores promedios del pH y acidez (% base seca) de las almendras de cacao frescas y fermentadas. | 12 |
| Tabla 4. Composición proximal del cacao en baba (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 | 26 |
| Tabla 5. Resultados promedio de los parámetros de color de las almendras de cacao <i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51, fermentado a diferentes alturas | 27 |
| Tabla 6. Evolución de la temperatura, solidos solubles de la masa y pH de la almendra, contenido de polifenoles totales (g EAG/100g) y antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g) del grano en baba y durante la fermentación del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 | 31 |
| Tabla 7. Efecto del método de secado en el contenido de polifenoles totales en granos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 seco. | 40 |
| Tabla 8. Efecto del método de secado en contenido de las antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g) en almendras de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 seco | 43 |
| Tabla 9. Caracterización física del grano de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 secados con flujo de aire caliente | 45 |
| Tabla 10. Resultados promedios de los parámetros de color de los granos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 sometidos a diferentes métodos de secado | 46 |
| Tabla 11. Composición fisicoquímica de las almendras de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 secado con flujo de aire caliente..... | 48 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Flujo de operaciones para beneficio del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.); cultivar CCN 51..... | 21 |
| Figura 2.- Diseño Experimental para la evaluación de las características físico químicas, por efecto de la fermentación y secado del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51. | 25 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1: Curva estándar para determinación de polifenoles totales..... | 64 |
| Anexo 2: Color de los granos del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado..... | 64 |
| Anexo 3: Análisis de varianza para Luminosidad del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas..... | 65 |
| Anexo 4: Análisis de varianza para a* del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas..... | 65 |
| Anexo 5: Análisis de varianza para b* del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas..... | 65 |
| Anexo 6: Pruebas de Múltiple Rangos para Luminosidad para el color del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado método: 95.0 porcentaje LSD HSD.. | 66 |
| Anexo 7: Pruebas de Múltiple Rangos para a* para el color del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas método: 95.0 porcentaje LSD HSD . | 66 |
| Anexo 8: Pruebas de Múltiple Rangos para b* para el color del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas método: 95.0 porcentaje LSD HSD . | 67 |
| Anexo 9: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g m. s.) durante la fermentación del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 a 0,2 metros de altura del cajón fermentador..... | 67 |
| Anexo 10: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) durante la fermentación del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 a 1,0 metros de altura del cajón fermentador..... | 68 |
| Anexo 11: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) durante la fermentación del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 a 2,0 metros de altura del cajón fermentador..... | 69 |

| | |
|--|----|
| Anexo 12: Análisis de varianza para polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) del cacao cultivar CCN 51 en tres alturas del cajón fermentador a 156 horas de fermentación | 70 |
| Anexo 13: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante la fermentación del cacao cultivar CCN 51 a 0,2 metros de altura del cajón fermentador | 71 |
| Anexo 14: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante la fermentación del cacao cultivar CCN 51 a 1,0 metro de altura del cajón fermentador..... | 72 |
| Anexo 15: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante la fermentación del cacao cultivar CCN 51 a 2,0 metros de altura del cajón fermentador | 73 |
| Anexo 16: Análisis de varianza para antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g m. s.) del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentado durante 156 horas..... | 74 |
| Anexo 17: Prueba de LSD para antocianinas del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 durante la fermentación después de 156 horas | 74 |
| Anexo 18: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos fermentados de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 | 75 |
| Anexo 19: Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por tres métodos de secado de los granos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 | 75 |
| Anexo 20: Prueba de LSD para el contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por tres métodos de secado (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 | 76 |
| Anexo 21: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 fermentados | 78 |
| Anexo 22: Análisis de varianza para el contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51..... | 79 |

| | |
|--|----|
| Anexo 23: Prueba de LSD para contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51..... | 80 |
| Anexo 24: Análisis de varianza para parámetros (L, a* y b*) de color de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 seco por método de secado | 82 |
| Anexo 25: Análisis de varianza para parámetros (L*, a* y b*) de color de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 seco según método de secado..... | 82 |
| Anexo 26: Prueba de LSD para los parámetros (L*, a* y b*) de color de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) cultivar CCN 51 seco según método de secado | 83 |

RESUMEN

Los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 durante la fermentación y secado sufren una serie de cambios físicos, químicos, bioquímicos y sensoriales por la formación de alcoholes, ácido acético, ácido butírico, degradación de polifenoles totales, formación de precursores del aroma y color del grano. La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de altura en la ubicación del cajón de fermentación, y métodos de secado sobre las características fisicoquímicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51. Las mazorcas de cacao maduras fueron cosechadas, seleccionadas, quebradas, acondicionadas (20 kg de granos en baba), en cada cajón, fermentadas por 6 días (se realizó la primera remoción de los granos de cacao, primero a las 48 horas y luego cada 24 horas) y secadas (directo al sol, secador solar y con flujo de aire caliente). Las evaluaciones indicaron que el menor porcentaje de degradación de polifenoles (16,9 por ciento) fue a 1m de altura y la menor pérdida de antocianinas (42,4 por ciento) a 0,20 m; transcurridos las 96 horas de fermentación las muestras alcanzaron una temperatura interna promedio de 52,3°C; el pH inicial del cotiledón 6,4 y el final reportó 4,31; a lo que los sólidos solubles descendieron de 19,5 a 0 al tercer día de fermentación, respecto al método de secado, los granos de cacao experimentaron el menor porcentaje de degradación de polifenoles (29,9 por ciento) y antocianinas (65,1 por ciento) aplicando flujo de aire; en polifenoles se encontró diferencia significativa en muestras secadas directo al sol y en secador solar. El método de secado seleccionado fue con flujo de aire caliente, cuyas muestras reportaron las siguientes características fisicoquímicas: 8,13; 0,64; 0,32; 5,22; 6,60; 51,00; 6,00; 3,50; 13,20 y 26,6 de, polifenoles totales, antocianina, acidez titulable (g. de ácido acético /100g de m. s.), pH, humedad, lípidos, fibra cruda, cenizas, proteína y carbohidratos totales (análisis proximal en b. s.), respectivamente.

Palabras claves: Cacao, fermentación, secado.

ABSTRACT

The investigation had as objective evaluate the effect of the height of the location of the boxes with grains of cacao, for the fermentation, and the drying method over the variation of the characteristics physicochemical of the cocoa (*Theobroma cocoa* L.), cultivate CCN 51. The ripe cocoa pods were harvested, selected. Broken, conditioned (20 kg of grains in slime), in each box, fermented for six days (the cocoa beans were mixed, first to the 48 and then, every 24 hours) and dried (sun, solar and with flow of hot air). The evaluation indicated that the lowest percentage of degradation of polyphenols (16,89 per cent) it was one meter high and the lowest loss of anthocyanin's (42,38 per cent) to 0 m; in addition after the 96 hours of fermentation the samples reached and average internal temperature of de 52,3°C and the pulp including the head of an initial pH 3,9 y cotyledon 6,4; at the end they reported 4,35 y 4,31, respectively; what the soluble solids descended of 19,5 to 0. Regarding the method of drying, the cocoa grains experienced the lowest percentage of polyphenol degradation (29,9 per cent) and anthocyanin's (65, 1 per cent) applying air flow; in polyphenols significant difference was found in samples dried directly to the sun and in solar dryer. The selected drying method was with hot flow, whose samples reported the following physicochemical characteristics: 8,13; 0,64; 0,32; 5,22; 6,60; 51,00; 6,00; 3,50; 13,20 y 26,6 of total polyphenols, anthocyanin's, pH, titulable acidity, Humidity, oils and fats, raw fiber, ashes, Proteins and total Carbohydrates (proximal analysis in bs), respectively.

Key words: cocoa, fermentation, drying.

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta originaria de América del Sur, la misma que abarca a los países de Perú, Ecuador, Colombia, Brasil, Venezuela (Guerrero, 2007), del fruto de esta planta se obtiene las semillas o almendras de cacao que se utilizan principalmente en la elaboración de chocolates. El año 2018 se ha producido 135,3 mil toneladas de cacao en grano seco en el Perú que está distribuida en 16 regiones, 57 provincias y 259 distritos que se encargan de cosechar este producto; con datos de 2018, más del 85% de la producción de cacao se concentra en las regiones de San Martín (40.9 por ciento), Junín (18.3 por ciento), Ucayali (12.3 por ciento), Huánuco (7.7 por ciento) y Cusco (6.1 por ciento) MINAGRI (2019).

En San Martín el área cultivada del cacao es de 65,184 hectáreas de las cuales el 80 por ciento es de cacao cultivar CCN 51 debido a su alto rendimiento que está alcanzando de 2500 hasta 3000 kg/ha/año en las zonas de Tocache y Uchiza. Este cacao no es considerado como fino de aroma, pero por su riqueza en aceites y grasas es adecuado para la producción de manteca.

El proceso poscosecha inicia con la recolección de las mazorcas maduras identificadas en forma empírica, luego los granos cubiertos de mucilago rico en azúcares como la sacarosa, fructosa y glucosa, son separados en forma manual de la mazorca y placenta mediante un corte transversal con ayuda de un machete sin filo y son colocados en un depósito para transportarlo desde el campo de producción hasta el centro de fermentación en sacos, montones o cajones de madera, estas operaciones son realizadas sin ningún tratamiento de limpieza y desinfección de las manos y de las superficies en contacto con los granos de cacao.

La fermentación de las almendras de cacao pueden considerarse principalmente como un proceso de curado para estabilizar las almendras frescas a través de la degradación microbiana del mucilago firmemente adherido y pecedera a través del secado (Hii et al., 2009).

Estudios realizados sobre ciertos parámetros físico químicos de la fermentación y el secado, explican que la ligera disminución del pH de la pulpa durante la fermentación anaeróbica se atribuye a la desasimilación del contenido de ácido cítrico por las levaduras y luego después de las 48 horas o periodo de fermentación aeróbica por las bacterias lácticas y la sustitución por los ácidos lácticos y acéticos menos disociados se produce una constante elevación del pH al respecto, Schwan & Wheals (2004) indican que el descenso del pH en la pulpa es atribuible al metabolismo del ácido cítrico por acción de las levaduras anaeróbicas, ya que el etanol formado es oxidado a ácido acético (bacterias acéticas) el que migra hacia los cotiledones.

Durante el proceso de secado convencional del cacao, los agricultores utilizan el método de secado al sol para secar las almendras de cacao hasta obtener el contenido de humedad deseado. El proceso de secado produce diversos cambios químicos y bioquímicos que son necesarios para formar el aroma y los precursores del aroma que se producirán en el proceso de tostado (García-Alamilla et al., 2007). Sin embargo, el secado degrada los polifenoles en los granos de cacao a través de una reacción compleja conocida como dorado y también debido al efecto térmico. Aunque los polifenoles en el grano continúan su degradación considerablemente durante el secado, la cantidad restante presente todavía imparte un sabor astringente a los productos de chocolate después del procesamiento (Kyi et al., 2005).

Por lo expuesto, se decidió realizar la investigación planteando los siguientes objetivos:

1. Evaluar el efecto de las condiciones de fermentación; sobre la variación de los polifenoles totales, antocianinas, color y pH en la almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51.
2. Evaluar el efecto del método de secado (directo al sol, cámara de secado al sol y con aire caliente) sobre la variación de polifenoles totales, antocianinas, color y pH en la almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Investigaciones que indirectamente se relacionan con el tema a desarrollar son las siguientes:

Verdesoto (2009) determinó la caracterización química preliminar de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedente de los municipios de Omoa y La Másica, Honduras. Cuantificó la concentración de 18 componentes químicos en cacao proveniente de cinco fincas del municipio de Omoa y cuatro muestras de La Másica (Honduras). La identificación del potencial de calidad de este cacao fue hecha respecto a los parámetros de cuatro estándares (ASSS, ASS, ASE y Standard Oficial Good Fermented). Todas las fincas fueron similares en más de un componente con los estándares ASSS, ASS, ASE (Ecuador) excepto La Estringa que sólo fue similar en nitrógeno con el cacao Standard Officiel (Ghana). La finca El Porvenir también fue similar a este estándar en el ácido palmítico y todas las muestras de la finca de la FHIA tuvieron alguna similitud con el mismo estándar. La relación teobromina/cafeína de 7 ubicó al cacao de la Finca El Paraíso con potencial similar al clon CCN 51 (Ecuador). La relación teobromina/cafeína de 10/1 ubicó al cacao de la Finca San Rafael con potencial similar al cacao comercial de Ghana. El parámetro graso total permitió ubicar a las muestras FSR, FPO, FPA y FLE con potencial de cacao fino y las muestras FH2, FH8, FH21 y FH26 con potencial de cacao forastero.

Portillo et al. (2007) en su investigación “Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el índice de fermentación en la calidad del cacao criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.)”, al evaluar el pH, acidez, taninos, azúcares reductores y totales, determinaron para el cotiledón y pulpa más testa mayores valores de pH y taninos en el fermentador rectangular y de acidez, azúcares reductores y totales en el fermentador cuadrado. La frecuencia de remoción cada 24 horas, mostró mayor pH, azúcares y taninos y menor acidez en el cotiledón y menores valores en la pulpa más testa y un aumento en los azúcares y taninos en éste. El aguante determinó un incremento del pH para cinco días

y un descenso de la acidez y azúcares. En la pulpa más testa se observó la misma tendencia. Durante la fermentación hubo variación de todas las variables en estudio en ambas fracciones, reduciendo su contenido en su gran mayoría. Estos resultados tienen relación con la calidad final del cacao.

Salvador (2008) en su investigación “Mapeo de la calidad física y organoléptica del *Theobroma cacao*, a nivel sub cuenca del Rio Bigote como estrategia para la inserción y posicionamiento en nichos de mercado de la Asociación de Pequeños Productores de cacao de Piura”; concluyeron que la subcuenca del río Bigote, presenta una riqueza en sabores de granos de cacao, la cual es una potencialidad y herramienta comercial para la inserción y posicionamiento en nichos de mercados de cacaos de especialidad. El mapeo de la calidad físico-sensorial del grano, permite organizar la oferta de manera diferenciada logrando una mayor valorización del grano a nivel del mercado. La diferenciación del grano piurano se hace por su color y la gama de sabores que posee; la zona alta se caracteriza por sus tonalidades ligeras con sabor a nuez, mientras que la zona baja su sabor a malta. La evaluación sensorial de grano de cacao, es una herramienta metodológica que permite conocer las cualidades del producto y promover propuestas para la mejora del mismo.

Ortiz et al. (2009) investigaron la “Influencia de varios factores sobre las características del grano de cacao fermentado y secado al sol”, cuyos resultados revelaron que el cacao criollo presentó los contenidos más altos de humedad, acidez, grasa y proteína; el AM2 de humedad y pH y el SR de humedad y proteína. Además, al cacao criollo le correspondió la menor cantidad de granos pizarrosos, al AM2 de granos negros y al SR de granos fermentados. Respecto al color, el AM2 mostró mayor luminosidad y el SR menor tendencia al rojo y al amarillo. Al fermentar el cacao, aumentó la humedad del cotiledón, y descendió el pH y la acidez, mientras que los taninos y proteínas no variaron. En el secado disminuyeron la humedad, acidez, taninos, proteínas del cotiledón, pero se incrementó el pH. En conclusión, las propiedades del grano seco variaron en función de los factores evaluados, en tanto que las características químicas del cotiledón dependieron de la condición del grano.

Palacios (2008) en su investigación denominada “Establecimientos de parámetros (físicos, químicos y organolépticos) para diferenciar y valorizar el cacao (*Theobroma cacao* L.) Producido en dos zonas identificadas al Norte y Sur del litoral ecuatoriano”, encontró los

siguientes resultados: Los porcentajes de grasa obtenidos en las muestras de cacao de ambas zonas no sobrepasaron el 50 por ciento. El cacao de Naranjal presentó aproximadamente un 2 por ciento más de polifenoles. La zona de Naranjal presentó muestras que culminaron en mediana acidez, con valores de pH seco del cotiledón en 5,5 y de 6,0 para la testa. La acidez titulable (2,88 meq. NaOH/g de muestra) resultó ser también mayor, en relación al cacao de Colón Eloy. En la relación Teobromina /Cafeína, ambas zonas se ubican en un grupo muy aparte; sin embargo el cacao de Colón Eloy se acerca un poco hacia el grupo de los Criollos y el cacao de Naranjal más al grupo de los Trinitarios.

Efraim et al. (2004) realizaron 7 experimentos diferentes: los tratamientos A y G (fermentaciones convencionales con duración de 7 y 3 días respectivamente); tratamientos B, C y F (fermentaciones por 7 días, modificadas con adiciones de 5mg, 10mg y 5mg de bisulfito de sodio/100g de masa de semillas con pulpa después de 48 horas, 48 horas y 120 horas respectivamente y ensayos D y E (fermentaciones por 7 días modificadas con adición de 5mg y 10mg de sulfato de cobre/100g de masa de semillas con pulpa después 48 horas del inicio respectivamente) en los resultados encontraron que en los diferentes tratamientos se pierde de 37 a 47 por ciento de compuestos fenólicos totales, siendo que para la muestra con fermentación convencional durante 7 días se observó pérdidas de 63,62 por ciento. De esta manera, todos los tratamientos propuestos mantuvieron mayor contenido de compuestos fenólicos en relación a la fermentación convencional.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Origen y distribución de la materia prima

Según Guerrero (2007) el cacao (*Theobroma cacao* L.), es una especie endémica de América del sur cuyo centro de origen está localizado en la región comprendida entre las cuencas de los ríos Caquetá, Putumayo y Napo, tributarios del río Amazonas. En la cuenca amazónica, se distribuye en Bolivia, Brasil, Colombia, Venezuela, Surinam y Guyana. En la selva peruana se cultiva en los Departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Huánuco, Junín, Cerro de Pasco, Madre de Dios, Cuzco, Amazonas y Ayacucho.

El ICT (2004) indica que algunos investigadores han señalado que el centro primario de diversidad del cacao, se encuentra en la región Nor oriental de Perú; sin embargo, la existencia de una gran diversidad de poblaciones silvestres y nativas dispersos en la región

central y sur de la Amazonía Alta, apoyaría la hipótesis de que el centro de origen no solo estaría confinado a dicha región, sino que además incluiría la región centro y sur oriental del Perú; las cuencas de los ríos Huallaga, Ucayali y Urubamba.

Después que México fuera conquistado por los españoles, los cultivares de cacao criollo de América Central, fueron introducidos primero en la región del Caribe y Venezuela y posteriormente a las Filipinas, Indonesia, India y Madagascar.

2.2.2 Identificación taxonómica

Según Adriazola (2003), el cacao tiene la siguiente clasificación taxonómica:

| | |
|----------------------------|-----------------------------------|
| Origen | : América Latina |
| Reino | : Vegetal |
| Orden | : Málvales |
| Clase | : Angiospermas |
| Familia | : Esterculiáceae |
| Tribu | : Birtheriaceae |
| Género | : Theobroma |
| Especie | : <i>Theobroma cacao</i> L. |
| División | : Spermatophyta |
| Subdivisión | : Angiosperma |
| Nombre científico y común: | <i>Theobroma cacao</i> L., Cacao. |

2.2.3 Composición químico proximal de las almendras de cacao

En los granos de cacao fermentados y secos de África Occidental, el contenido de grasa oscila entre el 56 y el 58 por ciento y la mayoría de los cacao Forastero caen entre el 55 y el 59 por ciento (Afoakwa et al., 2008; Reineccius et al., 1972; Rohan, 1963; Wood y Lass, 1985). Afoakwa et al. (2013) encontraron contenido de grasa entre 50,40 y 53,35 por ciento y 52,27 a 55,21 por ciento, respectivamente, para las almendras de cacao fermentados y no fermentados previamente. En la Tabla 1 se presenta el análisis proximal de las almendras de cacao frescas y fermentadas.

Los resultados son producto de análisis realizados por triplicado ($n=3$) \pm desviación estándar y evaluados estadísticamente con ANOVA por comparación múltiple con un nivel

de significancia de 5%. Letras distintas indican diferencias significativas. Proteína: %NT*6,25.

