

“Madre de Dios, Capital de la Biodiversidad”

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE DIOS**



FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TITULO DE LA TESIS:

**“EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE FERMENTACIÓN Y SECADO PARA EL BENEFICIO DE SEMILLA DEL COPOAZU (*Theobroma grandiflorum*) Y SUS EFECTOS EN LA CALIDAD DE PASTA DE CHOCOLATE NATURAL EN LA PROVINCIA DE TAMBOPATA-M.D.D.”**

TESISTAS:

**Bach. ALEX VICTOR ROJAS CORRALES**

**Bach. JUANA VILLAGRA HALANOCCA**

Para optar el título profesional de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

PUERTO MALDONADO – PERU

– 2016 –

“Madre de Dios, Capital de la Biodiversidad”

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE DIOS**



FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TITULO DE LA TESIS:

**“EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE FERMENTACIÓN Y SECADO PARA EL BENEFICIO DE SEMILLA DEL COPOAZU (*Theobroma grandiflorum*) Y SUS EFECTOS EN LA CALIDAD DE PASTA DE CHOCOLATE NATURAL EN LA PROVINCIA DE TAMBOPATA-M.D.D.”**

TESISTAS:

**Bach. ALEX VICTOR ROJAS CORRALES**

**Bach. JUANA VILLAGRA HALANOCCA**

Para optar el título profesional de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

PUERTO MALDONADO – PERU

- 2016 -

Esta tesis ha sido sustentada y aceptada en forma presente por el Jurado calificador de grado, nominado por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, como requisito para optar el título de Ingeniero Agroindustrial.

.....  
**Dra. María Isabel Cajo Pinche**  
**PRESIDENTE**

.....  
**Ing. Pedro Saúl Montalván Apolaya**

.....  
**Dra. Roxana Madueño Portilla**

**ASESORES:**

.....  
**Ing. Javier Eduardo Díaz Viteri**

.....  
**Ing. Larry Oscar Chañi Paucar**



PUERTO MALDONADO - PERÚ

- 2016 -

## **DEDICATORIA**

*A Dios por guiarme en mi caminar, para que siempre esté presente amando y perdonándome, cuidando y orientándome en todo momento.*

*A mis padres y hermanos por todo su apoyo, su constante dedicación y esfuerzo en mi formación profesional y personal, por sus sabios consejos y sus acertadas correcciones, para siempre agradecido con ambos.*

*Asimismo, el presente trabajo está dedicado a todas aquellas personas que quieran promover actividades de investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación como herramientas que fomenten la competitividad en todos los niveles donde estas sean realizadas en todo momento.*

*Alex Víctor Rojas Corrales*

## **DEDICATORIA**

*Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades*

*También Dedico mi tesis a la memoria de mis padres quienes son: Alejandrina Halanocca Quispe (+) y Lorenzo Villagra Huanca (+) que aunque Dios quiso llevárselos antes de que vieran otro de mis triunfos, en honor a ellos he duplicado mis esfuerzos para que sus sueños sean realidad. Por todos los esfuerzos que hicieron por mí; en mi infancia. Por la inmedible confianza que*

**A mis familiares,** *mi hermana Delia por ser el ejemplo de una hermana y de la cual aprendí aciertos y de momentos difíciles; a mi tía Cristina, a mi tío Esteban y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.*

*¡Gracias a ustedes!*

*Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida.*

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que perseverar”. **Thomas Chalmers**

*Juana Villagra Halanocca*

## AGRADECIMIENTOS

Deseo especialmente agradecer:

A la **Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios**, especialmente a la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, por la formación académica durante mi permanencia en dicha casa de estudios.

A los **Ing. Javier Eduardo Díaz Viteri** e **Ing. Larry Chañi Paucar** por su asesoramiento y constante apoyo en el desarrollo de la tesis, por aquellas noches interminables de trabajo y por el interés mostrado a lo largo de toda esta etapa.

A toda mi familia por su apoyo permanente y desinteresado, especialmente a mis padres y hermanos, por el apoyo brindado en muchas de las gestiones relacionadas al desarrollo de la investigación.

A los miembros del jurado, conformado por la **Dra. María Isabel Cajo Pinche**, **Ing. Pedro Saúl Montalván Apolaya** y **Dra. Roxana Madueño Portilla**, por todas las sugerencias y acotaciones que contribuyeron a la mejora de la presente investigación.

A todas las demás personas que de alguna manera contribuyeron a la ejecución del siguiente trabajo de investigación.

*Alex Víctor Rojas Corrales*

*Juana Villagra Halanocca*

## **PRESENTACION**

El presente trabajo tiene como finalidad dar a conocer la evaluación de los métodos de fermentación y secado para el beneficio de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*) y sus efectos en la calidad de la pasta de chocolate natural.

El trabajo de investigación consta de tres capítulos, estructurados de la siguiente manera:

Capítulo I: Marco teórico, donde se consignan todos los antecedentes de la investigación y la revisión bibliográfica de los conceptos relevantes utilizados en el estudio.

Capítulo II: Materiales y Métodos, donde se consignan las generalidades de la investigación, materiales y equipos utilizados, asimismo, se describe la metodología utilizada para llevar a cabo la investigación.

Capítulo III: Resultados y discusiones, donde se consignan los reportes obtenidos, mediante tablas, cuadros, gráficos y figuras, reforzadas por una discusión e interpretación de dichos resultados.

# ÍNDICE GENERAL

INDICE DE TABLA	vii
INDICE DE CUADRO	viii
INDICE DE FIGURA	ix
INDICE DE GRAFICO	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCION	xiii
CAPITULO I: MARCO TEORICO	1
1.1. Antecedentes de estudios realizados	1
1.2. El copoazu ( <i>Theobroma grandiflorum</i> Will ex Spreng. Schum)	3
1.2.1. Taxonomía del Copoazú	3
1.2.2. Principales variedades del copoazu	3
1.2.3. Descripción de la planta de copoazu	5
1.2.4. Clima, ecología y adaptación del copoazu	5
1.2.5. Principales plagas y enfermedades del copoazú	6
1.2.6. Época y método de producción del copoazu	6
1.2.7. Composición química de la semilla y pulpa	7
1.3. Beneficio de la semilla de copoazu	10
1.3.1. Cosecha y recolección	10
1.3.2. Remoción de la cascara y extracción de la semilla	11
1.3.3. Fermentación	12
1.3.4. Secado	18
CAPITULO II: MATERIALES Y METODOS	22
2.1. Lugar de ejecución	22
2.2. Materiales, equipos e infraestructura	22

2.2.1. Materia prima	22
2.2.2. Equipos	22
2.2.3. Materiales	23
2.2.4. Reactivos	24
2.2.5. Infraestructura	24
2.3. Metodología	25
2.3.1. Tratamiento	25
2.3.2. Muestreo	26
2.3.3. Beneficio y obtención de pasta de chocolate natural de copoazu	26
2.3.4. Método de análisis	39
2.4. Codificación	45
CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES	47
3.1. Caracterización Físicas de la semilla de Copoazú	47
3.2. Caracterización fisicoquímica del cotiledón y pulpa de copoazú	48
3.3. Análisis de los resultados de la semilla de copoazu, durante el proceso de Comportamiento de los dos métodos de fermentación	49
3.3.1. Perfil de temperatura	50
3.3.2. Comportamiento del pH de la pulpa y cotiledón	54
3.3.3. Comportamiento de la acidez en la pulpa y cotiledón	59
3.3.4. Comportamiento de solidos solubles de la pulpa	66
3.3.5. Comportamiento de la humedad del cotiledón	70
3.3.6. Comportamiento del cambio en la pigmentación del cotiledón	73
3.4. Análisis de los resultados de la semilla de copoazu, durante el proceso de comportamiento de los tres métodos de secado	77

3.4.1. Comportamiento de los dos secados naturales	77
3.4.2. Comportamiento del secado artificial (estufa)	81
3.5. Porcentaje de índice físico de fermentación: Prueba de corte	82
3.6. Comportamiento de los resultados de la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos de la calidad de la pasta de chocolate de copoazu	85
3.6.1. Resultado de perfil de cromatografico de los estándares utilizados	85
3.6.2. Resultado de perfil de compuesto fenólico por HPLC-DAD	87
3.6.3. Resumen de los resultados de compuestos fenólicos totales por HPL	116
3.7. Determinación de la capacidad antioxidante de las seis muestras de pasta de chocolate y una muestra de semilla fresca de copoazu	118
3.7.1. Curva de calibración del estándar del Trolox	119
3.7.2. Resultado de la capacidad antioxidante por el método de DPPH	120
CONCLUSION	121
RECOMENDACIONES	123
BIBLIOGRAFIA	124
ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLA

	Pág.
<b>TABLA 1.</b> Análisis proximal de 100g de pulpa de Copoazú	8
<b>TABLA 2.</b> Composición química de la semilla de Copoazú	9
<b>TABLA 3.</b> Composición porcentual del Copoazú, según diferentes autores, (Porcentajes)	9
<b>TABLA 4.</b> Codificación de los tratamiento de métodos de fermentación	46
<b>TABLA 5.</b> Codificación de los tratamiento de métodos de secado	46
<b>TABLA 6.</b> El porcentaje del rendimiento del fruto de copoazu	47
<b>TABLA 7.</b> Caracterización física de la semilla de copoazu	48
<b>TABLA 8.</b> Composición físico-químico del cotiledón y pulpa del copoazu	49
<b>TABLA 9.</b> Comportamiento de la temperatura en los tres puntos de la masa fermentante	51
<b>TABLA 10.</b> Comparación del comportamiento del pH de la pulpa en los dos tratamiento de fermentación	55
<b>TABLA 11.</b> Comportamiento del pH del cotiledón	58
<b>TABLA 12.</b> Comportamiento del % acidez de la pulpa de copoazu	61
<b>TABLA 13.</b> Comportamiento del % acidez del cotiledón de copoazu	64
<b>TABLA 14.</b> Comportamiento de los °Brix de la pulpa de copoazu	67
<b>TABLA 15.</b> Comportamiento del % de humedad del cotiledón	70

<b>TABLA 16.</b> Comportamiento del % de humedad del cotiledón en la etapa de secado natural	78
<b>TABLA 17.</b> Comportamiento del % de humedad del cotiledón de copoazu durante el tiempo de secado artificial	81
<b>TABLA 18.</b> Porcentaje de índice de fermentación en los granos de copoazu estudiados	83
<b>TABLA 19.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide en la semilla fresca de copoazu	91
<b>TABLA 20.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FN-SNBM de pasta de chocolate de copoazu	95
<b>TABLA 21.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FN-SA de pasta de chocolate de copoazu	99
<b>TABLA 22.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FN-SNBM de pasta de chocolate de copoazu	103
<b>TABLA 23.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FS-SNBM de pasta de chocolate de copoazu	107
<b>TABLA 24.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FS-SNBM de pasta de chocolate de copoazu	111

<b>TABLA 25.</b> Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FS-SA de pasta de chocolate de copoazu	115
<b>TABLA 26.</b> Resultado de las concentración de compuestos fenólicos totales	116
<b>TABLA 27.</b> Resultado de la capacidad antioxidante por DPPH en $\mu\text{mol}$ de ET/100 g muestra en húmeda	120

### **ÍNDICE DE CUADRO**

	Pág.
<b>CUADRO 1.</b> Balance de masa en el beneficio y la obtención de la pasta de chocolate natural del fruto del copoazu	38

### **ÍNDICE DE FIGURAS**

	Pág.
<b>FIGURA 1.</b> Planta y fruto del copoazu en estado natural	3
<b>FIGURA 2.</b> Módulo de Área de fermentación de semilla de copoazu	24
<b>FIGURA 3.</b> Área de la infraestructura de Secado Natural de semilla de copoazu	25
<b>FIGURA 4.</b> Beneficio y proceso de elaboración de pasta de chocolate	27
<b>FIGURA 5.</b> Localización del previo agrícola del fruto de copoazu	28
<b>FIGURA 6.</b> Recolección de la materia prima de copoazu	29
<b>FIGURA 7.</b> Selección y clasificación del fruto de copoazu	29

<b>FIGURA 8.</b> Lavado del fruto de copoazu	30
<b>FIGURA 9.</b> Remoción de la cascara del fruto de semilla de copoazu	30
<b>FIGURA 10.</b> Despulpado mecánicamente del copoazu	31
<b>FIGURA 11.</b> Módulo de Cajones de fermentación de semilla de copoazu	32
<b>FIGURA 12.</b> Secado natural de bandeja de madera (SNBM)	34
<b>FIGURA 13.</b> Secado natural de bandeja galvanizada (SNBG)	35
<b>FIGURA 14.</b> Secador artificial (SA) por el método de Estufa	35
<b>FIGURA 15.</b> Sistema de torrado por el método de Estufa	36
<b>FIGURA 16.</b> Descascarillado de forma Manual	36
<b>FIGURA 17.</b> Equipo de Molienda artesanal	37
<b>FIGURA 18.</b> Pasta de chocolate natural de semilla de copoazu	37
<b>FIGURA 19.</b> Lectura de temperatura en la masa de fermentación	39
<b>FIGURA 20.</b> Equipo de medición de pH potenciómetro	40
<b>FIGURA 21.</b> Medición de la Acidez	41
<b>FIGURA 22.</b> Equipo de medición de sólidos solubles (°Brix) refractómetro	42
<b>FIGURA 23.</b> Prueba de corte de la semilla de copoazu	43
<b>FIGURA 24.</b> Equipo de cromatografía por HPLC	44
<b>FIGURA 25.</b> Equipo espectrofotómetro	45
<b>FIGURA 26.</b> Cambio de pigmentación del cotiledón en el tratamiento FN	75

