

**EFFECTOS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN LA CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE Y ÁCIDO LÁCTICO DEL CACAO CULTIVADO Y
PROCESADO EN LA REGIONES DEL ALTO SINÚ (CÓRDOBA) Y MONTES
DE MARÍA (BOLÍVAR)**



**YESICA YOHANA SALCEDO PEINADO
LUDIS YOHANA MARTINEZ CASTILLO**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
BERÁSTEQUI - CÓRDOBA
2016.**

**EFFECTOS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN LA CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE Y ÁCIDO LÁCTICO DEL CACAO CULTIVADO Y
PROCESADO EN LA REGIONES DEL ALTO SINÚ (CÓRDOBA) Y MONTES
DE MARÍA (BOLÍVAR)**

**YESICA YOHANA SALCEDO PEINADO
LUDIS YOHANA MARTÍNEZ CASTILLO**

Tesis presentada en opción al Título Académico de Ingeniero de Alimentos.

Director:

DEIVIS ENRIQUE LUJÁN RHENALS, Ing. Ph.D.

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
BERÁSTEQUI-CÓRDOBA**

2016.

**La responsabilidad ética, legal y científica, de las ideas, conceptos, y resultados del
proyecto serán de los autores.**

**Artículo 61, acuerdo N° 093 del 26 de noviembre de 2002 del Consejo Superior de la
Universidad de Córdoba.**

Nota de aceptación

Firma del jurado

Firma del jurado

DEDICATORIA

A mis padres William y Ana y a mi hermanito Jamer, forjan mi coraje.

A mis sobrinos Jhoel y Jhoan, me inspiran

A ti mi Isma ¡cuánta falta me haces!

Yesica.

*A mis padres, al resto mi familia, por su apoyo, consejos, comprensión, paciencia,
ayuda en los momentos difíciles y por ayudarme con los recursos necesarios para*

estudiar y lograr mis objetivos.

Ludis.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, mi gran señor, por tu amor incondicional, por darme el bastón del discernimiento, ante la adversidad, pensamientos, sueños, confianza y Fe estuvieron encaminadas al creador, enfocadas en Ti.

A mis padres Ana y William, por ser mi inspiración y motivación, por darme animo cuando mis fuerzas flaqueaban, no establecimos límites, luchamos por ir más allá del significado concertado, en una palabra.

A mi hermanito Jamer, su preocupación constante estuvo siempre inclinada en mi bienestar, sus expresiones de afecto y cariño al final condujeron a verme sonreír con gran felicidad.

Al Dr. Deivis Luján por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de esta tesis.

A la Universidad de Córdoba por el apoyo financiero que permitió la realización de este proyecto.

Al Dr. Guillermo Martínez y al Laboratorio de Ciencias de los Alimentos de la Universidad Nacional sede Medellín, por su colaboración y aporte en esta investigación.

A Isa y David por su hospitalidad y acogida, me sentí en familia.

A mis amigos, por sus palabras de apoyo y paciente espera mientras estuve ausente.

A todos, gracias.

Yesica.

Agradezco a Dios por la salud, por su infinita bondad y por haberme permitido lograr mis objetivos, por no dejarme rendir a pesar de todas las situaciones que en algún momento eran complicadas y él me permitió que eso no fuera impedimento para continuar.

A mis padres Luz Marina y Adolfo, a ustedes por su amor incondicional, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por sus consejos, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, por estar siempre luchando junto a mí. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos. A mis hermanitos por estar cerca de mí como apoyo incondicional.

Gracias también a mis compañeros de este logro cumplido David Ibañez y Yesica Salcedo por su apoyo incondicional en los momentos y dificultades vividos en el cumplimiento de este objetivo.

Al profesor Deivis Luján, quien estuvo en este recorrido para lograr el cumplimiento de los objetivos planteados.

Ademas a todo el resto de profesionales que estuvieron incondicionalmente, transmitiendo sus enseñanzas para forjar nuestra vida profesional, a la Universidad de Cordoba por permitir entrar en ella y recorrer este camino.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

Ludis.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág
RESUMEN.....	
ABSTRACT.....	
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. HISTORIA: CACAO Y CHOCOLATE.....	3
2.2. CARACTERÍSTICAS DEL CACAO Y VARIEDADES	4
2.3. BENEFICIO DEL CACAO.....	6
2.3.1. Fermentación del cacao	7
2.3.2. Métodos de fermentación de cacao	8
2.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS ZONAS DE ESTUDIO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	9
2.5. COMPUESTOS FENÓLICOS.....	10
2.6. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	12
2.6.1. Antioxidantes, beneficios en la salud	12
2.6.2. Evaluación de la capacidad antioxidante	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14

3.1.LOCALIZACIÓN.....	14
3.2.DIAGNÓSTICO DE LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	14
3.3.MONTAJE DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.....	15
3.4.PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	16
3.5.CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA AL GRANO DE CACAO FRESCO (HUMEDAD, GRASA, PROTEÍNA, CENIZAS, FIBRA, % MUCILAGO, °BRIX, ACIDEZ, PH Y AZÚCARES REDUCTORES)	17
3.6.DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO.....	18
3.7. Determinación de fenoles totales.	18
3.8. Determinación de la actividad atrapadora del radical ABTS•+.....	18
3.9. Determinación de la capacidad reductora con el ensayo FRAP.....	19
3.10. Diseño experimental.....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1.DIAGNÓSTICO DE LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LAS VARIEDADES DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) ISI 39 E ICS 95 CULTIVADAS Y PROCESADAS EN EL ALTO SINÚ (CÓRDOBA) Y MONTES DE MARÍA (BOLÍVAR), RESPECTIVAMENTE.....	21
4.1.1. Productores visitados en las zonas de estudio.....	22
4.1.2. Área cultivada por productor en las zonas de estudio.....	23

4.1.3.	Edad de los cultivos en las zonas de estudio.....	24
4.1.4.	Producción de cacao (Kg/año) por hectárea en las zonas de estudio.	25
4.1.5.	Tipos de clones de cacao cultivados en las zonas de estudio.....	27
4.1.6.	Tipos de fermentador empleado por los productores en las zonas de estudio.....	28
4.1.7.	Descripción del Proceso de fermentación en las dos zonas de estudio.....	30
4.1.8.	Selección del sitio para la realización del proceso de fermentación.	34
4.2.	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL CACAO UTILIZADO PARA FERMENTACIÓN Y ANÁLISIS DEL GRANO EN LAS ZONAS DEL ALTO SINÚ Y MONTES DE MARÍA.....	34
4.3.	DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO.....	37
4.4.	DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (FENOLES TOTALES) Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CACAO CULTIVADO Y PROCESADO EN EL ALTO SINÚ Y MONTES DE MARÍA.....	38
4.4.1.	Determinación de Fenoles totales.....	37
4.4.2.	Determinación de la actividad atrapadora del radical libre ABTS•+	42
4.4.3.	Determinación de la capacidad reductora de Hierro con el ensayo FRAP.....	43
5.	CONCLUSIONES.....	46
6.	RECOMENDACIONES.....	47

7. BIBLIOGRAFÍA.....	48
ANEXOS.....	61

LISTA DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Productores visitados en Alto Sinú y Montes de María durante el diagnóstico del proceso de fermentación de cacao.....	22
TABLA 2. Extensión de terreno (ha) cultivado por los productores durante el diagnóstico del proceso de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	23
TABLA 3. Edad de los terrenos cultivados con cacao durante el diagnóstico del proceso de fermentación en Alto Sinú y Montes de María....	24
TABLA 4. Cantidad de cacao (Kg/ha. año) obtenido por los productores durante el diagnóstico del proceso de fermentación en Alto Sinú y Montes de María.....	26
TABLA 5. Tipos de clones cultivados durante el diagnóstico del proceso de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	27
TABLA 6. Tipo de fermentador empleado por los productores en Alto Sinú y Montes de María durante el proceso de fermentación de cacao.....	29

TABLA 7.	Variables tenidas en cuenta por los productores de Alto Sinú y Montes de María para finalizar el proceso de fermentación de cacao.....	33
TABLA 8.	Caracterización fisicoquímica del grano de cacao fresco en Alto Sinú y Montes de María.....	35
TABLA 9.	Porcentaje de ácido láctico del grano durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	37
TABLA 10.	Fenoles totales del grano durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	39
TABLA 11.	Valores de ABTS ($\mu\text{mol Trolox. / g cacao seca}$) del grano de cacao durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	42
TABLA 12.	Valores FRAP del grano durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	44
TABLA 13.	Modelo polinómico de FRAP explicado por los días de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	45

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Cultivo de cacao ICS 95 en Alto Sinú.....	64
FIGURA 2.	Cultivo de cacao ICS 39 en Montes de María.....	64
FIGURA 3.	Cosecha y clasificación de cacao.....	64
FIGURA 4	Despepitado de cacao.....	65
FIGURA 5.	Etapa de fermentación de cacao.....	65
FIGURA 6.	Secado natural de Cacao.	65
FIGURA 7.	Espectrofotómetro de placas Thermo Scientific Multiskan Spectrum.....	66
FIGURA 8.	Tipo de fermentador utilizado en las zonas de estudio. a. Escalera en Alto Sinú; b. Lineal en Montes de María.....	30
FIGURA 9.	Diagrama de flujo del proceso de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.....	31

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Contenido de fenoles totales de los granos de cacao en cada día del proceso con respecto al cacao sin fermentar en Alto Sinú y Montes de María.....	41
GRÁFICO 2	Actividad atrapadora del radical libre ABTS•+ de los granos de cacao en cada día del proceso con respecto al cacao sin fermentar en Alto Sinú y Montes de María.....	43
GRÁFICO 3	Capacidad reductora con el ensayo FRAP de los granos de cacao en cada día del proceso con respecto al cacao sin fermentar en Alto Sinú y Montes de María.....	45

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Encuestas realizadas a los productores de cacao en el diagnóstico del proceso de fermentación.....	62
ANEXO B. Proceso de recolección, fermentación y secado de cacao.....	64
ANEXO C. Equipos empleados para la determinación de fenoles totales, actividad antioxidante y azúcares reductores.....	66
ANEXO D. Estadísticas descriptivas de la caracterización fisicoquímica del grano de cacao sin fermentar en las zonas de estudio.....	67
ANEXO E. Análisis de varianza de la caracterización fisicoquímica del grano de cacao sin fermentar en las zonas de estudio.....	68
ANEXO F. Estadísticas descriptivas de las variables a través de los días de fermentación en cada zona de estudio.....	69
ANEXO G. Estadísticas descriptivas de las variables entre las zonas de estudio en cada día del proceso de fermentación.....	69
ANEXO H. Análisis de varianza de a través de los días de fermentación en cada zona de estudio.....	70
ANEXO I. Análisis de varianza de las variables entre las zonas de estudio en cada día del proceso de fermentación.	70

ANEXO J.	Estimativa (error estándar) de los modelos ajustados para las variables que presentaron diferencias significativas entre los días de fermentación en la zona Alto Sinú y Montes de María....	71
-----------------	--	----

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao L.*), no solo es uno de los productos agroalimentarios de origen neotropical de mayor penetración en el mercado internacional, sino que está reconocido como una importante fuente de antioxidantes dado su elevado contenido en compuestos fenólicos, principalmente flavanoles y procianidinas, los cuales aportan beneficios para la salud humana. Esta investigación tuvo como objetivo diagnosticar el estado actual del proceso de fermentación artesanal de cacao, caracterización fisicoquímica, ácido láctico, fenoles totales y capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS y FRAP, del cacao utilizado por los productores de las zonas del Alto Sinú y Montes de María. Se trabajó en cada zona el clon de cacao con el cual los productores han tenido mejores resultados, ICS-39 para Alto Sinú e ICS-95 para Montes de María. En el Alto Sinú la actividad cacaotera presenta mayores avances, reflejándose en un proceso más tecnificado, mayor terreno cultivado por productor (2,8 ha.), mayores rendimientos (830 Kg.ha⁻¹.año⁻¹) con respecto a la zona de los Montes de María (250 Kg.ha⁻¹.año⁻¹). El clon ICS-95 presentó mayores valores de: humedad (10,44%) proteína (20,77%), fibra (14,78%), y mucílago (69,50%), a diferencia del clon ICS-39 con valores mayores de azúcares reductores (0,85 mg glucosa eq. /g. cacao) y °Brix (17,57%). Se encontró que el contenido de ácido láctico no presentó cambios

durante la fermentación en Alto Sinú, pero si en Montes de María, entre las zonas no se presentaron diferencias en ninguno de los días del proceso. El contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante atrapadora (ABTS) no variaron entre los días del proceso ni entre las zonas de estudio; sin embargo, la capacidad antioxidante reductora (FRAP) de los granos de cacao mostró diferencias entre los días como entre las zonas de estudio, disminuyó, pasando de 33,99 a 13,38 en el Alto Sinú y de 23,84 a 5,02 mg. ác Ascórbico /g cacao en Montes de María.

El Clon ICS 95 de la zona Montes de María es más rico fisicoquímicamente de acuerdo con el análisis bromatológico, presenta mayor contenido en proteína bruta, fibra, y porcentaje de mucílago, mientras que el clon ICS 39 del Alto Sinú es más rico en grasa y cenizas. Sin embargo, en Alto Sinú el proceso es más tecnificado y más productivo. La cantidad de fenoles, capacidad atrapadora de radicales (ABTS) no se ven afectadas por el proceso de fermentación en las dos zonas; en cambio la capacidad reductora (FRAP) presenta diferencias durante la fermentación en cada zona y entre las mismas a través de los días del proceso fermentativo de estudio.

Palabras Clave: Cacao, Fermentación, Antioxidantes, Fenoles, Catequinas.