Tabla 1. Composición proximal (base seca) de almendras de cacao frescas y en proceso fermentación

| Horas de fermentación | Humedad | Ceniza | Proteína cruda | Grasa cruda | Fibra dietaria |
|-----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| 0 | 57,85±0,02 ^a | 5,73±0,01 ^a | 12,46±0,03 ^a | 54,45±0,09 ^e | 2,65±0,35 ^g |
| 24 | 55,13±0,01 ^b | 5,13±0,00 ^b | 11,45±0,00 ^e | 54,92±0,12 ^{bc} | 3,18±0,38 ^f |
| 48 | 52,00±0,01 ^c | 4,74±0,06 ^d | 11,94±0,06 ^c | 54,76±0,15 ^{cd} | 3,64±0,29 ^e |
| 72 | 49,31±0,08 ^d | 4,98±0,01 ^c | 11,76±0,05 ^d | 3,91±0,03 ^f | 3,75±0,25 ^e |
| 96 | 45,55±0,09 ^e | 4,59±0,02 ^e | 11,51±0,05 ^e | 54,53±0,08 ^{de} | 5,18±0,33 ^d |
| 120 | 39,14±0,07 ^f | 4,59±0,01 ^f | 12,31±0,08 ^b | 54,53±0,48 ^{ab} | 5,41±0,24 ^c |

Fuente: Romel et al. (2008)

2.2.4 Antocianinas

Las antocianinas derivan del griego *anthos* flor y *kyanos* azul, son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visibles para el ojo humano, forman parte de la familia de los polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos. Los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de las flores, frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos, se hallan en las células epidermales o subepidermales de la planta, principalmente en flores y frutos (Cuevas et al., 2008). Los enlaces conjugados en sus estructuras, que absorben la luz a aproximadamente 500nm, son la base de los colores rojo, azul y morado de las frutas, verduras y sus productos (Patras et al., 2010).

Las antocianinas y antocianidinas son metabolitos secundarios de color morado a rosa en las semillas de cacao, son productos a partir de las leucoantocianidinas o procianidinas (compuestos incoloros) por la acción de la enzima antocianidina sintasa en la ruta de biosíntesis de flavonoides (Marquez, 2009). Las antocianinas son antocianidinas glicosiladas; los azúcares se unen a la posición 3-hidroxilo de la antocianidina, a veces a la

posición 5 ó 7 del ion flavonio, (Mcghie y Walton, 2007). Las variaciones en la estructura química se deben principalmente a las diferencias en el número de grupos hidroxilo en la molécula, el grado de metilación de estos grupos OH, la naturaleza y el número del resto de azúcar unido a la molécula fenólica y hasta cierto punto la naturaleza y el número de ácidos alifáticos o aromáticos adjunto (Mazza y Brouillard, 1987; Mazza & Miniati, 1993; Mcghie y Walton, 2007). Los restos de azúcar se unen como 3- monosidos; 3 biosidos; 3-triósidos; 3,5-diglicósidos; 3,7-diglicósidos que consisten principalmente en glucosa, galactosa, ramnosa y xilosa (Mcghie y Walton, 2007). La degradación es causada principalmente por oxidación, escisión de enlaces covalentes o reacciones de oxidación mejoradas debido al procesamiento térmico (Patras et al., 2010).

2.2.5 Polifenoles

Manach et al. (2004) sostienen que los polifenoles son micronutrientes abundantes en nuestra dieta y la evidencia de su rol en la prevención de enfermedades degenerativas tales como cáncer y males cardiovasculares son emergente. Los efectos benéficos de los polifenoles dependen de la cantidad consumida y de su biodisponibilidad.

Manach et al. (2004) indican que generalmente los polifenoles de la quercetina se encuentran en todos los productos vegetales (frutas, cereales, leguminosas, jugo de frutas, té, vino, infusiones, etc.) y otros polifenoles son específicos para ciertos alimentos como las flavanonas en frutas cítricas, isoflavonas en soya, floridizin en manzanas. En la mayoría de los casos, los alimentos contienen mezclas complejas de polifenoles. El procesamiento también afecta el contenido de polifenoles. El pelado de frutas, descascarado de semillas de legumbres, decorticado y embullado de cereales pueden resultar en la pérdida de algunos polifenoles.

La presencia del grupo hidroxilo del fenol es la que determina la acidez del polifenol, mientras que a su vez el anillo aromático es la que caracteriza la basicidad del compuesto fenólico, estas características hacen que los polifenoles tengan un bajo punto de fusión, se cristalizan en prismas incoloros con un olor ligeramente picante, la miscibilidad en agua es limitada, aunque por encima de ciertas temperaturas aumenta y dependiendo de la presencia de grupos hidroxilo metilados esta puede aumentar o disminuir según sea más alta o más baja la concentración de estos respectivamente, aunque es fácilmente soluble en

disolventes orgánicos como hidrocarburos aromáticos, alcoholes, cetonas, esterres, ácidos e hidrocarburos halogenados y menos soluble en hidrocarburos alifáticos (Rappaport, 2003). La principal función de los polifenoles se encuentra asociada a la defensa de las plantas, frutas, flores, así como también a la generación de los sabores y aromas de los frutos, equilibrio hormonal, coloración, propiedades antitrombóticas, vasodilatadoras, inmunes supresores y antimicrobianos (Ladaniya, 2008).

Misnawi (2003) realizó la extracción de polifenoles por maceración durante 24 horas; siendo un método comúnmente utilizado para la extracción de polifenoles. Recientemente, el método de extracción asistida por ultrasonido ha ganado más atención debido a su capacidad para mejorar el rendimiento de la extracción con disolvente (Armenta et al., 2006). Se ha encontrado que el método asistido por ultrasonido es capaz de extraer carotenoides de maíz (Ye et al., 2011), proteínas de salvado de arroz (Chittapalo y Noomhorm, 2009), carotenoides y clorofilas de *Chlorella vulgaris* (Cha et al., 2010) y polifenoles del tabaco (Gu et al., 2005).

De acuerdo con la tendencia creciente de la utilización de polifenoles de cacao como productos farmacéuticos, debe tenerse en cuenta la utilización de su subproducto. Las tortas de cacao obtenidos de la extracción de polifenoles de cacao se consideran productos subutilizados debido a su limitación de uso a pesar de contener alto contenido nutricional. Actualmente, la conversión de subproductos en productos a base de hidrolizado está más interesada. El hidrolizado de proteínas es uno de los productos populares a base de hidrolizado que puede producirse a partir de subproducto contenido en proteínas. Los hidrolizados de proteínas se definen como productos de descomposición de proteínas en péptidos más pequeños de diversos tamaños mediante procesos químicos o biológicos (Pasupuleti y Braun, 2010). En la Tabla 2 se observa la variación del contenido de polifenoles totales de las almendras de cacao forastero y CCN 51 (*Theobroma cacao* L.) procedentes del distrito de Pachiza provincia de Mariscal Cáceres, Región San Martín, Perú. Frescas y durante el proceso de fermentación.

Tabla 2. Contenido de polifenoles totales de almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) Forastero y CCN 51 en estado fresco y durante la fermentación

| Horas de fermentación | (g Equivalente Ácido Gálico/100g) |
|-----------------------|-----------------------------------|
| 0 | 7,05 |
| 48 | 7,03 |
| 72 | 6,93 |
| 96 | 6,82 |
| 120 | 6,41 |
| 144 | 6.36 |
| 168 | 5,05 |

Fuente: Peláez et al. (2016).

Los resultados son producto de análisis realizados por triplicado (n=3) donde se muestra que el contenido de polifenoles totales en los granos de cacao fresco ha disminuido desde 7.05g GAE/100g hasta 5.88g GAE/100g. con una desviación estándar de ± 0.56 y evaluados estadísticamente con ANOVA por comparación múltiple con un nivel de significancia de 5%.

2.2.6 Ensayo de Folin-Ciocalteu

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos de ácidos fosfowolfrámico o fosfotungsténico ($H_3HW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMO_{12}O_{40}$). La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotungsténico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula. expresado en ácido gálico (Kramling y Singleton, 1969).

2.2.7 Efecto de las operaciones poscosecha del cacao (*Theobroma cacao* L.)

Después de la apertura de las vainas, la pulpa mucilaginoso, ácida y rica en azúcar que rodea a los granos de cacao está contaminada con una variedad de microorganismos procedentes de las manos de los trabajadores, contenedores utilizados para el transporte,

cuchillos, superficies de las vainas, etc. (Jespersen et al., 2005; Roelofsen, 1958). Los cotiledones son blancos y en la parte interna es púrpura, dependiendo de la cantidad de antocianinas una clase menor de polifenoles de los granos del cacao.

Durante la fermentación de las almendras de cacao, ocurre la muerte del embrión o germen. Por tanto los compuestos fenólicos entran en contacto con enzimas tales como polifenol oxidasa y glicosidasas presentes en las semillas de cacao provocando reacciones de oxidación, la formación de complejos con las proteínas, formación de compuestos denominados quinonas, que a su vez se someten a acoplamiento covalente con los grupos reactivos de aminoácidos, péptidos, proteínas y fibras (Brito et al., 2000). Así, durante la etapa de fermentación, el contenido total de polifenoles disminuye alrededor del 70 por ciento, y el contenido epicatequina compuesto fenólico del grupo de los flavonoides se reduce aproximadamente 90 por ciento.

Durante la fermentación de los granos de cacao, los polifenoles se difunden con los líquidos celulares de sus células de almacenamiento y sufren oxidación y complejación en taninos de alta masa molecular, en su mayoría insolubles. Las antocianinas se hidrolizan rápidamente en antocianidinas y azúcares (galactosa y arabinosa) por glicosidasas. Este proceso explica el blanqueamiento del color púrpura de los cotiledones (Fenglin et al., 2013). La fermentación es una etapa de procesamiento clave que causa la muerte del grano y facilita la eliminación de la pulpa para luego hacer el secado. Durante esta etapa, se inicia la formación de precursores de sabor y el desarrollo de color, y una reducción significativa en el amargor (Biehl et al., 1990; Voigt et al., 1994).

Estos precursores experimentan otras transformaciones durante el tostado, para formar los compuestos finales de sabor a chocolate (Lopez y Dimick, 1991; Ouattara et al., 2008; Rodriguez-Campos et al., 2011; Thompson et al., 2007). Durante la fermentación, la velocidad de difusión de los ácidos orgánicos en los cotiledones, el tiempo transcurrido entre la cosecha y el inicio de la fermentación, la duración del período de pH óptimo y el pH final son cruciales para la formación óptima del sabor (Biehl et al., 1985). Las almendras de mayor pH (5,5-5,8) se consideran no fermentados con bajo índice de fermentación y puntaje de corte y aquellos de menor pH (4,75-5,19), bien fermentados. Las técnicas de fermentación pueden reducir las notas ácidas y maximizar los sabores del

chocolate (Afoakwa y Paterson, 2010; Beckett, 2008; Holm et al., 1993). En la Tabla 3 se observa los valores promedio del pH de cacao frescos y fermentados.

Tabla 3. Valores promedios del pH y acidez (base seca) de las almendras de cacao frescas y fermentadas.

| Horas de fermentación | pH | Acidez (meq NaOH/g muestra) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------------|
| 0 | 6,17±0,03 ^a | 0,64±0,01 ^g |
| 24 | 4,95±0,01 ^c | 1,47±0,01 ^d |
| 48 | 4,73±0,01 ^e | 1,77±0,01 ^c |
| 72 | 4,47±0,05 ^f | 2,16±0,05 ^b |
| 96 | 4,29±0,05 ^g | 2,63±0,05 ^a |
| 120 | 4,22±0,05 ^h | 2,59±0,04 ^a |

Fuente: Romel et al. (2008).

Los resultados son producto de análisis realizados por triplicado (n=3) ± desviación estándar y evaluados estadísticamente con ANOVA por comparación múltiple con un nivel de significancia de 5%. Letras distintas indican diferencias significativas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

La investigación se desarrolló en los laboratorios de físico química, biotecnología e investigación, instalaciones pertenecientes a la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM); y los laboratorios de Investigación de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, ubicados en la ciudad universitaria de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto.

3.2 Materia prima

Se utilizó 240 kg de cacao en baba (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51, que se acopiaron en la plantación de la empresa ROMERO TRADING, ubicada en el distrito de la Banda de Shilcayo, provincia de San Martín, departamento de San Martín.

3.3 Materiales, equipos y reactivos

Material de campo

Tijera cosechadora, podón (pico de loro), machete sin filo, baldes de plástico, bolsas plásticas, cajón fermentador de madera (50cm x 60cm x 40cm), estructura de madera para colocar los cajones fermentadores a 0.2 m., 1.0 m. y 2.0 m. de altura, costal de yute, paletas de madera, rastrillo de madera, cuchilla, plumón, lápices, cinta maskin tape.

Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitación de 50; 100 y 250mL
- Pipetas graduadas de 2; 5 y 10mL.
- Micropipetas 0-10 μ L; 10-100 μ L; 20-200 μ L y 100-1000 μ L
- Tubos de ensayo de 10mL.
- Fiolas de 50; 100; 500 y 1000mL
- Probetas graduadas de 10, 100, 250 y 500mL.

- Frascos de color ámbar de 100mL
- Termómetros de mercurio (0 – 100°C)
- Placas Petri
- Bureta
- Guillotina marca Trenex
- Pinzas, espátulas, gradillas, trípodes, cubetas de poliestireno Gene Mate® (1cm x 1cm x 4,5cm); tips FISHERBRAND® (1000 y 200µL); microtubos (1,5 - 2,00mL); papel de filtro y varilla de vidrio

Equipos de laboratorio

- Espectrofotómetro modelo Genesys 6 (Thermo electron corporation).
- Balanza analítica modelo Scout ProSP2001 (OHAUS), capacidad 200 g
- Estufa memmert 54 lt.
- Equipo ultrasonido (marca Branson de 50 a 60 Hz)
- pH metro Mettler Toledo Seven Easy pH 0 a 14.
- Colorímetro modelo Minolta CR-400
- Agitador orbital modelo 625 standard (VWR™ hotplate/stirrer)
- Congelador FFV-2065FW -20°C (Frigidaire, USA).
- Desionizador modelo D 7035 (Barnstead).
- Agitador magnético modelo 625 standard (VWR™ hot plate/stirrer).
- Homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (Scientific industrias SITM).
- Centrifuga modelo MIKRO 22R (Hettich).

Reactivos y soluciones

Ácido clorhídrico (HCl) (Merk) pureza 36,5 por ciento; ácido gálico (C₇H₆O₅) al 98,1 por ciento Sigma Aldrich; cloruro de potasio (KCl) (sigma) pureza 99,5 por ciento; acetato de sodio (CH₃COONa) (Merk) pureza 99 por ciento; Folin-ciocalteu' sphenolreagent, 2N Sigma Aldrich; carbonato de sodio (Na₂CO₃) p.a. ISO. Scharlau; metanol al 99 por ciento de pureza; etanol al 99,99 por ciento Merck KGaA; agua destilada desionizada (H₂O_{odd}) y cloroformo 99,8 por ciento marca Merck. Germany, Fenolftaleína 0,1 por ciento, NaOH al

0,1N, Alcohol etílico y éter dietílico, Buffer pH 1 (0.025 M Cloruro de potasio); Buffer pH 4,5 (0.49 M Acetato de sodio).

3.4 Métodos de análisis físico químico

Humedad

Método 934.06 (AOAC, 2005).

Cenizas

Método 940.26 (AOAC, 2005).

Fibra bruta

Método 930.10 (AOAC, 2005).

Proteína

Método microkjeldahl, 920.152 (AOAC, 2005).

Grasa

Método 930.09 (AOAC, 2005).

Acidez titulable

Método 942.15 (AOAC, 2005).

pH

Método potenciométrico 981.12 (AOAC, 2005).

Sólidos solubles

Con refractómetro, Método 931.12. (AOAC, 2005).

Determinación de la temperatura en la fermentación

Por el método reportado por Gutierrez (2007)

Determinación de la fermentación

Por método de prueba de corte según las NTP - ISO 1114 (2016).

Materiales y equipos

- Cuchilla o navaja

Preparación de muestra para ensayo

Se realizó una mezcla de la muestra del lote final (muestra de laboratorio) obtenida según el método especificado en la ISO 2292. Se procedió a reducir según el método de cuarteo, hasta la obtención de una cantidad superior a 300 granos.

Se realizó mediante un corte longitudinal por la parte central de cada uno de los 300 granos, a fin de exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones. Se examinaron

visualmente las dos mitades de cada grano a la luz diurna o bajo una iluminación artificial (lámpara fluorescente).

Se contaron separadamente los granos defectuosos, es decir aquellos mohosos, pizarrosos, partidos, violetas, vanos, múltiples, germinados, dañados por insectos según lo definido a continuación y graficado en el Anexo 27.

- **Grano mohoso.** Grano que ha sufrido deterioro parcial o total en su estructura interna debido a la acción de hongos, determinado mediante prueba de corte.

- **Grano dañado por insectos.** Grano que ha sufrido deterioro en su estructura (perforaciones, picaduras, etc.) debido a la acción de insectos.

- **Grano germinado.** Grano que ha sufrido deterioro evidente en su estructura por el proceso de germinación, o por la acción mecánica durante el beneficiado.

- **Grano múltiple.** Es la unión de dos o más granos por restos de mucílago.

- **Grano plano vano o granza.** Es un grano cuyos cotiledones se han atrofiado hasta tal punto que cortando la semilla no es posible obtener una superficie de cotiledón.

- **Grano partido (quebrado).** Fragmento de grano entero.

- **Grano pizarroso (pastoso).** Es un grano sin fermentar, que, al ser cortado longitudinalmente, presenta en su interior un color gris negruzco o verdoso y compacto.

- **Grano violeta.** Granos cuyos cotiledones presentan un color violeta intenso, debido al mal manejo durante la fase de beneficio del grano.

- **Grano de buena fermentación.** Grano fermentado cuyos cotiledones presentan en su totalidad una coloración marrón o marrón rojiza y estrías de fermentación profunda.

Calculo:

$$\%F = \frac{Nf \times 100}{300 \text{ gramos}}$$

Donde:

%F: Grado de fermentación en porcentaje

Nf: Numero de granos fermentados

Los lotes de cacao se clasifican de acuerdo a la proporción de granos defectuosos, determinado por el método especificado en la NTP-ISO 1114 en dos grados tal como se especifica en el Anexo 28

Evaluación del color de los granos del cacao

El color de los granos se determinó mediante un colorímetro marca Cónica –Minolta CR - 310 (Emmanuel et al., 2012).

Preparación de la muestra para análisis de polifenoles totales y antocianinas en granos de cacao

Los granos de cacao fueron descascarillados de forma manual, para la obtención de las almendras, luego todas las muestras frescas o en proceso de fermentación fueron secadas mediante liofilización hasta humedades de 7,0 por ciento y desgrasadas por el método de Folch (Aelson et al., 2009) y molidas utilizando un mortero y pilón, para reducir el tamaño de partícula. Seguidamente, se tomó una muestra de 20g y se maceró por 24h en 50ml de solvente (1:2 v/v. metanol y cloroformo), en agitación, luego se filtró y separó la torta de la grasa; la torta fue secado en estufa a 45°C/15min para evaporar el solvente y las muestras de cacao desengrasadas fueron envasados en frascos de vidrio de color ámbar.

Preparación del extracto hidroalcohólico

Se pesaron 3g de muestra desengrasada, luego se enrasó a 30ml de solución hidroalcohólica (50/50 v/v agua: etanol) y se transfirió en frascos de color ámbar, se tapó herméticamente y se realizó una extracción asistida mediante ultrasonido por 50 minutos a 50°C, se filtró, se almacenó a -18°C, en frascos de color ámbar.

Determinación de polifenoles totales

Se aplicó el método espectrofotométrico desarrollado por Folin Ciocalteu et al. (1997), reportado por Sandoval et al. (2001).

Determinación de la curva estándar

Se preparó una solución de 100mg/mL de ácido gálico a una concentración de 2mg/mL, a partir de ello se prepararon diluciones con concentraciones de: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,50 y 1,00mg/mL, cada dilución se preparó por triplicado. Primero se agregó a cada tubo 1580µL de agua desionizada, 20µL de muestra control y estándares (ácido gálico), para el control se adicionó 20mL de agua desionizada; se homogenizó ligeramente, luego se agregó 100µL de solución de fenol Folin Ciocalteu, se incubó por 1 minuto a temperatura ambiente; se neutralizó la reacción agregando 300µL de Na₂CO₃ al 20 por ciento y

finalmente se incubó por 2 horas a temperatura ambiente y en oscuridad, se realizó la lectura en espectrofotómetro UV/VIS a 700nm; con los resultados se determinó el gráfico de la concentración respecto a absorbancia.

a. Cuantificación de polifenoles totales

Considerando el extracto hidroalcohólico 100mg/mL (filtrado y centrifugado a 10000rpm/10min a 4°C), se realizó la dilución del extracto de acuerdo a la concentración encontrada, con 3 repeticiones por tratamiento, se adicionaron en los tubos de ensayos para cada tratamiento 1580µL de agua desionizada, 20µL de extracto diluido, 100µL de fenol Folin Ciocalteu y finalmente 300µL de Na₂CO₃ al 20 por ciento y se incubaron por 2h a temperatura ambiente y oscuridad, luego se realizó la lectura en espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 700nm. Las absorbancias fueron reemplazadas en la ecuación de la curva estándar y los resultados fueron expresadas en equivalente de ácido gálico (g EAG/100g de muestra seca).

b. Determinación de antocianinas

Se aplicó el método del pH diferencial reportado por (Poo, 2005).