- FIGURA 27.** Cambio de pigmentación del cotiledón en el tratamiento FS 76
- FIGURA 28.** Grano de copoazu bien fermentado (A), insuficientemente fermentado (B) y pizarrosos (C) 82

## ÍNDICE DE GRAFICOS

	Pág.
<b>GRAFICO 1.</b> Curva de comportamiento de la temperatura en la fermentación de la semilla de copoazu	54
<b>GRAFICO 2.</b> Perfil de pH de la pulpa en el comportamiento del pH de la pulpa en la fermentación	57
<b>GRAFICO 3.</b> Perfil de las curvas del comportamiento de pH del cotiledón	60
<b>GRAFICO 4.</b> Perfil de las curvas del comportamiento de acidez de la pulpa	63
<b>GRAFICO 5.</b> Perfil de las curvas del comportamiento del acidez en el Cotiledón	66
<b>GRAFICO 6.</b> Perfil de las curvas del comportamiento del °Brix en la pulpa	69
<b>GRAFICO 7.</b> Perfil de las curvas del comportamiento de humedad del cotiledón	72
<b>GRAFICO 8.</b> Perfil de las curvas del comportamiento de humedad del cotiledón	80
<b>GRAFICO 9.</b> Porcentaje del índice de fermentación de la semilla de copoazu	84
<b>GRAFICO 10.</b> Cromatograma y espectro UV del estándar quercetina 3-β-D-glucosido monitorizado a 330 nm	85

- GRAFICO 11.** Cromatograma y su espectro UV del estándar del Ácido Gálico monitorizado a 280 nm 86
- GRAFICO 12.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra de semilla fresca de copoazu, motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD 88
- GRAFICO 13.** Cromatograma motorizado a 280 nm 1 - 5 compuestos con sus respectivos espectros UV, por HPLC de la muestra de la semilla fresca de copoazu 89
- GRAFICO 14.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra de la semilla fresca 90
- GRAFICO 15.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FN-SNM motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD 92
- GRAFICO 16.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FN-SNBM 93
- GRAFICO 17.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FN-SNBM 94
- GRAFICO 18.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FN-SA motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD 96
- GRAFICO 19.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FN-SA 97

- GRAFICO 20.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FN-SA 98
- GRAFICO 21.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FN-SNBG motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD 100
- GRAFICO 22.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FN-SNB 101
- GRAFICO 23.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FN-SNBG 102
- GRAFICO 24.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FS-SNBM motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD 104
- GRAFICO 25.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FS-SNBM 105
- GRAFICO 26.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FS-SNBM 106
- GRAFICO 27.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FS-SNBG motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD 108

<b>GRAFICO 28.</b> Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FS-SNBG	109
<b>GRAFICO 29.</b> Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FS-SNBG	110
<b>GRAFICO 30.</b> Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FS-SA motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD	112
<b>GRAFICO 31.</b> Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC del tratamiento FS-SA	113
<b>GRAFICO 32.</b> Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FS-SA	114
<b>GRAFICO 33.</b> Concentración de los compuestos fenólicos	117
<b>GRAFICO 34.</b> Curva de calibración del patrón del estándar del Trolox, donde $\Delta A$ DPPH-Trolox es la diferencia de la absorbancia del DPPH y el estándar	119
<b>GRAFICO 34.</b> Concentración de la capacidad antioxidante	121

## RESUMEN

La producción del cultivo de Copoazú (*Theobroma grandiflorum*) se viene desarrollando en gran escala en la región de Madre de Dios, sin embargo presenta elevadas pérdidas en su cosecha y aprovechamiento de la semilla, debido al poco o ningún estudio realizado en el beneficio de la semilla, el copoazu es un producto de gran potencialidad en la agroindustria chocolatera. Por ello la presente investigación se enfoca en el beneficio y aprovechamiento de la semilla de copoazu, donde se evaluó dos métodos de fermentación las cuales fueron fermentación natural (FN) y fermentación con adición de solución de sacarosa (FS), también se evaluó tres métodos de secado, que fueron secado natural con bandeja de madera (SNBM), secado natural con bandeja galvanizada (SNBG) y secado artificial (SA), donde se evaluó el comportamiento de las variables en la fermentación como temperatura, acidez, pH, sólidos solubles, humedad, prueba de corte y en el secado la pérdida de humedad y tiempo de secado, son variables que permiten estimar los indicadores del porcentaje del índice de fermentación y como también los efectos en la concentración de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las muestras de pasta de chocolate natural de copoazu.

El mejor resultado en los métodos de fermentación se obtuvo en la FN el cual tuvo en el quinto día una temperatura de 44°C, una humedad final de 43.67% y un cambio de pigmentación aceptable al finalizar los ocho días de fermentación apropiada para el cese de la actividad biológica del cotiledón y el mejor resultado de los métodos de secado se obtuvo en la FN-SNBM quien tuvo una pérdida de humedad de 5.53% y un tiempo de secado de cuatro días a diferencia de los cinco tratamientos y en donde se obtuvo un índice de fermentación de 83%. El mejor tratamiento de pasta de chocolate natural de copoazu fue FN-SA con una concentración de compuestos fenólicos de 3796.89 mg/100g. y con una capacidad antioxidante de 336,9  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h. Los resultados de la investigación sugieren que la FN-SA tiene la mejor calidad nutritiva en su concentración de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidantes.

**Palabras claves:** copoazu, fermentación, secado, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y pasta de chocolate.

## ABSTRACT

The farming of copoazu (*Theobroma grandiflorum*), which has been developed in big scale in the Amazon region, especially in the province of Madre de Dios, however it presents high losses in its harvest and usage of its seeds, because it has been poorly investigated especially the fermentation of the seeds. The copoazu is a crop with great potentiality in the chocolate industry. This investigation has the objective to assess the behavior of the seed in the process of fermentation and drying, in which two methods of fermentation have been evaluated: the natural fermentation (NF) and fermentation with addition of a saccharose solution (SF), also three methods of drying of the seed have been evaluated: natural drying with wooden platter (NDWP), natural drying with galvanized platter (NDGP) and artificial drying (AD). In all of these methods, the factors that have been analyzed are: the behavior of the variables in the fermentation process as temperature, acidity, pH, soluble solids, humidity, cutting test of the seed and the loss of moisture and drying period in the drying process. All these variables allow to estimate the indicators of the percentage of the index of fermentation as the effects in the concentration of the phenolic components and the antioxidant capacity of the samples of copoazu chocolate.

The best result in the methods of fermentation has been obtained in the (NF) which, in the 5<sup>th</sup> day has a temperature of 44° C, a final moisture of 43.67% and an acceptable change of pigmentation after eight days of appropriate fermentation that makes possible the ceasing of the biological activity of the cotyledon and the best result of the methods of drying was obtained using the FN-SNBM which has a loss of moisture of 5.53% and 4 days of drying in contrast with the 5 other methods which the result was an index of fermentation of 83%. The best method evaluated for the processing of the paste of copoazú is the FN-SA with a concentration of phenolic compounds of 3796.89 mg/100g and an antioxidant capacity of 336.9 µmol of ET/100 g b h. The results of the investigation suggest that the FN-SA drying has the best nutritional quality in the antioxidant components.

**Keywords:** copoazu, fermentation, drying, phenolic compounds, antioxidant capacity y chocolate paste.

## INTRODUCCIÓN

El copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng) es un fruto de origen amazónico con múltiples cualidades nutritivas en la pulpa y como en la semilla, para el consumo humano, la cascara se utiliza como abono o artesanía. En el Perú, actualmente se viene cultivando el copoazu, en las regiones amazónicas de Loreto, Ucayali y principalmente en la región de Madre de Dios se ha venido y se viene difundiendo el cultivo de este fruto, y es así que de un tiempo a la actualidad, viene ocupando un lugar muy importante en la producción agrícola en la región. Según la Dirección Regional Agraria en el año 2014 se tiene una superficie cosechada de 175.5 ha., donde su rendimiento por hectárea es de 1681kg. El aprovechamiento del fruto del copoazu en la región de Madre de Dios, está enfocado solo en la obtención de pulpa alcanzando poca relevancia el aprovechamiento de la semilla, esto ocasiona grandes pérdidas para los que cultivan este fruto, pues solo lo considera para su propagación un cierto porcentaje de toda la pérdida. En la actualidad en la región de Madre de Dios se desconoce el estudio del aprovechamiento adecuado del beneficiado y aprovechamiento de la semilla.

Por tal razón es así que este estudio de investigación está enfocado en el beneficio y aprovechamiento de la semilla. La fermentación y secado son etapas muy importantes para la elaboración de pasta de chocolate ya que son los precursores de las buenas características sensoriales del sabor, aroma y alto valor nutricional en la concentración de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos que caracteriza a una pasta de chocolate natural. Cabe destacar, que la etapa de fermentación es donde se producen reacciones bioquímicas que causan una disminución del amargor y de astringencia y que dan origen a los precursores del aroma y sabor a chocolate y el proceso de secado tiene como finalidad reducir la humedad, continúa la fase oxidativa iniciada en la fermentación y se completa la formación de los compuestos del aroma y sabor. Cros y Jeanjean (1995); Jinap et al. (1994).

Cabe destacar que no existe mucha información sobre el estudio del beneficio y obtención de pasta de chocolate de copoazu. El copoazu y el cacao son familia del género *Theobroma* y tienen una diferencia en su comportamiento de su beneficio de

la semilla casi semejante en sus características físicas-químicas, una de las diferencias más resaltantes es el tiempo de fermentación de la semilla de copoazu es mayor debido al tamaño de la testa que es de 55 mm a comparación del cacao que es de 25 mm, esto indica un mayor tiempo de fermentación y como también de secado.

Por tal razón, la importancia de la presente investigación se planteó evaluar el comportamiento de dos métodos de fermentación las cuales fueron fermentación natural (FN) y fermentación con adición de solución de Azúcar al 30% (FS), en el secado se aplicaron tres métodos las cuales fueron secado natural con bandeja de madera (SNBM), secado natural con bandeja galvanizada (SNBG) y secado artificial (SA), para el beneficio de la semilla de copoazu y sus efectos en la concentración de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes de los tratamientos de la pasta de chocolate natural. Tal es así que en la fermentación se evaluaron dos métodos de fermentación, considerando variables como: temperatura, pH, Acidez, sólidos solubles, humedad y la prueba de corte durante los ocho días de fermentación. En el secado se evaluaron tres métodos de secado y se usó como variables la disminución de humedad y tiempo de secado.

Para la presente investigación se utilizó la semilla del fruto del copoazu de la variedad Mamorana, producida de la asociación de agricultores los Yanaocca donde se cosecho 684 kg. y se tomó una muestra en semilla de 120 kg para el estudio de investigación.

En cuanto al objetivo general de este trabajo de investigación, se basa en evaluar dos métodos de fermentación y tres métodos de secado para el beneficio de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*) y sus efectos en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta de chocolate natural de copoazu

A continuación, los objetivos específicos son los siguientes:

Primer objetivo específico: Determinar las características físicas-químicas de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*) previo al beneficio.

Segundo objetivo específico: Evaluar los efectos de los dos métodos de fermentación (Natural y con solución de sacarosa), en el grado de fermentación de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*).

Tercer objetivo específico: Evaluar la eficiencia en la utilización de los métodos de secado natural en bandeja de madera, secado natural en bandeja galvanizado y secado artificial (ESTUFA), sobre el contenido de humedad de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*).

Tercer objetivo específico: Evaluar la eficiencia en la utilización de los métodos de secado natural en bandeja de madera, bandeja galvanizado y secado artificial (ESTUFA), sobre el contenido de humedad de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*).

Cuarto objetivo específico: Analizar y describir el efecto del método de beneficiado sobre la concentración de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta de chocolate de copoazu (*Theobroma grandiflorum*).

En lo que respecta a la hipótesis principal planteada por esta investigación, esta sostiene que los métodos de fermentación y secado aplicados a la semilla de copoazú, causan efectos en la concentración de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta de chocolate natural de copoazu (*Theobroma grandiflorum*).