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao L.*) is not only one of the food products with neotropical origin and large penetration in the international market, but is recognized as an important source of antioxidants because of their high content in phenolic compounds, mainly flavanols and procyanidins, which provide benefits to human health. This research aimed to diagnose the current state of the process of artisanal fermentation of cocoa, physico-chemical characterization, lactic acid, total phenolics and antioxidant capacity through the methods ABTS and FRAP, of cocoa used by producers of the Alto Sinú and Montes de Maria. Cocoa clone which producers have had best results, ICS-39 for Alto Sinú and ICS-95 for Montes de Maria were selected in each area. Alto Sinú has great advances in the cocoa activity, reflected in a more technical process, more land cultivated by producer (2,8 ha.), higher yields ($830 \text{ Kg.ha}^{-1}.\text{year}^{-1}$) than the area of Montes de María ($250 \text{ Kg.ha}^{-1}.\text{year}^{-1}$). ICS-95 clone showed higher values of humidity (10,44%) protein (20,77%), fiber (14,78%), and mucilage (69,50%); on the other hand, clone ICS-39 had higher values of reducing sugars (glucose $0,85 \text{ mg eq./g. cocoa}$) and ° brix (17,57%). It was found that the lactic acid content showed no change during fermentation in Alto Sinú, but in Montes de Maria, between areas showed no differences in any of the days of the process. In these clones did not change the total phenolic content and antioxidant scavenging capacity

(ABTS) process between days or between the study areas; however, reducing the antioxidant capacity (FRAP) of cocoa beans showed differences between days and between study areas, decreased from 33,99 to 13,38 in the Alto Sinú and 23,84 to 5,02 mg Ác. Ascorbic/g

The ICS 95 clone of the Montes de María area is richer physicochemically according to the analysis bromatological, has a higher content of crude protein, fiber, and percentage of mucilage, while ICS 39 clone of Alto Sinú is richer in fat and ash. However, in Alto Sinú the process is more technological and more productive. The amount of phenols, radical scavenging capacity (ABTS) were not affected by the fermentation process in the two zones; however the reducing capacity (FRAP) was different during fermentation in each zone and between the through days during the study of fermentation process.

Keywords: Cocoa, Fermentation, antioxidants, phenols, catechins.

1. INTRODUCCIÓN

Una disminución en la producción mundial de cacao y la creciente demanda de los países desarrollados han presentado una gran oportunidad para los productores nacionales. La producción de cacao en Colombia para el periodo 2014-2015 fue de 54.000 toneladas (FEDECACAO 2015). Colombia ocupó en 2014 la décima posición en hectáreas aptas para el cultivo de cacao con un total de dos millones de hectáreas, Santander, Casanare, Meta, Bolívar y Norte de Santander son los departamentos con mayor número de metros cuadrados aptos para el cultivo. De igual forma, Santander, Nariño, Huila, Norte de Santander y Antioquia son los departamentos con mayor área sembrada en cacao (PROEXPORT 2014).

Entre las partes del árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.) las más utilizadas son los granos, que están compuestas del mucílago y el cotiledón, en el cual se destaca la presencia de compuestos bioactivos como polifenoles (Graziani et al. 2003), estos se encuentran asociados con la actividad antioxidante y con las características organolépticas de los diversos productos elaborados a partir del cacao (Wollgast y Anklam 2000). El cacao y sus derivados presentan propiedades beneficiosas para la salud en humanos, reportes indican que el consumo de cacao o chocolate reduce el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares, además del efecto de los polifenoles en la disminución del colesterol

total y regulación en la presión arterial, sistólica y diastólica (Heiss et al. 2010). Durante la fermentación de cacao se producen cambios bioquímicos que disminuyen el amargor y astringencia dando origen a los compuestos precursores del aroma y sabor característico a chocolate, lo cual determina la calidad física y química de sus derivados (Meyer et al. 1989). La fase oxidativa continua en el secado del grano y se completa la formación de los compuestos del aroma y sabor (Graziani et al. 2003). Diversos factores influyen sobre el proceso fermentativo, dentro de los que se destaca el tipo de cacao, las condiciones ambientales, así como el sistema empleado para la fermentación (Rohan 1964).

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la fermentación en los compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante del cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivado y procesado en la región del Alto Sinú (Córdoba) y Montes de María (Bolívar).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. HISTORIA: CACAO Y CHOCOLATE.

Cacao, es el nombre que recibe la planta *Theobroma cacao* L. termino que también se usa para referirse al grano producto de este cultivo (León 2000). El término cacao deriva del término “cacahuatl” proveniente de las lenguas Mayas y Aztecas. El árbol del cacao, clasificado por Linneo como *Theobroma cacao* L. (en latín literalmente “cacao, alimento de dioses”), de la familia Esterculiáceas es originario de Sudamérica, concretamente de los valles del Amazonas y Orinoco (Enriquez y Paredes 1983).

En Europa se empezó a consumir el cacao como chocolate tras la colonización de América a finales del siglo XVI. En aquellos años el chocolate se consumía todavía en forma líquida y se vendía principalmente como bloques prensados de una masa granulada que se disolvía en agua o leche para formar una bebida espumosa de chocolate. La producción masiva de estos bloques de chocolate se inició en el siglo XVIII (Afoakwa 2010).

Van Houten en 1828 inventó una prensa de cacao que tuvo éxito en la separación de la manteca del licor de cacao; el polvo de cacao resultante era mucho más fácil de disolver en agua y otros líquidos. Estos avances fueron seguidos por el invento de la máquina de

conchar por Rudolphe Lindt en 1880, que permitió obtener un chocolate de mejor gusto y con una textura fina y cremosa (Afoakwa 2010).

2.2. CARACTERÍSTICAS DEL CACAO Y VARIEDADES

El cacao es un árbol de hoja perenne cuya longitud es de hasta unos 30 cm. Los frutos son una baya grande y oval que cuando son maduros tienen una longitud variable, entre 10 cm a 35 cm y un peso que puede oscilar desde 200 g hasta aproximadamente 1 Kg. Dentro del fruto hay un promedio de 30-40 granos ovalados envueltos en una pulpa blanquecina, mucilagosa y viscosa con sabor ligeramente dulce cuyo cotiledón se encuentra encerrado por una cáscara, el sabor de estos granos es amargo con toques astringentes. El fruto cambia de color durante el proceso de maduración, pasando desde el verde (inmaduro), amarillo (casi maduro) y amarillo (cuando van madurando) para la variedad criollo, y de verde (inmaduro) a rojizo (maduro) para algunos tipos de clones (Torres 2012).

Los principales constituyentes del cacao son grasa, compuestos fenólicos, materia nitrogenada (proteínas y purinas), almidón y otros carbohidratos además de materia inorgánica (Belitz 1997 citado por Recalde 2007). La composición del grano del cacao depende de elementos como el genotipo o las condiciones de crecimiento del árbol (características del suelo, clima, horas de insolación, entre otros). Aproximadamente del 48 al 57% del peso del grano descascarillado y seco corresponde a su contenido en lípidos. La fracción lipídica del cacao se conoce como la manteca de cacao y es la responsable de buena parte de las tan apreciadas propiedades sensoriales del chocolate, los ácidos grasos predominantes son mayoritariamente saturados, esteárico (C18:0 - 35%) y palmítico

(C16:0 - 25%), pero también contiene una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados representados casi exclusivamente por el ácido oleico (C18:1 - 35%) y también una pequeña cantidad de poliinsaturados en forma de linoleico (C18:2 - 3%). El resto corresponde a un 2-5% de agua, un 11-16% de proteínas, un 6-9% de hidratos de carbono, un 6-4% de sales minerales y otro 2,1- 3,2% de fibra (Graziani et al 2003). El grano del cacao contiene una gran cantidad de vitaminas y minerales muchos de los cuales siguen estando presentes en altas concentraciones en los subproductos. El cacao es rico en magnesio (400 mg/100g), fósforo (656 mg/100g, calcio (114 mg/100g) y potasio (Steinberg et al. 2003).

El cacao presenta compuestos que le confieren un pequeño poder estimulante como lo son alcaloides de tipo base púrica, de la familia de las metilxantinas (teobromina, cafeína y teofilina), El alcaloide mayoritario es la teobromina, metabolito de la cafeína. Este alcaloide representa entre el 0.8 y el 2% del contenido total de los granos de cacao desecados (Torres 2012). En los granos de cacao destaca la presencia de compuestos bioactivos como los polifenoles. Los granos son ricas en flavonoides, principalmente en flavanoles, seguidos en mucha menor proporción de flavonoles flavonas, antocianos y otros compuestos fenólicos (Sanbongi et al. 1998).

En general, las variedades del árbol del cacao son Criollo, Nacional, Forastero y Trinitario. La variedad Criollo supone un 5% de la producción mundial de cacao y es una de las variedades más apreciadas por el tipo de fruto que proporciona, pero es una de las que menos se cultiva por su susceptibilidad a padecer enfermedades. El Nacional tiene un aroma mucho más suave y es cultivado en Ecuador; el Forastero es la variedad más ampliamente cultivada sobretodo en la región del Amazonas; y el Trinitario, que es un

híbrido entre Criollo y Forastero mucho más resistente a las enfermedades, es el cacao más utilizado en la mayor parte del mercado del cacao y del chocolate (Afoakwa 2010)

2.3. BENEFICIO DEL CACAO

Se conocen 6 etapas vitales para el beneficio del cacao: recolección, desgrane, fermentación, secado, limpieza y clasificación del grano (AGROCADENAS 2005). El desgrane consiste en fraccionar la mazorca en forma perpendicular a su mayor diámetro para extraer los granos de la placenta en forma manual. En la fermentación, el grano se desprende de la pulpa, esto se realiza con el fin de facilitar su conservación y desencadenar modificaciones bioquímicas en el interior de los cotiledones que se traducen en un aumento de volumen, desaparición del color púrpura y aparición del pardo característico del cacao elaborado; así mismo la disminución del sabor amargo y de la astringencia, estos cambios permiten el desarrollo de los precursores del aroma que condicionan la calidad del chocolate. Los sistemas de fermentación varían entre regiones, pero prevalece en Colombia el sistema de cajón y escalera y en menor proporción el de tambor (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural 2001).

Luego de la fermentación se realiza el secado del grano, con el objetivo de disminuir el contenido de humedad, la acidez y la astringencia y, desarrollar el color chocolate característico de los granos bien fermentados. Se realiza de manera natural o artificial, prevaleciendo en los cultivadores colombianos el método natural (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural 2001).

2.3.1. Fermentación del cacao

La primera fase de la fermentación inicia con la transformación del azúcar de la pulpa en alcohol y dióxido de carbono, actividad realizada por levaduras (con mayor frecuencia del género *Saccharomyces spp.* (Particularmente *S. cerevisiae*, *Candida krusei*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia fermentans*, *Hansenula anomala* y *Schizo-saccharomyces pombe*) (Hansen y Welty 1970, citado por Beckett 1994). A continuación, y debido a mejoras en las condiciones aeróbicas, las bacterias inician la oxidación del alcohol en ácido láctico y posteriormente en ácido acético. Esto origina un calentamiento e incremento de la temperatura dentro de las primeras 24 horas. Las bacterias ácido lácticas están presentes desde el inicio de la fermentación, pero sólo son dominantes entre las 48 y 96 horas del proceso fermentativo; estos compuestos y la temperatura participan en la muerte del embrión que viene acompañada de un aumento en la permeabilidad de las paredes celulares lo que permite una interdifusión de los componentes del jugo celular y se inician las reacciones enzimáticas en los cotiledones. Entre las bacterias lácticas más comunes se encuentran *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus fermentum*. En una tercera etapa, bacterias acéticas convierten el alcohol en ácido acético, estas también están presentes desde el inicio de la fermentación, pero solo son más activas al final de la fermentación, cuando aumenta la aireación; entre las más encontradas están las del género *Acetobacter* y *Gluconobacter* (Beckett 1994).

2.3.2. Métodos de fermentación de cacao

La fermentación como procedimiento para conservar alimentos se ha usado desde épocas prehistorias en todo el mundo, ancestros mesopotámicos usaron esta técnica para preparar y consumir alimentos como el cacao y la vainilla (Cuyan 2014).

Se han realizado investigaciones de los diferentes métodos para la fermentación del cacao:

En Venezuela se ha evaluado la calidad comercial del grano de cacao usando distintos tipos de fermentadores y variando la frecuencia en la remoción. Los resultados revelaron que las características físicas no variaron significativamente en todos los factores estudiados. El mayor grado de fermentación se obtuvo para una frecuencia de remoción cada 24 horas con un 86% de granos fermentados y secos. Los cajones de madera y las cestas plásticas mostraron el 84% y 83% de fermentación respectivamente, observándose diferencias para la acidez entre los factores estudiados (Álvarez et al. 2010).

El efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao tipo nacional fue estudiado en Ecuador, con el objetivo evaluar los tipos de fermentadores y los diferentes tiempos de fermentación usados por los productores de cacao de la zona norte y central de la provincia de Manabí- Ecuador. Se utilizaron cuatro fermentadores: saco de yute, montón, caja de madera y tina plástica, con una capacidad para almacenar 60 Kg de cacao y tiempos de fermentación de 2 a 5 días. De los fermentadores y los tiempos utilizados por los productores se presentan las mejores características de calidad entre los cuatro y cinco días de fermentación en cajas de madera. Se concluye que el tiempo de fermentación a diferencia del tipo de fermentador, tiene influencia sobre las variables físicas y químicas analizadas (Rivera 2012).

Existen 2 formas de fermentar el cacao más usadas

a) Apilamiento: es la forma más simple, consiste en colocar las almendras o granos de cacao sobre un tendido de hojas de plátano, banano o lona plástica formando una pila la cual se cubre con hojas o sacos (Cubillos et al. 2008).

b) En cajones: En algunas partes de Colombia se usan canastos o tanques para fermentar el cacao; sin embargo, la manera más práctica es la de cajones hechos de madera resistente a la humedad y que no desprenda olores fuertes. Estas cajas se diseñan con el objeto de que estén ventiladas y el escurrido fluya, los cajones llevan perforaciones de 1 cm de diámetro en el fondo separados a 10-15 centímetros para propiciar el escurrimiento de los exudados. Se recomienda utilizar madera no amarga, resistente a la humedad y que no desprenda olores. El método de cajones de madera es el más recomendado actualmente por el gobierno para el plan de mejorar la calidad de cacao colombiano (Cubillos et al. 2008).

2.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS ZONAS DE ESTUDIO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN

En el departamento de Córdoba, la mayor parte de la zona montañosa la conforma El Alto Sinú, incluye los municipios de Tierralta y Valencia (Gobernación de Córdoba). La actividad cacaotera este departamento, se inició en el marco del programa familias Guardabosques, como alternativa para contrarrestar los efectos de los cultivos ilícitos y la producción y tráfico de drogas y para cambiar el enfoque colombiano de economía de

pequeños productores al de una producción empresarial masiva y enfocada en el mercado internacional (Alimentec 2014).