Selección de longitud de onda de trabajo

La longitud de onda del trabajo corresponde, generalmente, a la longitud de onda en la cual la absorbancia del analito (sustancia a analizar) es máxima (λ_{max}). Para seleccionar el λ_{max} , se hace un espectro de absorción o curva espectral, y que consiste en una gráfica de la absorbancia de una solución de la sustancia absorbente de concentración adecuada, medida a distintas longitudes de onda y en ella se determina el λ_{max}

Se utilizó un espectrofotómetro UV/VIS; las mediciones se realizaron a las longitudes de onda de 520 nm (máxima longitud de onda determinada) y a 700 nm.

Preparación de las soluciones Buffer

Se preparó dos soluciones buffer de pH=1,0 y de pH= 4,5, que han de consistir los medios de dilución de la alícuota del extracto normalizado, para poder efectuar la lectura espectrofotométrica en los pHs indicados. La preparación de las soluciones buffer consistió en lo siguiente:

Buffer pH = 1,0 (Cloruro de potasio 0.025 M)

Pesar 1,86 g de KCl en un vaso y añadir agua desionizada para su total disolución, luego medir el pH y ajustar a 1,0 ($\pm 0,05$) con HCl concentrado cuidando no sobrepasar el volumen de un litro, trasvasar a una fiola aforada y completar el enrase final a 1 litro hasta el aforo.

Buffer pH = 4,5 (Acetato de sodio 0.4 M)

Pesar 54,43g de $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en un vaso precipitado y añadir agua desionizada para su total disolución, luego medir el pH y ajustar a 4,5 ($\pm 0,05$) con HCl concentrado cuidando no sobrepasar el volumen de un litro, trasvasar a una fiola aforada y completar el volumen al enrase de aforo de 1 litro.

Luego, se tomó una muestra o alícuota del extracto hidroalcohólico y se diluyó apropiadamente (para conseguir una absorbancia en el rango de 0,2 a 1,4 medidos a 520 nm.) utilizando las soluciones buffers indicadas; por decir, para 1mL de una muestra o extracto se añade 24 mL de la correspondiente solución tampón, en un caso el de pH 1,0 y otro para el de pH 4,5 (lo cual nos daría un factor de dilución de 25 en cada caso) y luego se mide la absorbancia en un equipo de Espectrofotómetro Genesys 6 UV/VIS, frente a un blanco a las longitudes de onda de 520 y 700 nm.

Determinación del contenido de antocianinas totales

Con los valores de absorbancia registrados para cada dilución (pH 1,0 y 4,5) y en cada longitud de onda (520 y 700 nm.), se procede a determinar el contenido total de antocianinas del extracto normalizado, utilizando la siguiente ecuación:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{520} - A_{700})_{pH4,5}$$

Las absorbancias obtenidas serán reemplazadas en la ecuación y expresada como mg cianidina -3-glucósido por litro.

$$APM\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A * MW * DF * 1000}{\epsilon * 1}$$

Dónde:

PMA: Pigmentos monoméricos de antocianinas (mg/l)

A: Absorbancia de la dilución de la muestra

MW: Peso molecular de la cianidina-3-glucósido es 449,2

DF: Factor de dilución

ϵ : La absorptividad molar a 520 nm. a pH = 1,0; pH = 4,5 es la corrección de la formación de productos de degradación es 26900

l: Longitud de paso de la celda 1cm

1000: Factor de conversión de g a mg

La ecuación permite cuantificar las antocianinas presentes en la muestra, expresadas como antocianinas monoméricas (A_m) en mg/L; es decir, mg de antocianina por cada 1 L del extracto hidroalcohólico analizado.

Expresión de antocianina en función de gramos de base seca de la muestra

Para fines de discusión y análisis de concentración de antocianina en la muestra analizada, se hace necesario la conversión de dicho resultado en función de la materia seca de la muestra sometida a análisis, o simplemente expresar en base seca de la muestra analizada (mg/g); para cuyo efecto se aplicó la siguiente expresión:

$$AT_{mx} \left(\frac{mg}{g} \right) = A_m \left(\frac{V_{in}}{m_x} \right)$$

Donde:

AT_{mx} : Concentración de antocianina total en base seca de la muestra (mg/g)

A_m : Concentración de antocianina en el extracto hidroalcohólico (mg/L)

V_{in} : Volumen del extracto hidroalcohólico (L)

M_x : Peso de la muestra en base de la muestra en base seca utilizada (g)

$M_x = m_h (1 - (\%H/100))$

M_h : Peso de la muestra húmeda utilizada para el análisis (g)

$\%H$: porcentaje de humedad en la muestra analizada (%)

3.5 Análisis estadístico

Para evaluar los resultados de polifenoles totales, antocianinas y análisis fisicoquímico a diferentes alturas del cajón fermentador y métodos de secado (directo al sol, cámara de secado solar y flujo de aire caliente) se utilizó el modelo estadístico Diseño Completo al

Azar (DCA) con cuatro repeticiones, aplicando un ANVA y para los que presentan diferencias significativas a ($p>5$) se aplicó la prueba de LSD, empleando el siguiente modelo matemático (Ritchey, 2002). Para el análisis estadístico se utilizó el software IBM SPSS Statistic 22.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + E_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Resultados de la evaluación de polifenoles totales, antocianinas y el análisis fisicoquímico.

μ = Media general

α_i = Es el efecto del i – ésimo factor altura de fermentación de cacao.

E_{ij} = Error experimental de modelo.

Variable independiente: Fermentación a diferentes alturas y métodos de secado

Variable dependiente: contenido de polifenoles totales, antocianinas, color, pH y acidez.

3.6 Metodología experimental

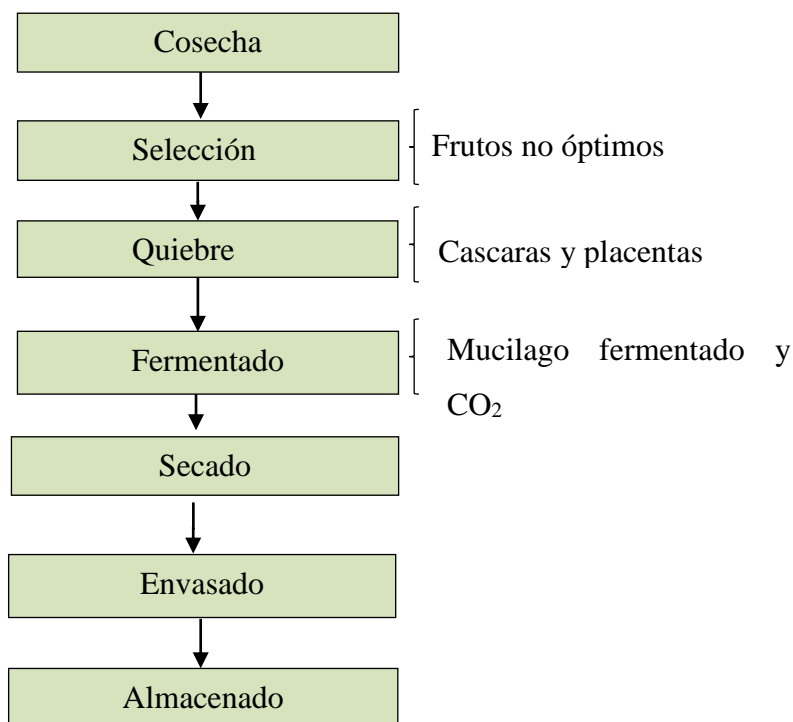


Figura 1. Flujo de operaciones para beneficio del cacao (*Theobroma cacao* L.); cultivar CCN 51

3.6.1 Descripción del flujo de operaciones del proceso de beneficio del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

A continuación, se describen las operaciones de beneficio del cacao:

a. Cosecha

Se realizó cuando el fruto o mazorca alcanza su madurez, según Arciniegas (2005) y NTP 208.040 (2017) se da cuando las mazorcas cambian de pigmentación de verde al amarillo a rojo fuerte, al golpear los frutos con los dedos de la mano, produce un sonido hueco siendo señal de que el fruto está maduro y se encuentra en condiciones óptimas para realizar la cosecha.

b. Selección

Consiste en separar aquellas mazorcas que presentan enfermedades o daños (Cubillos, Merizalde, & Correa, 2008).

c. Quiebra y separación

El objetivo es extraer las almendras de la placenta, para ello se utiliza un machete sin filo y se hace un corte diagonal, teniendo cuidado de no causar heridas a las almendras; se extraen los granos de cacao con los dedos, evitando ensuciarlos con hojas u otro tipo de impurezas (Cubillos et al., 2008).

d. Fermentado

El objetivo es lograr el cambio fisicoquímico y sensorial del grano de cacao (Cubillos et al., 2008) y FEDECACAO (2004).

e. Secado

Se hace con la finalidad de reducir el contenido de agua en el grano fermentado, y de este modo evitar el deterioro, logrando la estabilidad, así mismo sirve para continuar con la formación de los precursores del sabor, aroma. Se debe llevar hasta 7 a 7,5 por ciento de humedad (Cubillos et al., 2008).

f. Envasado

Los granos secos y previamente enfriados a temperatura ambiente son empacados generalmente en sacos de yute.

g. Almacenado

Los productos ensacados son almacenados en ambientes libre de humedad y ventilados.

3.6.2 Parte experimental

En la Figura 2 se muestra el esquema experimental, se investigó en las operaciones de fermentación y secado del proceso de beneficio del cacao:

a. Fermentación

Los granos de cacao en baba fueron colocados en los cajones de madera; se experimentó tres alturas: La primera a 0.20m, la segunda a 1.0m y la tercera a 2.0m sobre el suelo y se cubrió con hojas de plátano y por encima con sacos de yute. Las remociones en los tres tratamientos fueron, primero a las 48h y luego cada 24h hasta completar el proceso de fermentación durante 6.5 días.

El objetivo de ubicar los cajones fermentadores a diferentes alturas, fue determinar la influencia de ésta en el grado e índice de fermentación y el contenido de polifenoles y antocianinas del grano. El contenido de cada cajón fue evaluado periódicamente durante la fermentación, tomando muestras de semilla de cacao las que se analizaron en: Color, pH, acidez titulable, sólidos solubles, contenido de polifenoles y antocianinas; los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente tal como se indicó en el ítem 3.5. El muestreo para cacao a granel se realizó basado en la NTP ISO 2292:2011, citado por INACAL (2016).

b. Secado

Las mejores muestras, producto del mejor tratamiento en la fermentación fueron sometidos a tres tipos de secado: Secado directo al sol, secado cámara de cámara de secado solar y secado con flujo de aire a 55°C. El propósito de experimentar estos tres tipos de secado fue determinar la influencia del método de secado en el color, pH, acidez, contenido de polifenoles y antocianinas.

De cada lote expuesto a cada método de secado se extrajeron muestras periódicamente hasta llegar a la humedad comprendida entre 7,0 y 7,5 por ciento. Los análisis realizados en las muestras fueron, color, pH, acidez, contenido de polifenoles y antocianinas.

Para decidir sobre el mejor método de secado de las muestras se realizaron la evaluación de los resultados de polifenoles totales, antocianinas y análisis fisicoquímico de las muestras secadas por tres métodos (directo al sol, cámara de cámara de secado solar) se utilizó el modelo estadístico Diseño Completo al Azar (DCA) con cuatro repeticiones, aplicando un ANVA y para los que presentan diferencias significativas a ($p>5$) se aplicara la prueba de LSD.

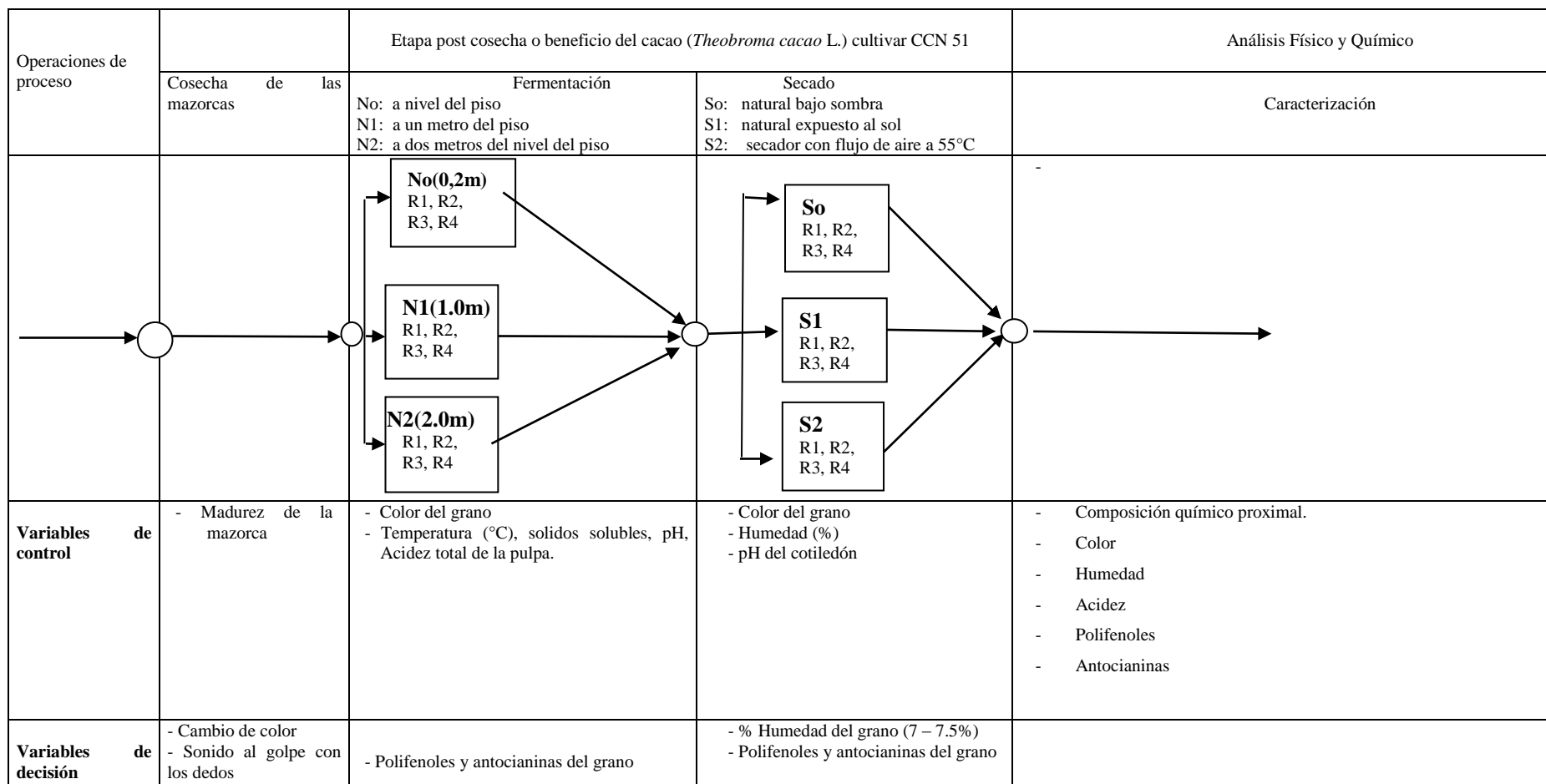


Figura 2.- Diseño Experimental para la evaluación de las características físico químicas, por efecto de la fermentación y secado del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características del cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51 en baba y fermentado

4.1.1 Composición proximal del cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51 en baba

En la Tabla 4 se presenta la composición proximal en base seca de los granos de cacao en baba, extraídos de las mazorcas de cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51. Se encontró una humedad de 140,5 por ciento; aceites y grasas 52,9 por ciento; cenizas 6,5 por ciento; fibra 4,1 por ciento y proteína 13,2 por ciento. Resultados similares fueron encontrados por Romel et. al. (2008), quienes reportaron el contenido proximal en base seca de cacao fresco y fermentado encontrando que la humedad fue 57,85 por ciento; aceites y grasas 54,45 por ciento; cenizas 5,73 por ciento; proteína 12,44 por ciento y fibra 2,65 por ciento. Así mismo Lopez y Dimick (1995), concluyeron que el grano de cacao fresco está compuesto aproximadamente de 32 a 39 por ciento de agua, 30 a 32 por ciento de grasa, 8 a 10 por ciento de proteína.

Tabla 4. Composición proximal del cacao en baba (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51

| Muestra | Humedad | Aceites y grasas | Cenizas | Fibra | Proteína |
|--------------|---------|------------------|---------|-------|----------|
| Base seca | 140,5 | 52,9 | 6,5 | 4,1 | 13,2 |
| Base húmeda. | 58,4 | 22 | 2,7 | 1,7 | 5,5 |

4.1.2 Evaluación del color de la almendra del cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51 fermentados

Los resultados de los parámetros de color (L*; a* y b*) para los granos fermentados según altura de ubicación del cajón fermentador se muestran en la Tabla 05, donde se detallan

que la luminosidad para los granos de cacao ubicados en cajones fermentadores a 0,20 metros 1,0 metro y 2,0 metros de altura, respectivamente. Mostrando menor oscurecimiento los granos fermentados a 0,20 metros respecto a los ubicados a 1,0 metros y 2,0 metros de altura, los resultados obtenidos posiblemente se deban a la menor ventilación y mayor temperatura de la masa de granos facilitando las reacciones de oxidación enzimática. En el Anexo 3, se presentan los resultados del análisis de varianza para el color, donde se aprecia que hay diferencia estadísticamente significativa $p < 0,05$, la prueba de tuckey determinó diferencias significativas entre las muestras ubicadas a diferentes alturas en la fermentación; al respecto Chire et. al. (2016), estudio la relación de los valores que integran el color de los granos de cacao nativo mezcla de granos tinto y blancos durante el proceso de fermentación reportaron valores promedio del color que comprendieron L^* de 52,03 a 53,525; a^* de 12,64 a 11,66 y b^* de 12,59 a 3,87 en granos de cacao en el proceso de fermentación. Las imágenes del color de las almendras de cacao fermentado se presentan en los Anexos 2a, 2b y 3c donde se observa el color real de los granos en el proceso de fermentación.

Tabla 5. Resultados promedio de los parámetros de color de las almendras de cacao *Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51, fermentado a diferentes alturas

| Tipo de secado | L^* | a^* | b^* |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| A 0,2 m de altura | 15,18±0,21 ^a | 8,33±0,32 ^a | 7,96±0,26 ^a |
| A 1 m de altura | 10,80±0,02 ^b | 20,49±0,26 ^b | 12,80±0,05 ^b |
| A 2 m de altura | 11,83±0,19 ^c | 18,78±0,61 ^c | 13,96±0,12 ^c |

En la Tabla 5 se observa que los granos de cacao fermentados a 0,2 metros de ubicación del cajon fermentador, tiene mayor luminosidad con L^* de 15,18 que la muestra fermentada a 2.0 metros con L^* de 11, 83 y siendo ésta mayor que la fermentada a 1 metro con valor de L^* de 10,80. Al realizar el análisis de varianza de los valores de L^* se encontro que existe diferencia significativa para un valor de $P < 0,05$. Asi mismo en la prueba de LSD HDS se observó que existe diferencia entre los tratamientos. Al respecto Chire, Verona, Guzmán (2016) encontraron que durante la fermentación, los valores de L^* iniciaron de 48,53 a 55,53 hasta 53,01 a 54,04; es no significativo para un valor $p > 0,05$.