El desarrollo del estudio de investigación incluye tres capítulos, el primer capítulo está dividido en tres secciones, la primera aborda el estado del arte de la investigación, la segunda parte contempla conceptos y definiciones relevantes acerca de la materia de estudio, el Copoazú, y finalmente, la tercera sección expone la revisión bibliográfica sobre el beneficio de la semilla de copoazu y las definiciones pertinentes al tema de investigación.

El segundo capítulo, se encuentra dividida en dos contenidos importantes la primera relacionada a los materiales y equipos utilizados para la presente investigación, la segunda contiene la descripción de los métodos y en general, la metodología de desarrollo de la investigación.

El tercer capítulo se concentra en demostrar los resultados obtenidos en la evaluación de los métodos de fermentación y secado para el beneficio de la semilla de copoazu y los efectos en la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de

la pasta de chocolate de copoazu, presenta tablas y gráficos del comportamiento de la fermentación y secado, asimismo se precisa los resultados de las concentraciones de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las muestras de pasta de chocolate natural de copoazu (*Theobroma grandiflorum*), finaliza con la presentación de las conclusiones y discusiones a partir de los resultados encontrados, en relación a los objetivos de la investigación y tomando como referencia el marco teórico presentado.

En conclusión, en el presente estudio se evaluó dos métodos de fermentación y tres métodos de secado para el beneficio de la semilla de copoazú y sus efectos en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta de chocolate de copoazu (*Theobroma grandiflorum*), fueron estudiando dicho comportamiento en función de variables como la temperatura, acidez, sólidos solubles, pH, humedad, prueba de corte, tiempo de secado y pérdida de humedad, para finalmente determinar que método de fermentación y secado es adecuado para obtener un alto valor en la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la pasta de chocolate de copoazu.

## CAPITULO I:

### MARCO TEORICO

#### 1.1. Antecedentes de estudios realizados.

Existen pocos estudios de investigación con respecto al beneficio de la semilla de copoazu, en el aspecto de métodos de fermentación y secado y sus efectos en la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta de chocolate de copoazu, ya que el más estudiado fue el cacao, los más relevantes serán brevemente descritos a continuación y según el criterio de importancia y pertinencia que guarden con la presente investigación.

Castro Z. (2010), realizó la investigación: caracterización del proceso de fermentación del grano de Copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng), lugar Colombia. La presente investigación tuvo como objetivo la caracterización de tres tipos de fermentación de semillas de copoazú, con tiempo de remoción y adición de una solución de azúcar, las variables utilizadas en esta investigación fueron temperatura, pH, acidez, azúcar total y reductor presencia de levaduras y lactobacillus. Al final del proceso se evaluó el índice de fermentación (IF). Donde en el primer tratamiento (FC1) se realizó con una remoción de 48, 96 y 120 horas, el segundo tratamiento (FC2) fue cada 24 horas su remoción y el tercer tratamiento (FC3) con una adición al inicio, de una solución de azúcar con una remoción de cada 24 horas. Donde los mejores comportamientos se observaron en el tratamiento FC3 que presentó parámetros evaluados, valores que sugieren el mejor proceso de fermentación entre los tres tratamientos sobresaliendo en el IF con un valor del 83,2%, resultado que se puede relacionar con el hecho de alcanzar una temperatura apropiada para estimular la presencia de microorganismos que generaron sustancias y reacciones favorables al proceso, además la temperatura máxima alcanzada de 46°C indujo la muerte del embrión

Criollo J., Criollo D., Sandoval A. (2010), realizaron una investigación sobre: Fermentación de la almendra de copoazú, lugar Colombia. Se evaluó el proceso de

fermentación variando el tiempo de remoción de la masa (24 y 48 horas) y la pulpa inicial (30 y 100%). Teniendo como variables la temperatura de la masa en tres puntos (superior, medio e inferior), acidez, pH, humedad, prueba de corte y análisis sensorial. El tratamiento con 30% de pulpa inicial y la remoción cada 24 horas por 9 días, fueron las mejores condiciones encontradas. La optimización con 0,1% de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) aumentó la temperatura de fermentación hasta 44°C, los granos fermentados hasta 56,14% y el mayor desarrollo de sabores frutales, mostrando un mejor proceso de fermentación.

### **1.2. El copoazu (*Theobroma grandiflorum* Will ex Spreng. Schum)**

Se conoce con el nombre de copoazu y se menciona como cacao silvestre, es una planta fructífera, de la familia de las Esterculiáceas, típicamente amazónica y con muchas cualidades nutritivas en su pulpa y semilla, es pariente semejante al cacao y macambo, su domesticación es relativamente reciente, siendo Brasil el país donde se han desarrollado programas de mejoramiento para su aprovechamiento comercial, su hábitat son suelos trópicos húmedos y es una especie nativa de América oriental, distribuida en la cuenca amazónica de Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Perú, Venezuela y Surinam (Leal et al., 1997; Hernández y Barrera, 2004), contiene de su rendimiento de 40% en pulpa, un 18% en semilla y 42% en corteza según Barbosa et al (1988).

El principal producto obtenido de la fruta del copoazú es la pulpa congelada del fruto natural. Para el efecto la pulpa es extraída cumpliendo normas de calidad que permiten conservar su exquisito sabor y agradable aroma. La pulpa es utilizada para preparar refrescos, helados, néctares, mermeladas, vinos, licores y otros productos frescos. De las semillas se obtiene manteca de copoazú, muy utilizada en la formulación de cosméticos hidratantes y en la industria alimenticia. De las semillas molidas se obtiene una pasta similar al chocolate de cacao, denominada "cupulate". Finalmente, la cáscara es usada como abono orgánico en los sistemas agroforestales y debidamente procesada constituye un componente en el alimento para animales de cría.

La semilla (cotiledón), es la materia prima del estudio de investigación, que tiene como características físico-químicas en su color blanco, con un alto contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, la semilla es utilizada para la elaboración de chocolate y manteca. Su importancia económica radica en su fruto, el cual se puede aprovechar por su pulpa y se comercializa fresco o industrializada, la semilla para la fabricación de chocolate y también se puede aprovechar la cáscara, como abono orgánico.

### 1.2.1. Taxonomía del copoazu.

El Copoazú pertenece a la familia Sterculiaceae, que abarca aproximadamente 65 géneros y cerca de 1000 especies, con una distribución predominantemente tropical y subtropical. En Brasil, esta familia está representada por once géneros y cerca de 115 especies.

Según Zapata et al., (1996) La clasificación taxonómica del copoazú es la siguiente:

**División:**Fanerogamas

**Clase:**Angiospermae.

**Orden:** Malvales.

**Familia:**Sterculiaceae

**Género:***Theobroma*

**Especie:**grandiflorum (willd. ex Spreng.) Schum.



**Figura 1.** Planta y Frutos del copoazu en estado natural.

**Fuente:** Flores (1996)

### 1.2.2. Principales variedades del copoazu

El copoazu es un fruto que posee diferentes variedades que en términos generales, se caracterizan por su forma o según su cáscara o corteza, y la presencia o no de las semillas, se tiene los siguientes tipos:

- **Copoazú redondo:** Es la variedad más común de la Amazonia Brasileira, los frutos presentan extremos redondeados y su cáscara tiene de 6 a 7 mm de grosor y un peso aproximado de 1.5 kg.
- **Copoazú mamorana:** Sus frutos son los de mayor tamaño en todas las variedades conocidas, sus extremos son puntudos y su cáscara es más gruesa, entre 7 y 9 mm, y puede alcanzar un peso aproximado de 2.5 kg a 4 Kg. Esta variedad fue utilizada para el estudio de investigación.
- **Copoazú mamau:** Su mayor característica es la carencia de semillas también recibe los nombres de copo sin semilla o Copoazú sin semilla (Venturieri, 1984), tiene un peso aproximado de 1.5 kg.

Sus características sensoriales como sabor, color y aroma son agradables, ofreciendo perspectivas muy favorables para la aceptación de nuevos productos mediante su transformación (Venturieri et al, 1988).

### 1.2.3. Descripción de la planta de copoazu.

Árbol del bosque tropical húmedo que puede alcanzar hasta 18m de altura, presentando tallo con cáscara marrón oscuro y ramificaciones tricotómicas, con las ramas superiores ascendentes y las inferiores horizontales. El crecimiento de la parte aérea obedece a un patrón bien definido. El tallo crece en etapas de 1,0 a 1,5 m, emitiendo ramas plagiotrópicas trifurcadas al final de cada período. (Leal et al., 1997; Zapata et al., 1996).

Las hojas son simples, subcoriadas, con 25 a 35 cm de longitud por 6 a 10 cm de ancho; presentan lámina oblonga u oblongo-ovalada, glabra, verde en el haz y verde claro o rosado pálido en el envés, con un revestimiento delicado de pilosidad. Las inflorescencias están localizadas en las ramas plagiotrópicas de tres a cinco flores o

más; pedúnculos con tres bractéolas; cáliz con cinco sépalos espesos, parcialmente unidos o libres; corola con cinco pétalos, presentando cada una forma de túnica en la base, con la parte superior laminar de color rojo oscuro; cinco estambres localizados en el interior de la túnica; ovario pentagonal, con cinco lóculos multiovalados. (EMBRAPA, 2007; Urano et al., 1999).

El fruto es de forma elipsoidal y presenta características de drupa y de baya (baya drupácea), con una variación de 12 a 25 cm de longitud y de 10 a 12 cm de diámetro, con pesos entre 0,5 y 4,0 kg, con un promedio de 1,5 kg. El epicarpio es rígido y leñoso, con epidermis verde, recubierto por una capa de coloración ferruginosa, pulverulento que se desprende cuando se manipula; meso-endocarpio de coloración blanco amarillento con 7mm de espesor. El fruto contiene entre 20 y 50 semillas, promedio 32, superpuestas en hileras verticales en tomo a la placenta, envueltas por abundante pulpa blanco amarillenta, acidulada y con aroma característico. (Cumana y Rondón, 2005).

#### **1.2.4. Clima, ecología y adaptación del copoazu.**

El copoazú tiene como habitat natural el bosque tropical húmedo de las tierras altas no inundables, siendo sombreado parcialmente por los árboles de mayor tamaño. Otros países donde se cultiva ocasionalmente son Ecuador, Guyana, Martinica, Costa Rica, São Tomé, Trinidad Tobago, Ghana, Venezuela y Colombia.

Las condiciones climáticas favorables para su desarrollo son bastante variables. En las zonas de ocurrencia natural, la temperatura media varía entre 21,6 a 27,5°C, la humedad relativa del aire entre 64 y 93% y las precipitaciones pluviales anuales pueden estar entre 1.900 y 3,100mm. Se ha observado buen desempeño de la especie en regiones con clima sub húmedo y súper húmedo, con lluvias anuales superiores a 1,800 mm, bien distribuidas, y temperatura media anual superior a 22°C.

### **1.2.5. Principales plagas y enfermedades del copoazú.**

En la actualidad la producción de cultivo de copoazu en la región de Madre de Dios se viene desarrollando en gran escala, en donde no se detectaron aún infecciones notables de enfermedades o ataques severos de plagas, la principal molestia reportada es la escoba de bruja, cuyo combate se realiza mediante podas sanitarias periódicas.

En Brasil se reportan las principales plagas y enfermedades que pueden ser importantes en el futuro en Perú y que es necesario tomarlas en cuenta.

En la fase inicial del crecimiento mientras están en vivero, las plantas pueden ser atacadas por *Costalimaita ferruginea*, un coleóptero de color castaño que causa daños en las hojas y por la broca de las plántulas (*Xyleborus ferrugineus*) que ataca el tallo, causando la muerte de la planta. El control de la primera plaga es efectuado con insecticida de contacto y la segunda, con insecticidas sistémicos, siendo también recomendable la eliminación de las plántulas atacadas.

Entre las enfermedades, la escoba de bruja, causada por el hongo *Crinipellis perniciosa*, es sin lugar a dudas el mayor problema del copuazú. La raza de este hongo aislada en el copuazú, tiene baja virulencia en el cacao. El hongo produce aumento del diámetro de la parte afectada, hipertrofia de las ramas que se encorvan, secan y mueren, produciendo basidiocarpos que darán origen a nuevas infecciones. Cuando el ataque alcanza a las flores y frutos, estos no se desarrollan y se secan. El control es efectuado eliminando las ramas y frutos atacados. Esta operación es efectuada cortando las ramas 15 a 20 cm debajo del área infectada y debe realizarse en los meses de mayor intensidad de lluvias, siendo conveniente repasar las plantas tres a cuatro meses después de la poda de limpieza.

### **1.2.6. Época y método de producción del copoazu.**

Según el Instituto de investigación Peruana, existe dos épocas de producción en la región de Madre de Dios, el primero que es de alta producción son los meses de enero, febrero, marzo, abril y mayo, la segunda época es los meses octubre, noviembre.