Los montes de María en el departamento de Bolívar están conformados por siete (7) municipios: El Carmen de Bolívar, Zambrano, El Guamo, María La Baja, Córdoba Tetón, San Jacinto y San Juan Nepomuceno. En términos de desarrollo económico y social Bolívar se encuentra dividido en cuatro (4) zonas: Magdalena Medio Bolivarense, Loba, Mojana Bolivarense y Montes de María Bolivarense, en la producción de cacao, esta última, está representada por 3 municipios: El Carmen de bolívar, San Jacinto y San Juan de Nepomuceno (Fonseca et al. 2011). En San Jacinto la producción de cacao nace con el fin de beneficiar más de 120 familias desplazadas forzosamente por la violencia para que retornaran de manera voluntaria en estos municipios, para el mejoramiento sus ingresos económicos y fortalecimiento de la seguridad alimentaria a través de la producción de cacao (Emprender paz 2014).

2.5. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los polifenoles, son estructuras químicas formadas por un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo, incluyéndose también derivados funcionales como ésteres, metil ésteres, glucósidos, entre otros. Forman un grupo de compuestos heterogéneos de alto peso molecular resultante del metabolismo secundario en plantas. Están distribuidos en todo el reino vegetal, la forma más frecuente de encontrarlos en la naturaleza es conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilo (Castillo et al. 2007)

El grupo más sencillo se atribuye a los fenoles propiamente dichos: ácidos fenólicos y cetonas polifenólicas, fenilpropanoides, basados en un núcleo C_6C_3 . Los polifenoles son un amplio grupo constituido por diferentes compuestos: cumarinas, cromonas, benzofuranos y lignanos. Existen también las xantonas (con esqueleto C_6CC_6), los estilbenos (con esqueleto $C_6C_2C_6$) y las quinonas (venzo-, nafto- y antraquinonas). Por último, se encuentran los flavonoides, que suponen aproximadamente la mitad de los compuestos fenólicos presentes en las plantas, se pueden clasificar en varios grupos diferentes: antocianinas (pigmentos), flavonoides menores (flavononas, dihidroflavonoles y dihidrochalconas), flavonas, flavonoles, flavanoles (catequinas, epicatequinas) isoflavonoides, antocianidinas, auronas y taninos condensados (Castillo et al. 2007).

El cacao puede contener entre 10-50 mg de polifenoles totales, dependiendo de su origen y de la forma de procesamiento. En el cacao pueden distinguirse tres grupos principales de flavonoides: catequinas (37%), antocianinas (4%) y proantocianidinas (58%). Las catequinas: catequina y epicatequina se agrupan como flavanoles monómeros. Las proantocianidinas se presentan con diferente grado de polimerización en el cacao y sus subproductos, se les encuentra como dímeros, trímeros, tetrámeros, hasta decámeros (Dreosti 2000). En nuestra dieta, los flavanoles del cacao están presentes, primariamente, en aquellos chocolates cuya composición comprende, generalmente, más del 60% de cacao, el contenido de polifenoles totales en dichos chocolates es de 10-15mg/g y el de flavanoles monoméricos (catequina-epicatequina) de 0,8-1,2 mg/g. (Heiss 2010).

2.6. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena (Londoño 2012). La actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos (con más de un grupo fenol por molécula) se basa en su capacidad secuestradora de radicales libres (scavengers) y de quelación de metales como Fe (II) y Cu (I) bajo una forma redoxinactiva (Heiss 2010).

2.6.1. Antioxidantes, beneficios en la salud.

Una de las causas principales de muerte a nivel mundial son las enfermedades cardiovasculares; sin embargo, estudios demuestran que el riesgo puede reducirse significativamente con el alto consumo de alimentos ricos en polifenoles, particularmente del tipo flavonoides (Ostertag et al. 2010).

El consumo de cacao o de chocolate negro se traduce en un menor estrés oxidativo, lo que se evidencia en una menor oxidabilidad de LDL (Lipoproteína de baja densidad), en una disminución de ciertos productos de oxidación celular y marcadores de estrés oxidativo plasmáticos, y en un aumento de la capacidad antioxidante del plasma (Fisher et al. 2003). Adicionalmente, el consumo de chocolate negro puede reducir el riesgo de formación de trombos a través de una modulación favorable de la función plaquetaria. También, ciertos flavanoles del cacao tienen la capacidad para incrementar la producción y disponibilidad

de óxido nítrico (NO•) en el endotelio vascular, esto se traduce en efecto vasodilatador y por ende en una protección cardiovascular. La mayor producción de NO• está asociada, principalmente, a una acción de la epicatequina y tiene lugar tanto en forma aguda como crónica (Fisher et al. 2003).

2.6.2. Evaluación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante total de una muestra viene determinada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos, así como por el modo de acción concreto de cada uno de ellos, es necesario combinar más de un método para evaluar de manera correcta la capacidad antioxidante de una muestra (Frankel y Meyer 2000).

Se han desarrollado, durante los últimos años, muchos métodos para evaluar la capacidad antioxidante de alimentos, como el método ABTS (6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina) y DPPH (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo), estos se basan en la captación de distintos radicales libres. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico. Por otro lado, se encuentra el método FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) basado en reducción del complejo de la tripiridiltriazina férrica al complejo ferroso por un antioxidante en medio ácido. El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes (Prior y Cao 1999).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La fase de muestreo y diagnóstico de los procesos de fermentación en esta investigación fueron desarrollados en las veredas Osorio (Tierralta-Córdoba) y El Bongal (San Jacinto-Bolívar). Los análisis se realizaron en las instalaciones de las plantas piloto, los laboratorios de Análisis de alimentos y de Fermentaciones de la Universidad de Córdoba, y en el laboratorio del grupo de investigación Ciencia de los alimentos de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

3.2. DIAGNÓSTICO DE LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN

Para el desarrollo de esta investigación se seleccionaron las regiones del Alto Sinú (Córdoba) y Montes de María (Bolívar) debido a su tradición en el cultivo, reconocimiento en la Costa Caribe y a los avances que presentan en el cultivo de cacao, siendo estos una alternativa para la erradicación de cultivos ilícitos. Se contactaron asociados productores de cacao en las zonas de estudio teniendo previa autorización por parte de las asociaciones, para realizar visitas con el fin de hacer una inspección y evaluación detallada de las

técnicas y procesos de fermentación; realizando encuestas a los cultivadores (Anexo A). También se hizo evaluación a las principales variables (temperatura, tiempo, color, flujos de masa) aplicadas en las zonas de estudio.

Con base en el diagnóstico de las condiciones del proceso de fermentación, se escogió el lugar donde se llevó a cabo el proceso de cada zona para el cumplimiento de los siguientes objetivos del proyecto, teniendo en cuenta disponibilidad del fruto y producción, método de fermentación, accesibilidad y seguridad en cuanto a alteraciones de orden público e incidencia en grupos al margen de la ley.

A partir de la información obtenida en las encuestas se seleccionó un cultivador en cada zona para realizar la toma de muestras de cacao fermentado en cada día del proceso, se tuvo en cuenta aspectos como el adecuado manejo técnico que le dan al cultivo, la producción por hectárea, el tamaño y edad, las condiciones locativas del fermentador y disponibilidad de otros cultivos a sus alrededores.

3.3. MONTAJE DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS

Para el montaje del proceso de fermentación se utilizó un clon de cacao diferente en cada zona, con base en la información obtenida en el diagnóstico, escogiéndose los clones más representativos y con mayor rendimiento en cada una (Anexo B: Figuras 1 y 2).

Los clones fueron suministrados por cultivadores de las regiones Alto Sinú y Montes de María; las muestras del clon ICS 39 fueron tomadas en la vereda Osorio del municipio de

Tierralta (Alto Sinú), y las muestras del clon ICS 95 en la vereda El Bongal del municipio San Jacinto (Montes de María). Los frutos fueron recolectados manualmente de árboles con edades similares (5-7 años) y sin presencia de patógenos en su corteza (Anexo B: Figura 3). El proceso de fermentación se realizó en un cajón de madera tipo lineal con 4 compartimentos realizando trasposos de la mezcla de un cajón a otro cada 24 horas, para las dos zonas, con lo cual se busca disipar calor, y homogenizar la mezcla para que se desarrollen las mismas reacciones en toda la masa (Anexo B: Figuras 4 y 5).

Durante los 6 días de fermentación, se procedió a secar al sol las muestras tomadas del fermentador (400 g) (Anexo B: Figura 6), se almacenaron en bolsas de cierre hermético hasta la llegada al laboratorio donde se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para frenar las reacciones propias del bioproceso.

3.4. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para los análisis de fenoles totales y capacidad antioxidante se obtuvo un extracto metanólico, siguiendo el protocolo expuesto por Gu et al. (2006), modificado (Zapata et al. 2013). Se sometieron los granos de cacao, previamente secos al sol durante tres (3) o (4) días, dependiendo de las condiciones climáticas, a un proceso de molienda en un molino coloidal (Marca Corona), seguidamente se homogenizó 1 g de muestra de cacao en 10 mL de metanol puro, posteriormente, se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min. El extracto fue convenientemente diluido para ajustar la lectura del espectrofotómetro a las curvas de calibración ya estandarizadas. Para la determinación de ácido láctico y pH las muestras se homogenizaron utilizando agua como solvente.

3.5. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA AL GRANO DE CACAO FRESCO (HUMEDAD, GRASA, PROTEÍNA, CENIZAS, FIBRA, % MUCILAGO, °BRIX, ACIDEZ, PH, AZÚCARES REDUCTORES, DIMENSIONES Y PESO DE UN GRANO)

Se determinaron a las muestras que correspondientes al día cero (0) de las zonas de estudio los siguientes análisis físicoquímicos: humedad (925.10. AOAC, 1998); cenizas (942.05. AOAC, 1998); proteínas (960.52. AOAC, 1998); fibra (985.29. AOAC, 1998); grasa (945.39. AOAC, 1998); pH (981.12 de la AOAC. 1998, adaptado); acidez (942.15 de la AOAC. 1998, adaptado); azúcares reductores en espectrofotómetro de placas (Thermo Scientific Multiskan Spectrum) (Anexo C: Figura 7) (Miller 1959); °Brix (refractómetro digital Mettler Toledo modelo 30PX); dimensiones usando un calibrador pie de rey (Mitutoyo CD-S6"CT); peso de un grano (Balanza Ohaus AV 313); y porcentaje de mucilago por diferencia de peso (Balanza Ohaus AV 313). Los granos de cacao empleados para este estudio no fueron sometidos al proceso de tostado ni descascarillado ya que durante el proceso de tostado continúan desarrollándose reacciones bioquímicas y el objetivo principal de la presente investigación fue determinar los efectos del proceso de fermentación.

3.6. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO

Se determinó la variable acidez a los granos de cacao secos durante los días del proceso de fermentación en las dos zonas de estudio empleando la metodología descrita en el ítem anterior (3.5).

3.7. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

Se determinó el contenido de fenoles totales usando el método de Folin-Ciocalteu (Zapata et al. 2013). Se mezclaron 50 μL del extracto metanólico, 425 μL de agua destilada y 125 μL del reactivo Folin-Ciocalteu (grado analítico, Merck), en un tubo de reacción. Se agitó en vortex y se dejó en reposo durante 6 min. Luego se adicionaron 400 μL de Na_2CO_3 al 7,1%. Después de 1 hora en la oscuridad, se leyó la absorbancia a 760 nm (Thermo Scientific Multiskan Spectrum) (Anexo C: Figura 7), (Singleton y Rossi 1965). Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico/g de cacao.

3.8. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ATRAPADORA DEL RADICAL $\text{ABTS}^{\bullet+}$

La actividad atrapadora del radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se determinó siguiendo la metodología propuesta por Re et al. (1999). Se hicieron reaccionar 990 μL del reactivo ABTS con 10 μL del extracto de cacao en metanol; como muestra patrón se usó la misma cantidad de ABTS y 10 μL de metanol. Las mezclas se dejaron en reposo y en ausencia de luz durante

30 min. Por último, se midió la absorbancia a 732 nm (espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan Spectrum) (Anexo C: Figura 7). Los resultados se expresaron como valores TEAC (μmol de trolox/g de cacao).

3.9. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD REDUCTORA CON EL ENSAYO FRAP

Según la metodología usada por Benzie y Strain (1996), en un tubo de ensayo se adicionaron 50 μL del extracto de cacao, 50 μL de buffer acetato 0,3 μM (pH 3,6) y 900 μL de la solución FRAP. Luego de 30 min de reacción, se registró la absorbancia a 595 nm (espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan Spectrum) (Anexo C: Figura 7). Los resultados se expresaron como mg de ácido ascórbico/g de cacao.

3.10. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un diseño experimental de medidas repetidas en el tiempo, con una estructura de tratamiento factorial $2*7$ correspondiente a las zonas de estudio (Alto Sinú y Montes de María) y al tiempo (0, 1, 2, 3, 4, 5, y 6 días); haciendo uso del sistema estadístico R versión 3.3.0, se comprobaron los supuestos de linealidad, normalidad y homogeneidad de varianzas, para analizar los errores experimentales.

Para las variables estudiadas se tuvo en cuenta el Análisis de Varianza (ANAVA) a un nivel de confianza del 5%; este análisis se hizo en dos sentidos, a nivel de las zonas de

estudio para determinar diferencia de cada variable entre los días de cada tratamiento y a nivel de cada día para evidenciar las diferencias entre las zonas de estudio.

En el primer análisis se logró obtener un modelo matemático, donde explica el comportamiento de la variable de estudio en función de los días de fermentación. En el segundo análisis se aplicó la prueba de comparación de Duncan; siempre y cuando se presentaran diferencias significativas en el ANAVA en ambos casos.