En la Tabla 5 se observa que el mayor valor de cromaticidad a^* es en la muestra de cacao fermentado a 1 metro de altura con un valor de a^* de 20,49, seguido de la muestra fermentada a 2 metros con a^* de 18,78 y el más bajo a 0,2 metros con a^* de 8,33. Al realizar el análisis de varianza de los valores de a^* se encontró que existe diferencia significativa para un valor de $p < 0,05$. Al realizar la prueba de LSD se observó que existe diferencia entre todos los tratamientos. Al Respecto Chire, Verona, Guzmán (2016) mencionan que el componente de cromaticidad a^* para el color rojo, se observan valores de 13,90 a 11,39 hasta 11,03 a 12,29; es no significativo para un valor $p > 0,05$.

En la Tabla 5 se observa que el mayor valor de b^* es 13,96 de granos fermentados a 2 metros del cajón fermentador, seguido de la muestra fermentada a 1 metro con valor de b^* de 12,80 y el b^* de los granos fermentados a 0,2 metros presento el menor valor de 7,96. Al realizar el análisis de varianza de los valores de b^* se encontró que existe diferencia significativa para un valor de $p < 0,05$. Al realizar la prueba de LSD se observó que existe diferencia entre todos los tratamientos. Al respecto Chire, Verona, Guzmán (2016) afirman que el componente de cromaticidad b^* comprende valores de 12,41 a 12,76 hasta 4,74 a 3,00 durante la fermentación, haciendo los granos menos amarillos; es no significativo para un valor $p > 0,05$.

Ortiz, et al. (2009) consideran que el oscurecimiento de los granos durante el proceso fermentativo es producido por la hidrólisis de las antocianinas y la posterior oxidación de las agliconas resultantes a compuestos quinónicos, los cuales contribuyen al color pardo propio del cacao fermentado. Por otra parte, afirma que el cambio a este color difiere entre los tipos de grano.

El cambio de coloración de los parámetros del color L^* , a^* y b^* se conjetura a que los componentes de la pulpa que rodea los granos sufren una transformación bioquímica en dos etapas, la primera una fermentación anaeróbica transformando los azúcares en etanol y luego una fermentación acética, donde se oxida el etanol para formar el ácido acético, esto es promovido por la remoción de los granos en este proceso. La combinación de los valores triestímulos L^* , a^* y b^* dan un color marrón pardo oscuro debido a la descomposición parcial de las antocianinas y a la oxidación parcial de los polifenoles influido especialmente por la enzima polifenoloxidasas que imparten este color característico.

Los cambios en el color podrían deberse a la degradación de los pigmentos antocianicos, con la consiguiente formación de más y más productos de condensación de antocianina, tales como cianidina-3- β -D-galactosida y cianidina-3- α -L-arabinósido a medida que progresa la fermentación (Afoakwa et al, 2011; Kim y Keeney, 1984).

El color en polvos de cacao fermentados, mostraron que la luminosidad de las muestras de cacao varió de 44,09 a 46,23 para los granos de cacao almacenados antes de la fermentación (Emmanuel et al. (2012) y Afoakwa et al. (2011) observaron que las muestras se volvieron más oscuras a medida que aumentaba la fermentación y la luminosidad también disminuyó progresivamente con el aumento del almacenamiento, esto puede deberse a la destrucción de las antocianinas por hidrólisis enzimática, lo que se acompaña de un blanqueo y posterior dorado de los granos. Emmanuel et al. (2012) encontraron que el enrojecimiento de a^* disminuyó progresivamente durante la fermentación y se observaron tasas de disminución mayores del cuarto al sexto día de fermentación, esta disminución podría atribuirse a la descomposición de las antocianinas que normalmente imparte el color púrpura a los granos fermentados. Wollgast y Anklam (2000) observaron que a medida que el pre acondicionamiento (tiempo de demora entre la cosecha y el inicio de la fermentación) de la pulpa aumentaba, el enrojecimiento de las muestras disminuyó significativamente para un valor de $p < 0,05$ y esto posiblemente debido a la difusión de los polifenoles junto con los líquidos celulares de sus células durante el almacenamiento.

4.1.3 Contenido de polifenoles (g de Equivalente de Ácido Gálico/100g de m. s.) del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 en baba y durante la fermentación

En la Tabla 6 se observa el contenido de polifenoles en muestras de granos de cacao posterior al proceso de fermentación a diferentes alturas. Los granos de cacao en baba (antes de la fermentación), reportaron un contenido de polifenoles totales en $15,14 \pm 0,14$ g de Equivalente de Ácido Gálico/100gramo de muestra en base seca, los que disminuyeron durante la fermentación. Wollgast y Anklam (2000) encontraron en granos de cacao Forastero no fermentados contenidos de polifenoles totales de 12-18g EAG/100g de m. s., lo que concuerda con lo reportado por Nazaruddin et al. (2000b), quienes adicionalmente mencionan que la (-)-epicatequina cuantitativamente es el compuesto principal aproximadamente el 35 por ciento y además encontraron un contenido total de polifenoles

de 45 a 52mg/g en el licor de cacao, 3,4g EAG/100g de m. s. a 6,0g EAG/100g de m. s. en el cacao en grano y 2,0g EAG/100g a 6,2g EAG/100g de m. s. en polvo de cacao. Así mismo, Misnawi et al. (2004) indicaron que los granos de cacao no fermentados contienen 13,5g EAG/100g de m. s. de compuestos polifenólicos en los que se pueden distinguir tres grupos de polifenoles: Catequinas o flavan-3-ol 37 por ciento, antocianinas 4 por ciento y pro antocianidinas 58 por ciento.

En la tabla 6 se observa que el mayor contenido de polifenoles a las 156 horas de fermentación se encuentra en los granos de cacao fermentados a 1 metro de altura del cajón fermentador con $12,58 \pm 0,22$ g EAG/100g de m. s., a 0,2 metros y 2 metros con contenidos de $12,35 \pm 0,36$ g EAG/100g de m. s. y $12,36 \pm 0,36$ g EAG/100g de m. s., respectivamente; al realizar el análisis de varianza se encontró que existe diferencia significativa para un valor de $p < 0,05$ y la prueba de LSD demuestra que hay diferencia significativa en el fermentado a 1 metro respecto a los tratamientos a 0,2 y 2 metros. Al respecto, los polifenoles en estado natural se encuentran compactados en vacuolas de células específicas, se difunden a través del cotiledón durante la fermentación del cacao (Brito et al., 2002) y se someten a modificación bioquímica a través de la polimerización y la complejación con la proteína, dando como resultado la disminución de la solubilidad y la astringencia de las almendras del cacao sin fermentar (Bonvehi y Coll, 1997).

Los compuestos resultantes de la oxidación del polifenol se asocian de forma reversible con las proteínas mediante enlaces de hidrógeno, irreversiblemente por condensación con grupos reactivos de aminoácidos, péptidos, proteínas y polisacáridos (Brito et al., 2002). Así mismo en la Tabla 6 se muestra la evolución de los parámetros físicos y químicos (temperatura de la masa de granos, pH del cotiledón y solidos solubles del mucílago) del grano en baba y durante la fermentación del cacao.

Tabla 6. Evolución de la temperatura, pH de la almendra, contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) y antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g de m. s.) del grano en baba y durante la fermentación del cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN

51

| TIEMPO DE FERMENTACIÓN | A 0,2 METROS DE ALTURA | | | | A 1,0 METRO DE ALTURA | | | | A 2,0 METROS DE ALTURA | | | |
|------------------------|------------------------|-----------------|--|--|-----------------------|-----------------|--|--|------------------------|-----------------|--|--|
| | Temperatura. °C | pH Cotiledón | Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) | antocianinas (mg cianidina-3- glucosido/g de m. s.) | Temperatura °C | pH Cotiledón | Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) | antocianinas (mg cianidina-3- glucosido/g de m. s.) | Temperatura °C | pH Cotiledón | Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) | antocianinas (mg cianidina- 3-glucosido/g de m. s.) |
| 0.00 hrs. | 31,00±0,00 | 6,46±0,04 | 15,14±0,14 ^a | 5,78±0,37 ^a | 31,00±0,00 | 6,46±0,04 | 15,14±0,14 ^a | 5,78±0,37 ^a | 31,00±0,00 | 6,46±0,04 | 15,14±0,14 ^a | 5,78±0,37 ^a |
| 48 hrs (2días) | 34,00±0,82 | 6,20±0,59 | 13,97±0,26 ^b | 4,92±0,26 ^b | 34,00±0,82 | 6,18±0,58 | 13,40±0,25 ^b | 4,41±0,29 ^b | 34,00±0,82 | 6,26±0,59 | 14,15±0,35 ^b | 4,96±0,31 ^a |
| 96 hrs (4 días) | 52,30±0,50 | 4,68±0,17 | 13,34±0,26 ^b | 4,36±0,35 ^b | 52,30±0,96 | 4,53±0,32 | 12,79±0,25 ^c | 3,18±0,23 ^c | 51,30±0,78 | 5,76±0,19 | 13,29±0,38 ^c | 3,90±0,20 ^c |
| 156 hrs (6 1/2 días) | 45,00±0,82 | 4,40±0,18 | 12,35±0,36 ^c | 3,36±0,11 ^c | 44,00±0,82 | 4,45±0,13 | 12,58±0,22 ^c | 1,92±0,31 ^b | 40,00±1,63 | 4,46±0,18 | 12,36±0,36 ^d | 1,80±0,52 ^d |
| DEGRADACION (%) | | | 18,39 | 42 | | | 13,35 | 66,73 | | | 18,4 | 68,77 |

- Letras diferentes indican la existencia significativa a un (p<0.05) a un nivel de confianza del 95% para las diferentes alturas de ubicación de los cajones fermentadores.

Kim y Keeney (1984) encontraron que el contenido de polifenol total de los granos de cacao disminuyó a medida que aumentó el tiempo en el proceso de fermentación, al inicio fue 16,11 por ciento (peso/peso), después de un día de fermentación, la concentración de polifenoles había descendido hasta 15,5 por ciento (peso/peso); después de dos días de fermentación, la concentración de polifenol se había reducido a un promedio de 12,9 por ciento. A los tres, cuatro, cinco y seis días después de la fermentación, los valores de polifenoles fueron 10,7; 8,2; 7,6 y 6,01 por ciento (peso/peso), respectivamente. Aproximadamente 10 a 20 por ciento de epicatequina y otros polifenoles solubles se reducen durante la fermentación, esto podría obedecer a la difusión de polifenoles en la sudoración por fermentación (Aikpokpodion y Dongo, 2010). Los polifenoles en el cacao se reducen durante la fermentación y por lo tanto la capacidad antioxidante del cacao también (Aikpokpodion y Dongo, 2010).

Durante la fermentación las reacciones son enzimáticas y no enzimáticas son catalizadas por la enzima polifenol oxidasa, aunque esta enzima está fuertemente inactivada durante los primeros días de fermentación, permaneciendo con actividad enzimática sólo el 50 y el 6 por ciento de la después de 1 y 2 días, respectivamente (Hansen et al., 1998). El polifenol oxidasa es la oxidasa principal en los granos de cacao y es responsable de catalizar la oxidación de polifenoles durante los procesos de fermentación y secado. Se dice que esta enzima se activa durante la fase aeróbica de la fermentación como resultado del oxígeno que permea el cotiledón (Thompson et al., 2001). Durante la fermentación del cacao, la proteólisis catalizada por la endoproteasa aspártica y la carboxipeptidasa da lugar a aminoácidos y oligopeptidos. La endoproteasa aspártica de los granos de cacao corta el sustrato proteico de preferencia en los residuos de aminoácidos hidrófobos para producir oligopeptidos con residuos aminoácidos hidrofóbicos en sus extremos carboxi terminales (Jinap et al., 2002)

Con respecto a la pérdida de polifenoles durante la fermentación encontrados en esta investigación, Porter et al. (1991) mencionan que los fenoles totales en el cacao durante la fermentación se reducen en un 30 por ciento de las concentraciones iniciales y la (-)-epicatequina que es el principal sustrato de la polifenol oxidasa del cacao (PPO) se reduce en un 90 por ciento, con un aumento proporcional en contenido de catequinas. Así también, Efraim et al. (2010) Mencionan que el contenido de compuestos fenólicos se redujo en 35 por ciento al tercer día y 59 por ciento en el séptimo día de la fermentación,

valores mucho mayores a los obtenidos en esta investigación, y es posible se deba a una serie de factores internos como los genotipos, grado de madurez del grano, edad de la planta y externos como condiciones climáticas, tiempo de aguante, tipo de fermentadores, reacciones enzimáticas y presencia del ácido acético.

El mayor porcentaje de degradación de los polifenoles totales se dio en el tercer nivel de secado, posiblemente debido a la mayor velocidad de pérdida de humedad por acción del aire ambiental circundante. La media con menor porcentaje de degradación de polifenoles fue en el segundo nivel de fermentación. El análisis de varianza (Anexo 9) es no significativo para un valor $p > 0,05$ entre las medias de contenido de polifenoles totales en las almendras fermentadas a tres niveles de ubicación del cajón fermentador.

4.1.4 Contenido promedio de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) del cacao cultivar CCN 51 en baba y durante la fermentación

En la tabla 6 se muestran las medias del contenido de antocianinas en granos de cacao a las 156 horas de fermentación, tiempo óptimo de fermentación en cajones fermentadores colocados a diferentes alturas respecto al suelo.

En la tabla 6 se observa que el mayor contenido de antocianinas a las 156 horas de fermentación se encuentra en los granos de cacao fermentados a 0,2 metros de altura del cajón fermentador con $3,36 \pm 0,11$ de mg cianidina-3-glucosido/g de m. s., seguido de 1 metro con contenido de $1,92 \pm 0,31$ mg cianidina-3-glucósido/g de m. s. y 2 metros con contenido de $1,80 \pm 0,52$ mg cianidina-3-glucósido/g de m. s. Al realizar el análisis de varianza se encontró que existe diferencia significativa para un valor de $p < 0,05$ y la prueba LSD demuestra que existe diferencia estadísticamente entre los granos fermentados a 0,2 metros respecto a los tratamientos a 1 y 2 metros.

Además, en la tabla 6 muestra las medias del contenido de antocianinas durante el proceso de fermentación. Se encontró en el cacao en baba $5,78 \pm 0,37$ mg/g de m. s., disminuyendo hasta en un 68,77 por ciento para el cacao fermentado, a una altura del cajón fermentador de (2,0m.), siendo el que mayor reducción experimentó. El menor porcentaje de degradación (42,38 por ciento) de las antocianinas fue cuando el proceso de fermentación se realizó a una altura del cajón fermentador a (0,20m.), a 1 y 2m. de altura se perdieron

66,54 y 68,77 por ciento de antocianinas, respectivamente. El análisis de varianza determinó diferencias significativas entre los resultados de las medias de antocianina en las 3 alturas de ubicación de los cajones fermentadores. La prueba LSD (Anexo 12) ratifica las diferencias significativas en todos los niveles de ubicación de los cajones fermentadores y entre la altura de 1,0m. y 2.0m. no se encontró diferencia estadísticamente significativa, indicando que la ubicación de los cajones fermentadores influye en el porcentaje de degradación de las antocianinas. La degradación posiblemente se deba a la mayor rapidez de las reacciones de oxidación por presencia del aire ambiental circundante y el calor producido al cuarto día el que fue superior a los 50°C al interior del cajón fermentador. Al respecto Patras et al. (2010) mencionan que la degradación es causada principalmente por oxidación, escisión de enlaces covalentes o reacciones de oxidación mejoradas debido al calentamiento en el proceso de fermentación.

Markakis et al. (1957) indican la apertura del anillo de pirilio y la formación de chalconas como primer paso de degradación para las antocianinas; Adams (1973) propuso la hidrólisis del resto de azúcar y la formación de aglicona como paso de degradación inicial posiblemente debido a la formación de aductos cíclicos; Además informó que la antocianina se descompone al calentarse en una estructura de chalcona, siendo ésta última transformada en un derivado de cumarina glucósido con pérdida del anillo B. Según Adams (1973) el enlace aglicón-azúcar es más lábil que otros enlaces glicosídicos a pH 2 y 4; sin embargo observó que a pH 1 todos los enlaces glicosídicos son accesibles a la hidrólisis porque calentando la cianidina-3-rutinosida a pH 1 dio lugar a la formación de ramnosa y glucosa, pero sólo trazas de rutinosa.

Seeram et al. (2001) demostraron que las altas temperaturas en combinación con un alto pH causan la degradación de las antocianinas que dan como resultado tres derivados diferentes del ácido benzoico. Von Elbe y Schwartz (1996) declaran que la cumarina 3, 5-diglicósidos son también productos de degradación térmica comunes de antocianina 3, 5-diglicósidos. Por otro lado, la presencia de oxígeno acelera la degradación de las antocianinas ya sea a través de un mecanismo de oxidación directa y/o mediante la acción de la oxidación enzimática (Jackman et al., 1987).

Kader et al. (2001) demostraron que las antocianinas, tales como pelargonidin-3-glucósido (Pg 3-glc), son degradados por un mecanismo que implica una reacción entre la o-quinona y/o productos secundarios de oxidación formado a partir de la quinona y el pigmento antociánico.

Patras et al. (2010) mencionan que las antocianinas se degradan enzimáticamente en presencia de polifenol oxidasa, esta enzima puede ser inactivada por calentamiento suave aproximado a 50°C, por tanto, cuando el proceso llega a esta temperatura, tiene efecto positivo sobre la retención de antocianinas. Skrede et al. (2000) demostraron que la adición de un extracto de pulpa de arándano blanqueado al jugo de arándano no dio lugar a degradación de las antocianinas, mientras que la adición de un extracto no blanqueado causó una pérdida del 50 por ciento de antocianinas.

Jonfia-Essie et al. (2008) encontraron 80mg/g niveles de compuestos fenólicos en su investigación de contenido fenólico y capacidad antioxidante de la variedad híbrida de granos de cacao. Jonfia-Essie et al., (2008) declaran que el contenido fenólico total de los granos de cacao oscila entre 67 y 149 y de 101 a 144 mg/g para granos de cacao recién cosechados y para cacao fermentado a 2 días, respectivamente. Los valores ligeramente inferiores en este caso se podrían atribuir al hecho de que las almendras de cacao hayan sido almacenados antes del análisis ó a las diferencias varietales (Shamsuddin & Dimick, 1986).

Las polifenoloxidasas convierten los polifenoles (principalmente epicatequina y antocianidinas libres) en quinonas. Los polifenoles y quinonas forman complejos con otros polifenoles, proteínas y péptidos, esto disminuye su solubilidad y astringencia y da lugar a la coloración marrón que es típico en los granos de cacao. En aplicaciones de control de calidad, la pérdida de antocianina ha sido considerada como una buena fermentación de los granos de cacao, junto con la formación de un color marrón. También, los cambios de color del grano de cacao son ampliamente utilizados para predecir el sabor potencial de los granos de cacao en la fabricación de chocolate. Por lo tanto la prueba de corte y las mediciones del índice de fermentación se basan en los cambios de color en los cotiledones durante la fermentación (Shamsuddin y Dimick, 1986).

De acuerdo a los resultados obtenidos, la mejor muestra obtenida en la fermentación fue la ubicada a 1,0 metro de altura del cajón fermentador, por lo que fue seleccionada para continuar con la investigación.

4.1.5 Variación promedio de la temperatura, solidos solubles de la masa y pH del cotiledón antes y durante la fermentación

En la Tabla 6 se observan los resultados de las variaciones del pH del cotiledón durante los seis días y doce horas de fermentación.

El pH inicial del cotiledón fue 6,46 en los granos en baba valores que variaron por efecto de la fermentación de 4,40; 4,45 y 4,46 para los cotiledones fermentados a 0,2; 1.0 metros y 2.0 metros respectivamente. Se aprecia que la variación del cotiledón lo hacen de manera proporcional durante la fermentación, posiblemente debido a la mayor exposición del flujo de aire en el área de fermentación, es decir a mayor altura mayor pH. Al respecto Sanagi et al. (1997), mencionan que el pH del cacao disminuye ligeramente después de 3 días de fermentación y que por este efecto, se reduce el volumen del mucilago por semilla conduciendo a la disminución de las concentraciones de ácido cítrico. Schwan y Wheals (2004b) indica que el pH del cacao no fermentado apropiadamente oscila entre 5,7 y 6,0.

Respecto al contenido de solidos solubles se puede observar que a las 48 horas de fermentación en los cajones fermentadores ubicados a 0,2; 1.0 y a 2.0 metros, varían de 19,5 hasta 16,4; 15,0 y 12 a partir del tercer día no se encuentran solidos solubles, a mayor altura de ubicación del cajón fermentador mayor fermentación de los sólidos solubles en función a la altura.