El copoazu se estima una productividad media de 12 frutos por planta; si se asume que el peso medio de cada fruto es de 1kg y que el rendimiento en pulpa es del 30%: se producen 0.300 gr. de pulpa por fruto. Como en una hectárea son plantados 179 árboles de copoazu, se concluye que la productividad sería de 644.4 kg de pulpa por hectárea según Calzavara et al. (1984).

Con respecto al fruto, si se tiene en cuenta que el rendimiento en semilla es del 21%, la productividad sería de 2.5 kg de semillas frescas por planta y 451 kg por hectárea Calzavara et al. (1984).

### **1.2.7. Composición química de la semilla y pulpa.**

El copoazu es un fruto con alto valor nutritivo en la pulpa como en la semilla, la pulpa contiene un elevado contenido de vitamina C, en la semilla contiene un alto contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, según los estudios Flores, (1996), nos indica que compuestos físicos y químicos de la pulpa de copoazu son muy variados dependiendo de su zona de cultivo.

En general, la pulpa es pobre en proteínas y grasas, pero tiene una baja acidez que facilita la conservación. Los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos están dentro de los límites encontrados en la mayoría de los frutos tropicales. En relación a los minerales y vitaminas, la pulpa del copoazú es relativamente rica en calcio, fósforo, hierro y presenta un contenido moderado de Vitamina C (Zapata et al., 1996; INIAP y SENACYT, 2008).

La pulpa constituye la parte del fruto de mayor valor económico, se utiliza principalmente en la elaboración de refresco, néctar, gelatina, sorbete, dulce, crema y licor. Las semillas son utilizadas, aunque en pequeña escala, en la elaboración de un producto semejante al chocolate, denominado “cupulate” (Urano et al., 1999).

**Tabla 1:** Análisis proximal de 100g de pulpa de Copoazú.

<b>COMPONENTE</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
Acidez		2,15	2,15
Brix		10,80	11,17
pH		3,30	3,45
Humedad	g	89,00	87,27
Aminoácidos	mg	21,90	
Extracto Etéreo	g	0,53	0,41
Cenizas	g	0,67	0,70
Fibras	g	0,50	1,04
Proteínas		0,923	1,31
Carbohidratos	g	11,00	9,27
Azucares reductores	g	3,00	6,29
Pectina	mg	3900	

**Fuente:** <sup>1</sup>Villachica (1996) ,<sup>2</sup>INIAP (2008)

En la tabla 1, se puede apreciar el análisis proximal de la pulpa de copoazu, en donde los parámetros más importantes para la investigación son la acidez, pH y °Brix, ya que estos parámetros se evaluarán en la investigación.

Las semillas son esencialmente oleaginosas, con un contenido de lípidos superiores al 50%, presentando, sin embargo, cantidades considerables de proteínas y carbohidratos. Los principales ácidos grasos presentes en el aceite son los ácidos oleico y esteárico. En proporciones menores se encuentran también los ácidos araquídico, palmítico, linoleico, bénico, galadoléico, heptadecanoico y palmitoléico (Chaar, 1980; Silva 1988).

**Tabla 2:** Composición química de la semilla de Copoazú.

<b>Componente</b>	<b>100g semilla de copoazu</b>
Humedad (%)	29.67
Extracto etéreo (%)	35.78
Fibra (%)	0.47
Proteína (%)	10.19
Carbohidratos (%)	21.31
Cenizas (%)	2.58

**Fuente:** Calzavara et al. ,1984.

En la tabla 2, se puede apreciar la composición química de la semilla de copoazu, en su estado natural. Donde tiene como humedad inicial un 29.67% en el cotiledón.

Considerando las porciones aprovechables del fruto, o sea, la pulpa y la semilla, el rendimiento de la parte útil del fruto alcanza el 55,4%. Se hace referencia a la composición del fruto con algunos aportes recogidos, los cuales se muestran en la Tabla 3 a continuación:

**Tabla 3:** Composición física del porcentaje del fruto de copoazú, según diferentes autores.

<b>PARTE DEL FRUTO</b>	<b>Barbosa, Nazaré &amp; Nagata</b>	<b>Santos &amp; Condurú</b>	<b>Calzavara, Müller &amp; Kawage</b>	<b>MEDIA</b>
Corteza (%)	42,0	46,0	46,0	44,6
Pulpa (%)	40,0	37,0	36,0	37,7
Semilla (%)	18,0	17,0	18,0	17,7

**Fuente:** Elaboración propia a partir de los autores mencionados (2015).

### **1.3. Beneficio de la semilla de copoazu.**

El beneficio es un proceso que obedece a los principios básicos de conservación de alimentos y se hace con la finalidad de mejorar la calidad del grano, están determinados por las siguientes etapas, cosecha, quiebra, fermentación y secado (Chávez et al, 2004)

La demanda de granos de calidad por parte de los industriales aunado al desconocimiento de los agricultores en prácticas de beneficio plantean la necesidad de capacitar a estos últimos en técnicas básicas que les permitan obtener un producto de buena calidad que satisfagan los requerimientos exigidos por los compradores. Granos mal fermentados, humedad elevada, mezcla de almendras sanas con enfermas, demasiadas impurezas son factores negativos que afectan la calidad.

#### **1.3.1. Cosecha y recolección**

El copoazú es un fruto no climatérico y sin cambios visibles en la coloración externa de la cáscara que sirva como indicativo del momento en que ha alcanzado el grado máximo de maduración. La cosecha se realiza aproximadamente 140 días después de la floración. Según Urano et al., (1999)

La calidad de los frutos está relacionada con el momento de la cosecha; sensorialmente, el punto de maduración puede ser identificado por el aroma característico de la fruta, que se torna más pronunciado en ese período. Como la maduración se produce desde el ápice hacia la base del fruto es posible iniciar la cosecha de aquellos frutos que exhalen en su porción terminal el aroma característico del copoazu, se mantiene un segmento de rama de alrededor de 10cm. al momento que el fruto completa su maduración dos a tres días después de la cosecha, el pedúnculo se desprende naturalmente del fruto. Según Zapata, (1996).

Hay algunos indicadores de la madurez fisiológica de la fruta, como la intensidad respiratoria, que es un índice fisiológico confiable, porque cuando es mínima, los frutos han completado su desarrollo. Existen índices de cosecha que son métodos destructivos de la fruta, como es el color de la pulpa, amarillo crema cuando está madura y la acidez. Según Hernández y Barrera, (2004)

Los frutos son transportados a granel, sin grandes problemas, ya que debido a la consistencia leñosa de la cáscara las pérdidas durante el transporte son prácticamente nulas; tienen una vida pos-cosecha de cinco a siete días sin que se alteren significativamente las propiedades físicas, químicas y organolépticas de la pulpa, cuando se mantienen en un local con buena ventilación y protegidos de la radiación solar directa. Almacenados en ambiente refrigerado, con una temperatura alrededor de 10°C, presentan una vida pos-cosecha de 15 días (Lima, 1993).

### **1.3.2. Remoción de la cascara y extracción de la semilla.**

Es la operación que consiste en partir la mazorca y extraer las almendras, las que una vez separada de la placenta, serán sometidas a la fermentación. Antes de empezar a partir las mazorcas, debe separarse las sanas de las afectadas por enfermedades o plagas para beneficiar solamente granos provenientes de frutos sanos y no dañar la calidad final del producto.

La apertura o quiebra de la cascara se puede hacer en una área limpia ya que se necesita extraer un cierto porcentaje de pulpa de la semilla, para lo cual se puede usar un machete corto o un mazo de madera evitando dañar los granos, lo cual depende de la habilidad del operario.

Según las investigaciones por el INIAP (1993), nos indica que en algunos países acostumbran guardar los frutos bajo techo durante 2 a 3 días antes de quebrar las mazorcas y extraer las almendras, con el propósito de fomentar el desarrollo de procesos bioquímicos en el interior de los granos, que ayudan a mejorar la calidad que se obtiene en la fermentación posterior. En lo que se refiere al tiempo que debe transcurrir entre el desgrane y la puesta en fermentación es recomendable no exceder las 24 horas, igualmente debe evitarse mezclar almendras extraídas en diferentes días de cosecha.

### **1.3.3. Fermentación.**

La fermentación es un proceso que consiste en la eliminación del mucílago que cubre al grano de copoazu. Este favorece la muerte del embrión, evita la germinación del grano que deteriora su calidad y permite obtener un copoazu de buena calidad.

Durante este proceso ocurren una sucesión de diferentes procesos bioquímicos, microbiológicos y enzimáticos, los cuales favorecen la reducción del amargor y astringencia del cacao, así como también el desarrollo de las sustancias precursoras del aroma y sabor característico del chocolate. Así mismo, son dos las fases o eventos principales que ocurren durante este proceso. Según Hernández y León (2003)

Según las investigaciones realizadas por Reyes et al., (2000). Indica que el proceso de fermentación puede caracterizarse como un proceso con dos etapas:

- Una etapa de hidrólisis o alcohólica, en condiciones anaeróbicas, donde intervienen microorganismos como levaduras, que transforman el azúcar de la pulpa en alcohol y anhídrido carbónico, a la vez que comienza a elevarse la temperatura. Conforme se produce el descenso de la pulpa, hay penetración de aire y se favorece la oxidación del alcohol a ácido acético, con la intervención de bacterias acéticas.

Ácido acético provocó la muerte del embrión y de las almendras al penetrar en el tejido cotiledón y a su vez la permeabilidad de las paredes celulares, permitiendo la inter difusión de los componentes del jugo celular. Así, las enzimas se ponen en contacto con los polifenoles y proteínas y se inician las reacciones hidrolíticas que dan lugar a cambios en los pigmentos cianidinglucósidos, provocando el inicio de la formación de los precursores del sabor a chocolate. Toda esta fase hidrolítica ocurre a temperaturas cercanas a 45°C y con pH de 4,0 a 5,0.

- La etapa de oxidación se inicia inmediatamente cuando hay mayor penetración de oxígeno y consiste esencialmente en la oxidación y condensación de los compuestos polifenólicos en productos complejos, aminoácidos volátiles solubles e insolubles que tienen poco o ningún sabor. Paralelamente con la condensación oxidativa, disminuye el contenido de humedad, hasta el punto en que la falta de agua detiene la actividad enzimática. Cuando el oxígeno tiene acceso a las células de los cotiledones durante la fase de condensación oxidativa, el color de la superficie de las almendras se vuelve pardo y esto se realiza en toda la

almendra, conforme se inicia el secado y se facilita la penetración del oxígeno al interior del cotiledón.

#### **A. Tipos de fermentación:**

- **Fermentación en lona o saco.**

Según las investigaciones de Subprograma de Cooperación Técnica. (2001), Consiste en dejar las almendras en dichos sacos para que ocurra el proceso de fermentación. En estos se debe ser cubierto con plástico u hojas de plátano, o bijao para evitar la pérdida de temperatura.

Según sus investigaciones Reyes et al., (2000). Afirma que para la fermentación del cacao en sacos de polietileno o yute se colocan las almendras dentro de estos, se cierran, se cuelga y se los deja fermentando. Para que tengan mejor aireación durante dos o tres días y facilitar el drenaje del mucílago, al cabo de los cuales son extraídas para someterlas al proceso de secado.

Este método de fermentación no es muy aconsejable ya que se dificulta las necesarias remociones, resultando un proceso fermentativo muy heterogéneo con un bajo porcentaje de granos fermentado y con un elevado porcentaje de granos en mal estado, en este tipo de tecnología existe gran dificultad con la retención del calor debido a los poros que permite la entrada de aire y la salida del calor.

- **Fermentación a montón.**

Según las investigaciones de Chávez et al (2004). Nos indica que la fermentación en montones consiste en amontonar el cacao en baba sobre un tendal de caña, esterilla de guadua, madera, cemento o sobre hojas de plátano a fin de permitir el drenaje del jugo. Cubren los montones con hojas de plátano, banano, razón para que la altura de la caja sea de 10cm, es que en la fermentación de montones solamente fermenta bien la parte superficial, posiblemente debido a la aireación. A dichos montones transcurridos 48 horas se realiza el volteo, cubriéndolas con hojas nuevas nuevamente. Este método tiene un costo mínimo y el tamaño del

montón varía de acuerdo al cacao cosechado siendo la cantidad mínima para generar el calor necesario 36.36 Kg (80 libras) de cacao en baba.

- **Fermentación en cajones.**

Según las investigaciones realizadas por Gaitán, T. (2005). En este sistema se dispone de cajas en el piso, las cajas debe tener ranuras de 5mm para dejar que el aire circule libremente. El espacio entre orificio no debe ser menor de 5cm, ni mayor de 10cm. Estas cajas se ponen unas sobre otras formando una escalera.

Posiblemente este método es el que puede usar más ventajosamente, un pequeño productor, pues las cajas son fáciles de manejar y si se cuenta con una cantidad suficiente de ellas se puede fermentar cualquier cantidad de almendras. Durante la fermentación la temperatura en la masa de almendras puede subir hasta 50°C aproximadamente. Cuando la temperatura llega a 45 °C, los embriones de la semilla mueren, y ese momento marca el inicio de los cambios bioquímicos que luego darán el sabor y el aroma a chocolate.