Además, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, por medio de las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett respectivamente.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DIAGNÓSTICO DE LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LAS VARIEDADES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) ICS 39 E ICS 95 CULTIVADAS Y PROCESADAS EN EL ALTO SINÚ (CÓRDOBA) Y MONTES DE MARÍA (BOLÍVAR), RESPECTIVAMENTE

En la Zona del Alto Sinú, municipio de tierralta, se identificó a la Asociación de Cooperativas y Organizaciones de Tierralta y Valencia (ACTIVA G-10) como la de mayor tradición y producción. Por otro lado; en la zona de los Montes de María, San Jacinto, se identificó a la Asociación de Productores de Cacao de los Montes de María (ASPROCAMM) como la más representativa de esa región en cuanto a su producción. La primera asociación fue establecida en enero de 2006, Alimentec (2014), y la segunda en noviembre de 2006 (Fonseca et al 2011). ACTIVA G10 reportó una producción de 120 toneladas de cacao seco entre 2013 y el primer trimestre de 2014 (Alimentec 2014); mientras que ASPROCAMM tuvo una producción de 12 toneladas de cacao seco entre 2013 y 2014 (ASPROCAMM). La cooperativa multiactiva de producción y comercialización agropecuaria de Arauquita (COOMPROCAR), cuenta con 195 asociados pertenecientes a los municipios de Arauquita, Tame, Arauca y Saravena; anualmente comercializa 1300 Ton. de grano de cacao. Por otra parte, la Asociación de Artesanas de Chocolate (Chocoandes) del municipio Andes (Nariño) en alianza con

ASOCACAO, producen más de 2 toneladas de cacao mensuales. Se conoce que Nariño es uno de los principales departamentos de Colombia con mayor área de Cacao cultivada en cacao, con altos rendimientos se convierte en uno de los mayores productores; presentando así ventajas frente a los departamentos de Córdoba y Bolívar (Productos del desarrollo alternativo)

4.1.1. Productores visitados en las zonas de estudio

En la tabla 1 se muestran los productores visitados en el Alto Sinú, los cuales hacen parte de 4 veredas pertenecientes a los municipios de Tierralta y Valencia, mientras que en los montes de María se visitaron 9 veredas todas pertenecientes al municipio de San Jacinto, para un total de 16 cultivadores en cada zona.

Tabla 1. Productores visitados en Alto Sinú y Montes de María durante el diagnóstico del proceso de fermentación de cacao.

Región (Asociación)	Municipio (Departamento)	Vereda	Productores encuestados
Alto Sinú (Activa G10)	Tierralta (Córdoba)	Osorio	4
		La Osa	5
	Valencia (Córdoba)	Santa Fé	4
		Boni	3
Montes de María (ASPROCAMM)	San Jacinto (Bolívar)	El Bongal	3
		Rastro	2
		Brasilar	3
		Las Mercedes	3
		Arroyo María	2
		Naranjal	1
		La Aguadita	1
		Casa de piedra	1

4.1.2. Área cultivada por productor en las zonas de estudio

Se determinó que el área de los terrenos cultivados con cacao en las veredas del Alto Sinú está comprendida entre 2 y 4 hectáreas, predominando las 2 hectáreas con un 37,5% de los productores, seguida de las 3 ha. con el 31,25%. Mientras que en la Zona de los Montes de María predominan las superficies de 2 y 3 ha. con un 62,5 y 37,5% de los productores, respectivamente (Tabla 2). Según las encuestas, en los inicios del proyecto guardabosques para la sustitución de cultivos ilícitos en 2006, se estableció que se le otorgaría a cada familia los medios para cultivar 3 hectáreas con cacao, y con esto obtener utilidades para el sustento y seguir ampliando sus cultivos.

Tabla 2. Extensión de terreno (ha) cultivado por los productores durante el diagnóstico del proceso de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Área cultivada (ha.)	Número de productores*		Total
	Alto Sinú	Montes de María	
1	0	1	1
1,5	0	2	2
2	6	10	16
2,5	1	0	1
3	5	1	6
3,5	2	1	3
4	2	1	3
Total	16	16	32

* El valor indica la cantidad de productores que poseen lotes de una determinada área.

4.1.3. Edad de los cultivos en las zonas de estudio

Existen lotes de cultivos productivos con edades desde 2 hasta 12 años, entre ambas zonas. Algunos productores poseen más de dos lotes seccionados por edad. El 25% de los lotes productivos en el Alto Sinú presentan una edad de 3 años, seguida de los 4 y 5 años con un 20,8% en ambas zonas. Sin embargo, en los Montes de María predominan, con un 50%, los lotes con 7 años (Tabla 3). Se determinó que 5 de 32 productores encuestados presentaron cultivos muy jóvenes, los cuales no estaban en etapa productiva.

Tabla 3. Edad de los terrenos cultivados con cacao durante el diagnóstico del proceso de fermentación en Alto Sinú y Montes de María.

Edad Cultivo (Años)	Número de lotes	
	Alto Sinú	Montes de María
2	1	0
3	6	1
4	5	0
5	5	3
6	4	1
7	0	8
8	0	3
9	1	0
11	2	0

Nota: No se muestra el número de productores por la edad de cultivo, ya que algunos productores poseen varios lotes con diferentes edades.

Entre las zonas estudiadas se encuentra que la mayoría de los cultivos de cacao presentan edades entre los 3 y 7 años ya que en estas la actividad es relativamente nueva, mientras que, en los departamentos representativos en producción de cacao, los cultivos presentan edades muy avanzadas. En el año 2013 la Federación Nacional de Cacaoteros fijó el reto

de renovar los cultivos, ya que el envejecimiento de estos se convirtió en uno de los principales inconvenientes de la cacaocultura de Norte de Santander; el 50% de la plantación que es joven tiene una edad aproximada de cinco (5) años, es decir, de la 8000 ha. cultivadas en el departamento, 4000 corresponden a arboles envejecidos. Por ejemplo, la Asociación de productores del municipio El Carmen (ASOPROCAR) en Norte de Santander, cuenta con 74 pequeños productores que poseen en promedio entre dos (2) y tres (3) hectáreas de cacao con edad entre los cuatro (4) y cinco (5) años (La Opinión 2013). Se tiene que de las 155000 hectáreas sembradas con cacao en el país hasta 2013, 80000 corresponden a arboles envejecidos, es decir el 54,8% de las plantaciones producen menos de lo que deberían

4.1.4. Producción de cacao (Kg/año) por hectárea en las zonas de estudio

Se encontraron grandes diferencias en el rendimiento de los cultivos en cada zona, lo cual se debe a la diversidad en las edades de los cultivos, unos productores producen cantidades superiores a otros; así 11 productores reportaron un rendimiento entre 20 y 200 Kg/ha. por año de cacao y solo 2 reportaron entre 1000 y 2000 Kg/ha. por año de cacao. En ambas zonas la mayoría de los productores generan entre 200 y 1000 Kg/ha. por año de cacao al año (Tabla 4.)

Tabla 4. Cantidad de cacao (Kg/ha. año) obtenido por los productores durante el diagnóstico del proceso de fermentación en Alto Sinú y Montes de María.

Producción (Kg/Ha.año)	Número de Productores		
	Alto Sinú	Montes de María	Total
20 – 200	4	7	11
200 – 500	3	5	8
500 – 1000	5	1	6
1000 – 2000	1	1	2
Total	13	14	27

Hasta el año 2015, el director de Corpoica indicó que la producción promedio de los municipios cacaoteros es de 400 kg/ha, y la meta establecida ha sido de un rendimiento por lo menos de 800 kg/ha (Urbina 2015). Según el DANE, 2015 en el Tercer Censo Nacional Agropecuario, los departamentos de Santander, Nariño, Arauca, Antioquia, Huila y Tolima, tienen un rendimiento promedio de los cultivos de cacao de 500Kg/ha.

A nivel nacional el rendimiento promedio por hectárea cosechada se estima en 450 Kg de cacao en grano, las causas del bajo rendimiento se relacionan con cuatro aspectos principales: la avanzada edad de los cultivos; cacao híbridos y comunes con bajos niveles de tolerancia a plagas y enfermedades; la baja densidad de árboles en producción por hectárea y; las dificultades para que el agricultor pueda poner en práctica las recomendaciones de manejo integral del cultivo (FEDECACAO)

4.1.5. Tipos de clones de cacao cultivados en las zonas

Los materiales de cacao cultivadas en cada zona son de tipo trinitario (Tabla 5). Estos materiales son mejorados empleando clones de tipo universal, es decir provienen de otros países (Swisscontact 2014). En el Alto Sinú fueron adquiridos a través del programa Familias Guardabosques (Alimentec 2014) y en Montes de María como producto de la Alianza productiva del Ministerio de Agricultura para el establecimiento de cultivos de cacao (ASPROCAMM).

Tabla 5. Tipos de clones cultivados durante el diagnóstico del proceso de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Clon (Nombre)	Región	
	Alto Sinú	Montes de María
CCN 51 (Colección Castro Naranjal)	Si	Si
EET 8 (Estación Experimental Tropical)	No	Si
ICS 1 (Imperial College Selection)	Si	Si
ICS 39 (Imperial College Selection)	Si	Si
ICS 60 (Imperial College Selection)	Si	Si
ICS 95 (Imperial College Selection)	Si	Si
IMC 67 (Iquitos Mixed Calabacillo)	Si	Si
SC 6 (Selección Colombia)	Si	Si
SCC 61 (Selección Colombia Corpoica)	No	Si
TSH 565 (Trinidad Selection Hybrid)	Si	Si

Se identificaron épocas de cosecha diferentes para cada zona; en la zona del Alto Sinú, la cosecha se realiza entre los meses de septiembre y mayo con picos altos de producción en los meses de noviembre a enero, mientras que en la zona de los Montes de María la época de cosecha se presenta entre los meses de abril y noviembre con picos altos de producción

en junio y julio. Asimismo, el clon predominante durante la época de cosecha en cada zona es diferente; en el Alto Sinú los clones de mayor rendimiento son el CCN 51 y el ICS 39, en cambio en la región de los Montes de María, predominan por su rendimiento los clones ICS 95 e ICS 1.

Se conoce que en San Vicente de Chucuri se encuentran los clones CCN 51, ICS 95, con el 25% de participación cada uno, el ICS 60 14%, y en menor porcentaje se encuentran los clones regionales TSH 565 y el IMC 67 (Rincón 2007; Corpoica 2000 citado por Quintana et. al. 2015); mientras que en Arauca se cultivan clones en su mayoría provenientes de la región, recomendados por FEDECACAO para cultivo en bosque húmedo tropical, FEAR 5, CAU 39, FSA 11, FSA 12, FTA 2 y FTA 4 (Pinzón 2012 citado por Velásquez et. al. 2016).

4.1.6. Tipos de fermentador empleado por los productores en las zonas de estudio

Entre los tipos de fermentadores empleados en las zonas de estudio (Tabla 6) se encontró que en el Alto Sinú son más usados los cajones de madera tipo escalera (Figura 8a) y lineal de tres (3) y cuatro (4) divisiones para fermentar el cacao, mientras que en los Montes de María solo emplean los de tipo lineal (Figura 8b).

Tabla 6. Tipo de fermentador empleado por los productores en Alto Sinú y Montes de María durante el proceso de fermentación de cacao.

Tipo de fermentador	Número de Productores		
	Alto Sinú	Montes de María	Total
Cajón de madera lineal con 3 divisiones	5	10	15
Cajón de madera lineal con 4 divisiones	3	6	9
Cajón de madera tipo escalera con tres divisiones	6	0	6
Costales de nylon	1	0	1
Tanques plásticos	1	0	1

Las divisiones de los fermentadores tipo lineal y escalera tienen el objetivo de facilitar el volteo de los granos de cacao. Estos fermentadores presentan perforaciones de aproximadamente 1 cm de diámetro, en el caso de la zona Montes de María solo las presentan en el fondo del mismo, mientras que en el Alto Sinú, además del fondo, también las presentan en los 4 lados del fermentador a diferentes alturas de la base, separados entre sí aproximadamente por 10 cm, permitiendo una mayor salida de lixiviado; de igual forma permite una mayor entrada de aire al fermentador dando condiciones más aeróbicas comparadas con las de la zona de Monte de María.

El fermentador usado en la zona Alto Sinú fue construido con madera caracolí, con medidas de 65 x 45 x 50 cm, con una capacidad aproximada de 160 Kg por compartimento de cacao en baba, este fermentador tenía un tiempo de uso de 3 meses. Por otra parte, el fermentador de Montes de María fue construido con madera Caracolí, presentó las dimensiones de 75 x 45 x 57 cm y una capacidad aproximada de 170 Kg de cacao en baba.



Figura 8. Tipo de fermentador utilizado en las zonas de estudio. **a.** Escalera en Alto Sinú; **b.** Lineal en Montes de María.

Cubillos et. al. (2008) indican que la forma más práctica de fermentar cacao es en cajones de madera, ya que estos facilitan la remoción al final del cacao fermentado. Es importante que el tipo de madera para la elaboración de los cajones sea de acidez baja y que no desprenda olores, pueden ser: Ceiba Toluá, Nogal cafetero, laurel-pardillo (*Cordia alliodora*), Roble y Caracolí (FEDECACAO 2014). Cubillos et. al. (2008) también reportan que para fermentar pequeñas cantidades de cacao se usen costales de fique que se cuelgan en un soporte para facilitar el drenaje de los exudados.

4.1.7. Descripción del proceso de fermentación en las dos zonas de estudio

El proceso de fermentación (Figura 9) en las dos zonas de estudio, por lo general, es muy similar; en ambas zonas el proceso inicia luego del desgrane de las mazorcas de cacao, posteriormente se deposita el cacao desgranado (cacao en baba) en el fermentador y se cubre con hojas de plátano o madera para evitar que insectos, roedores y otros animales

puedan tener contacto con el grano, así como también mantener la temperatura interna del fermentador y evitar contacto directo con el aire externo, lo cual ayuda en la anaerobiosis.

En las dos zonas, la mayoría de los cultivadores realizan el primer volteo a las 48 horas; sin embargo, el 38 y 45% de los productores en el Alto Sinú y Montes de María, respectivamente, realizan el primer volteo a las 24 h. Luego del primer volteo, en las dos zonas se hace el volteo a diario, hasta finalizar el proceso. Cuando se trata de pequeñas cantidades de cacao (menor al 30% de la capacidad del fermentador), el productor realiza todo el proceso en una sola división ya que se facilita el volteo de los granos de cacao. El proceso descrito anteriormente es el recomendado por FEDECACAO (2004) y las asociaciones en este estudio (Activa G-10 y ASPROCAMM).