A las 96 horas de la fermentación del cacao, se observó que la temperatura máxima del grano en los fermentadores oscila entre 51.00°C y 52.30 °C. Esto con variaciones de la temperatura ambiente de 28,0 a 33°C entre los días y noches de fermentación durante el periodo de fermentación de esta investigación.

Los granos de cacao normalmente fermentan entre cinco y siete días, la fermentación real tiene lugar en la pulpa que rodea los granos, rica en glucosa, fructosa y sacarosa (10-15 por ciento). (Biehl. y Voigt., 1982) al analizar la composición fisicoquímica promedio de

granos frescos de cacao en las variedades criollo, forastero y trinitario encontraron pH de 6,39; 6,36 y 6,35, respectivamente.

La fermentación del cacao es interna y externa, la fermentación externa implica principalmente el catabolismo de la pulpa rica en azúcar por microorganismos, mientras que la fermentación interna abarca los cambios bioquímicos en el cotiledón de los granos de cacao (Biehl. y Voigt., 1982). El pH y la acidez en los granos de cacao se relacionan puesto que, donde disminuye el pH, aumenta el valor de la acidez. Para (Apriyanto, 2016), el procesamiento de granos de cacao requiere un pH entre 5,2 a 5,8 para producir manteca de cacao de alta calidad.

Durante la fermentación de los granos de cacao, los microorganismos descomponen los azúcares en la pulpa dando como resultado la producción de alcoholes y ácidos orgánicos, predominantemente ácido acético que luego se difunden en los granos. La producción de ácidos en la pulpa durante la fermentación del cacao es importante ya que estos ácidos se difunden en los granos y posteriormente inducen a importantes reacciones bioquímicas a los granos de cacao bien fermentados. Sin embargo, la alta producción de ácido en la pulpa es perjudicial ya que un exceso de ácido que se difunde en los granos da como resultado la producción de granos ácidos (Ziegleder y Biehl, 1988). Durante el proceso de fermentación se reducen el volumen de pulpa por semilla y el contenido de azúcar en pulpa metabolizado por levaduras durante la fermentación subsiguiente y eventualmente reduce la fermentación alcohólica y la formación de ácido acético en la pulpa (Apriyanto, 2016). Esto sugiere que el pre acondicionamiento de los granos de cacao podría emplearse eficazmente en la reducción de los niveles de acidez, en los granos de cacao durante la fermentación (Apriyanto, 2016).

Jespersen et al. (2005) indican que en las fases iniciales de la fermentación el crecimiento de las levaduras es favorecido por el alto contenido de azúcar, bajo pH y disponibilidad limitada de oxígeno en la pulpa. La principales actividades de la levadura son la producción de etanol a partir de carbohidratos y la asimilación del ácido cítrico y la degradación de la pectina (Jespersen et al., 2005). Schwan y Wheals (2004), encontraron que, durante el período inicial de fermentación, la acidez de las almendras de cacao aumentó durante 3 días para luego disminuir hasta el período final. Inicialmente, se

produjeron ácidos, pero la difusión era todavía limitada, por lo que el pH era bajo, pero aumentó en el rango de 5-6 en el tercer día.

Los chocolates producidos a partir de granos no fermentados no tienen sabor a chocolate y son excesivamente astringentes y amargos (Kim y Keeney, 1984). La fermentación reduce el nivel de amargor y astringencia del grano de cacao atribuida a la pérdida de polifenoles durante la fermentación (Kim y Keeney, 1984). La oxidación de polifenoles a taninos insolubles durante la fermentación, responsable de la formación de precursores de sabor para el procesamiento del chocolate (Jinap y Dimick, 1990).

Las Catequinas tiene un sabor amargo con un sabor dulce mejor descritas como amargo y astringente (Bonvehi y Coll, 1997). (Kim y Keeney, 1984) demostraron que las catequinas, que incluyen epicatequina, catequina, procianidina B2, procianidina B5 y procianidina C1, son los principales responsables para el amargor y la astringencia del cacao tostado. Durante la fermentación de granos de cacao entre los días dos y tres observaron que el contenido de epicatequina disminuye bruscamente, lo que podría indicar que se está utilizando en la formación de taninos grandes o se pierde en los fluidos que drenan (Kim y Keeney, 1984).

La Tabla 6 indican un incremento lento de temperatura en los dos primeros días de fermentación, luego se da un crecimiento acelerado de la temperatura alcanzando su pico máximo al cuarto día con una temperatura máxima de 52.3°C en los cajones a una altura de 0,2 y 1,0 metros y de 51,3°C en el cajón a una altura de 2,0 metros, provocando la muerte del embrión de la semilla de cacao y el desarrollo de los precursores sensoriales del grano de cacao. Al respecto CAOBISCO/ECA/FCC (2015), indica que durante el proceso de fermentación se genera calor, el mismo que puede alcanzar temperaturas aproximadamente de 50°C dentro de la masa de granos. Así mismo Silva et al. (2014) manifiestan que la fermentación de las semillas de cacao es esencial para la obtención de almendras de buena calidad, debido a complejas reacciones bioquímicas que provocan la muerte del embrión, hidrólisis de azúcares y proteínas, liberación de enzimas y sustratos, difusión de compuestos fenólicos.

Schwan y Wheals (2004b) mencionan que, a diferencia de muchas otras materias primas fermentadas, en el cacao, las enzimas endógenas juegan un papel crucial en el desarrollo del sabor; durante la fermentación del grano de cacao, el papel de los microorganismos se limita a la eliminación de la pulpa que rodea al grano fresco, a la producción de metabolitos incluyendo la despolimerización de las pectinas por levaduras. Este último abarca la fermentación anaeróbica de los azúcares al etanol, la fermentación microaerofílica de los azúcares y el ácido cítrico al ácido láctico, ácido acético y manitol por las bacterias lácticas y la bioconversión exotérmica aerobia del etanol en ácido acético por las bacterias acéticas; estas actividades microbianas producen la muerte del embrión del grano de cacao debido a la penetración principalmente de etanol y ácido acético en los cotiledones a través de la cáscara, generando una disminución del pH interno de 6,5 a 4,8 y el aumento de la temperatura hasta 50°C, los que contribuyen al desarrollo de precursores de sabor y degradación de pigmentos por enzimas endógenas, tales como invertasa, glicosidasas, proteasas y polifenol oxidasa (Biehl et al., 1985; Misnawi et al., 2003).

En la Tabla 6 se muestran los resultados de la variación de sólidos solubles durante la fermentación en cajones fermentadores ubicados a 1,0 m de altura en relación al suelo. El contenido de sólidos soluble inicial del mucílago de cacao fue de 19,5 el que disminuyó lentamente en las primeras 48 horas para luego descender bruscamente hasta los 4% de sólidos solubles en 72 horas.

Biehl et al. (1985) encontraron disminución de los niveles de glucosa y fructosa en las almendras de cacao durante la fermentación, la fructosa disminuyó de 0,8mg/g a 0,3mg/g y la glucosa de 0,6 mg/g a 0,1mg/g. En esta investigación se obtuvieron resultados muy similares a los reportados por los investigadores antes referidos.

4.2 Efecto del secado de los granos de cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51

4.2.1 Degradación de los polifenoles durante el secado de las almendras del cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivar CCN 51

En la Tabla 7 se muestra el efecto del método de secado en el contenido de polifenoles totales de las almendras de cacao. Se aprecia que las muestras secadas con flujo de aire caliente son las que experimentaron menor porcentaje de degradación de los polifenoles

respecto a las muestras secadas en cámara de cámara de secado solar y directo al sol. Durante el secado los ácidos orgánicos inducen una reacción enzimática en el interior de las almendras, dando como resultado cambios bioquímicos que generan varios compuestos críticos para el aroma, el sabor y la formación de color (Biehl et al., 1985). Schwan y Wheals (2004a), indican que, dentro del contenedor cerrado, con remoción una vez cada 2 días y sin fermentación, los granos de cacao tendrán sabor amargo, astringente y sin aroma distintivo de cacao después del beneficio.

Tabla 7. Efecto del método de secado en el contenido de polifenoles (g EAG/100g de m. s.) totales en granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco.

| Método de secado | Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) | | | | | | Degradación de polifenoles (%) |
|--------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|
| | 0 hr. | 48 hr. | 60 hr. | 96 hr. | 108 hr. | 120 hr. | |
| Cámara de secado solar | 13,12±0,22 ^d | 9,63±0,47 ^c | 8,56±0,90 ^{bc} | 7,87±0,44 ^b | 7,49±0,11 ^a | 6,81±0,45 ^a | 48,1 |
| Directo al sol | 13,12±0,22 ^c | 12,07±1,42 ^{bc} | 11,15±0,48 ^{bc} | 10,21±0,61 ^{ab} | 8,30±0,72 ^a | | 36,7 |
| Secador flujo de aire caliente | 13,12±0,22 ^a | 10,04±0,30 ^b | 9,19±0,31 ^c | | | | 29,9 |

En la Tabla 7 se observa el contenido de polifenoles totales en g EAG/100g de m. s. durante el proceso de secado en diferentes tipos de secadores, las muestras inician con un contenido de polifenoles totales de 13,12±0,22 g EAG/100g de m. s. Al realizar el análisis de varianza del contenido de polifenoles totales secados en cámara solar se encontró que hay diferencia estadísticamente significativa para un valor de $p < 0,05$ y al realizar la prueba de LSD se observó que hay diferencia significativa en la mayoría de los datos del contenido de polifenoles totales, excepto entre 8,56 y 7,87 g EAG/100g de m. s., entre las 8,56 y 7,49 g EAG/100g de m. s. y entre las 7,49 y 6,81 g EAG/100g de m. s. Al realizar el análisis de varianza de los datos de contenido de polifenoles totales de las muestras secadas directo al sol se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa para un valor de $p < 0,05$ y al realizar la prueba de LSD se observó que existe diferencia en la mayoría de los datos, excepto en los datos de la hora 11,15 y 10,21 g EAG/100g de m. s., y entre los datos de la hora 10,21 y 8,30 mg g EAG/100g de m. s. Al realizar el análisis de varianza de los datos de las muestras secada por secador con flujo de aire caliente se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa para un valor de $p < 0,05$ entre el contenido de

contenido de polifenoles totales y al realizar la prueba de LSD se demostró que existe diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de polifenoles totales a diferentes horas de secado.

Considerando el secado en diferentes tipos de secadores, Efraim et al. (2010) Encontraron que los granos de cacao fermentados durante 72 horas, mostraron pérdidas de polifenoles de 19,1 por ciento (Secado al horno) y 10,8 por ciento (secado al sol) y que granos de cacao fermentado durante 168 horas mostró pérdidas de polifenoles de 11,6 por ciento (secado en horno) y 2,8 por ciento (secado al sol), resultados que difieren a los encontrados en esta investigación.

Los granos de cacao al concluir la fermentación contienen aproximadamente 60 por ciento de humedad, con el secado se obtienen almendras entre 6 y 8 por ciento de humedad que sirve para evitar la infestación por mohos durante el almacenamiento, en esta etapa la cantidad de polifenoles se reduce sustancialmente principalmente por el pardeamiento enzimático catalizado por la polifenol oxidasa seguido por la coloración no enzimática de la polimerización de la quinona, así como la difusión de las mismas fuera de los granos de cacao (Kyi et al., 2005), de manera que la astringencia del cacao se reduce y el color cambia de púrpura a marrón.

Abhay et al. (2016) menciona que hay beneficios potenciales de los polifenoles de cacao para la salud del ser humano. La composición y la cantidad de polifenoles en los granos de cacao varían fuertemente con el tipo de almendra, el origen y los métodos de procesamiento como por ejemplo temperaturas altas aplicadas en granos de cacao durante el secado tienen efecto inhibitorio en la retención de polifenoles. Típicamente, los contenidos de polifenoles de cacao son de aproximadamente 6 a 8 por ciento en peso de un cacao seco fermentado (Crozier et al., 2011). La fermentación, el secado y la alcalinización pueden conducir a una disminución sustancial de los polifenoles de cacao después del procesamiento en el rango de casi 60 por ciento de flavonoides totales (Hii et al., 2009; Jolic et al., 2011; Wollgast y Anklam, 2000c). El secado después de la fermentación es importante en la calidad físico química de los granos de cacao secos. La degradación térmica de los polifenoles provoca la oxidación de compuestos fenólicos debido a la reacción enzimática y al proceso no enzimático que conduce al pardeamiento, siendo uno

de los precursores de degradación las enzimas polifenol-oxidasas que se activan durante la fermentación y el secado (Abhay et al., 2016).

Hii et al. (2012) y Ndukwu (2009) evaluando la degradación de polifenoles en muestras de cacao secadas a 60°C y 80°C, determinaron que la retención de polifenoles es mayor a 60°C. Asimismo indican que la descomposición térmica juega un papel crítico en la degradación de los polifenoles a temperatura entre 70°C y 80°C, mientras que, en el rango de temperatura inferiores a 70°C, el mecanismo de degradación podría atribuirse principalmente a la acción enzimática.

Tomas-Barberán et al. (2007) encontraron que los aminoácidos libres hidrófobos, como leucina, fenilalanina, alanina y tirosina, contribuyen a la formación de sabor en el cacao. Estos aminoácidos libres son presumiblemente el resultado de la actividad específica de la endoproteasa aspártica, que divide las proteínas en péptidos hidrófobos y acción de la carboxipeptidasa se libera aminoácidos libres hidrofóbicos (Fenglin et al., 2013).

Efraim et al. (2010) concluyen que la etapa de secado debe iniciarse inmediatamente después de la fermentación y no debe ser lenta o mal conducida para evitar el desarrollo de hongos que pueden provocar sabor desagradable al producto final o producir toxinas perjudiciales para la salud.

El análisis estadístico (Anexo 15), indica que existe estadísticamente diferencia significativa para un valor de $P < 0,05$ entre los tres métodos de secado. La prueba de LSD (Anexo 16), confirma que las muestras deshidratadas en secador solar son estadísticamente diferentes de las muestras de cacao secadas directo al sol y por flujo de aire caliente, muestras que a su vez indicaron el mayor porcentaje de degradación (45,99 por ciento) de polifenoles en el secado.

4.2.2 Efecto del método de secado sobre las antocianinas en almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco

En la Tabla 8 se muestra el contenido de antocianinas en los granos de cacao por efecto del tipo de secador utilizado. Las muestras antes del secado contenían 1,85 mg cianidina-3-glucósido/g de m. s. y al final del secado reportaron: 0,40; 0,48 y 0,69 mg cianidina-3-

glucosido/g de m. s. para las muestras secadas en cámara de secador solar, al sol y con aire caliente, respectivamente; el secado con aire caliente conservó más antocianina, reportando una menor degradación (65,23 por ciento) en comparación con los otros dos métodos de secado.

Tabla 8. Efecto del método de secado en contenido de las antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g) en almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco

| Método de secado | Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g) | | | | | | Degradación de antocianinas (%) |
|--------------------------------|---|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------------|
| | 0 hrs. | 48 hrs. | 60 hrs. | 96 hrs. | 108 hrs. | 120hrs. | |
| Cámara de secado solar | 1,99±0,05 ^e | 1,23±0,05 ^d | 1,07±0,09 ^c | 0,91±0,10 ^{bc} | 0,46±0,04 ^{ab} | 0,40±0,03 ^a | 80,1 |
| Directo al sol | 1,99±0,05 ^d | 1,27±0,12 ^c | 0,97±0,04 ^b | 0,82±0,08 ^b | 0,48±0,06 ^a | | 75,8 |
| Secador flujo de aire caliente | 1,99±0,05 ^c | 1,36±0,08 ^b | 0,69±0,10 ^a | | | | 65,32 |

En la tabla 8 se observa el contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g) durante el proceso de secado en diferentes tipos de secadores, las muestras inician con un contenido de antocianinas de 1,99 mg cianidina-3-glucosido/g de m. s. Al realizar el análisis de varianza del contenido de antocianinas secados en cámara solar se encontró que hay diferencia estadísticamente significativa para un valor de $p < 0,05$ entre el contenido de antocianinas a diferentes horas de secado; al realizar la prueba de LSD se observó que hay diferencia significativa en la mayoría de los datos de antocianinas, excepto entre 0,46 y 0,40 mg cianidina-3-glucosido/g de m. s. Al realizar el análisis de varianza del contenido de antocianinas de las muestras secadas directo al sol se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa para un valor de $p < 0,05$ y al realizar la prueba de LSD se observó que existe diferencia entre todos los datos de contenido de antocianinas. Al realizar el análisis de varianza de los datos de las muestras secada por secador con flujo de aire caliente se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa para un valor de $p < 0,05$ y al realizar la prueba de LSD se demostró existe diferencias significativas entre el contenido de antocianinas a diferentes horas de secado.

La magnitud y temporalidad del calentamiento tienen fuerte influencia sobre la estabilidad de las antocianinas; al respecto, (Drdak y Daucik, 1990; Havlikova y Mikova, 1985; Rhim, 2002) concluyeron que el contenido de antocianinas de baya de saúco es muy sensible al tratamiento térmico, después de 3 h de calentamiento, sólo el 50 por ciento de pigmentos de saúco se conservaron a 95°C. el comportamiento de destrucción de antocianinas con un aumento aritmético en la temperatura es del tipo logarítmico (Drdak y Daucik, 1990; Havlikova y Mikova, 1985; Rhim, 2002).

Así mismo, en el procesamiento de los arándanos en purés, las altas temperaturas de blanqueo (95°C/3min) en combinación con la pasteurización dieron como resultado una pérdida del 43 por ciento en las antocianinas monoméricas totales, en comparación con los niveles originales encontrados en la fruta fresca, mientras que los valores de color polimérico aumentaron de 1 por ciento a 12 por ciento (Patras et al., 2010). Esto sugiere que los factores termo lábil pueden acelerar la destrucción del pigmento antociánico y apoya la hipótesis de que las enzimas endógenas en las frutas causan la destrucción del pigmento en el procesamiento del jugo (Patras et al., 2010).

La evaluación estadística (Anexo 18), no encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de antocianinas de las almendras de cacao secadas en cámara de cámara de secado solar, directamente al sol y por flujo de aire caliente.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se recomienda el secado en equipos con flujo de aire caliente, debido a que con este método se conservan en mayor porcentaje los polifenoles totales y las antocianinas en mejor medida que con el secado directo al sol y con cámara de cámara de secado solar.

4.3 Caracterización de las almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 secados con flujo de aire caliente

4.3.1 Caracterización física de almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco

En la Tabla 9 se muestran los resultados de la caracterización física de los granos de cacao secados con flujo de aire caliente. En una muestra de 100 granos de cacao se encontraron 8 granos violáceos, 2 pizarrosos y 0 enmohecidos, estos resultados se encuentran dentro de

los estándares de calidad mencionadas por Stevenson et al. (1993), quienes mencionan que en un proceso de fermentación normal se debe encontrar como máximo 2 por ciento de almendras pizarrosas, 35 por ciento de almendras parcial o totalmente violetas. La fermentación es de vital importancia, Shamsuddin & Dimick (1986) mostraron que la muestra que tenía alto grado de fermentación alcanzó el mayor puntaje en sabor. Peláez et al. (2016) en su investigación titulada “Cambios en la características físicas y químicas de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) fermentados con transferencia manual y semi - mecanizada, en cajas de fermentación” encontró $87,3 \pm 1$ por ciento de fermentación con remoción manual.

Tabla 9. Caracterización física del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 secados con flujo de aire caliente

| Evaluación | Grano de cacao seco (por ciento) |
|----------------------------|---|
| Enmohecidos | 0 |
| Pizarrosos | 2 |
| Violáceos | 8 |
| Pasillas | 0 |
| Porcentaje de fermentación | 90 |

4.3.2 Evaluación del color de almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco con diferentes métodos de secado

En la Tabla 10 se presenta los resultados de la evaluación de los parámetros del color de las almendras de cacao secadas. Los resultados de la evaluación estadística se muestran en el Anexo 20, se encontró diferencia significativa para un valor de $p < 0,05$ respecto a la luminosidad L^* y la prueba de LSD demostró que hay diferencia entre todos los tratamientos; al realizar el análisis de varianza de la cromaticidad a^* se encontró diferencia significativa para un valor de $p < 0,05$ y la prueba de LSD demostró que hay variación entre todos los tratamientos; al realizar los análisis de varianza para b^* los resultados fueron iguales a los resultados de a^* .