## **B. Indicadores de fermentación**

Según las investigaciones basados en la referencia al cacao de Cabrera, S. y Carlos, L. (2006). Nos indica que durante el proceso de fermentación existen indicadores de fermentación así como se explica a continuación.

- Temperatura, la cual debe aumenta por encima de 40°C en los fermentadores trinitarios, al cabo de 48 horas, y por encima de 36°C a las 24 horas.
- El mucílago que cubre el grano empieza a perderse y cambia su color blanco por uno rojo claro o rosado.
- Al partir un grano con un objeto afilado, escurre un líquido abundante de color vino tinto.

Para saber si el cacao ya está bien fermentado, además del tiempo transcurrido, se debe constatar que:

- La temperatura en el sistema comience a descender.

- El grano se hinche.
- Se ha producido la muerte del embrión.
- Al partir las almendras en sentido longitudinal, se observa un color pálido en el centro, rodeado por una circunferencia de color café oscuro.

### **C. Factores que afectan la fermentación del copoazu**

De acuerdo a la variedad de copoazu; el tamaño, la forma y la constitución de los cotiledones varían; por lo que para la fermentación se debe considerar la influencia que tienen, en conjunto, los siguientes factores.

- **Grupo genético y tiempo de fermentación**

El tiempo de fermentación que se debe dar a las almendras depende del grupo genético al que pertenece el copoazu. El mayor contenido de azúcar en el mucílago de la variedad mamorana, redondo, y mamau se fermenta, generalmente, en ocho días y nueve días, respectivamente.

- **Tiempo de almacenamiento del fruto antes de la apertura y el desgrane**

Es un factor que influye en la calidad del producto y el retardo en su desgrane produce una fermentación acelerada debido a que mejora la hidrólisis de la pulpa.

Esto produce incrementos más rápidos en la temperatura de la masa, alcanzando valores más altos a medida que aumenta el tiempo entre la cosecha y el desgrane del copoazu. Así mismo, promueve la formación de bajos niveles de ácido láctico, ácidos volátiles y ácidos totales libres e incrementa el contenido de taninos en el cotiledón. Sin embargo, es importante que se produzca un ascenso gradual de la temperatura; facilitando la descomposición de las proteínas y potenciando el sabor.

- **Tamaño del lote de copoazu en el proceso de fermentación.**

Este factor está íntimamente ligado al grado de aireación y desarrollo del calor de la masa en proceso de fermentación. La cantidad de copoazu a fermentar

varía considerablemente de acuerdo a la temporada de cosecha y cuando se tiene mayor masa fermentando, la temperatura en su parte central será mayor. Diversos autores discrepan en cuanto a la mínima cantidad de masa de copoazu que se debe fermentar en condiciones naturales y éstas, generalmente, fluctúan entre 35 y 450 kg con referencia al cacao.

- **Frecuencia de remoción durante la fermentación del copoazu.**

Una buena remoción de la masa de almendras de copoazu favorece la homogenización de la fermentación; mientras que su ejecución defectuosa o no realización, hace que una gran proporción de su masa se quede sin fermentar. Por ello en la fermentación la remoción debe realizarse a las 24 horas sucesivamente todo los días evitando la proliferación de hongos y la desecación de almendras de la superficie.

Así mismo, indica que la remoción diaria permite un incremento más rápido de la temperatura, fermentación más homogénea y menor tiempo de duración.

#### **D. Parámetros físico-químicos que varían durante la fermentación.**

El control cuidadoso de los parámetros físicos y químicos, durante el proceso de fermentación, permite obtener granos y pasta de copoazu de buena calidad. Sus valores guardan relación con el monitoreo de cada uno de los factores que inciden en los cambios físicos y químicos que la masa de almendras de copoazu experimentada.

- **Variación del pH**

Debido al contenido de ácido cítrico, presente al inicio en el mucílago, hace que el pH del mucílago y cotiledón presenten diferencias significativas. Durante la fermentación y sobre todo por efecto de la remoción, el pH se incrementa cuando el ácido cítrico se degrada por acción de microorganismos. En esta etapa, el ácido acético formado migra hacia el cotiledón, descienda su pH y luego se incrementa debido a las reacciones entre ácido acético y las diversas fracciones de proteínas.

- **Variación de la temperatura**

Al inicio, el incremento de la temperatura es muy lento debido a la poca cantidad de calor que se genera cuando las levaduras degradan a los azúcares. Los estudios muestran que la elevación de temperatura se produce alrededor de las 48 horas.

Esto ocurre porque las bacterias acéticas transforman el alcohol en ácido acético; una reacción mucho más exotérmica. Sin embargo, este comportamiento puede verse afectado por la cantidad de masa fermentativa y los tiempos de remoción. El rango de temperatura, referido por la literatura, fluctúa entre 26 y 45°C, durante las primeras 48 horas, pudiendo posteriormente, alcanzar hasta los 60°C.

- **Evolución de la acidez**

La oxidación de ácido cítrico y la reducción de la acidez, ocurren bajo condiciones de aireación y cuando el jugo de cacao drena desde las cajas de fermentación. La conducta seguida por la acidez total fue evaluada por Augier et al., (1997) y citado por García (2000) que toma como base la concentración de ácido acético, determinada mediante la titulación con NaOH. Estos mismos autores muestran la variación de la acidez total, tanto en la cascara como en el grano, durante la fermentación.

#### **1.3.4. Secado.**

Según los estudios realizados por Rincón (1999), nos indica que el secado tiene como objetivo eliminar el exceso de humedad y acides de las almendras recién fermentadas de aproximadamente 55% al 7%, que garantiza para su posterior almacenamiento y comercialización.

El proceso de secado debe hacerse en forma lenta y graduada, empezando por pocas horas de exposición al sol durante los primeros días y aumentar progresivamente hasta la plena exposición en los últimos días. Según Jiménez, (2000)

Con el secado violento no se logra un secado uniforme y se interrumpe la hidrólisis enzimática de las antiocianinas generando almendras purpuras que le confieren un sabor astringente, a la vez se endurece rápidamente la testa o cascarilla la cual una vez secada impide la salida o difusión de los ácidos volátiles que se concentran en la almendra generando almendras acidas. Según Ramos, (2004).

### **Tipos de secado**

- **Secado natural al sol:** Es un método que presenta ventajas de la lentitud de la temperatura moderada. Este secado depende de las condiciones climáticas.
- **Secado artificial:** este método tiene como única ventaja de no depender de las condiciones climáticas, pero si presenta inconvenientes, como son las temperaturas altas y la excesiva rapidez de secado de la semilla.

#### **A. Secado natural.**

Según las investigaciones de López et al., (2008). Nos indica que en el secado se produce también una transformación enzimática durante la cual se oxidan algunas sustancias, los cotiledones de las cascaras de las semillas se vuelven más cafés, el aroma achocolatado empieza a desarrollarse. Además se volatiliza su ácido acético excesivo. Para garantizar que el grado de estabilidad y conservabilidad de las almendras de cacao sea suficiente, es necesario que el secado se efectúe con sumo cuidado. Los granos se secan sobre instalaciones especiales como: esteras o tejidos de madera, plástico o metal que se colocan a una altura suficiente del suelo para evitar las impurezas de polvo o de animales domésticos. Los rayos solares favorecen la buena coloración y el buen desarrollo de las diferentes etapas de aromatización. Un secado lento y cuidadoso al sol, suele demandar hasta 7 días. Pasados estos días el contenido de humedad deberá ser inferior a 8 %. De especial importancia es el secado uniforme y cuidadoso removiendo constantemente las almendras con un rastrillo.

Esta metodología de secado natural se puede aplicar en diferentes formas así como:

- Los tendales pueden ser de cemento los cuales deben tener una ligera pendiente para facilitar el drenaje.
- Otro tipo de tendal son las denominadas marquesinas que son de madera o de caña con un caballete sobre el cual se despliega una lámina plástica térmica transparente para evitar las lluvias y las bajas humedades.
- Parihuelas para secado, que pueden construirse de madera, bambú o guadua, de dos metros de largo por 80 centímetros de ancho, que reposan sobre travesanos levantados del suelo. Sus medidas permiten el fácil manipuleo y protección de los granos en caso de lluvias.

Para garantizar que el grado de estabilidad y conservabilidad de las almendras de cacao sea suficiente, es necesario que el secado se efectúe con sumo cuidado. Los granos se secan sobre instalaciones antes descritas, especiales como esteras o tejidos de madera, plástico o metal que se colocan a una altura suficiente del suelo para evitar las impurezas de polvo o de animales domésticos.

Una práctica que se debe erradicar es el uso de las carreteras asfaltadas para el secado de cacao, puesto que el asfalto contiene materiales pesados que dañan la calidad, así mismo el humo de los escapes de los automotores contaminan el cacao, los cuales se adhieren trastornando los sabores y adquiriendo un olor indeseable.

## **B. Secado artificial.**

Es de mencionar que las condiciones que se obtienen con el secado artificial no son las mismas que proporciona el secado natural, lo único que garantiza es un rápido secado del producto.

En el caso del uso de secado artificial la temperatura juega un papel importante, debiéndose iniciarse con no más de 35 °C, no se puede elevar por encima de 60 °C, puesto que si no las almendras se tuestan y no se secan.

Según los estudios realizados con referencia al thebroma cacao por Garciani, L. et al., (2003). Nos indica que el secado artificial puede solucionar este problema

sin que por ello se pierda la calidad organoléptica. En el estudio se usaron las siguientes condiciones: temperatura del aire 60 °C, velocidad del aire 0.5 m/s con lo que garantiza un cacao de buena calidad y de características muy similares al obtenido con secado natural. En todo caso se evitará el contacto del cacao con el humo del combustible, pues éste afecta al sabor y olor, y con ello a la calidad.

#### **C. Indicador práctico del secado:**

Según los estudios realizados por Garciani, L. et al., (2003), con referencia al cacao, nos indica que el índice práctico de secado se realiza por saber que la presión de los dedos índice y pulgar, donde se rompe los granos fácilmente.

#### **D. Influencia del secado en la calidad del grano y la pasta de copoazu.**

Esta etapa es identificada como la continuación de la fase oxidativa o de reacciones iniciadas durante el proceso fermentativo. Se sabe, también, que los cambios ocurridos durante la fermentación afectan las características fisicoquímicas del grano seco; figurando entre ellos la formación de pigmentos, producidos por compuestos fenólicos que originan el color marrón de los granos y dan lugar al aroma y sabor.

Así mismo, el secado reduce el exceso de humedad que queda retenida luego de la fermentación, evita el desarrollo de hongos que afectan su calidad; facilitando su manejo, almacenamiento y comercialización. La reducción debe hacerse hasta un 6 a 7% y un máximo de 8%; pérdidas mayores lo vuelve muy quebradizo al grano.

Por otro lado, la exposición al sol tiene relación con las condiciones climáticas y puede variar de una zona a otra o también en función de la época del año; siendo además afectado por la textura del piso y la frecuencia de remoción de los granos.

## **CAPITULO II:**

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **2.1. Lugar de ejecución.**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la planta piloto de frutas, laboratorio de procesos agroindustriales y en el laboratorio de química, ambos pertenecientes a la Universidad Nacional Amazónica De Madre De Dios – Puerto Maldonado, durante los meses de Enero hasta Marzo del 2015. Es así que la última parte de la investigación fue analizada en el laboratorio de cromatografía de la carrera profesional de química en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco del 2015.

Esta zona presenta una precipitación anual de 1157 mm, siendo los meses de mayores lluvias en enero, febrero y marzo, con una marcada diferencia entre el período seco y lluvioso, una temperatura media anual de 33°C y una humedad relativa promedio de 82.5%.

#### **2.2. Materiales, equipos e infraestructura**

##### **2.2.1. Materia prima**

La materia prima a utilizar fue el fruto de Copoazú (*Theobroma grandiflorum*), cosechada en la provincia de Tambopata distrito de Inambari, del centro poblado Unión Progreso de la asociación de agricultores Yanahoca del Departamento de Madre De Dios, que se encuentra a una altitud de 186 m.s.n.m. y una temperatura máxima de 38°C y temperatura mínima de 22°C, con una humedad relativa de 83%.

##### **2.2.2. Equipos**

- Estufa universal automática marca MERMMERT, temperatura máxima 200°C. Germany
- Balanza analítica marca DENVER – USA modelo 2 APX 200 serie N° A24075040
- Refractómetro digital de mano marca ATAGO tipo Pocket de 0 a 53 °Brix.
- pHmetro digital marca HANNA

- Molino
- Plancha.
- Licuadora
- Equipo de titulación
- Termómetro de alcohol de 0°C-100°C.