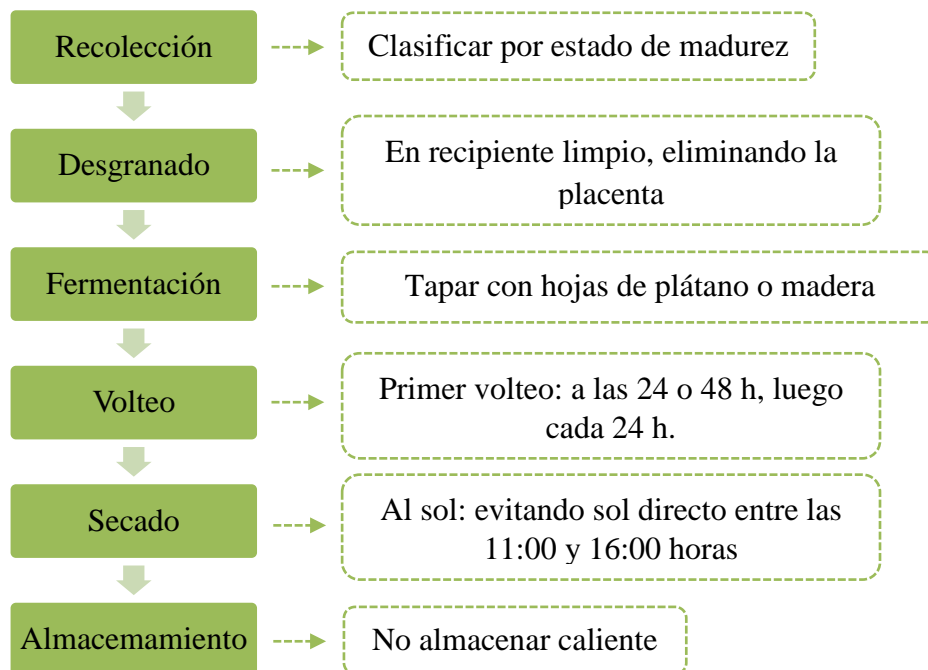


Figura 9. Diagrama de flujo del proceso de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Pinzón et. al. (2014) detallan el proceso de fermentación en Cundinamarca, estipulan que en general, la fermentación se debe realizar en un lugar protegido pero ventilado, se parten las mazorcas con cuidado de no causar herida en los granos, luego se dejan fermentar en un cajón de madera, el proceso tarda hasta 5 días, teniendo en cuenta remover las o voltear los granos cada 24 horas.

La información anterior concuerda con lo reportado por Cubillos et. al (2008), quienes describen que el proceso de fermentación se fundamenta en amontonar los granos de cacao varios días con el fin de que los microorganismos descompongan el mucilago, aumenten la temperatura para producir la muerte del embrión y se desencadenen cambios bioquímicos y reacciones enzimáticas en las almendras. Estos autores también argumentan que es importante voltear la masa de granos durante el proceso de fermentación con el fin de facilitar la aireación, romper los granos adheridos, prevenir la formación de mohos y hacer más uniforme el proceso.

De la información suministrada por los cultivadores de las dos zonas (Tabla 7), se encontró que 3 de 32 productores tienen en cuenta solo el tiempo, como variable para detener el proceso fermentativo, los tiempos tenidos en cuenta por los cultivadores se encuentran entre los 3 a 6 días; se encontró que 26 de 32 productores tienen en cuenta simultáneamente dos de cuatro variables como tiempo, color del grano (canela), ausencia de mucilago y disminución de la temperatura para detener el proceso de fermentación, y solo 3 de 32 productores tienen en cuenta simultáneamente tres de dichas variables; un cultivador tiene en cuenta tiempo, color y ausencia de mucilago; otro tiene en cuenta tiempo, color y temperatura, y un tercer cultivador tiene en cuenta tiempo, ausencia de mucilago y temperatura. Sin embargo; sólo 5 cultivadores verifican el descenso de la

temperatura, y lo usan como indicativo para la finalización del proceso, esta verificación la realizan introduciendo la mano hasta el centro de la masa de cacao en los últimos días del proceso y así percibir el momento en que ha comenzado a descender la temperatura, llegado ese instante, detienen el proceso.

Tabla 7. Variables tenidas en cuenta por los productores de Alto Sinú y Montes de María para finalizar el proceso de fermentación de cacao.

Aspecto tenido en cuenta para detener el proceso de fermentación					Productores			
Tiempo (días)				Color del grano	Ausencia de mucilago	Temperatura	Alto Sinú	Montes de María
3	4	5	6					
X							2	0
		X					0	1
	X			X			6	1
		X		X			3	3
			X	X			2	6
X					X		1	0
					X		0	1
X						X	0	1
	X					X	1	0
		X				X	1	0
	X			X	X		0	1
		X		X		X	0	1
X					X	X	0	1

Como se observa en la tabla 7, el tiempo de fermentación oscila entre 3 y 6 días, los productores señalaron que, adicionalmente, el tiempo de fermentación se ve afectado por la variabilidad climática. Cubillos et al. (2008) y Bertorelli et al. (2009) reportaron que el tiempo de fermentación está relacionado con el tipo de cacao como también con las

condiciones climáticas (temperatura) del proceso. Por otra parte, Cubillos et al. 2008, reportaron también que el cambio de color en las almendras es un buen indicativo de que el proceso de fermentación ha finalizado, los granos se hinchan y se tornan de color pardo rojizo o canela.

4.1.8. Selección del sitio para la realización del proceso de fermentación

Teniendo en cuenta los parámetros de selección descritos en la metodología del diagnóstico de las condiciones del proceso de fermentación, en el Alto Sinú se escogió un cultivador y productor en la vereda Osorio perteneciente al municipio de Tierralta, ubicada a 32 km, unos 90 minutos del casco urbano, cuyas coordenadas son 8°02'53'' Latitud norte, 76°18'41,8'' Longitud oeste y una altura de 166 metros sobre el nivel del mar. En los Montes de María se escogió un cultivador y productos de la vereda El Bongal perteneciente al municipio de San Jacinto, ubicada a 16 km, unos 85 min. del casco urbano cuyas coordenadas son 9°51'40,88'' latitud norte, 75°11'57,83'' longitud oeste y se encuentra ubicado a 245 m sobre el nivel del mar.

4.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL CACAO UTILIZADO PARA FERMENTACIÓN Y ANÁLISIS DEL GRANO EN LAS ZONAS DEL ALTO SINÚ Y MONTES DE MARÍA.

En el Anexo D se observa que para todas las variables analizadas se cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad. En la Tabla 8 se muestran los resultados de la

caracterización fisicoquímica realizada a los granos de cacao sin fermentar de cada zona de estudio. Del análisis de varianza se encontró que entre zonas existen diferencias altamente significativas ($p < 0,05$) en las variables proteína, humedad, fibra, azúcares reductores, porcentaje de mucilago y °Brix (Anexo E). El grano de cacao de los Montes de María presentó mayor contenido en: proteína, humedad, fibra, porcentaje de mucilago y °Brix; en cuanto a azúcares reductores la zona del Alto Sinú mostró valores más altos. No se presentaron diferencias considerables en el contenido de pH, acidez y grasa del cacao entre las zonas de estudio.

Tabla 8. Caracterización fisicoquímica del grano de cacao fresco en Alto Sinú y Montes de María.

Variable	Alto Sinú	Montes de María
Proteína, %	11,32 ± 1,15 ^a	20,77 ± 2,74 ^b
Grasa, %	36,73 ± 2,71 ^a	36,94 ± 1,63 ^a
Humedad, %	8,73 ± 0,50 ^a	10,44 ± 0,22 ^b
Cenizas, %	4,02 ± 0,41 ^a	4,76 ± 0,38 ^a
Fibra, %	6,36 ± 0,32 ^a	14,76 ± 0,31 ^b
pH	5,06 ± 0,17 ^a	4,99 ± 0,31 ^a
Acidez	1,84 ± 0,96 ^a	1,61 ± 0,69 ^a
Azúcares Reductores (mg Glucosa Eq. /g cacao)	0,85 ± 0,14 ^b	0,69 ± 0,06 ^a
Mucilago, %	39,00 ± 1,00 ^a	59,50 ± 2,00 ^b
°Brix	17,57 ± 0,15 ^b	16,17 ± 0,35 ^a

Cada valor representa la media ± la desviación standard (n=3).

Las medias seguidas por la misma letra en una fila no difieren estadísticamente ($p < 0,05$).

Las características mencionadas anteriormente difieren a las reportadas por Cote (2005) quienes al estudiar clones de la variedad de cacao trinitario como el clon ICS 39 y ICS 95,

con contenidos de pH de 5,27 y 4,99, grasa de 54,95 y 53,12%, proteína 15,06 y 13,56%, fibra de 4,44 y 2,56% respectivamente. Por otro lado, Morales (2010) reportó valores de grasa de 54,14%, humedad de 3,62%, cenizas 3,07%, proteína 13,41%, fibra de 3,17%, en licor de cacao. En una investigación, FEDECACAO (2015) reportó un intervalo del contenido de grasa de 56,7-59,8% para los clones ICS 39 e ICS 95, lo cual los clasifica como un cacao de contenido de grasa medio.

Se considera que la cascarilla presente en los granos modifica la composición bromatológica del cotiledón. La EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) (2008) reportó valores típicos de la composición de la cascarilla de cacao: proteína cruda (6,3 - 10,4%), extracto etéreo (0,5 - 2,4%) y fibra cruda (23,4 - 36,2%); teniendo en cuenta esto, la cascarilla influye en la composición del grano, aumentando el porcentaje de fibra y proteínas y disminuyendo el porcentaje de grasa en el análisis bromatológico.

Factores como el genotipo o las condiciones de crecimiento del árbol (características del suelo, clima, horas de insolación, entre otros.) y grado de madurez influyen en la composición del grano de cacao (Jinap et al. 1995 y Wakao 2002). En el presente estudio acerca de los efectos de la fermentación en el caco procesado en Alto Sinú y Montes de María, se manejó la interacción tipo de cacao y región del cultivo como variable independiente, por lo cual no puede observar claramente el efecto independiente de la región del cultivo y el clon sobre la composición bromatológica del grano de cacao.

4.3. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO.

Para la variable ácido láctico se cumple los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza en los datos analizados entre los días de fermentación para cada zona (Anexo F). El análisis de varianza (Anexo H) indicó que, existen diferencias significativas ($p > 0,05$) durante los días de fermentación solo en la zona de los Montes de María pasando de 1,61 a 1,2 % de ácido láctico, mientras que en la zona del Alto Sinú bajó de 1,84 a 1,09% de ácido láctico (Tabla 9).

Tabla 9. Valores de % ác. láctico del grano durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Día	% ác. Láctico	
	Alto Sinú	Montes de María
0	1,84 ± 0,96 ^a	1,61 ± 0,69 ^a
1	1,09 ± 0,52 ^a	0,90 ± 0,19 ^a
2	1,43 ± 1,43 ^a	1,69 ± 0,51 ^a
3	1,95 ± 0,26 ^a	2,14 ± 0,39 ^a
4	1,58 ± 0,45 ^a	1,92 ± 0,49 ^a
5	1,13 ± 0,20 ^a	1,13 ± 1,20 ^a
6	1,09 ± 0,23 ^a	1,20 ± 0,47 ^a

Cada valor representa la media ± la desviación standard (n=3).

Las medias seguidas por la misma letra en una fila no difieren estadísticamente ($p < 0,05$).

En cuanto a diferencias entre las zonas de estudio, para cada día de fermentación se cumplió el supuesto de homogeneidad de varianza para todos los días de la fermentación, mientras que el supuesto de normalidad se cumplió excepto para el día 5 (Anexo H). La

acidez no presentó diferencias significativas entre las zonas en ninguno de los días del proceso fermentativo (Anexo I). Durante la fermentación, los ácidos acético y láctico son producidos por la acción simultánea de enzimas de microorganismos que actúan sobre la pulpa; lo cual permite la difusión hacia el interior del cotiledón aumentando los niveles de acidez que posteriormente disminuyen durante el secado de los granos (Meyer et al. 1989).

La acidez y el pH son parámetros críticos usados por la industria chocolatera para determinar la calidad del cacao. La acidez total titulable es considerada el mejor indicativo de la acidez que el pH (Cros y Jeanjean 1994, citado por Álvarez *et al.* 2010) debido a la relación directa con el contenido de ácidos y no del contenido de iones hidrogeno H^+ . El exceso de ácido acético producido por una mala fermentación causa efectos adversos sobre el “flavour” del chocolate (Luna et al. 2002).

4.4. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (FENOLES TOTALES) Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CACAO CULTIVADO Y PROCESADO EN EL ALTO SINÚ Y MONTES DE MARÍA

4.4.1. Determinación de Fenoles totales

Los resultados de la cantidad de fenoles totales en las dos zonas indicaron que cumplen el supuesto de normalidad, sin embargo, solo en Montes de María cumplen el supuesto de homogeneidad de varianza (Anexo F). Según el análisis de varianza, los compuestos

fenólicos totales no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de fermentación en las dos zonas de estudio (Anexo H); pero si se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las dos zonas en el día 5 (Anexo I), con un valor de 18,25 y de 8,96 mg. Ác. Gálico/g. cacao para la zona Alto Sinú y Montes de María, respectivamente (Tabla 10). Los resultados de fenoles totales entre zonas cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad durante todos los días de fermentación (Anexo G).

Tabla 10. Fenoles totales del grano durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Día	Variable	
	Fenoles totales (mg Ác. Gálico/g cacao)	
	Alto Sinú	Montes de María
0	19,82 ± 14,58 ^a	26,58 ± 10,81 ^a
1	25,85 ± 5,09 ^a	19,46 ± 2,42 ^a
2	19,88 ± 1,94 ^a	18,25 ± 2,38 ^a
3	18,28 ± 5,05 ^a	13,30 ± 1,56 ^a
4	22,65 ± 5,41 ^a	14,77 ± 3,96 ^a
5	18,25 ± 0,82 ^b	8,96 ± 5,01 ^a
6	23,60 ± 21,66 ^a	15,13 ± 9,24 ^a

Cada valor representa la media ± la desviación standard (n=3).

Las medias seguidas por la misma letra en una fila no difieren estadísticamente ($p < 0,05$).

La Tabla 10 muestra la evolución de la cantidad de fenoles totales desde el día 0 al 6 de la fermentación en cada zona de estudio. El contenido de las muestras osciló entre 18,25 y 23,60 mg. Ác. Gálico/g. cacao en el Alto Sinú, mientras que en Montes de María varió entre 26,58 y 15,13 mg. Ác. Gálico/g. cacao. A pesar de que estadísticamente no se

encontraron diferencias significativas en la mayoría de los días, la tendencia de la variable fenoles en la zona del alto Sinú (ICS 39) fue de aumentar en una proporción de 16%, caso diferente para la zona Montes de María (ICS 95) donde la tendencia fue a disminuir en un 43%.