Al respecto, Bonaparte et al. (1998) encontraron puntajes más altos de color en almendras de cacao secados directo al sol y el más bajo en secador solar. Los granos de cacao secados directo al sol mostraron el valor más bajo de “a” (menos rojo) y estuvieron entre los valores más altos de “b” (menos azul), teniendo así el menor de los pigmentos morados deseables. Aplicando secado indirecto a los granos de cacao tenía el valor más alto para “a*” y un valor de “b*” ligeramente inferior, aunque no significativamente. Los pigmentos morados fueron más visibles y enmascararon cada vez más los pigmentos pardos, ya que los valores de “b*” disminuyeron por debajo de 10 en el medidor de color.

Tabla 10. Resultados promedios de los parámetros de color de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 sometidos a diferentes métodos de secado

| Tipo de secado | L* | a* | b* |
|---------------------------------|------------|------------|------------|
| Cámara de Secador solar | 23,66±0,19 | 13,34±0,08 | 10,34±0,03 |
| Directo al sol | 9,52±0,01 | 17,10±0,05 | 12,33±0,04 |
| Secador flujo con aire caliente | 16,31±0,07 | 16,44±0,04 | 11,18±0,07 |

4.3.3 Composición físico química de almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 secado con flujo de aire caliente

En la Tabla 11 se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos de las almendras de cacao secadas con flujo de aire caliente. Se obtuvo 0,64; 7,59; 6,2; 47,6; 5,6; 3,3; 12,4; y 24,9 de antocianina, polifenoles totales, humedad, aceites y grasas, fibra cruda, cenizas, proteína y carbohidratos totales, respectivamente.

En lo que concierne a proteína, Aremu et al. (1995) encontraron 15.2 - 19.8 por ciento, Bertazzo et al. (2011) 12 y 15,7 por ciento; sobre grasas éstos últimos autores reportaron de 46.2 a 53,6 por ciento según la procedencia de las almendras de cacao; Respecto a la humedad, Silva et al. (2014) encontraron que de las almendras secas variaron en el rango 4,03 - 7,48 en tres lotes para dos formas de secado, por lo que para todos los ensayos que consideraron los valores se situaron por debajo del límite del 8,0 por ciento, establecido por las especificaciones de estandarización recomendada por BRASIL (2008). Así mismo Afoakwa et al. (2013), encontraron en almendras de cacao seco contenidos de grasa promedio de 52,3; carbohidratos 23,1 y proteína bruta en rango de 16 - 22 por ciento,

valores que difieren ligeramente de los reportados en esta investigación, posiblemente debido a la variedad y labores culturales.

Respecto a la concentración de polifenoles totales en la tabla 11 se observa 7,59 g EAG/100g de muestra secada con flujo de aire caliente desengrasado y un contenido de 0,64 mg cianidina-3-glucosido/g de antocianinas. Al respecto Nazario, Ordoñez, Mandujano, y Arévalo (2014) reporta resultados de cuantificación de polifenoles totales en los granos de cacao criollo y siete clones encontrando el mayor contenido de polifenoles totales en clones de cacao forastero y trinitario con valores de $5,72 \pm 0,039$ y $5,59 \pm 0,051$ g EAG/100g respectivamente, en segundo lugar, en contenido de polifenoles por el CCN – 51 con $5,18 \pm 0,03$ g EAG/100g. En cuanto al contenido de antocianinas se encontró que el CCN 51 tenía $0,43 \pm 0,003$ y el Criollo $0,42 \pm 0,004$ mg cianidina-3-glucósido/g de muestra.

En la Tabla 11, se observa que el valor promedio del pH es de 5,22. Comparando este valor con los valores encontrados por INIA y GTZ (2005) que encontraron en promedio para cotiledones secos con pre secado para CCN 51 valores que descendió desde pH 6,29 hasta 5,40 y sin pre secado de 6,40 hasta 5,38 y para el cacao Nacional el valor descendió desde pH 6,38 hasta 5,17 con pre secado y de 6,32 a 5,25 sin pre secado. Por lo tanto se puede concluir que el pH (5,22) de ésta investigación se encuentra dentro de los parámetros encontrados por INIA y GTZ (2005).

En la Tabla 11, se muestra el valor promedio de acidez equivalente a 0,25 g. de ácido acético /100 gramos de almendra. Al respecto (Nogata et al., 2006) en su investigación evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores, encontraron $0,37 \pm 0,06$ y $0,35 \pm 0,06$ de acidez para con 96 y 48 horas de fermentación, ambas secadas al sol. La disminución de los valores de acidez, “principalmente de los ácidos volátiles y libres en los granos fermentados y secados al sol coincide con el mayor descenso del contenido de humedad durante el secado” (G. Chire et al., 2016).

Tabla 11. Composición fisicoquímica de las almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 secado con flujo de aire caliente

| Características físico químicas | Base seca |
|--|------------------|
| Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) | 8,13 |
| Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) | 0,64 |
| Acidez titulable (g. de ác. acético /100g. m. s.) | 0,32 |
| pH | 5,22 |
| Humedad (%) | 6.60 |
| Lípidos (%) | 51.00 |
| Fibra cruda (%) | 6.00 |
| Cenizas (%) | 3.50 |
| Proteína (%) | 13.20 |
| Carbohidratos totales (%) | 26.60 |

V. CONCLUSIONES

1. La altura de los cajones fermentadores indicó que la menor degradación de polifenoles se dio a 1 m (13,35 por ciento), sin embargo, la evaluación estadística reportó que no hay diferencias significativas a 0,2, 1 y 2 m. La menor degradación de antocianinas (18,4 por ciento) fue a 0,20 m de altura del cajón fermentador, existiendo diferencia significativa entre las tres alturas estudiadas. Respecto al color, la evaluación estadística indicó diferencias significativas en los tres niveles, obteniendo un mejor color en muestras fermentadas a 1 m de altura.
2. La menor degradación de polifenoles se obtuvo en muestras secadas con flujo de aire caliente (29,9 por ciento) y antocianinas (65,32 por ciento). Existió diferencias significativas para polifenoles en muestras secadas directo al sol y en secador solar, para antocianinas no existió diferencia significativa con los tres métodos de secado. Los parámetros del color obtenido fueron $16,31 \pm 0,07$; $16,44 \pm 0,04$; $11,18 \pm 0,07$ para L^* , a^* y b^* , respectivamente en muestras deshidratados con flujo de aire caliente a 55°C .
3. Las almendras de cacao obtenidas reportaron: 8,13; 0,64; 0,32; 5,22; 6,60; 51,00; 6,00; 3,50; 13,20 y 26,6 de, polifenoles totales, antocianina, acidez titulable (g. de ácido acético /100g de m. s.), pH, humedad, lípidos, fibra cruda, cenizas, proteína y carbohidratos totales (análisis proximal en b. s.), respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

- Desarrollar técnicas de fermentación aplicando las buenas prácticas de manufactura para mejorar el proceso de fermentación y secado de los granos de cacao cultivar CCN 51(*Theobroma cacao L.*).
- Ejecutar investigaciones en técnicas de aislamiento de cepas de microorganismos para la fermentación anaeróbica y aeróbica de los granos de cacao cultivar CCN 51 (*Theobroma cacao L.*).

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abhay, S. M., Hii, C. L., Law, C. L., Suzannah, S., y Djaeni, M. (2016a). Effect of hot- air drying temperature on the polyphenol content and the sensory properties of cocoa beans. *International Food Research Journal*, 23(4), 1479–1484.
- Abhay, S. M., Hii, C. L., Law, C. L., Suzannah, S., y Djaeni, M. (2016b). Effect of hot-air drying temperature on the polyphenol content and the sensory properties of cocoa beans. *International Food Research Journal*, 23(4), 1479–1484.
- Adams, J. B. (1973). Thermal degradation of anthocyanin with particular reference on 3 glucosides of cyanidin. In acidified aqueous solution at 100° C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24, 747–762.
- Adriazola, D. (2003). *Producción de los alimentos de los dioses (Theobroma cacao L.)*. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 5–8.
- Aelson, S., Lía, F., y Marisa, A. (2009). Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origen vegetale animal. *Química Nova*, 32, 4849–4854.
- Afoakwa, E. O., y Paterson, A. (2010). Cocoa Fermentation: Chocolate Flavour Quality. In *Encyclopedia of Biotechnology in Agriculture and Food*. (Encycloped). Oxford, U.K.: Taylor y Francis.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., y Ryan, A. (2008). Flavour formation and character in cocoa and chocolate: a critical review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48, 840–857.
- Afoakwa, E. O., Quao, J., Budu, A. S., Takrama, J., y Saalia, F. K. (2011). Effect of pulp-preconditioning on polyphenolic content and anthocyanin concentrations during fermentation of Ghanaian cocoa beans. *Institute of Food Technologists (IFT)*.
- Afoakwa, E., Quao, J., Takrama, J., y Budu, A. (2013). Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-

- conditioning and fermentation. *Food Science and Technology.*, 50(December), 1097–1105. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0446-5>
- Aikpokpodion, P. E., y Dongo, L. N. (2010). Effects of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. *Int. J. Sustain. Crop Prod.*, 5(4), 66–70.
- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., Sánchez, C., y De Farias, A. (2010). Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *Revista Científica UDO Agrícola*, 10(1), 76–87.
- AOAC. (2005). *Official Methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry*. (18ava Ed.). Washington DC.
- Apriyanto, M. (2016). Changes in Chemical Properties of Dreid Cocoa (*Theobroma cacao*) Beans during Fermentation. *Intl. J. Food. Ferment.*, 5(June), 11–16. <https://doi.org/10.5958/2321-712X.2016.00002.8>
- Arciniegas, A. (2005). *Caracterización de árboles superiores de cacao (Theobroma cacao L.) seleccionados por el programa de mejoramiento genético del CATIE. Tesis, Magíster Scientiae. Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.*
- Ardhana, M., y Fleet, G. (2003). The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 87–99.
- Aremu, C. Y., Agiang, M. A., y Ayatse, J. (1995). Nutrient and anti-nutrient profiles of raw and fermented cocoa beans. *Plant Foods Human Nutr.*, 48, 221–223.
- Armenta, R. E., Burja, A., Radianingtyas, H., y Barrow, C. J. (2006). Critical assessment of various techniques for the extrac- tion of carotenoids and co-enzyme Q(10) from the thraustochytrid strain ONC-T18. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9752–9758.
- Beckett, S. T. (2008). *The Science of Chocolate*. (Second edi). London, UK.
- Bertazzo, A., Comai, S., Brunato, I., Zancato, M., y Costa, C. V. L. (2011). The content of protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in *Theobroma cacao* beans. *Food Chemistry*, 124(1), 93–96.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.110>

- Biehl, B., y Voigt, J. (1982). Biochemistry of chocolate flavour precursors. *International Cocoa Conference*. Salvador de Bahia, Brazil.
- Biehl, B., Brunne, E., Passern, D., Quesnel, V., y Adomako, D. (1985). Acidification, proteolysis and flavour potential in fermenting cocoa beans. *Sci Food Agriculture*, 36, 583–598.
- Biehl, B., Meyer, B., Said, M., y Samarakoddy, R. (1990). Bean spread- ing: a method of pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysian. *J Food Agriculture*, 51, 35–45.
- Bonaparte, A., Alikhani, Z., Madramootoo, C. A., y Vijaya, R. (1998). Some Qualit y Characteristics of Solar-Dried Cocoa Beans in St Lucia. *Journal Scientiae Food Agric.*, 553(Liau 1978).
- Bonvehi, J., y Coll, F. (1997). Evaluation of the bitterness and astringency of polyphenolic compunds in cocoa powder. *Food Chemistry*, 60, 365–370.
- BRASIL., M. da A. P. e A. (2008). Regulamento Técnico da Instrução Normativa nº 57, de 12 de nov. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. *Diário Oficial Da União, Brasília*, Vol. 15.
- Brito, E. ., Garcia, N., Galla, o M., Cortelazzo, A., Fevereiro, P., y Braga, M. (2000). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao*) during fermentation, drying and roasting. *J. Sci. Food Agric.*, 81, 281–288.
- Brito, E., García, N. H. P., y Amâncio, A. C. (2002). Effect of polyphenol oxidase (PPO) and air treatments on total phenol and tannin content of cocoa nibs. *Ciênc, Tecnol. Alimen, Campinas*, 22(1), 45–48.
- Brownmiller, C., Howard, L. R., y Prior, R. L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric colour, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *Journal of Food Science*, 5, 72–79.
- CAOBISCO/ECA/FCC. (2015). *Beans: Chocolate and Cocoa Industry Quality Requirements*. (M. J. End & R. Dand, Eds.).

- Cha, K. H., Lee, H. J., Koo, S. Y., Song, D. G., y Pan, C. H. (2010). Optimization of pressurized liquid extraction of carotenoids and chlorophylls from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 793–797.
- Chire, G. C., Verona, P. A., y Guzmán, J. H. (2016). Cambios en el color durante el beneficio del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) Peruano procedente de Piura. *Ciencia E Investigación*, 19(1), 29–34.
- Chire, G., Verona, P., y Guzmán, J. (2016). Cambios en el color durante el beneficio del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) Peruano procedente de Piura. *Ciencia E Investigación*, 19(1), 29–34.
- Chittapalo, T., y Noomhorm, A. (2009). Ultra- sound assisted alkali extraction of protein from defatted rice bran and properties of the protein concentrates. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1843–1849.
- Cortada, J. W. . y W. A. J. (1995). *The Quality Yearbook; eds. 1995 , s. l .* Mc graw hill.
- Crozier, S. J., Preston, A. G., Hurst, W. J., Payne, M. J., y Mann, J. (2011). Cacao seeds are a “super fruit”: A comparative analysis of various fruit powders and products. *Chemistry Central Journal*, 5, 1–6.
- Cubillos, G., Merizalde, G. J., y Correa, E. (2008). *Manual de beneficio del cacao. Universidad de Antioquia. Colombia – Medellín.*
- Cuevas, M., Antezana, A., y Winterhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz boliviano. *Memorias Red-Alpha-Lagrotech. Comunidad Europea. Cartagena.*, 79–95.
- Drdak, M., y Daucik, P. (1990). Changes of elderberry (*Sambucus nigra*) pigments during the production of pigment concentrates. *Acta Aliment.*, 19, 3–7.
- Efrain, P., Pezoa-García, N. H., Jardim, D. C. P., Nishikawa, A., Haddad, R., y Eberlin, M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Ciência E Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 30, 142–150.
- Efrain, P., Pezoa-garcía, N. H., Jardim P., D. C., Nishikawa, A., Haddad, R., y Eberlin, M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de

- compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 30, 142–150.
- Efracim, P., Pezoa-García, N. H., y Pereira-Jardim, D. C. (2004). *Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de sementes de cacau para produção de chocolate*. Universidade Estadual de Campinas.
- Emmanuel, O. A., Jennifer, Q., Agnes, S. B., Jemmy, S. T., y Firibu, K. S. (2012). Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 19(1), 127–133.
- FEDECACAO. (2004). *El beneficio y Características Físico Químicas del Cacao (Theobroma cacao L.)*. (Produmedio). Bogotá-Colombia.
- Fenglin, G., Lehe, T., Huasong, W., Yiming, F., Fei, X., Zhong, C., y Qinghuang, W. (2013). Comparison of Cocoa Beans from China, Indonesia and Papua New Guinea. *Foods*, 2, 183–197. <https://doi.org/10.3390/foods2020183>
- Garcia-Alamilla, P., Salgado-Cervantes, M., Barel, M., Berthomieu, G., Rodríguez-Jimenes, G. C., y García-Alvarado, M. (2007). Moisture, acidity and temperature evolution during cacao drying. *Journal of Food Engineering*, 79, 1159–1165.
- Gu, X., Cai, J., Zhu, X., y Su, Q. (2005). Dynamic ultrasound-assisted extraction of polyphenols in tobacco. *Journal of Separation Science*, 28, 2477—2481.
- Guerrero, M. . (2007). Diagnóstico y propuesta de parámetros para la estandarización y homogenización del tratamiento poscosecha de cacao. *Ministerio de Economía Y Finanzas*, 3(I), 78. Retrieved from http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/cacao/estudio_poscosecha_cacao.pdf
- Gutierrez, S. M. (2007). *Manual Practicas de Control de Calidad de Cacao en Centro de Acopio. Lima – Perú*.
- Hansen, C. E., Olmo, M. del, y Burri, C. (1998). Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *J. Sci. Food Agric.*, 77, 273–281.
- Havlikova, L., y Mikova, K. (1985). Heat stability of anthocyanins. *Z LebensmUnters*

Forsch, 181, 427–432.

Hii, C. L., Law, C. L., Cloke, M., y Suzannah, S. (2009). Thin layer drying kinetics of cocoa and dried product quality. *Biosyst. Eng.*, 102, 153–161.

Hii, C. L., Law, C. L., y Suzannah, S. (2012). Drying kinetics of the individual layer of cocoa beans during heat pump drying. *Journal of Food Engineering*, 108, 276–282.

Holm, C. S., Aston, J. W., y Douglas, K. (1993). The effects of the organic acids in cocoa on the flavour of chocolate. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 61, 65–71.

ICT. (2004). Instituto de Cultivos Tropicales, Revista Informativa.

INIA Y GTZ. (2005). Influencia del preseado de las almendras sobre la evolución del pH y porcentajes de fermentación durante la época seca en las variedades de cacao CCN 51 y Nacional. *Estación Experimental Tropical Pichilingue Programa Nacional de Cacao Y Café*, 1.

Jackman, R. L., Yada, R. Y., y Tung, M. A. (1987). A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 279–308.

Jespersen, L., Nielsen, D., Honholt, S., y Jakobsen, M. (2005). Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. *FEMS Yeast Research*, 5, 441–453.

Jinap, M., Nazamid, S., y Jamilah, B. (2002). Activation of remaining key enzymes in dried under-fermented cocoa beans and its effect on aroma precursor formation. *Food Chem.*, 78, 407–417.

Jinap, S., y Dimick, P. (1990). Acidic characteristics of fermented dried cocoa beans from different countries of origin. *J. Food Sci.*, 55, 547–550.

Jolic., S. M., Redovnikovic, I. R., Markovic., K., Durdica., S., y Karmela., D. (2011). Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *Journal of Food Science and Technology*, 46, 1793–1800.

Jonfia-Essie, W. A., West, G., Alderson, P. G., y Tucker, G. (2008). Food Chemistry Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food*

- Kader, F., Irmouli, M., Nicolas, J. P., y Metche, M. (2001). Proposed mechanism for the degradation of pelargonidin 3-glucoside by caffeic acid o-quinone. *Food Chemistry*, 75, 139–144.
- Kim, H., y Keeney, P. (1984). (-)-epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *J. Food Sci.*, 49, 1090–1092.
- Kramling, T. E., y Singleton, V. E. (1969). An estimate of nonflavonoid phenols in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20(2), 86–92.
- Kyi, T. M., Daud, W. R. W., Mohammad, A. B., Samsudin, M. W., Kadhum, A. A. H., y Talib, M. Z. M. (2005). The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *J. Food Sci. Technol.*, 40, 323–331.
- Ladaniya, M. (2008). Citrus fruit biology. San Diego, United States of America. *Elsevier*, 149–150.
- Lopez, A. S., y Dimick, P. S. (1991). Enzymes involved in cocoa curing. *Food Enzymology.*, 211–236.
- Lopez, A. S., y Dimick, P. S. (1995). Cocoa Fermentation. *In Enzymes, Biomass, Food and Feed.*, 561–577.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., y Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am.J. Clin Nutr.*, 79, 727 – 749.
- Markakis, P., Livingstone, G. E., y Fillers, G. R. (1957). Quantitative aspects of strawberry pigment degradation. *Food Research*, 22, 1957.
- Marquez, E. (2009). *Contribución a la biología molecular de los genes antocianidina sintasa (ans) y sorbitol deshidrogenasa (sdh) en cultivares criollos y trinitarios de Theobroma cacao L.* Universidad de los Andes.
- Mazza, G., y Brouillard, R. (1987). Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*, 25(3), 207–222.
- Mazza, G., y Miniati, E. (1993). Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. *grains. Boca Raton, FL: CRC Press.*, 362.