### **2.2.3. Materiales**

#### **a) De laboratorio:**

- Campanas desecadoras de vidrio al vacío
- Matraces Erlenmeyer 50, 100 y 150 ml.
- Probetas graduadas 100 ml
- Pipetas graduadas
- Vasos de precipitación de 50, 100 y 200 ml.
- Placas Petri, marca KIMBLE USA.
- Fiolas de 250ml
- Picetas para agua destilada
- Bandejas de mallas metálicas
- Espátula
- Bagueta
- Indumentarias (Mandil, Mascarilla y guantes)

#### **b) De campo:**

- Cajones fermentadores
- Baldes
- Bandejas de madera para secado de 0.50mx0.60m
- Bandejas de calamina para secado de 0.50mx0.60m

### **2.2.4. Reactivos**

- Hidróxido de sodio (NaOH) a 0,1 N.

- Fenoltaleína al 1%.

## 2.2.5. Infraestructura

### A. Área de módulos de fermentación.

El presente trabajo de investigación se desarrolló los métodos de fermentación en el área de su infraestructura de fermentación del Centro de Investigación Tecnológica de producción que está ubicado dentro de las instalaciones de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. Donde fueron instalados dos módulos de cajones de fermentación, cada módulo consta de 2 cajas que están divididos por 50 cm x 50 cm x 60 cm, cada cajón consta de una capacidad de 70kg de semilla (Ver figura 2).



**Figura 2.** Módulo de Área de fermentación de semilla de copoazu.

**Fuente:** Elaboración Propia (2015).

### B. Área de secado natural.

Los dos métodos de secado (secado natural de bandejas de madera y secado de bandeja galvanizada) de la investigación se desarrollaron en la infraestructura del área de secado del Centro de Investigación Tecnológica de producción que está ubicado dentro de las instalaciones de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. Donde fueron instalados (Ver figura 3).



**Figura 3.** Área de la infraestructura de Secado Natural de semilla de copoazu.

**Fuente:** Elaboración Propia (2015).

## **2.3. Metodología**

### **2.3.1. Tratamiento.**

En la investigación de la fermentación de la semilla de copoazu se evaluó dos métodos de fermentación que fueron fermentación de forma natural y fermentación con agregación de solución de sacarosa, determinando las variables y efectos e indicadores de los parámetros óptimos de fermentaciones. En esta investigación se plantearon dos niveles de tratamientos de fermentación son:

**Tratamiento 1 (T1)** = 60 Kg. (fermentación natural con 15% de pulpa adherida a la semilla).

**Tratamiento 2 (T2)** = 60 Kg. (fermentación con solución de sacarosa con 15% de pulpa adherida a la semilla).

En la investigación de los métodos de secado de la semilla de copoazu fermentada, se evaluaron tres métodos de secado, donde los dos primeros métodos fueron de forma natural uno con bandejas de madera y el otro con bandeja de plancha galvanizada y el tercer método fue secado artificial en una estufa a una temperatura

de 55°C por un tiempo de 40 min. En esta etapa de la investigación se plantearon tres tratamientos o niveles, cada tratamiento con 3 repeticiones.

Tratamiento 1 (T1) = 15 Kg (Secado Natural con Bandeja de Madera).

Tratamiento 2 (T2) = 15 Kg (Secado Natural con Bandeja de Calamina).

Tratamiento 3 (T3) = 15 Kg (Secado Artificial con Estufa).

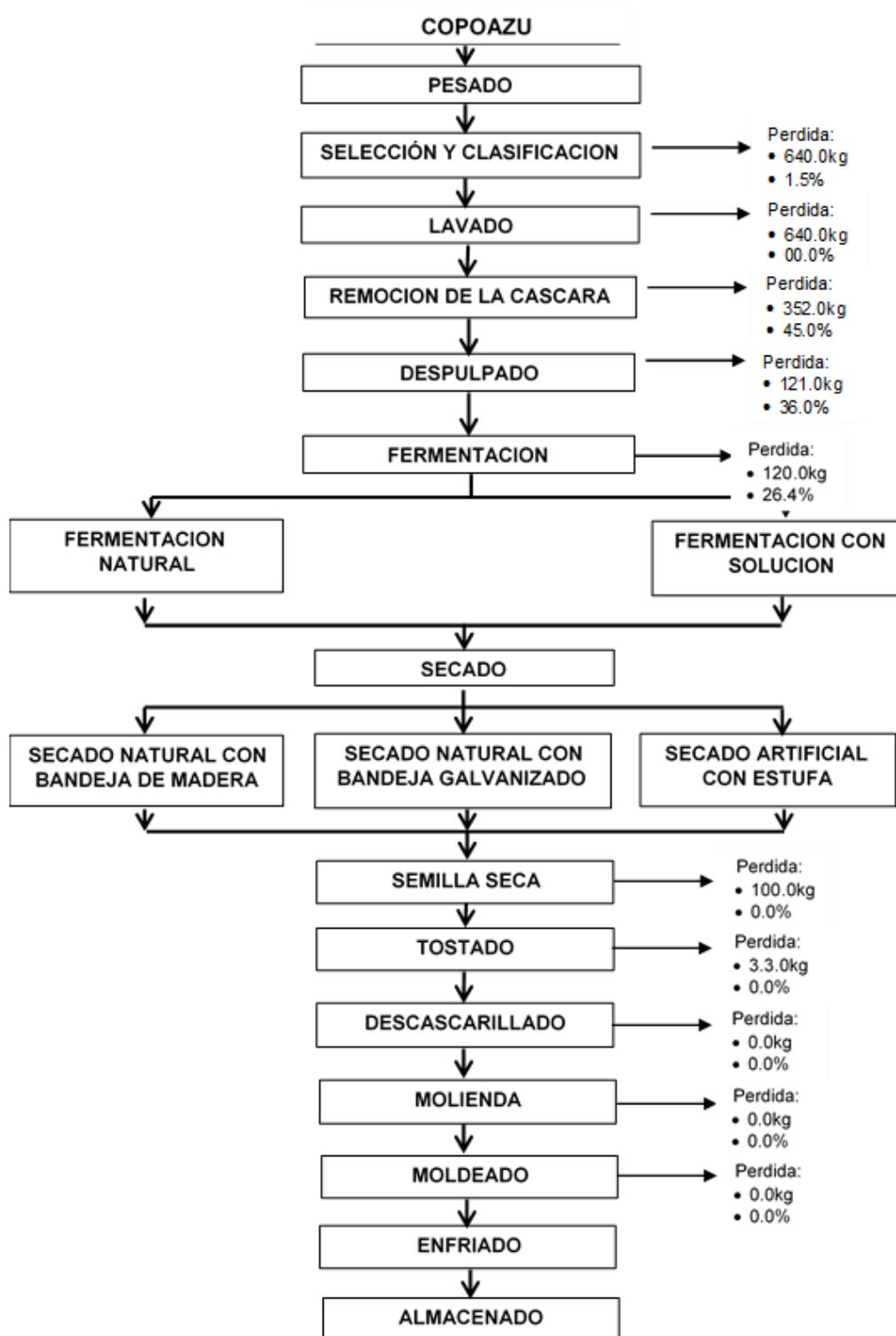
### **2.3.2. Muestreo**

La muestra se obtuvo en la provincia Tambopata, distrito Inambari de la comunidad Unión Progreso – Asociación de agriculturas Yanahoca está ubicado en la carretera Puerto Maldonado-Cusco en el km 84, del predio agrícola del señor Nicolás Huanca Quispe, que consta de cuatro hectáreas de cultivo de copoazu, donde se cosecho, 650 kg de copoazu para la investigación.

Para la recolección de las muestras experimentales se recolectaron cuando el pedúnculo se desprendió naturalmente (estado óptimo de maduración) tomando en cuenta que el fruto este sin daños microbiológicos, sobremadura o su estado de madurez este incompleto y no tenga alteraciones físicas para la investigación.

### **2.3.3. Beneficio y obtención de pasta de chocolate natural de copoazu**

El beneficio del copoazu es un proceso que consta de dos etapas muy importante que son la etapa de fermentación y secado, la obtención de la pasta de chocolate natural de la semilla de copoazu, tiene el mismo procedimiento al del cacao. La calidad físico-química de la pasta de chocolate depende del adecuado beneficio que se da a la semilla, esto obedece a los principios básicos de conservación de alimentos y se hace con la finalidad de mejorar la calidad del grano y la pasta de chocolate de copoazu. Así mismo se detalla el procedimiento experimental desarrollado durante la investigación del procesamiento de beneficio (fermentación y secado) y obtención de pasta de chocolate natural de la semilla de copoazu se observan en el siguiente.



**Figura 4.** Beneficio y proceso de elaboración de pasta de chocolate.

**Fuente:** Elaboración Propia (2015).

## DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS DEL FLUJOGRAMA DE LA METODOLOGIA DEL BENEFICIO DE LA SEMILLA DE COPOAZU

### A. Obtención y localización de la materia prima.

El copoazu se adquirió de los cultivos del predio agrícola del señor Nicolás Huanca Quispe, que consta de cuatro hectáreas de cultivo de copoazu, donde se recolectó, 650 kg de copoazu para la investigación, ubicado en la provincia Tambopata, distrito Inambari de la comunidad Unión Progreso – Asociación de agriculturas Yanaoca está ubicado en la carretera Puerto Maldonado-Cusco en el km 84, (Ver figura 5).



**Figura 5.** Localización del predio agrícola del fruto de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

### B. Cosecha

Se realizó la recolección de los frutos que cayeron de forma natural, el copoazu tiene característica muy diferente a su índice de maduración del cacao, ya que al copoazu hay que esperar que caiga naturalmente de su planta y se recolecta normalmente del suelo.



**Figura 6.** Recolección de la materia prima de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

### **C. Clasificación y selección.**

Para la clasificación de los frutos de copoazu se realizó de acuerdo al color, textura, en la selección se hizo una breve inspección en la que se tomó en cuenta las investigaciones de Chávez, A. y Manzilla, J. (2004). La selección consiste en separar los frutos en mal estado o en deterioro ya sea por daños mecánicos, físicos y microbiológicos, esta etapa normalmente se lleva acabo de forma manual.



**Figura 7:** Selección y clasificación del fruto de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

#### D. Lavado

Esta operación se realizó por un equipo llamado lavador de rodillos con una aspersión de agua. Las frutas fueron sometidas a un lavado con agua potable para así eliminar la tierra y partículas extrañas que viene adheridas en la cascara del fruto con la ayuda de un escobillón.



**Figura 8.** Lavado del fruto de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

#### E. Remoción de la cascara

La remoción de la cascara externa del copoazu se realizó con un mazo de madera para poder facilitar su posterior apertura de la cascara del fruto en forma manual la parte interior (pulpa, semilla y raíces) se separó la cáscara realizando un desgrane manual y retirando la raíces que se encuentran sujetas a las semillas, esto se realiza debido a que ésta da lugar a granos aglomerados entre sí que dificultan la etapa de secado y fermentación (Hernández et al., 2006).



**Figura 9.** Remoción de la cascara del fruto de semilla de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

## F. Despulpado.

El despulpado se realizó en forma mecánica con una despulpadora de frutas (Nova, Perú), con una malla con orificios de 5 mm, su función es en separar la pulpa de la almendra. Durante este proceso tuvo un rendimiento la despulpadora que se utilizó un 85% de la pulpa, donde un 15% se quedó adherido a la semilla. El porcentaje mínimo de semillas fracturadas fueron retiradas del proceso, pasando los granos directamente a los cajones fermentadores.



**Figura 10.** Despulpado mecánicamente del copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

## G. Fermentación.

Para el proceso de fermentación se eligió dos métodos, donde el primero es el método de forma natural y el segundo es el método con solución de sacarosa. Este proceso de fermentación se realizó por el método en caja de madera, ya que se ha demostrado que es uno de los mejores métodos de fermentación para obtener una semilla de copoazu con un buen índice de fermentación y de buena calidad. El material de madera que se usó para elaborar las cajas fue la especie de tornillo, debido a la resistencia que tiene ante la acidez del copoazu, no absorbe humedad y no tiene olores que puedan transferirle al copoazu ya que este es higroscópico las dimensiones de las cajas fueron las siguientes: 100cm de largo, 50 cm en anchura y 60 en altura, divididas en dos compartimiento de

50x50x60 cm, los cajones tuvieron un orificio en la parte interna de la base del cajón de un diámetro de 0.5cm, espaciados a cada 2.5cm para permitir que facilite la exudación de lixiviados en la masa o escurrido de la pulpa. Durante los 8 días de fermentación se evaluaron los comportamientos de temperatura, Acidez, pH, Sólidos solubles, humedad, prueba de corte de la semilla de copoazu en los dos métodos de fermentación. La fermentación tuvo como volumen para cada tratamiento un lote de 60 kg de semilla con un 15% de pulpa adherida a la semilla.