Zapata et al. (2013) reportaron un aumento del 54% de fenoles totales después de la fermentación en el clon ICS 95, lo cual difiere con los resultados de la presente investigación en el caso de la zona Montes de María; de lo anterior se puede inferir que la evolución de los compuestos fenólicos de un determinado clon no solo depende del genotipo sino también de las condiciones de fermentación y su microbiota nativa. Esto coincide con lo reportado por Vallejo et al. (2003) quienes argumentan que la composición inicial de compuestos fenólicos en tejido vegetal puede verse afectada por las variaciones en factores ambientales y agronómicos (disponibilidad de agua y composición del suelo, entre otros).

En la Gráfico 1 se observa el cambio del contenido de fenoles totales durante el proceso de fermentación, al sustraer el valor del día cero (0) del resto de los días. Se evidenció que para la zona Alto Sinú la variación del contenido de fenoles respecto al día cero (0) tuvo un comportamiento oscilante, se observa que se presentaron aumentos del contenido de fenoles en los días 1, 5 y 6. Mientras que en Montes de María esta variación fue negativa induciendo a la pérdida de dichos compuestos.

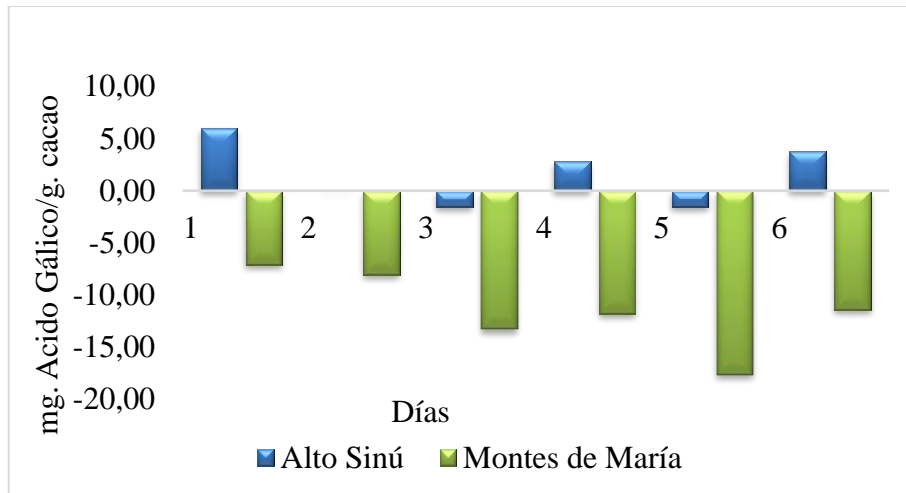


Gráfico 1. Contenido de fenoles totales de los granos de cacao en cada día del proceso con respecto al cacao sin fermentar en Alto Sinú y Montes de María.

Forsyth et al. (1958) sugiere que durante la fermentación se puede presentar difusión de los polifenoles fuera de los cotiledones; esos compuestos se difunden a través del líquido celular, también pueden formar complejos con proteínas, polisacáridos y alcaloides del cacao. También pueden aumentar estos polifenoles durante el proceso fermentativo reflejando una formación de proantocianidinas poliméricas (taninos). (Wollgast y Anklam 2000).

Es conocido que al disminuir el contenido de estos compuestos, la astringencia de los granos disminuye, la cual está relacionada con el sabor desagradable del grano de cacao (Hill y Kold 1999, citado por Rivera et al. 2012); no obstante, los polifenoles son de gran importancia como antioxidantes (Ferrari et al. 2002), por lo cual Rivera et al. (2012) sugiere establecer niveles adecuados de estos compuestos que no provoquen una baja calidad sensorial y al mismo tiempo sean beneficiosos para la salud.

4.4.2. Determinación de la actividad atrapadora del radical libre ABTS•+

Los resultados de la actividad atrapadora del radical libre ABTS•+ indicó que, no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) durante los días de fermentación en ninguna de las zonas (Anexo H). Se encontró que en la zona Alto Sinú no se cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad, mientras que en Montes de María no se cumple el supuesto de normalidad (Anexo E).

Asimismo, entre zonas no existen diferencias significativas en ninguno de los días del proceso fermentativo (Anexo I). Durante todos los días de la fermentación se cumplió el supuesto de normalidad; sin embargo, no se cumplió el supuesto de homogeneidad en los días 3 y 6 (Anexo G). Se nota un valor mayor en las variables para la zona de Montes de María al iniciar la fermentación (1175,92 $\mu\text{mol Trolox/g cacao}$), al finalizar la fermentación la zona de Montes de María presenta el mayor contenido de la variable (1339,18 $\mu\text{mol Trolox/g cacao}$) (Tabla 11).

Tabla 11. Valores de ABTS ($\mu\text{mol Trolox/g cacao}$) del grano de cacao durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Día	ABTS ($\mu\text{mol Trolox / g cacao}$)	
	Alto Sinú	Montes de María
0	1124,10 \pm 68,60 ^a	1175,92 \pm 81,97 ^a
1	1090,69 \pm 61,53 ^a	1133,25 \pm 89,45 ^a
2	788,00 \pm 309,16 ^a	1122,40 \pm 86,62 ^a
3	1458,07 \pm 593,62 ^a	1111,67 \pm 13,92 ^a
4	1136,39 \pm 71,00 ^a	1195,51 \pm 284,50 ^a
5	1126,54 \pm 68,19 ^a	1171,69 \pm 350,72 ^a
6	1103,74 \pm 124,8 ^a 1	1339,18 \pm 1101,07 ^a

Cada valor representa la media \pm la desviación standard (n=3).

Las medias seguidas por la misma letra en una fila por variable no difieren estadísticamente ($p < 0,05$).

La capacidad atrapadora del radical ABTS+ fue mayor sólo en el día 3, 4 y 5 con relación al grano fresco para el Alto Sinú, mientras que en Montes de María fue en el día 4 y 6 (Gráfico 2). Se presentó un aumento de la facultad de las muestras de cacao para eliminar el catión ABTS+ del 31% y 26% para Alto Sinú y Montes de María, respectivamente

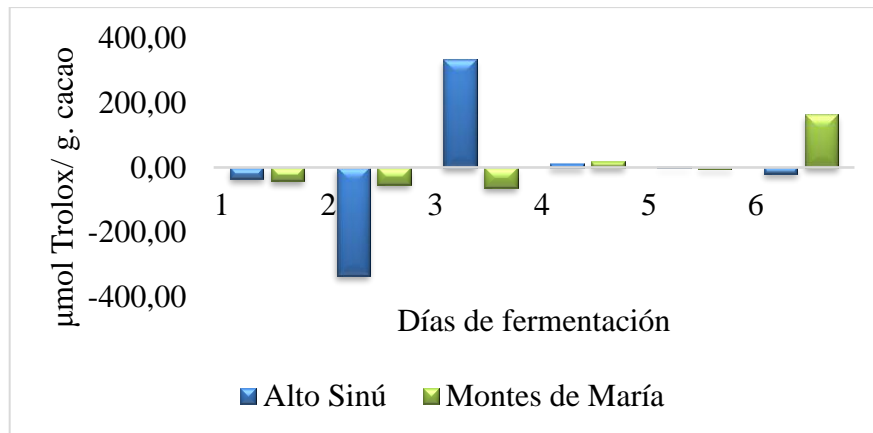


Gráfico 2. Actividad atrapadora del radical libre ABTS•+ de los granos de cacao en cada día del proceso con respecto al cacao sin fermentar en Alto Sinú y Montes de María.

4.4.3. Determinación de la capacidad reductora de Hierro con el ensayo FRAP

El análisis de varianza de la capacidad reductora de Hierro con el ensayo FRAP indicó que, existen diferencias significativas ($P < 0,05$) durante los días de fermentación en la zona Alto Sinú y altamente significativas para la zona Montes de María (Anexo H). En las dos zonas se cumple el supuesto de normalidad, aunque no se cumple en ellas el supuesto de homogeneidad (Anexo F). Asimismo, se encontró que entre las dos zonas existen diferencias significativas en el día 3 y altamente significativas para los días 4 y 6 del proceso fermentativo (Anexo I). Se encontró que no se cumple el supuesto de homogeneidad en los días 0 y 6 (Anexo G).

El poder reductor fue mayor para las dos zonas de estudio al inicio de la fermentación (día 0) descendiendo al día 6 como el valor mínimo; este poder reductor varió de 33,99 a 13,38 y de 23,84 a 5,02 mg Ac. Ascórbico presentándose una disminución del 59 y 79% en las zonas del Alto Sinú y de Montes de María respectivamente (Tabla 12).

La capacidad reductora de Hierro con el ensayo FRAP del grano de cacao en el Alto Sinú y Montes de María es explicado por los días de fermentación en un 74,03 y 94,79%, respectivamente. La Tabla 13 muestra las ecuaciones de los modelos ajustados, de la variable FRAP en función del tiempo (días).

En el Gráfico 3 se observa que el mayor porcentaje de disminución de la capacidad reductora se presentó en el día 6 con un 20,61 y 18,82% para Alto Sinú y Montes de María, respectivamente. En todos los días de la fermentación el porcentaje de disminución de la capacidad reductora con respecto al día cero (0) fue siempre mayor en Alto Sinú.

Tabla 12. Valores FRAP del grano durante la fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Día	FRAP (mg ác. Ascórbico/g cacao)	
	Alto Sinú	Montes de María
0	33,99 ± 10,44 ^a	23,84 ± 1,43 ^a
1	19,45 ± 2,37 ^a	18,96 ± 6,18 ^a
2	22,89 ± 9,88 ^a	13,04 ± 3,24 ^a
3	19,50 ± 3,61 ^a	10,70 ± 2,27 ^b
4	17,68 ± 0,71 ^a	7,92 ± 0,23 ^b
5	14,96 ± 3,51 ^a	10,06 ± 2,71 ^a
6	13,38 ± 1,94 ^a	5,02 ± 0,29 ^b

Cada valor representa la media ± la desviación standard (n=3).

Las medias seguidas por la misma letra en una fila por variable no difieren estadísticamente (p < 0,05).

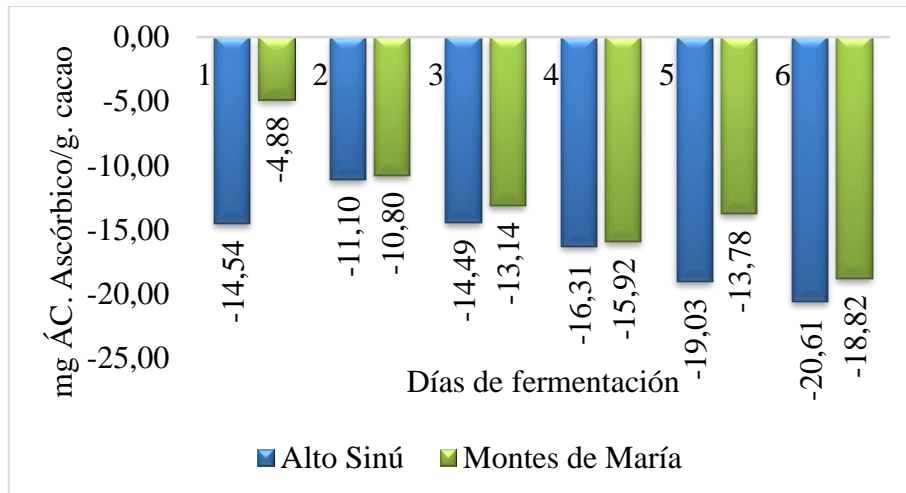


Gráfico 3. Capacidad reductora con el ensayo FRAP de los granos de cacao en cada día del proceso con respecto al cacao sin fermentar en Alto Sinú y Montes de María.

Tabla 13. Modelo polinómico de FRAP explicado por los días de fermentación de cacao en Alto Sinú y Montes de María.

Zona	Ecuación	R ²
Alto Sinú	FRAP = 28,40 + 2,71t	74,03%
Montes de María	FRAP = 23,60 – 5,60t + 0,46t ²	94,79%

5. CONCLUSIONES

- ✓ Los cultivos de cacao en las zonas Alto Sinú y Montes de María son relativamente nuevos, con un modelo productivo de tipo familiar, siendo más eficiente la actividad cacaotera en la zona del Alto Sinú debido a su mayor rendimiento en la producción.
- ✓ El cacao fresco (sin fermentar) de la Zona Montes de María (ICS 95) es más rico en humedad, proteína bruta, fibra, porcentaje y mucílago, mientras que en el Alto Sinú (ICS 39) el grano de cacao fresco presentó más azúcares reductores y mayor contenido de °brix; pero no presentan diferencias en el porcentaje de grasa, cenizas, pH y acidez en el grano de cacao cultivado y procesado en las dos zonas de estudio.
- ✓ La cantidad de fenoles y la capacidad antiradicalaria ABTS+ no se ven afectadas por el proceso de fermentación en ninguna de las zonas de estudio, a diferencia de la capacidad reductora (FRAP) la cual disminuye a través de la fermentación en ambas zonas, siendo esto en mayor proporción para el clon ICS 95 en Montes de María.

6. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto del almacenamiento sobre la composición fenólica y la capacidad antioxidante del cacao; debido que en la industria este tiempo es considerable desde el acopio hasta procesamiento del cacao
- Realizar el mismo estudio intercambiando los tipos de clones que se fermentaron en cada zona para evaluar el efecto individual del clon y de la zona de estudio (proceso fermentativo).
- Realizar aislamiento e identificación de microorganismos encargados del proceso fermentativo, y evaluar la eficiencia de los mismos, a través de un proceso de fermentación inducida.

7. BIBLIOGRAFÍA

Acosta, R., de Bertorelli, L., Graciani, L., Parra, P. y Trujillo, A., Estudio de algunas características físicas y químicas de la grasa de los cotiledones de tres tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Revista Agronomía Tropical, ISSN 0002-192X (en línea), 51(1), 2001,

http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5101/art/acosta_r.htm, acceso: 13 diciembre 2015.

Afoakwa, E. O. 2010. Chocolate Science and technology, Chocolate production and consumption patterns. WILEY-BLACKWELL. Singapore. p1-10.