- Mcghie, T. K., y Walton, M. C. (2007). The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Molecular Nutrition Food Research*, 51, 702–713.
- Misnawi. (2003). *Influence of Cocoa Polyphenols and Enzyme Reactivation on the Flavor Development of Underfermented Cocoa Beans*. Universiti Putra Malaysia. Serdang, Selangor Darul Ehsan, Malaysia.
- Misnawi, S., Jamilah, B., y Nazamid, S. (2003). Effects of incubation and polyphenol oxidase enrichment on colour, fermentation index, procyanidins and astringency of unfermented and partly fermented cocoa beans. *Int J Food Sci Tech*, 38, 285–295.
- Misnawi, Jinap, S., Jamilah, B., y Nazamid, S. (2004). Polyphenol changes during fermentation and their impacts on astringency and bitterness of cocoa bean. *ASEAN Food Journal*, 13, 1–13.
- Nazario, O., Ordoñez, E., Mandujano, Y., y Arévalo, J. (2014). Polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante de granos secos y análisis sensorial del licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo y siete clones. *Investigación Y Amazonía*, 3(1), 51–59.
- Nazaruddin, R., Seng, L. K., Hassan, O., y Said, M. (2006). Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cacao*) during fermentation. *Crops Prod.*, 24, 87–94.
- Ndukwu, M. C. (2009). Effect of drying temperature and drying air velocity on the drying rate and drying constant of cocoa bean. *Agricultural Engineering International*, 9, 1091–1094.
- Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumoua, D. O., y Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *J. Food Compos. Anal.*, 19, 612–619.
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M., y Ohta, H. (2006). Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 70(1), 178–192.
- NTP - ISO 1114. (2016). Granos de cacao. Prueba de corte. *Norma Tecnica Peruana*.
- NTP 208.040. (2017). Cacao y chocolate. Buenas prácticas para la cosecha y beneficio.

- Ortiz, L., Graziani, L., y Rovedas, G. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía Trop.*, 2(59), 19–27. Retrieved from ???
- Ortiz de Bertorelli, L., Graziani de Fariñas, L., y Rovedas L., G. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía tropical*, 59(2), 119–127.
- Ouattara, H. G., Koffi, B. L., Karou, G. T., Sangare, A., Niamke, S. L., y Diopoh, J. K. (2008). Implication of *Bacillus* spp. in the production of pectinolytic enzymes during cocoa fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1753–1760.
- Palacios, C. A. L. (2008). *Establecimientos de Parámetros (Físicos, Químicos y Organolépticos) Para Diferenciar y Valorizar el Cacao (Theobroma cacao L.) Producido en dos Zonas Identificadas al Norte y Sur del Litoral Ecuatoriano. Tesis de Grado, Facultad de Ingeniería Agronómica.*
- Pasupuleti, V. K., y Braun, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. Protein Hydrolysates in Biotechnology. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 11–32.
- Patras, A., Nigel P., B., Colm, O., y Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods: Mechanisms and kinetics of degradation Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>
- Peláez, P., Guerra, S., y Contreras, D. (2016). Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria*, 7(2), 111–119. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.02.04>
- Porter, L. J., Ma, Z., y Chan, B. G. (1991). Cacao procyanidins: Major flavanoids and identification of some minor metabolites. *Phytochem.*, 30(5), 1657–1663.

- Portillo, L., Graziani, L., y Betancourt, E. (2007). Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el índice de fermentación en la calidad del cacao criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron.*, 22, 388–399.
- Rappaport, Z. (2003). *The chemistry of phenols*. (J. Wiley, Ed.). West Sussex, Inglaterra.
- Reineccius, G. A., Andersen, D. A., Kavanagh, T. E., y Keeney, P. G. (1972). Identification and quantification of the free sugars in cocoa beans. *J. Agric. Food Chem.*, 20, 199–202.
- Rhim, J. W. (2002). Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Science and and Biotechnology.*, 11, 361–364.
- Rodriguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H. B., Orozco-Avila, I., Lugo- Cervantes, E., y Jaramillo-Flores, M. E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International*, 44, 250–258.
- Rodríguez, J. (2011). *Estudio de los compuestos volátiles de Theobroma cacao L., durante el proceso tradicional de fermentación, secado y tostado*. Instituto Politécnico Nacional.
- Roelofsen, P. (1958). Fermentation, drying, and storage of cacao beans. *Advances in Food Research*, 8, 225–296.
- Rohan, T. A. (1963). Processing of raw cocoa for the market. *FAO Technical Bulletin*, 60.
- Romel, G., Elevina, P., Clímaco, Á., Mary, L., y Pablo, R. (2008). Caracterización fisicoquímica y nutricional de almendras del cacao (*Theobroma cacao* L.) frescas y fermentadas provenientes de la región de Río Chico estado Miranda - Venezuela. V *Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica*.
- Sadilova, E., Stintzing, F. C., y Carle, R. (2006). Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. *Journal of Food Science*, 71, C504–C512.
- Salvador, G. N. (2008). *Mapeo de la Calidad Física y Organoléptica del Theobroma cacao l. A Nivel Subcuenca del Río Bigote Como Estrategia para la Inserción y Posicionamiento en Nichos de Mercado de la Asociación de Pequeños Productores*

de Cacao de Piura.

- Sanagi, M. M., Hung, W. P., y Yasir, S. M. (1997). Supercritical fluid extraction of pyrazines in roasted cocoa beans: Effect of pod storage period. *J. Chromatogr.*, 785, 361–367.
- Sandoval, M., Okuhama, N., Angeles, F., Melchor, V., Condezo, L., y Milller, M. (2001). Antioxidant Activity of the Cruciferous Vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry.*, 1–23.
- Schwan, R. F., y Wheals, A. E. (2004a). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 44, 205–221.
- Schwan, R. F., y Wheals, A. E. (2004b). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews. Food Science and Nutrition*, 44(4).
- Seeram, N. P., Bourquin, L. D., y Nair, M. G. (2001). Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 49, 4924–4929.
- Shamsuddin, S., y Dimick, P. (1986). *Qualitative and quantitative measurements of cacao bean fermentation, in Proceedings of Cocoa Biotechnology.* (by Dimick, Vol. 78).
- Silva, F. W. M., Sousa, R. S. R., Gonçalves, C. G., y Souza, J. N. S. (2014). *Avaliação dos processos de fermentação e secagem de sementes de cacau (Theobroma cacao L.) sobre os compostos fenólicos, a atividade da enzima peroxidase e a qualidade das amendoas.*
- Skrede, G., Wrolstad, R. E., y Durst, R. W. (2000). Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of high- bush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65, 357–364.
- Stark, T., Bareuther, S., y Hofmann, T. (2005). Sensory-guided decomposition of roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*) and structure determination of taste-active polyphenols. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5407–5418.
- Stevenson, C., Corven, J., y Villanueva, G. (1993). Manual para analisis de cacao en laboratorio. *IICA-PROCACAO*, 68.

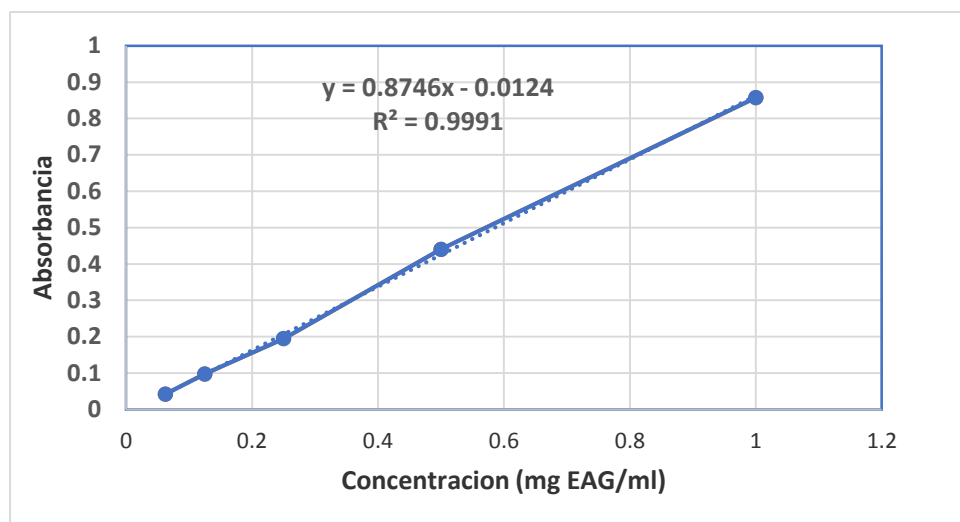
- Thompson, S. S., Miller, K. B., y Lopez, A. S. (2001). *Cocoa and coffee*. Washington DC.
- Thompson, S. S., Miller, K. B., y Lopez, A. S. (2007). *Cocoa and coffee*. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. (M. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville, Eds.). Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Tomas-Barberán, F. A., Cienfuegos-Jovellanos, E., Marín, A.; Muguerza, B., Gil-Izquierdo, A., Cerdá, B., Zafrilla, P., ... Ibarra, A. (2007). A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. *J. Agr. Food Chem.*, *55*, 3926–3935.
- Verdesoto, P. (2009). *Caracterización química preliminar de cacao (Theobroma cacao) de los municipios de Omoa y La Masica, Honduras*. Ing. en Agroindustria alimentaria. Zamorano, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana.
- Voigt, J., Biehl, B., Heinrichs, H., Kamaruddin, S., Gaim Marsoner, G., y Hugi, A. (1994). In-vitro formation of cocoa-specific aroma precursors: aroma-related peptides generated from cocoa seed protein by cooperation of an aspartic endo proteinase and a carboxypeptidase. *Food Chemistry*, *49*, 173–180.
- Von Elbe, J. H., y Schwartz, S. J. (1996). *Colorants*. In *O. R. Fennema*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.
- Wollgast, J., y Anklam, E. (2000a). Polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification: A review. *Food Res Int.*, *33*, 2000.
- Wollgast, J., y Anklam, E. (2000b). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res Int.*, *447*, 423–447.
- Wollgast, J., y Anklam, E. (2000c). Review on polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Int.*, *33*, 423–447.
- Wood, G. A., y Lass, R. A. (1985). *Cocoa* (4th edn. L). London, U.K.
- Ye, J., Feng, L., Xiong, J., y Xiong, Y. (2011). Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol. *International Journal of Food Science and Technology*, *46*,

2131–2136.

Ziegler, G., y Biehl, B. (1988). Analysis of cocoa flavour compounds and precursors, in Modern methods of plant analysis. *Linkens HF and Jackson JF. Springer, Berlin.*, 8, 361– 393.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Curva estándar para determinación de polifenoles totales



Anexo 2: Color de los granos del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado

| | A 0,2m de altura | | | A 1m de altura | | | A 2m de altura | | |
|-----------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| R1 | 15.28 | 8.56 | 7.73 | 10.8 | 20.13 | 12.84 | 11.94 | 18.38 | 13.78 |
| R2 | 14.89 | 8.55 | 7.82 | 10.82 | 20.63 | 12.73 | 11.98 | 18.33 | 14.06 |
| R3 | 15.37 | 7.87 | 8.32 | 10.78 | 20.72 | 12.83 | 11.56 | 19.64 | 14.04 |
| | 15.18±0.21 | 8.33±0.32 | 7.96±0.26 | 10.80±0.02 | 20.49±0.26 | 12.80±0.05 | 11.83±0.19 | 18.78±0.61 | 13.96±0.12 |

Anexo 3: Análisis de varianza para Luminosidad del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 31.4833 | 2 | 15.7416 | 396.07 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.238467 | 6 | 0.0397444 | | |
| Total (Corr.) | 31.7218 | 8 | | | |

Anexo 4: Análisis de varianza para a* del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 260.294 | 2 | 130.147 | 482.92 | 0.0000 |
| Intra grupos | 1.617 | 6 | 0.2695 | | |
| Total (Corr.) | 261.911 | 8 | | | |

Anexo 5: Análisis de varianza para b* del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 60.8435 | 2 | 30.4217 | 706.75 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.258267 | 6 | 0.0430444 | | |
| Total (Corr.) | 61.1018 | 8 | | | |

Anexo 6: Pruebas de Múltiple Rangos para Luminosidad para el color del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado método: 95.0 porcentaje LSD HSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| L 1.0m | 3 | 10.8 | X |
| L 2.0m | 3 | 11.8267 | X |
| L 0.2m | 3 | 15.18 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| L 0.2m - L 1.0m | * | 4.38 | 0.499448 |
| L 0.2m - L 2.0m | * | 3.35333 | 0.499448 |
| L 1.0m - L 2.0m | * | -1.02667 | 0.499448 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 7: Pruebas de Múltiple Rangos para a* para el color del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas método: 95.0 porcentaje LSD HSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| a* 0.2m | 3 | 8.32667 | X |
| a* 2.0m | 3 | 18.7833 | X |
| a* 1.0m | 3 | 20.4933 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| a* 0.2m - a*1.0m | * | -12.1667 | 1.30056 |
| a* 0.2m - a*2.0m | * | -10.4567 | 1.30056 |
| a* 1.0m - a*2.0m | * | 1.71 | 1.30056 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 8: Pruebas de Múltiple Rangos para b* para el color del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado a diferentes alturas método: 95.0 porcentaje LSD HSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| b* 0.2m | 3 | 7.95667 | X |
| b* 1.0m | 3 | 12.8 | X |
| b* 2.0m | 3 | 13.96 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|-------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| b* 0.2m - b* 1.0m | * | -4.84333 | 0.519769 |
| b* 0.2m - b* 2.0m | * | -6.00333 | 0.519769 |
| b* 1.0m - b* 2.0m | * | -1.16 | 0.519769 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 9: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g m. s.) durante la fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 a 0,2 metros de altura del cajón fermentador

| <i>Repeticiones</i> | <i>Tiempo de fermentación</i> | | | |
|---------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | <i>Grano baba</i> | <i>48 horas</i> | <i>96 horas</i> | <i>156 horas</i> |
| R1 | 15.27 | 14.32 | 13.78 | 11.97 |
| R2 | 15.27 | 13.78 | 13.25 | 12.05 |
| R3 | 14.96 | 14.11 | 13.16 | 12.84 |
| R4 | 15.05 | 13.68 | 13.15 | 12.56 |
| Promedio | 15.14±0.14 | 13.97±0.26 | 13.34±0.26 | 12.35±0.36 |

ANOVA para 0.2 metros por tiempo de fermentación

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 16.3316 | 3 | 5.44388 | 58.06 | 0.0000 |
| Intra grupos | 1.12515 | 12 | 0.0937625 | | |
| Total (Corr.) | 17.4568 | 15 | | | |

Pruebas de Múltiple Rangos para 0.2 metros por tiempo de fermentación

Método: 95.0 porcentaje LSD HSD

| Nivel | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|-------|-------|---------|-------------------|
| 156 | 4 | 12.355 | X |
| 96 | 4 | 13.335 | X |
| 48 | 4 | 13.9725 | X |
| 0 | 4 | 15.1375 | X |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-----------|------|------------|-------------|
| 0 - 48 | * | 1.165 | 0.644788 |
| 0 - 96 | * | 1.8025 | 0.644788 |
| 0 - 156 | * | 2.7825 | 0.644788 |
| 48 - 96 | | 0.6375 | 0.644788 |
| 48 - 156 | * | 1.6175 | 0.644788 |
| 96 - 156 | * | 0.98 | 0.644788 |

Anexo 10: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) durante la fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 a 1,0 metros de altura del cajón fermentador

| Repeticiones | Tiempo de fermentación | | | |
|--------------|------------------------|------------|------------|------------|
| | Grano baba | 48 horas | 96 horas | 156 horas |
| R1 | 15.27 | 14.32 | 13.78 | 13.44 |
| R2 | 15.27 | 13.78 | 13.25 | 13.12 |
| R3 | 14.96 | 14.11 | 13.16 | 13.12 |
| R4 | 15.05 | 13.68 | 13.15 | 12.81 |
| Promedio | 15.14±0.14 | 13.97±0.26 | 13.34±0.26 | 13.12±0.22 |

ANOVA para 1.0 metro por tiempo de fermentación

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 16.1565 | 3 | 5.38549 | 85.38 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.7569 | 12 | 0.063075 | | |
| Total (Corr.) | 16.9134 | 15 | | | |

Pruebas de Múltiple Rangos para 1.0 metros por tiempo de fermentación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

| Nivel | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|-----------|-------|---------|-------------------|
| 156 horas | 4 | 12.5825 | X |
| 96 horas | 4 | 12.7875 | X |
| 48 horas | 4 | 13.3975 | X |
| 0 horas | 4 | 15.1375 | X |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-----------|------|------------|-------------|
| 0 - 48 | * | 1.74 | 0.528848 |
| 0 - 96 | * | 2.35 | 0.528848 |
| 0 - 156 | * | 2.555 | 0.528848 |
| 48 - 96 | * | 0.61 | 0.528848 |
| 48 - 156 | * | 0.815 | 0.528848 |
| 96 - 156 | | 0.205 | 0.528848 |

Anexo 11: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) durante la fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 a 2,0 metros de altura del cajón fermentador

| Repeticiones | Tiempo de fermentación | | | |
|-----------------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Grano baba | 48 horas | 96 horas | 156 horas |
| R1 | 15.27 | 14.67 | 13.46 | 11.81 |
| R2 | 15.27 | 14.11 | 13.58 | 12.49 |
| R3 | 14.96 | 14.16 | 12.65 | 12.32 |
| R4 | 15.05 | 13.68 | 13.48 | 12.81 |
| Promedio | 15.14±0.14 | 14.15±0.35 | 13.29±0.38 | 12.36±0.36 |

ANOVA para 2.0 metros por tiempo de fermentación

| Fuente | Suma de Cuadrados | | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|--|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 35.6545 | | 3 | 11.8848 | 65.70 | 0.0000 |
| Intra grupos | 2.17085 | | 12 | 0.180904 | | |
| Total (Corr.) | 37.8254 | | 15 | | | |

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| 156 | 4 | 1.8 | X |
| 96 | 4 | 3.8975 | X |
| 48 | 4 | 4.9625 | X |
| 0 | 4 | 5.785 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 - 48 | | 0.8225 | 0.895626 |
| 0 - 96 | * | 1.8875 | 0.895626 |
| 0 - 156 | * | 3.985 | 0.895626 |
| 48 - 96 | * | 1.065 | 0.895626 |
| 48 - 156 | * | 3.1625 | 0.895626 |
| 96 - 156 | * | 2.0975 | 0.895626 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 12: Análisis de varianza para polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) del cacao cultivar CCN 51 en tres alturas del cajón fermentador a 156 horas de fermentación

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 1.34902 | 2 | 0.674508 | 5.65 | 0.0258 |
| Intra grupos | 1.07495 | 9 | 0.119439 | | |
| Total (Corr.) | 2.42397 | 11 | | | |

Pruebas de Múltiple Rangos para 156 horas por Polifenoles durante fermentación
Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| Polifenoles 0.2m | 4 | 11.49 | X |
| Polifenoles 2.0m | 4 | 11.4925 | X |
| Polifenoles 1.0m | 4 | 12.2025 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|-------------------------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| Polifenoles 0.2m - Polifenoles 1.0m | * | -0.7125 | 0.552817 |
| Polifenoles 0.2m - Polifenoles 2.0m | | -0.0025 | 0.552817 |
| Polifenoles 1.0m - Polifenoles 2.0m | * | 0.71 | 0.552817 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 13: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante la fermentación del cacao cultivar CCN 51 a 0,2 metros de altura del cajón fermentador

| Repeticiones | Tiempo de fermentación | | | |
|--------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Cacao en baba | 48 horas | 96 horas | 156 horas |
| R1 | 5.95 | 5.23 | 4.69 | 3.37 |
| R2 | 6.18 | 5.08 | 4.55 | 3.45 |
| R3 | 5.18 | 4.53 | 4.43 | 3.43 |
| R4 | 5.83 | 4.86 | 3.76 | 3.18 |
| Promedio | 5.78±0.37 | 4.92±0.26 | 4.36±0.35 | 3.36±0.11 |

ANOVA para 0.2 metros por tiempo de fermentación

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|--------------|---------------|
| Entre grupos | 12.4492 | 3 | 4.14974 | 35.98 | 0.0000 |
| Intra grupos | 1.38395 | 12 | 0.115329 | | |
| Total (Corr.) | 13.8332 | 15 | | | |

Pruebas de Múltiple Rangos para 0.2 metros por tiempo de fermentación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

| Nivel | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|-------|-------|--------|-------------------|
| 156 | 4 | 3.3575 | X |
| 96 | 4 | 4.3575 | X |
| 48 | 4 | 4.925 | X |
| 0 | 4 | 5.785 | X |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-----------|------|---------------|-------------|
| 0 - 48 | * | 0.86 | 0.715109 |
| 0 - 96 | * | 1.4275 | 0.715109 |
| 0 - 156 | * | 2.4275 | 0.715109 |
| 48 - 96 | | 0.5675 | 0.715109 |
| 48 - 156 | * | 1.5675 | 0.715109 |
| 96 - 156 | * | 1.0 | 0.715109 |