**Figura 11.** Módulo de Cajones de fermentación de semilla de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

Antes de comenzar el proceso de fermentación se tuvo que curar las cajas fermentadoras debido a que la madera era nueva. Para ello se procedió a realizar el curado colocando 50kg de semillas con pulpa en cada una de las cajas, la acidez que tiene el copoazu ayudará a que las cajas desprendan compuestos naturales en ellas, que provocan un sabor no característico a las semillas de copoazu después de la fermentación y posteriormente se eviten falsos resultados en la calidad de la pasta de chocolate natural.

En los dos tratamientos de fermentación fueron realizadas remociones para la oxigenación y homogenización del proceso fermentativo, a partir de las 24 horas del inicio de la fermentación y cada 24 horas, transfiriéndose el material de la caja al siguiente compartimiento para facilitar la operación hasta el término de los ocho días de fermentación.

Durante las 48 horas que comienza la fermentación anaeróbica, es ahí donde se provoca la licuefacción de la pulpa que envuelve a las semillas, terminado este tiempo, comienza la fermentación aeróbica donde favorece la actividad de las bacterias lácticas. De esa forma, para impedir la actividad masiva de las bacterias lácticas (no volátil), que afectan de forma negativa el desenvolvimiento de los precursores de sabor, se debió realizar la oxigenación de la masa en fermentación por medio de su remoción que serán efectuados cada 24 horas. Este procedimiento es de extrema importancia en la uniformización de la fermentación, y, por el contacto con el oxígeno del ambiente favorecerá al desenvolvimiento de las bacterias acéticas (volátil).

#### **H. Secado.**

En el proceso de secado fue realizado según la investigación por tres métodos diferentes, el primero fue secado natural con bandejas de madera, segundo secado natural con bandejas galvanizadas y el tercero por secado artificial por el método de Estufa a una temperatura de 55°C por un tiempo de 13 horas., en esta etapa del proceso se evaluó el comportamiento de la pérdida de agua. En los dos métodos de secado de forma natural se empezó con un secado gradual durante los dos primeros días es decir no exponiendo los granos al sol por más de 4 horas al día. El secado se realizó con las semillas procedentes del proceso de fermentación natural y fermentación con solución de sacarosa, donde el secado es una de las etapas más relevantes para el buen desarrollo de aromas y sabores en el copoazu después de fermentado. La velocidad de secado junto a la temperatura, son esenciales para mantener activas las reacciones de oxidación de alcoholes y otros compuestos generados en la etapa anterior (Liendo, 2005).

Adicionalmente, el secado permite a la semilla de copoazú a estabilizarse durante el almacenamiento ya que posee un bajo contenido de humedad final y actividad de agua en la almendra después del lapso de secado, al ser tan bajo el valor de humedad (7%), no se permite la proliferación de hongos y bacterias

descontroladamente. Las condiciones más favorables en el secado según ACOPAGRO, se obtienen cuando se realizan con el calor del sol, que es la fuente más económica y adecuada en comparación al secado artificial.

Los procesos de secado se realizaron de las tres siguientes maneras:

- **Secado natural en bandeja:** Este proceso de secado se realizó en una bandeja hecha con madera de tornillo y con las siguientes medidas 50cm x 50cm y 60cm de profundidad, 5kg en cada bandeja debido a que presento la ventaja de la temperatura moderada. El inconveniente fue la dependencia del clima, de 4 días de secado natural pero en lo cual no tuvimos ningún inconveniente en la realización del proceso de secado.



**Figura 12.** Secado natural de bandeja de madera (SNBM).

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

- **Secado natural con bandeja galvanizado:** En este proceso de secado se realizó, bandejas de 1 x 1.5 m., el volumen que se utilizó para la investigación fue de 5 Kg de semilla fermentada, este método se aplicó con el método natural expuesto al sol, durante 4 días, con el fin de secar rápido ya que la calamina conduce buena conductividad térmica expuesta al medio ambiente y la desventaja fue la dependencia del clima.



**Figura 13.** Secado natural de bandeja galvanizada (SNBG).

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

- **Secado artificial con Estufa:** En este proceso se realizó en una estufa con una temperatura de 55°C con un tiempo de 13 horas, para obtener los granos bien secos y de forma rápida en menor tiempo posible la ventaja es que se limita a grandes productores industriales exportadores las remociones serán periódicamente.



**Figura 14.** Secador artificial (SA) por el método de Estufa

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

## I. Tostado.

En esta etapa, el método de tostado por medio de los ensayos realizados según Alessandra Santos, et al (2003) determinó que el tiempo recomendado para la almendra de copoazu es un tiempo de 55 minutos, con una temperatura de 150°C donde las almendras tostadas presentaron mayor facilidad de

descascarillado por presión manual, que es evidencia del desprendimiento de la corteza y la nuez.



**Figura 15.** Sistema de torrado por el método de Estufa.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

#### **J. Descascarillado.**

Este proceso se realizó de una forma manual, el rendimiento de descascarillado depende mucho de la temperatura adecuada para tener la cascarilla con una fácil separación del cotiledón y por ello el tiempo probable será 25 – 30min. Con una temperatura media para un buen descascarillado y fácil despegue del cotiledón.



**Figura 16.** Descascarillado de forma Manual

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

### K. Molienda.

El proceso de molienda se realizó, con un molino artesanal acoplado a un motor 2PH de potencia y un molino manual, así como se muestra en la figura 17, donde se tuvo que hacer pasar la muestra 5 veces en el molino, para poder obtener una pasta de chocolate natural lo más fino posible y sin granulaciones.



**Figura 17.** Equipo de Molienda artesanal.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

### L. Moldeado y Pasta de copoazu.

En esta etapa el moldeado se realizó de forma inmediata en tabletas de 100g, y luego puesto a refrigeración para su solidificación rápida del moldeado, este proceso es importante, con el fin de que la pasta no se oxide y cambie de color, se haga oscuro y para mantener las características típicas de la pasta y alargar la vida útil del producto se realiza el sellado al vacío.



**Figura 18.** Pasta de chocolate Natural de semilla de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

**Cuadro 1.** Balance de masa en el beneficio y la obtención de la pasta de chocolate natural del fruto del copoazu.

OPERACIÓN	INGRESO (Kg)	SALIDA (Kg)	PERDIDAS	
			(Kg)	(%)
Recepción	0.00	0.00	0.00	0.00
Pesado	334.00	334.00	0.00	0.00
Selección y Clasificación	334.00	333.50	0.00	0.00
Lavado	334.00	333.50	0.50	0.15
Remoción de la cascara	333.50	180.09	153.41	45.00
Despulpado – semilla	180.09	60.03	120.06	36.00
Fermentación	60.03	46.43	13.60	22.60
Secado	46.43	16.95	29.48	46.43
Tostado	16.95	15.81	1.14	6.7
Descascarillado	15.81	12.33	3.48	22.00
Molienda	12.33	11.98	0.34	2.80
Moldeado	11.98	11.98	0.00	0.00

**Fuente:** Elaboración Propia (2015).

#### **Rendimiento en la obtención de la pasta de chocolate de copoazú**

- Peso inicial de la materia prima = 334.0 Kg
- Peso final de la pasta de chocolate de copoazú = 11.98 Kg
- **Rendimiento en % de la pasta de chocolate natural = 3.58 %**

En el cuadro 1, se muestra los resultados del rendimiento que se obtuvo durante el beneficio y obtención de la pasta de chocolate natural de la semilla de copoazu, donde se obtuvo de 334.00 kg de fruta en coco de copoazu, donde tuvo un rendimiento en pasta de 3.58 % en promedio que representa un 18kg de pasta de chocolate natural. Estos rendimientos dependen de la variedad y zona de cultivo del fruto de copoazu.

### 2.3.4. Métodos de Análisis.

En la investigación se evaluaron el comportamiento del proceso de fermentación y secado, las cuales fueron temperatura, pH, Acidez, sólidos solubles, humedad y prueba de corte. Estos análisis se realizaron a la pulpa y cotiledón en el proceso de fermentación y en el secado solo la pérdida de humedad. En estos análisis se utilizaron los métodos recomendados por la Normas Técnicas Peruanas (NTP), durante los procesos de fermentación y secado; los cuales se determinaron por medio de muestras en triplicado, estos fueron:

#### A. Temperatura de la masa del copoazu.

Fue determinada mediante un termómetro manual calibrado de 0 a 100 °C con una precisión de  $\pm 0,1$  °C, el cual fue introducido en tres puntos, superficie, medio e inferior de la masa de semilla de copoazu en los cajones fermentadores, la lectura fue tomada a la misma hora y durante los ocho días que duro el proceso de fermentación.



**Figura 19.** Lectura de temperatura en la masa de fermentación.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

#### B. Determinación de Humedad (NTP-ISO 2291)

La determinación del contenido de humedad se hizo por Triplicado en placas petri a peso constante, se colocaron en cada una de ellas un peso conocido de muestras (5 g aprox.). Una vez que la estufa fue precalentada a  $103$  °C +  $2$  °C,

cada muestra en su cápsula fue sometida a calentamiento en la estufa durante 16 horas. Transcurrido este período las cápsulas con las muestras fueron retiradas de la estufa y colocadas en el desecador, dejándolas enfriar hasta que alcanzara la temperatura ambiente; y finalmente pesadas una vez más. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% H = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

**P<sub>i</sub>**

**Dónde:**

**P<sub>i</sub>** = Peso inicial (Peso de Placa + Muestra)

**P<sub>f</sub>** = Peso final

**%H** = Porcentaje de humedad

### C. Determinación del pH

Para la medición del pH se usó un pH-metro digital, previa calibración del potenciómetro, se enjuago el electrodo con agua destilada y se secó cuidadosamente, el potenciómetro se calibro con buffer pH 7, para la preparación de la muestra del cotiledón y la pulpa se sigue el procedimiento de la NTP-203.070, las determinaciones se hicieron por triplicado.



**Figura 20.** Equipo de medición de pH potenciómetro.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

#### D. Determinación de acidez titulable (NTP-203.070)

Para la determinación de la acidez, se siguió el siguiente procedimiento para la preparación de la muestra según (NTP-203.070), la determinación se hizo por titulación con una solución valorada de hidróxido de sodio 0.1 N, se transfirieron de la muestra a un vaso precipitado y se adicionó 2 a 3 gotas de solución de fenolftaleína. Posteriormente se tituló a 48 muestra hasta que se estabilice el vire al color rosa. El porcentaje de acidez es expresada como ácido cítrico calculándose mediante la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Acidez} = \frac{N \times V \times 0.064 \times 100}{V_m}$$

$V_m$

**Dónde:**

**N** = Normalidad del Hidróxido de Sodio

**V** = Volumen del Hidróxido de Sodio usado para la titulación.

**0.064** = Miliequivalentes del Ácido Cítrico.

**$V_m$**  = Volumen de la Muestra (ml).



**Figura 21.** Medición de la Acidez

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

### E. Determinación de sólidos solubles (NTP 203.072)

Los sólidos solubles se expresaron como °Brix, se determinó con un refractómetro digital NR151, a 25°C. La preparación de la muestra (pulpa) fue preparada según la NTP 203.072. Una vez obtenido la muestra preparada se toma dos gotas para determinar los sólidos solubles en un refractómetro de previa calibración del equipo con agua destilada, posteriormente se leyeron los ° Brix por triplicado.

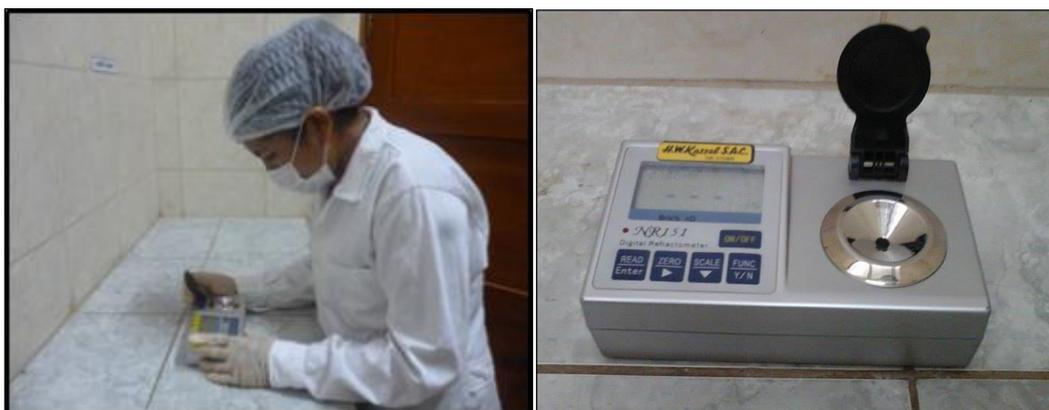
$$Ss = \frac{mS}{15}$$

**En donde:**

**S** = contenido de sólidos solubles en el producto, en porcentaje en masa

**M** = más de los 100 cm<sup>3</sup> de la muestra preparada, en gramos

**S** = contenido de sólidos solubles en la muestra preparada, encontrado por medio de la lectura del refractómetro digital y corregido a 20°C en porcentaje de masa.