AGROCADENAS. 2005. La Cadena de Cacao en Colombia: Una Mirada Global de su Estructura y Dinámica 1991-2005. Documento de Trabajo No. 92. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Observatorio de Agrocadenas Colombia.

Alimentec, 2014. Informe de resultados (en línea):

https://www.unodc.org/documents/colombia/2014/Informe_Alimentec_2014.pdf.

Acceso octubre 10 (2015).

Álvarez, C, Tovar, L, García H, Morillo, F, Sánchez, P, Girón, C, De Farias, A.

Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao L.*) usando dos

tipos de fermentadores. Revista Científica UDO Agrícola ISSN-e: 1317-9152 (en línea) 10 (1), 2010, <http://www.bioline.org.br/pdf?cg10010>, Acceso enero 10 (2016).

AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C., AOAC (1998).

Aranzazu, F. 2015. Modelos de siembra en cacao para apoyar los retos de producción y calidad del cacao. San Pedro Sula (en línea) http://www.aprocacaho.com/wp-content/uploads/2015/10/Modelos_de_siembra_con_clones_Fabio_Aranzazu.pdf.

Acceso: agosto 20 (2016)

ASPROCAMM, Historia de Asprocamm, (en línea): <http://asprocamm2010.jimdo.com/historia-de-asprocamm/>, acceso: 11 octubre (2015).

Beckett, S.T. 1994. Industrial chocolate manufacture and use. Springer-Science+Business Media, B.V. New Delhi, India. p312-313, (en línea) https://books.google.com.co/books?id=tqEACAAAQBAJ&pg=PR4&lpg=PR4&dq=Beckett,+S.T.,+Industrial+chocolate+manufacture+and+use.+2nd+edition&source=bl&ots=F-BkTAIFxv&sig=2fIF2W4G0v0jsUonoH5HsJZ9wMw&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi6iqWQwL_MAhUD0iYKHf3_BBEQ6AEIQTAf#v=onepage&q=Hansen%20y%20Welt y&f=false, acceso: 03 mayo 2016.

Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. Analytical Biochemistry ISSN: 0003-2697 (en línea), 239 (1),1996, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8660627>, acceso: septiembre 22 (2016).

Bertorelli L., Rovedas G., Graziani L., Influencia de varios factores sobre índices físicos del grano de cacao en fermentación, *Revista Agronomía Tropical* ISSN 0002 – 192X (en línea), 59(1), 2009, http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000100008&l..., Acceso: 20 noviembre (2015).

Castillo E. y Martínez E. 2007. Manual de fitoterapia. Editorial ElsevierMasson.Barcelona, España, p33 (en línea) http://books.google.es/books?id=SgZjLFGBAAC&pg=PA33&dq=clasificaci%C3%B3n+de+compuestos+fenolicos&hl=es&sa=X&ei=IPfrU_fIDo6HyASpr4Ew&ved=0CC4Q6AEwAQ#v=onepage&q=clasificaci%C3%B3n%20de%20compuestos%20fenolicos&f=false. Acceso: 13 Agosto (2014).

Cote, M., Jimenez, J. y Perea, J. Caracterización de clones de cacao promisorios con énfasis en el contenido de micronutrientes. Tesis de Pregrado, (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Bucaramanga. 2005

Cubillos, G., Merizalde, G.y Correa, E. 2008. Manual de beneficio del cacao. Secretaría de agricultura de Antioquia, Compañía Nacional de Chocolate S.A. Medellín, Antioquia. (en línea) http://www.fec-chiapas.com.mx/sistema/biblioteca_digital/manual-beneficio-cacao.pdf. Acceso: 22 Octubre 2015.

Cuyan, M. 2014.Utensilios relativos al cacao en el periodo prehispánico. Universidad de San Carlos de Guatemala. (en línea) <https://es.scribd.com/doc/244178262/UTENSILIOS-RELATIVOS-AL-CACAO-EN-EL-PERIODO-PREHISPANIC1-docx-original-docx>. Acceso: 23 Octubre 2014.

DANE, 2015. Tercer Censo Nacional Agropecuario. El 44,7 % del total de la producción agrícola en el área rural dispersa censada se concentró en Valle del Cauca, Antioquia, Nariño, Cauca, Meta y Tolima. Bogotá, D.C.D

Dreosti, I. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. Journal Nutrition. 16(7-8). p692–694.

Dueñas M, González S., González A. and Santos C. 2010. Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechin, epicatechin and quercetin. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 51(2). p443-449.

Emprender paz, 2014, Asprocamm, (en línea):
<http://www.emprenderpaz.org/descargas/ASPROCAMM.pdf>, acceso: octubre 10 (2015).

EFSA, 2008, European food safety authority. Theobromine as undesirable substances in animal feed Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain, (en línea)
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/725>.

Enriquez, G., y Paredes, A., 1983, EL cultivo del cacao, Editorial Universidad Estatal a distancia, San José-Costa Rica, p11, (en línea)
https://books.google.es/books?id=3JRfK0v_pYMC&printsec=frontcover&dq=cacao&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjniuati-
accesoXMAhUCQiYKHQGVDRwQ6AEINjAC#v=onepage&q=cacahuatl&f=false,
acceso 29 noviembre 2015.

FEDECACAO, Programa de investigación, (en línea)
<http://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-04-23-20-00-31/investigacion>,
acceso: septiembre 5 (2016).

FEDECACAO, 2004a. El beneficio y características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao L.*). Bogotá. (en línea)
http://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_06B.pdf. Acceso: Noviembre 29 (2015).

FEDECACAO, 2004b, Cacaocultura en el departamento de Cundinamarca, Convenio específico 001 suscrito entre la gobernación del departamento de Cundinamarca y la Federación Nacional de Cacaoteros, (en línea)
http://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_08B.pdf, acceso: noviembre 8 (2015).

FEDECACAO, 2014, Convocatoria Proyecto: Fortalecimiento a la comercialización de cacao mediante el mejoramiento de la calidad del grano producido por las familias vinculadas a las organizaciones de desarrollo alternativo en la zona de consolidación del sur de Córdoba mediante la construcción de unidades de beneficio, (en línea)
http://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/files/COL_K53_MA_742.pdf,
acceso 15 octubre (2015).

FEDECACAO. 2015. Producción de cacao aumenta en 2015 y se consolida como cultivo clave en el pos conflicto, (en línea)
<http://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-04-23-20-00-33/144->

produccion-de-cacao-aumenta-en-2015-y-se-consolida-como-cultivo-clave-en-el-pos-conflicto. Acceso 18 enero (2016).

Ferrari C. y Torres A. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging, *Biomedicine & Pharmacotherapy* ISSN: *Biomedicine & Pharmacotherapy* (en línea), 57(5), 2002, <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332203000325?via=sd>, acceso 20 diciembre (2015).

Fisher, N. and Hollenberg, N. 2006. Aging and vascular responses to flavanol-rich cocoa. *Journal Hypertens.* 24(8). p1575-1580.

Fonseca, R. Sandra, L. Arraut, C. Luis, C. Contreras, P. Carlos, A. Cantillo, C. Castellanos, D. Óscar, F. 2011. Balance Tecnológico de la Cadena Productiva y Agroindustrial del Cacao en el Departamento de Bolívar.

Forsyth, W. and Quesnel V. 1958. Interaction of polyphenols and proteins during cacao curing. *Journal Science Food Agriculture.* 9(3), p181-184.

Frankel, E. y Meyer, A. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN: 1097-0010 (en línea), 80(13), 2000, [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010\(200010\)80:13%3C1925::AID-JSFA714%3E3.0.CO;2-4/abstract;jsessionid=72A9E5D0A17A1166556E574DB3CCFD6E.f03t04?userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010(200010)80:13%3C1925::AID-JSFA714%3E3.0.CO;2-4/abstract;jsessionid=72A9E5D0A17A1166556E574DB3CCFD6E.f03t04?userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=).

Gil, A. 2012. Estabilidad y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacao colombianos durante los procesos de pre e industrialización. Tesis magíster en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Antioquía, Medellín.

Gobernación de Córdoba. Geografía de Córdoba. (en línea)
<http://www.cordoba.gov.co/cordoba/geografia.html>. 20 diciembre (2015).

González, N. y Quicazán, M. 2011. Análisis de la medición objetiva de color en propóleos de la región andina en Colombia. Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos – ICTA. Universidad Nacional de Colombia.

Graziani, L., ortíz, L., Parra, P., Características químicas de la grano de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua, Revista Agronomía Tropical, ISSN 0002-192X (en línea), 53(2), 2003,
http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5302/arti/farinas_1.htm. Acceso: 04 noviembre (2015).

Gu L, House SE, Wu X, Ou B, Prior RL. 2006. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. J Agricultural Food Chemistry, 54(11):4057-61.

Hashim, P., Selamat, J., Muhammad, S.K.S., Alí, A., 1998a, Effect of mass and turning time on free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation, Journal of the Science of Food and Agriculture, 78(4). p543–550.

Hashim, P., Selamat, J., Muhammad, S.K.S., Ali, A., 1998b, Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 78(4). p535–542.

Heiss C., S. Jahn, M. Taylor, W. Real, F. Angeli, M. Wong, N. Amabile, M. Prasad, T. Rassaf, J. Ottaviani, S. Mihardja, C. Keen, M. Springer, A. Boyle, W. Grossman, S. Glantz, H. Schroeter and Y. Yeqhiazarians. 2010. Improvement of endothelial function with dietary flavanols in associated with mobilization of circulating angiogenic cells in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(3): 218-224.

Jinap, S., Dimick, P., and Hollender, R. Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control*, ISSN: 0020-0190, 6(2), 1995, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/095671359598914M>, acceso 13 diciembre 2015.

La Opinión 2013. Cacaoteros del país tiene el reto de renovar los cultivos. <http://www.laopinion.com.co/cacaoteros-del-pa-s-tiene-el-reto-de-renovar-los-cultivos-89751#ATHS>. Acceso: 1 septiembre (2016).

León, J., 2000. Botánica de los cultivos tropicales, Editorial Agroamérica, San José-Costa Rica, p45, (en línea) <https://books.google.es/books?id=NBtu79LJ4h4C&pg=PA45&dq=linneo+alimento+de+los+dioses+cacao&hl=es&sa=X&ei=tvULU8jXGI-07Qbz0YGIaw&ved=0CEgQ6AEwBA#v=onepage&q&f=false>. Acceso: 29 noviembre 2015.

Londoño, J. 2012. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Grupo de Investigación en Ingeniería de Alimentos – GRIAL, Corporación universitaria Lasallista. (en línea) <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/1/9.%20129-162.pdf>. Acceso: 20 Julio (2014).

Meyer B., Biehl B., Bin-Sajd M. and Jayasiri R., 1989, Post-harvest pod storage: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia, *Journal of the Science of Food Agriculture*, 48(3): 285–304.

Miller, G. 1959. Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31, p426-428.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2001. Acuerdo sectorial de competitividad de la cadena del cacao y su agroindustria. IICA. Bogotá, D. C. p22-23.

Morales, K. y Gómez, O. Obtención y caracterización del licor de cacao en los clones CCN51, TSH 812 y SCC13. Tesis de Pregrado, (Ingeniero Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Bucaramanga. 2010.

Ostertag, L., O'Kennedy, N., Kroon, P., Duthie G. and de Roos, B. 2010. Impact of dietary polyphenols on human platelet function--a critical review of controlled dietary intervention studies. *Molecular Nutrition & Food Research*. 54(1). p60-81.

Pinzón, J., Rojas, J., Baquero, E., Barón, J., Nausa, O. y Rojas, F., 2014, Cacaocultura en el departamento de Cundinamarca, convenio específico 001 suscrito entre la

gobernación del departamento de Cundinamarca y la federación nacional de cacaoteros,
(en línea)

http://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_08B.pdf, acceso: 5 septiembre (2016).

Prior RL, Cao G., 1999, In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods, *Free Radical Biology & Medicine*, 27(11-12):1173-81.

Proexport, 2014. Oportunidades de mercado para exportar cacao colombiano, (en línea) <http://www.procolombia.co/noticias/lanzan-gran-alianza-del-cacao-y-el-chocolate-para-aumentar-las-exportaciones>, Acceso: 20 enero (2016).

Productos del desarrollo alternativo. Directorio de asociaciones. <https://productosdeldesarrolloalternativo.wordpress.com/2016/06/01/directorio-de-asociaciones/>. Acceso: 31 agosto 2016.

Quintana, F., Gómez, S., García, A. y Martínez, N., 2015, Caracterización de tres índices de cosecha de cacao de los clones CCN51, ICS60 e ICS 95, en la montaña santandereana, Colombia, *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6 (1);353-265.

Recalde, A. 2007. Evaluación del efecto del procesado y tiempo de fermentación en los contenidos de polifenoles totales, alcaloides y ácidos volátiles en dos genotipos de cacao. Tesis de doctoral, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Central del Ecuador.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C.1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10):1231-7.

Rivera, R., Mecías, W., Guzmán, A., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, E. y Nivelá, P. efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao L.*) tipo nacional, Revista Ciencia y Tecnología, ISSN: 1390-4043 (en línea), 5 (1), 2012. http://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_calidad%20fisica%20quimica%20cacao.pdf. Acceso: 20 diciembre (2015).

Rohan, T. 1964, El beneficio del cacao bruto destinado al mercado. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia, p119-115.

Sanbongi C., Osakabe N., Natsume M., Takizawa T., Gomi S. and Osawa T. (1998). Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma Cacao*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 16(2), 454-457.

Singleton V. y Rossi J., Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, American Journal of Enology and Viticulture, ISSN (en línea): 0002-9254, 16(3), 1965, <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>, acceso: 24 agosto 2014.

Steinberg, F., Bearden, M. and Keen, C. 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: implication for cardiovascular health. Journal of the American Dietetic Association 103(2), p215-223.

Swisscontact, 2014, Diseño de un sistema de calificación y clasificación de estándares de calidad para el cacao fino y de aroma de Colombia, (en línea) http://www.swisscontact.org/fileadmin/images/Country_Subpages/Colombia/Resumen_gerencia_agosto_141125.pdf, Acceso: 5 septiembre 2016.

Torres, M. 2012. Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro. Universitat Rovira I Virgili. Reus.

Urbina, C., 2015, Renovarán 300 hectáreas de cultivos de cacao en Santander, Periódico Vanguardia de Bucaramanga, (en línea) <http://www.vanguardia.com/economia/local/311391-renovaran-300-hectareas-de-cultivos-de-cacao-en-santander>, acceso: septiembre 5 (2016).