Anexo 14: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante la fermentación del cacao cultivar CCN 51 a 1,0 metro de altura del cajón fermentador

| Repeticiones | Tiempo de fermentación | | | |
|-----------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Cacao en baba | 48 horas | 96 horas | 156 horas |
| R1 | 5.95 | 4.05 | 3.51 | 1.38 |
| R2 | 6.18 | 4.86 | 3.19 | 2.12 |
| R3 | 5.18 | 4.28 | 3.18 | 2.08 |
| R4 | 5.83 | 4.43 | 2.85 | 2.11 |
| Promedio | 5.78±0.37 | 4.41±0.29 | 3.18±0.23 | 1.92±0.31 |

ANOVA para 1.0 metros por tiempo de fermentación

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|--------------|---------------|
| Entre grupos | 32.8412 | 3 | 10.9471 | 86.90 | 0.0000 |
| Intra grupos | 1.51175 | 12 | 0.125979 | | |
| Total (Corr.) | 34.353 | 15 | | | |

Pruebas de Múltiple Rangos para 1.0 metros por tiempo de fermentación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

| Nivel | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|-------|-------|--------|-------------------|
| 156 | 4 | 1.9225 | X |
| 96 | 4 | 3.1825 | X |
| 48 | 4 | 4.405 | X |
| 0 | 4 | 5.785 | X |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-----------|------|---------------|-------------|
| 0 - 48 | * | 1.38 | 0.747398 |
| 0 - 96 | * | 2.6025 | 0.747398 |
| 0 - 156 | * | 3.8625 | 0.747398 |
| 48 - 96 | * | 1.2225 | 0.747398 |
| 48 - 156 | * | 2.4825 | 0.747398 |
| 96 - 156 | * | 1.26 | 0.747398 |

Anexo 15: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante la fermentación del cacao cultivar CCN 51 a 2,0 metros de altura del cajón fermentador

| Repeticiones | Tiempo de fermentación | | | |
|-----------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Cacao en baba | 48 horas | 96 horas | 156 horas |
| R1 | 5.95 | 4.98 | 3.67 | 1.05 |
| R2 | 6.18 | 5.14 | 4.02 | 1.70 |
| R3 | 5.18 | 4.45 | 4.16 | 2.48 |
| R4 | 5.83 | 5.28 | 3.74 | 1.97 |
| Promedio | 5.78±0.37 | 4.96±0.31 | 3.90±0.20 | 1.80±0.52 |

ANOVA para 2.0 metros por tiempo de fermentación

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 35.6545 | 3 | 11.8848 | 65.70 | 0.0000 |
| Intra grupos | 2.17085 | 12 | 0.180904 | | |
| Total (Corr.) | 37.8254 | 15 | | | |

Pruebas de Múltiple Rangos para 2.0 metros por tiempo de fermentación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| 156 | 4 | 1.8 | X |
| 96 | 4 | 3.8975 | X |
| 48 | 4 | 4.9625 | X |
| 0 | 4 | 5.785 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 - 48 | | 0.8225 | 0.895626 |
| 0 - 96 | * | 1.8875 | 0.895626 |
| 0 - 156 | * | 3.985 | 0.895626 |
| 48 - 96 | * | 1.065 | 0.895626 |
| 48 - 156 | * | 3.1625 | 0.895626 |
| 96 - 156 | * | 2.0975 | 0.895626 |

Anexo 16: Análisis de varianza para antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g m. s.) del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentado durante 156 horas

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 5.19502 | 2 | 2.59751 | 18.00 | 0.0007 |
| Intra grupos | 1.29887 | 9 | 0.144319 | | |
| Total (Corr.) | 6.49389 | 11 | | | |

Anexo 17: Prueba de LSD para antocianinas del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 durante la fermentación después de 156 horas

Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|-------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| Antocianinas 2m | 4 | 1.675 | X |
| Antocianinas 1m | 4 | 1.785 | X |
| Antocianinas 0.2m | 4 | 3.1225 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|-------------------------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| Antocianinas 0.2m - Antocianinas 1m | * | 1.3375 | 0.607675 |
| Antocianinas 0.2m - Antocianinas 2m | * | 1.4475 | 0.607675 |
| Antocianinas 1m - Antocianinas 2m | | 0.11 | 0.607675 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 18: Contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos fermentados de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

| Método secado | Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) | | | | | |
|------------------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | 0 días | a 2 días | 2,5 días | a 4 días | 4,5 días | 5 días |
| Cámara solar | | | | | | |
| R1 | 13.44 | 9.96 | 9.28 | 8.45 | 7.66 | 6.70 |
| R2 | 13.12 | 8.96 | 9.44 | 8.13 | 7.37 | 7.54 |
| R3 | 13.12 | 10.18 | 8.35 | 7.41 | 7.43 | 6.68 |
| R4 | 12.81 | 9.44 | 7.17 | 7.49 | 7.52 | 6.31 |
| Promedio | 13.12±0.22 | 9.63±0.47 | 8.56±0.90 | 7.87±0.44 | 7.49±0.11 | 6.81±0.45 |
| Directo | | | | | | |
| R1 | 13.44 | 11.67 | 11.59 | 10.62 | 7.51 | |
| R2 | 13.12 | 12.15 | 11.67 | 9.54 | 7.66 | |
| R3 | 13.12 | 14.21 | 10.73 | 10.98 | 8.83 | |
| R4 | 12.81 | 10.24 | 10.60 | 9.69 | 9.18 | |
| Promedio | 13.12±0.22 | 12.07±1.42 | 11.15±0.48 | 10.21±0.61 | 8.30±0.72 | |
| Secador flujo de aire | | | | | | |
| R1 | 13.44 | 9.89 | 9.47 | | | |
| R2 | 13.12 | 10.55 | 9.51 | | | |
| R3 | 13.12 | 9.90 | 8.96 | | | |
| R4 | 12.81 | 9.82 | 8.82 | | | |
| Promedio | 13.12±0.22 | 10.04±0.30 | 9.19±0.31 | | | |

Anexo 19: Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por tres métodos de secado de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

Cámara de secado solar

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 100.445 | 5 | 20.0891 | 61.87 | 0.0000 |
| Intra grupos | 5.84481 | 18 | 0.324712 | | |
| Total (Corr.) | 106.29 | 23 | | | |

Secado directo al sol

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 54.3215 | 4 | 13.5804 | 15.93 | 0.0000 |
| Intra grupos | 12.7913 | 15 | 0.852756 | | |
| Total (Corr.) | 67.1129 | 19 | | | |

Secado por flujo de aire caliente

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 34.2446 | 2 | 17.1223 | 167.01 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.922708 | 9 | 0.102523 | | |
| Total (Corr.) | 35.1673 | 11 | | | |

Anexo 20: Prueba de LSD para el contenido de polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por tres métodos de secado (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

Cámara de secado

Pruebas de Múltiples Rangos para el contenido de Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por Tiempo de secado, Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Tiempo</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|---------------|--------------|--------------|--------------------------|
| 5 días | 4 | 6.80645 | X |
| 4,5 días | 4 | 7.49194 | XX |
| 4 días | 4 | 7.87 | XX |
| 2,5 días | 4 | 8.56183 | X |
| 2 días | 4 | 9.63441 | X |
| 0 días | 4 | 13.0269 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|-------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 días - 2 días | * | 3.39247 | 0.846535 |
| 0 días - 2,5 días | * | 4.46505 | 0.846535 |
| 0 días - 4 días | * | 5.15688 | 0.846535 |
| 0 días - 4,5 días | * | 5.53495 | 0.846535 |
| 0 días - 5 días | * | 6.22043 | 0.846535 |
| 2 días - 2,5 días | * | 1.07258 | 0.846535 |

| | | | |
|---------------------|---|----------|----------|
| 2 días - 4 días | * | 1.76441 | 0.846535 |
| 2 días - 4,5 días | * | 2.14247 | 0.846535 |
| 2 días - 5 días | * | 2.82796 | 0.846535 |
| 2,5 días - 4 días | | 0.691828 | 0.846535 |
| 2,5 días - 4,5 días | * | 1.06989 | 0.846535 |
| 2,5 días - 5 días | * | 1.75538 | 0.846535 |
| 4 días - 4,5 días | | 0.378065 | 0.846535 |
| 4 días - 5 días | * | 1.06355 | 0.846535 |
| 4,5 días - 5 días | | 0.685484 | 0.846535 |

* indica una diferencia significativa.

Secado directo al sol

Pruebas de Múltiples Rangos para el contenido de Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por Tiempo de secado, Método: 95.0 porcentaje LSD

| Tiempo | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|----------|-------|---------|-------------------|
| 4,5 días | 4 | 8.29785 | X |
| 4 días | 4 | 10.2075 | X |
| 2,5 días | 4 | 11.1478 | XX |
| 2 días | 4 | 12.0656 | XX |
| 0 días | 4 | 13.121 | X |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|---------------------|------|------------|-------------|
| 0 días - 2 días | | 1.05538 | 1.39179 |
| 0 días - 2,5 días | * | 1.97312 | 1.39179 |
| 0 días - 4 días | * | 2.91347 | 1.39179 |
| 0 días - 4,5 días | * | 4.82312 | 1.39179 |
| 2 días - 2,5 días | | 0.917742 | 1.39179 |
| 2 días - 4 días | * | 1.85809 | 1.39179 |
| 2 días - 4,5 días | * | 3.76774 | 1.39179 |
| 2,5 días - 4 días | | 0.940349 | 1.39179 |
| 2,5 días - 4,5 días | * | 2.85 | 1.39179 |
| 4 días - 4,5 días | * | 1.90965 | 1.39179 |

* indica una diferencia significativa.

Secado por flujo de aire caliente

Pruebas de Múltiples Rangos para el contenido de Polifenoles totales (g EAG/100g de m. s.) por Tiempo de secado, Método: 95.0 porcentaje LSD

| Tiempo | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|----------|-------|---------|-------------------|
| 2,5 días | 4 | 9.18817 | X |
| 2 días | 4 | 10.0403 | X |
| 0 días | 4 | 13.121 | X |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-------------------|------|------------|-------------|
| 0 días - 2 días | * | 3.08065 | 0.512177 |
| 0 días - 2,5 días | * | 3.9328 | 0.512177 |
| 2 días - 2,5 días | * | 0.852151 | 0.512177 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 21: Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 fermentados

| Método secado | Antocianinas (mg cianidina-3-glucosido/g de m. s.) | | | | | |
|------------------------------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | a 0 días | a 2 días | a 2,5 días | a 4 días | a 4,5 días | a 5 días |
| Cámara solar | | | | | | |
| R1 | 1.99 | 1.16 | 1.05 | 0.95 | 0.52 | 0.41 |
| R2 | 1.91 | 1.25 | 1.08 | 0.82 | 0.44 | 0.38 |
| R3 | 2.06 | 1.20 | 0.95 | 1.05 | 0.46 | 0.37 |
| R4 | 2.01 | 1.30 | 1.20 | 0.82 | 0.42 | 0.45 |
| Promedio | 1.99±0.05 | 1.23±0.05 | 1.07±0.09 | 0.91±0.10 | 0.46±0.04 | 0.40±0.03 |
| Directo | | | | | | |
| R1 | 1.99 | 1.22 | 0.99 | 0.96 | 0.53 | |
| R2 | 1.91 | 1.32 | 0.94 | 0.82 | 0.52 | |
| R3 | 2.06 | 1.12 | 0.92 | 0.77 | 0.38 | |
| R4 | 2.01 | 1.44 | 1.03 | 0.73 | 0.52 | |
| Promedio | 1.99±0.05 | 1.27±0.12 | 0.97±0.04 | 0.82±0.08 | 0.48±0.06 | |
| Secador flujo de aire | | | | | | |
| R1 | 1.99 | 1.37 | 0.68 | | | |
| R2 | 1.91 | 1.25 | 0.55 | | | |
| R3 | 2.06 | 1.38 | 0.72 | | | |
| R4 | 2.01 | 1.46 | 0.83 | | | |
| Promedio | 1.99±0.05 | 1.36±0.08 | 0.69±0.10 | | | |

Anexo 22: Análisis de varianza para el contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

Cámara solar

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 6.82189 | 5 | 1.36438 | 233.59 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.105137 | 18 | 0.00584094 | | |
| Total (Corr.) | 6.92703 | 23 | | | |

Directo al sol

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 5.53461 | 4 | 1.38365 | 179.79 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.11544 | 15 | 0.007696 | | |
| Total (Corr.) | 5.65005 | 19 | | | |

Secado por flujo de aire caliente

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 2.92902 | 2 | 1.46451 | 202.54 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.065075 | 9 | 0.00723056 | | |
| Total (Corr.) | 2.99409 | 11 | | | |

Anexo 23: Prueba de LSD para contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) durante el secado por tres métodos de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

Cámara solar

Pruebas de Múltiple Rangos para Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) por Tiempo de secado Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Tiempo</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|---------------|--------------|--------------|--------------------------|
| 5 días | 4 | 0.40075 | X |
| 4,5 días | 4 | 0.4595 | X |
| 4 días | 4 | 0.9085 | X |
| 2,5 días | 4 | 1.06975 | X |
| 2 días | 4 | 1.22825 | X |
| 0 días | 4 | 1.99475 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|---------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 días - 2 días | * | 0.7665 | 0.113537 |
| 0 días - 2,5 días | * | 0.925 | 0.113537 |
| 0 días - 4 días | * | 1.08625 | 0.113537 |
| 0 días - 4,5 días | * | 1.53525 | 0.113537 |
| 0 días - 5 días | * | 1.594 | 0.113537 |
| 2 días - 2,5 días | * | 0.1585 | 0.113537 |
| 2 días - 4 días | * | 0.31975 | 0.113537 |
| 2 días - 4,5 días | * | 0.76875 | 0.113537 |
| 2 días - 5 días | * | 0.8275 | 0.113537 |
| 2,5 días - 4 días | * | 0.16125 | 0.113537 |
| 2,5 días - 4,5 días | * | 0.61025 | 0.113537 |
| 2,5 días - 5 días | * | 0.669 | 0.113537 |
| 4 días - 4,5 días | * | 0.449 | 0.113537 |
| 4 días - 5 días | * | 0.50775 | 0.113537 |
| 4,5 días - 5 días | | 0.05875 | 0.113537 |

* indica una diferencia significativa.

Cámara de secado

Pruebas de Múltiple Rangos para Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m.s.) en base seca por Tiempo de secado Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Tiempo</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|---------------|--------------|--------------|--------------------------|
| 4,5 días | 4 | 0.45 | X |
| 4 días | 4 | 0.7625 | X |
| 2,5 días | 4 | 0.97043 | X |
| 2 días | 4 | 1.27419 | X |
| 0 días | 4 | 1.99475 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|---------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 días - 2 días | * | 0.720556 | 0.132219 |
| 0 días - 2,5 días | * | 1.02432 | 0.132219 |
| 0 días - 4 días | * | 1.23225 | 0.132219 |
| 0 días - 4,5 días | * | 1.54475 | 0.132219 |
| 2 días - 2,5 días | * | 0.303763 | 0.132219 |
| 2 días - 4 días | * | 0.511694 | 0.132219 |
| 2 días - 4,5 días | * | 0.824194 | 0.132219 |
| 2,5 días - 4 días | * | 0.20793 | 0.132219 |
| 2,5 días - 4,5 días | * | 0.52043 | 0.132219 |
| 4 días - 4,5 días | * | 0.3125 | 0.132219 |

* indica una diferencia significativa.

Secado por flujo de aire caliente

Pruebas de Múltiple Rangos para Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/g de m. s.) en base seca por Tiempo de secado Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Tiempo</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|---------------|--------------|--------------|--------------------------|
| 2,5 días | 4 | 0.645 | X |
| 2 días | 4 | 1.2675 | X |
| 0 días | 4 | 1.855 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|-------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| 0 días - 2 días | * | 0.5875 | 0.136017 |
| 0 días - 2,5 días | * | 1.21 | 0.136017 |
| 2 días - 2,5 días | * | 0.6225 | 0.136017 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 24: Análisis de varianza para parámetros (L, a* y b*) de color de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco por método de secado

| Cámara de cámara de secado solar | | | Secador solar | | | Secado por flujo de aire caliente | | |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
| L* | a* | b* | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| 23.50 | 13.44 | 10.33 | 9.51 | 17.04 | 12.34 | 16.22 | 16.49 | 11.17 |
| 23.56 | 13.35 | 10.31 | 9.53 | 17.11 | 12.28 | 16.40 | 16.42 | 11.27 |
| 23.93 | 13.24 | 10.39 | 9.53 | 17.16 | 12.38 | 16.30 | 16.40 | 11.10 |
| 23.66±0.19 | 13.34±0.08 | 10.34±0.03 | 9.52±0.01 | 17.10±0.05 | 12.33±0.04 | 16.31±0.07 | 16.44±0.04 | 11.18±0.07 |

Anexo 25: Análisis de varianza para parámetros (L*, a* y b*) de color de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco según método de secado

Análisis de varianza para L* por método de secado de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 300.074 | 2 | 150.037 | 7201.77 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.125 | 6 | 0.0208333 | | |
| Total (Corr.) | 300.199 | 8 | | | |

Análisis de varianza para a* por método de secado de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 24.1508 | 2 | 12.0754 | 2278.37 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.0318 | 6 | 0.0053 | | |
| Total (Corr.) | 24.1826 | 8 | | | |

Análisis de varianza para b* por método de secado de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Entre grupos | 5.99029 | 2 | 2.99514 | 776.84 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.0231333 | 6 | 0.00385556 | | |
| Total (Corr.) | 6.01342 | 8 | | | |

Anexo 26: Prueba de LSD para los parámetros (L*, a* y b*) de color de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar CCN 51 seco según método de secado

Pruebas de Múltiple Rangos para L* por método de secado, método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| Secador solar | 3 | 9.52333 | X |
| Secado por flujo de aire caliente | 3 | 16.3067 | X |
| Cámara de cámara de secado solar | 3 | 23.6633 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|--|-------------|-------------------|--------------------|
| Cámara de cámara de secado solar - Secador solar | * | 14.14 | 0.288372 |
| Cámara de cámara de secado solar - Secado por flujo de aire caliente | * | 7.35667 | 0.288372 |
| Secador solar - Secado por flujo de aire caliente | * | -6.78333 | 0.288372 |

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para a* por Tipo de secado, Método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| Cámara de cámara de secado solar | 3 | 13.3433 | X |
| Secado por flujo de aire caliente | 3 | 16.4367 | X |
| Secador solar | 3 | 17.1033 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|--|-------------|-------------------|--------------------|
| Cámara de cámara de secado solar - Secador solar | * | -3.76 | 0.145449 |
| Cámara de cámara de secado solar - Secado por flujo de aire caliente | * | -3.09333 | 0.145449 |
| Secador solar - Secado por flujo de aire caliente | * | 0.666667 | 0.145449 |

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para b* por método de secado, método: 95.0 porcentaje LSD

| <i>Nivel</i> | <i>Casos</i> | <i>Media</i> | <i>Grupos Homogéneos</i> |
|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| Cámara de cámara de secado solar | 3 | 10.3433 | X |
| Secado por flujo de aire caliente | 3 | 11.18 | X |
| Secador solar | 3 | 12.3333 | X |

| <i>Contraste</i> | <i>Sig.</i> | <i>Diferencia</i> | <i>+/- Límites</i> |
|--|-------------|-------------------|--------------------|
| Cámara de cámara de secado solar - Secador solar | * | -1.99 | 0.124056 |
| Cámara de cámara de secado solar - Secado por flujo de aire caliente | * | -0.836667 | 0.124056 |
| Secador solar - Secado por flujo de aire caliente | * | 1.15333 | 0.124056 |

* indica una diferencia significativa.

Anexo 27. Grado de fermentación y posibles defectos en granos de cacao



Fuente: APPCACAO (2012)

Anexo 28. Clasificación de los granos de cacao fermentados para la producción interna del país

| Grado | Porcentaje de granos | | |
|-------|----------------------|------------|---|
| | Mohosos | Pizarrosos | Dañados por insectos, germinados o planos |
| 1 | 3 | 3 | 3 |
| 2 | 4 | 8 | 6 |

Los porcentajes son los máximos permitidos. Los porcentajes indicados en la última columna se aplican a todos los defectos ahí mencionados tomados en conjunto.

Fuente: NTP-ISO 2451 (2016)