Vallejo, C., García, C. and Tomás, F. 2003. Changes in broccoli (*Brassica oleracea* var. Itálica) health-promoting compounds with inflorescence development. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51(13). p3776-3782.

Velásquez, L., Rodríguez-Sandoval, E. y Cadena, E. 2016. Diagnóstico de las prácticas de beneficio del cacao en el departamento de Arauca. Revista Lasallista de investigación. 13(1). p94-104.

Wakao, H., 2002, Estudio de la variación del contenido de alcaloides en cacao (*Theobroma cacao L*) de producción nacional durante el proceso de beneficio, Tesis licenciado en ciencias químicas especialidad en química analítica, Pontificia universidad católica del Ecuador, Quito (en línea) [https://books.google.com.co/books?id=x4AZAQAAMAAJ&pg=PA4&lpg=PA4&dq=estudio+de+la+variaci%C3%B3n+del+contenido+de+alcaloides+en+cacao+\(Theobroma+cacao+L\)+de+producci%C3%B3n+nacional+durante+el+proceso+de+beneficio&source=bl&ots=QasiSb2L9x&sig=67Tawd40TCzMO2xkL5sITtDnGW8&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj38rHK9erJAhUDLyYKHR-](https://books.google.com.co/books?id=x4AZAQAAMAAJ&pg=PA4&lpg=PA4&dq=estudio+de+la+variaci%C3%B3n+del+contenido+de+alcaloides+en+cacao+(Theobroma+cacao+L)+de+producci%C3%B3n+nacional+durante+el+proceso+de+beneficio&source=bl&ots=QasiSb2L9x&sig=67Tawd40TCzMO2xkL5sITtDnGW8&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj38rHK9erJAhUDLyYKHR-)

MCtIQ6AEIHTAB#v=onepage&q=estudio%20de%20la%20variación%20del%20contenido%20de%20alcaloides%20en%20cacao%20(Theobroma%20cacao%20L)%20de%20producción%20nacional%20durante%20el%20proceso%20de%20beneficio&f=false. Acceso: 20 diciembre 2015.

Wollgast J, Anklam E., 2000, Review on polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International, 33:423-447.

Zapata, S., Tamayo A. y Rojano, B., Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano, Revista Cubana de plantas Medicinales ISSN: 1028-4796 (en línea), 18(3), 2013, http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000300007, acceso:diciembre 20 (2015).

Zapata, S., Tamayo A. y Rojano, B., Efecto del tostado sobre los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de clones de cacao colombiano, Revista Facultad Nacional de Agronomía – Medellín, ISSN: 0304-2847 (en línea), 68(1), 2015.

ANEXOS

ANEXO A. Encuestas realizadas a los productores de cacao en el diagnóstico del proceso de fermentación.



ENCUESTA PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CACAO

Esta encuesta se realiza solo con fines académicos, para conocer el origen, la producción, y distribución del cacao en el Alto Sinú y los Montes de María

Fecha: 23/07/2014 Encuesta N° 2

DATOS DEL PRODUCTOR

Nombre: Miguel Romero Doña Teléfono: 3103605917
 Ubicación: Varada Osorio Municipio: Terralta Asociado: Activa E10

DATOS DEL CULTIVO Y PROCESO DE FERMENTACIÓN

1. Terreno cultivado: 3 H Tiempo del cultivo: 6 años 2 primera-Última 4 años
2. Clones cultivados: 6 Clones: CCN51, ICS1, ICS95, TCH556, INCB7, ICS39
3. Razones de los clones cultivados: Acompañamiento técnico
4. Cantidad producción: 2218 kilos Anual en las 3H Época de cosecha: Octubre - Abril Mayo
5. Precio de venta: \$4800 Valor subsidio: \$500
6. Que fermentador emplea: Cajones de Madera 4 divisiones
7. Describa el método fermentación: Despolgado, Se adiciona en los fermentadores y se tapa con Hojas de platano, y se aspara 24 h sin revolver, luego de eschara se empieza a revolver 3 o 4 veces al día por 5 días.
8. ¿Controla variables en el proceso de fermentación? Sí No
9. ¿Qué tipo de variables controla y en qué valor las fija?

Variable	Punto de control
Tiempo	5 días
Color	Rejizo

10. Que otra actividad económica acompaña el cultivo: Miel, Aroz, Maiz, Yuca, platano, Aguacate

11. Beneficios obtenidos: Conocimiento, Protección del ambiente, Económico, Trabajar en Asociación.

12. Aspiraciones con el cultivo: Aumentar el cultivo y transformar el cultivo, Mejorar la calidad del producto.

Observaciones: 2 Ton 1/2 - 1 H, CCN51-ICS1-ICS95 + producción, Hay Asistencia técnica, Altura 180 mts, 38 Km

Nombre encuestador: _____

Pen: Alto: ICS 51 e ICS 39
 De Eras. Montes: ICS 95.
 Alto Sinú: Sept - Mayo 4 Montes: Abril - Nov. - Oct. -
 Jun y Oct.



ENCUESTA PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CACAO

Esta encuesta se realiza solo con fines académicos, para conocer el origen, la producción, y distribución del cacao en el Alto Sinú y los Montes de María

Fecha: 02-Sep-2014 Encuesta N° 85

DATOS DEL PRODUCTOR

Nombre: Gabriel Guillermo Galeano Compe Teléfono: 3117500302
Ubicación: Bongal Municipio: San Lorenzo Asociado: Asprocaam

DATOS DEL CULTIVO Y PROCESO DE FERMENTACIÓN

1. Terreno cultivado: 2 Ha. Tiempo del cultivo: 5 años.
2. Clones cultivados: ICS 95, ICS 34, TSH 565, SEC 61 TET 8, ICS 60, TSH 812
3. Razones de los clones cultivados: Asociación
4. Cantidad producción: 700 E aprox. Época de cosecha Enero - Abril.
5. Precio de venta: 4400 Valor subsidio: _____
6. Que fermentador emplea: Cajón lineal. (3 divisiones)
7. Describa el método fermentación: Remoción cada día un cajón a otro durante 4 días.
8. ¿Controla variables en el proceso de fermentación? Sí X No
9. ¿Qué tipo de variables controla y en qué valor las fija? _____

Variable	Punto de control
<u>tiempo</u>	<u>4 días</u>
<u>Color</u>	<u>Color panelo -</u>

10. Que otra actividad económica acompaña el cultivo: Platano, ñame.

11. Beneficios obtenidos: Muchos Beneficios económico.

12. Aspiraciones con el cultivo: Ampliación terreno → Cultivar 2000 plantas.

Observaciones: 183 msnm

Nombre encuestador: _____

Anexo B. Proceso de recolección, fermentación y secado de cacao



Figura 1. Cultivo de cacao ICS 95 en Montes de María.

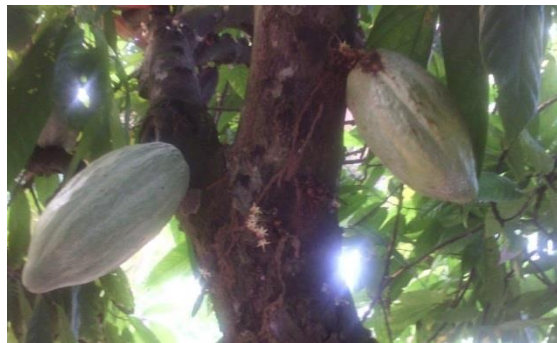


Figura 2. Cultivo de cacao ICS 39 en Alto Sinú.



Figura 3. Cosecha y clasificación de cacao.



Figura 4. Despepitado de cacao.



Figura 6. Secado natural de Cacao.



Figura 5. Etapa de fermentación de cacao.

Anexo C. Equipos empleados para la determinación de fenoles totales, actividad antioxidante y azucare reductores.



Figura 7. Espectrofotómetro de placas Thermo Scientific Multiskan Spectrum.

ANEXO D. Estadísticas descriptivas de la caracterización fisicoquímica del grano de cacao sin fermentar en las zonas de estudio.

Variable	Estadísticas descriptivas		
	CV	SW	Bartlett
%Proteína	13,11	0,96 ^{ns}	0,30 ^{ns}
%Grasa	6.07	0.45	0.53
%Humedad	3.99	0.42	0.32
%Cenizas	9.08	0.62	0.92
%Fibra	3.01	0.23	0.98
pH (Cacao sin fermentar)	4.97	0.71	0.47
Acidez (Cacao sin fermentar)	48.34	0.23	0.68
Azúcares Reductores (Cacao sin fermentar)	13.95	0.96	0.31
% Mucilago (Cacao sin fermentar)	3.72	0.56	0.05
Brix (Cacao sin fermentar)	1.61	0.91	0.32

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)

ANEXO E. Análisis de varianza de la caracterización fisicoquímica del grano de cacao sin fermentar en las zonas de estudio.

Variable	FV	Cuadrado medio
%Proteína	Zona	134,13**
	ET	4,42
%Grasa	Zona	0,06 ^{ns}
	ET	4,99
%Humedad	Zona	4,36**
	ET	0,15
%Cenizas	Zona	0,82 ^{ns}
	ET	0,16
%Fibra	Zona	106,23**
	ET	0,10
pH	Zona	0,01 ^{ns}
	ET	0,06
Acidez	Zona	0,08 ^{ns}
	ET	0,69
Azúcares Reductores	Zona	0,04**
	ET	0,01
% Mucilago	Zona	0,13**
	ET	0,00
Brix	Zona	2,94**
	ET	0,07

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)

ANEXO F. Estadísticas descriptivas de las variables a través de los días de fermentación en cada zona de estudio.

Variable	Zona	Estadísticas descriptivas		
		CV	SW	Bartlett
% ác. láctico	Alto Sinú	35.95	0.77 ^{ns}	0.39 ^{ns}
	Montes de María	29.80	0.58 ^{ns}	0.69 ^{ns}
Fenoles totales	Alto Sinú	49.41	0.06 ^{ns}	0.01 [*]
	Montes de María	36.41	0.56 ^{ns}	0.15 ^{ns}
ABTS	Alto Sinú	23.46	0.01 ^{**}	0.01 ^{**}
	Montes de María	38.47	0.00 ^{**}	0.10 ^{ns}
FRAP	Alto Sinú	29.01	0.07 ^{ns}	0.03 [*]
	Montes de María	23.53	0.20 ^{ns}	0.01 [*]

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)

ANEXO G. Estadísticas descriptivas de las variables entre las zonas de estudio en cada día del proceso de fermentación.

Variable	Estadísticas descriptivas	Días						
		0	1	2	3	4	5	6
% ác. láctico	CV	48.34	39.33	35.01	16.13	26.94	17.42	32.31
	SW	0.23 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.61 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.36 ^{ns}	0.00 [*]	0.82 ^{ns}
	Bartlett	0.68 ^{ns}	0.24 ^{ns}	0.89 ^{ns}	0.62 ^{ns}	0.91 ^{ns}	1.00 ^{ns}	0.40 ^{ns}
Fenoles totales	CV	55.32	17.6	11.41	23.67	25.35	26.37	86.01
	SW	0.58 ^{ns}	0.89 ^{ns}	0.49 ^{ns}	0.78 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.53 ^{ns}	0.67 ^{ns}
	Bartlett	0.71 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.80 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.69 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.31 ^{ns}
ABTS	CV	6.57	6.90	23.77	32.68	17.78	21.99	64.15
	SW	0.45 ^{ns}	0.77 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.68 ^{ns}	0.53 ^{ns}	0.47 ^{ns}
	Bartlett	0.82 ^{ns}	0.64 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.00 ^{**}	0.12 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.03 [*]
FRAP	CV	25.78	24.38	40.93	19.96	4.15	25.08	15.06
	SW	0.56 ^{ns}	0.84 ^{ns}	0.62 ^{ns}	0.72 ^{ns}	0.47 ^{ns}	0.63 ^{ns}	0.52 ^{ns}
	Bartlett	0.04 [*]	0.25 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.56 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.74 ^{ns}	0.05 [*]

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)

ANEXO H. Análisis de varianza de a través de los días de fermentación en cada zona de estudio.

Variable	Zona	Fuente de variación	
		Día	Error típico
% ác. láctico	Alto Sinú	0,39 ^{ns}	0.27
	Montes de María	0,61 [*]	0.20
Fenoles totales	Alto Sinú	25,19 ^{ns}	109,6
	Montes de María	92,64 ^{ns}	36,69
ABTS	Alto Sinú	112973 ^{ns}	68818
	Montes de María	17910 ^{ns}	205531
FRAP	Alto Sinú	139,32 [*]	34,55
	Montes de María	128,07 ^{**}	9,06

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)

ANEXO I. Análisis de varianza de las variables entre las zonas de estudio en cada día del proceso de fermentación.

Variable	FV	Días						
		0	1	2	3	4	5	6
% ác. láctico	Zona	0.08 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.02 ^{ns}
	ET	0.69	0.15	0.30	0.11	0.22	0.04	0.14
Fenoles totales	Zona	68.68 ^{ns}	61.25 ^{ns}	4.00 ^{ns}	37.15 ^{ns}	93.22 ^{ns}	129.36 [*]	107.61 ^{ns}
	ET	164.745	15.89	4.73	13.98	22.48	12.87	277.33
ABTS	Zona	4027.5 ^{ns}	2716.2 ^{ns}	167742 ^{ns}	179986 ^{ns}	5243 ^{ns}	3.58 ^{ns}	83146 ^{ns}
	ET	5712.00	5893.90	51541	176291	42991	63828	613966
FRAP	Zona	154.33 ^{ns}	0.36 ^{ns}	145.43 ^{ns}	116.16 [*]	142.89 ^{**}	35.97 ^{ns}	104.83 ^{**}
	ET	55.55	21.91	54.06	9.08	0.28	9.84	1.92

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)

Anexo J. Estimativa (error estándar) del modelo ajustado para la variable FRAP en la zona Alto Sinú y Montes de María.

Variable	Zona	Estimativas			
		β_0	β_1	β_2	R^2 (%)
FRAP	Alto Sinú	28.4049** (2.3125)	2.7142** (0.6414)		74,03
	Montes de María	23.5973** (1.5167)	-5.5967** 1.1840	0.4603* (0.1896)	94,79

*: Diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$)

** : Diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$)

ns: Diferencias estadísticas no significativas ($p < 0,05$)