**Figura 22.** Equipo de medición de sólidos solubles (°Brix) refractómetro.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

## F. Determinación de prueba de corte (NTP-ISO 1114)

Para realizar esta prueba se hizo un corte longitudinal por la parte central de 20 granos de copoazu, a fin de exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones. Examinamos visualmente las dos mitades de cada grano a la luz diurna o bajo una iluminación artificial (lámpara fluorescente). Se determinó la estructura física, color, adhesión de cascarilla y porcentaje de granos bien fermentados, insuficientemente fermentados y pizarrosos.



**Figura 23.** Prueba de corte de la semilla de copoazu.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

## G. Determinación de los compuestos fenólicos

Para la determinación de los compuestos fenólicos totales, se utilizó el procedimiento con algunas modificaciones de W. Brand-Williams et al (1995) se llevó a cabo en el laboratorio de cromatografía de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, donde se determinó los compuestos fenólicos con un sistema de HPLC (Alliance Waters 2695) equipado con un detector de arreglo de diodos (PDA, Waters 2998) y un automuestreador (Waters Cop., Milford, MA) empleado el software Empower 3. La separación se realizó con una columna Synergi Max-RP C12 (250 x 4.6 mm, tamaño de poro 4  $\mu$ m). La separación cromatografía se llevó a cabo inyectando 10 $\mu$ L de extracto utilizando dos solventes: (A) ácido fórmico 0.01% (v/v) en agua y (B) acetonitrilo 100%, con un

flujo de 1mL/min en un tiempo total de corrida de 50 min. Las condiciones de gradiente fueron como se describe a continuación: (A): del min 0 al min 34.90%; del min 35 al min 39.50%; del min 40 al min 50.90%; solvente (B): del min 0 al min 34.10%; del min 35 al min 39.50%; del min 40 al min 50.10%; las detecciones se realizaron a 280 nm para los ácidos fenólicos y a los 320 nm para los flavonoides. Los compuestos fenólicos fueron identificados y cuantificados usando estándares comerciales de ácidos fenólicos (ácido gálico) y flavonoides (quercetina-3- $\beta$ -glucósido).



**Figura 24.** Equipo de cromatografía por HPLC.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

#### **H. Determinación de la capacidad antioxidante.**

La determinación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo en el laboratorio de cromatografía de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, donde se utilizó el método del DPPH es un radical estable de color violeta, cuya absorbancia disminuye al ser reducido por un antioxidante. La capacidad antioxidante de los extracto se cuantifico según lo reportado por Funkumoto y Mazza (2000) con algunas modificaciones realizadas por Cardador – Martínez et al. (2000). El radical DPPH se preparó inmediatamente antes de ser utilizado a

una concentración de 150  $\mu\text{M}$ , protegido por la luz. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra, estándar y blanco por triplicado; a cada muestra se agregó 200  $\mu\text{L}$  de DPPH y se leyó la absorbancia a 515 nm (espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan GO) desde el tiempo de reacción 0 hasta los 60 min en intervalos de 10 min. Se utilizaron como estándares Trolox (6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromo-2-acido carboxílico). Las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado. La capacidad antioxidante se expresó en  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g muestra húmeda según lo reportado por Cardador-Martinez et al. (2006). Así mismo, se calculó el valor  $\text{IC}_{50}$  (mg/mL) que corresponde a la concentración requerida para inhibir en un 50% la actividad del radical DPPH.



**Figura 25.** Equipo espectrofotómetro.

Fuente: Elaboración propia (2015).

#### 2.4. Codificación

Para poder identificar los diferentes tratamientos estudiados en el proceso de fermentación y secado de la semilla de copoazu se estableció una codificación en función al proceso y método que se aplicó en la investigación y así como se detalla en la tabla 4, la codificación de los dos métodos de fermentación.

**Tabla 4:** Codificación de los tratamientos de métodos de fermentación.

TRATAMIENTO	CÓDIGO
Fermentación Natural	FN
Fermentación con Solución	FS

**Fuente:** Elaboración Propia 2015.

En la tabla 5, se muestra la codificación de los tres métodos de secado para cada tratamiento de fermentación así como se muestra.

**Tabla 5.** Codificación de los tratamientos de métodos de secados.

TRATAMIENTO	CÓDIGO
Fermentación Natural - Secado Natural con Bandeja de Madera	FN-SNBM
Fermentación Natural - Secado Natural con Bandeja Galvanizado	FN-SNBG
Fermentación Natural - Secado Artificial	FN-SA
Fermentación con Solución - Secado Natural con Bandeja de Madera	FS-SNBM
Fermentación con Solución - Secado Natural con Bandeja Galvanizado	FS-SNBG
Fermentación con Solución - Secado Artificial	FS-SA

**Fuente:** Elaboración propia 2015.

## CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 3.1. Características físicas de la semilla

Para este estudio de investigación se utilizó una de las tres especie de copoazu (*Theobroma grandiflorum*), que fue el mamorana es una de las especies mayor cultivadas en la región de Madre de Dios, según la Dirección Regional Agraria. Para el estudio del fruto se evaluó y analizó el rendimiento del fruto de copoazu, donde los datos obtenidos fueron tomados por triplicado y promediado con su desvió estándar, así como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6.** El porcentaje del rendimiento del fruto de copoazu.

PARTE DEL FRUTO	RENDIMIENTO*
Corteza (%)	42.22 ± 0.87
Pulpa (%)	41.01 ± 1.06
Semilla (%)	17.29 ± 0,83

\*Media ± Desviación estándar

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 6, se muestra los resultados obtenidos del rendimiento, donde nos indica un alto contenido de pulpa que fue de 41.01 ± 1.06 %, en base a la semilla se tiene un valor de 17.29 ± 0,83 % y corteza un valor de 42.22 ± 0.87 %, estos valores obtenidos indican un alto rendimiento del fruto en el departamento de Madre de Dios, ya que los resultados encontrados en esta investigación son similares a los reportes por Barbosa, (1979) y Calzavara, (1984).

En la Tabla 7, se puede apreciar las características físicas de la semilla donde se determinó peso, longitud y diámetro, donde se realizaron y se obtuvieron datos por

triplicado de su media y se calculó su desvío estándar y los valores se presentan a continuación en la tabla 7.

**Tabla 7.** Caracterización física de la semilla de copoazu.

<b>Medidas</b>	<b>Valores*</b>
Peso (g)	6.65 ± 0.63
Longitud (cm)	2.72 ± 0.21
Diámetro (cm)	1.15 ± 0.05

\*Media ± Desviación estándar

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

En la tabla 7, se aprecia los resultados obtenidos en las mediciones, se observa que la semilla utilizada en la investigación tiene un promedio de longitud de 2.72 cm, diámetro de 1.15 cm y peso 6.645 g.

Los valores obtenidos en sus propiedades físicas de la semilla de copoazu, donde los datos del peso, longitud y diámetro son similares a los reportados por Venturieri, (1993) y Rocha Neto, (1999).

### **3.2. Caracterización fisicoquímico del cotiledón y pulpa**

Al inicio de la investigación se realizó un análisis físico-químico del cotiledón y pulpa del copoazu, en la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco donde los resultados en semilla y pulpa fresca se presentan en la tabla 8.

**Tabla 8.** Composición físico-químico del cotiledón y pulpa del copoazu.

ANÁLISIS	COTILEDÓN	PULPA	NORMA
Humedad %	45.22	83.77	NTP 206.011
Proteína %	5.09	0.97	AOAC 935.39C
Grasa %	18.07	0.13	NTP 206.017
Ceniza %	2.84	0.27	AOAC 935.39B
Fibra %	4.9	2.14	FAO 14/7
Carbohidratos %	21.25	14.86	Diferencia
Acidez % (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0.12	0.22	NTP 206.013

**Fuente:** Laboratorio de Análisis químico de la UNSAAC (2015).

En la tabla 8, se muestra la composición físico-química del cotiledón y pulpa en el cual se puede observar que tiene un contenido de humedad de 45.22%, grasa un 18.7% con respecto a la acidez en el cotiledón se observa que tiene un 0.12% y de la pulpa un 0.22%, los valores obtenidos son similares a los valores referenciales mencionados en Pizarro et al., (2010) y Calzavara (1984).

### **3.3. Resultados de las evaluaciones del comportamiento de los dos métodos de fermentación de la semilla de copoazu (*Theobroma grandiflorum*).**

En la etapa de fermentación de la semilla, se evaluaron el comportamiento de su variación de la temperatura, acidez, pH, sólidos solubles, humedad y prueba de corte, durante los ocho días de fermentación, donde se observaron una variación en sus comportamientos de sus compuestos físico-químico de la pulpa y cotiledón del fruto

de copoazu, a continuación explicaremos paso a paso de la evaluación de estas variables durante el proceso de fermentación de la semilla de copoazu.

### **3.3.1. Perfil de Temperatura.**

En los resultados de las evaluaciones del comportamiento de la temperatura en los dos tratamientos de fermentación natural (FN) y fermentación con solución (FS) de la semilla de copoazu, los valores se obtuvieron en tres puntos diferentes de la masa fermentada los cuales fueron en la superficie, medio e inferior de la masa de fermentación, obtenidos como resultados una diferencia aceptable en el comportamiento de la temperatura en los dos métodos de fermentación.

El comportamiento en la temperatura fue de forma ascendente en ambos tratamientos donde existe una variación de datos en los tres puntos que se tomaron la temperatura, en donde el mayor comportamiento de la temperatura se observa en el punto medio de la masa de fermentación de los dos tratamientos durante todo el proceso de fermentación.

En la tabla 9, se muestra los valores obtenidos durante la evaluación del comportamiento de la temperatura en los tres puntos tomados de la masa de fermentación de los dos tratamientos de fermentación, donde los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvió estándar, así como se muestra en la tabla 9.

**Tabla 9.** Comportamiento de la temperatura en los tres puntos de la masa fermentante.

TEMPERATURA °C								
Días	Fermentación natural (FN)			Promedio	Fermentación con solución (FS)			Promedio
	TS	TM	TI		TS	TM	TI	
0	29	28	29	29	29	29	28	29
1	30	30	29	30	31.5	30	29.5	30
2	31	31	30	31	32	31	30	31
3	32	33	30	32	33	32	31	32
4	36	35	31	34	33	31	29	31
5	45	45	43	44	43	40	38	40
6	43	45	41	43	44	41	39	41
7	43	44	40	42	45	46	45	45
8	42	43	39	41	43	44	43	43

TS: Temperatura en la Superficie, TM: Temperatura Medio, TI: Temperatura Inferior

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 9, se puede observar los valores obtenidos durante el comportamiento de la temperatura entre niveles de la masa de fermentación en los dos tratamientos, como son fermentación natural (FN) y fermentación con solución (FS). En el tratamiento FN, se muestra un comportamiento inicial de la temperatura de 29°C en la superficie, 28°C en el medio y 29°C en inferior, donde el promedio de las tres medidas es 29°C de temperatura. En el tratamiento FS, tuvo un comportamiento en su temperatura inicial en la superficie de 29°C, en el medio 29°C y en el interior fue de 28°C de temperatura, donde el promedio de las tres medidas es de 29°C de la masa de fermentación.

En los tres primeros días de fermentación, el comportamiento de la temperatura del tratamiento FN, se observó un ascenso leve en los tres días como también en los tres niveles de medición de la temperatura, donde el día uno tuvo como valor promedio 30°C y el cuarto día tuvo 34°C de promedio de temperatura, donde la diferencia de

incremento entre el primero y el cuarto es de 5°C de temperatura. El comportamiento de la temperatura en los tres primeros días de fermentación del tratamiento FS, tuvo como resultado un incremento leve, donde el día uno se obtuvo 30°C de promedio de temperatura y el cuarto día un valor de 31°C en promedio, donde esto hace una diferencia de incremento de 1°C de temperatura ganada durante los tres primeros días. Estos resultados del leve incremento en la temperatura de los dos tratamientos se deben a que los microorganismos presentes en el proceso de fermentación se encuentran en un estado de adaptación al medio de la masa de fermentación, también se debe a la cantidad de pulpa adherida en la semilla ya que fue un promedio de 15%, lo cual provoca una dificultad en el aumento de temperatura en los primeros días de fermentación.

Según la investigación realizada por Leal (2008), nos indica que el exceso de pulpa adherida a la semilla de copoazu en los primeros días impide la plena respiración de la almendra y requiere de mayor tiempo de fermentación y acción de los microorganismos presentes en la pulpa la cual incrementa significativamente el parámetro de la masa fermentante.

En el quinto día de evaluación de la fermentación se observó, que el tratamiento FN, alcanzó su valor más alto en su temperatura promedio que fue de 44°C, esto se explica por el hecho que la pulpa adherida a la semilla fue en su totalidad consumida sus nutrientes por los microorganismos, en comparación con el tratamiento FS, donde solo hubo un incremento en la temperatura de 40°C, esto se explica a la alta concentración de nutrientes debido a la cantidad de sacarosa adicionada al tratamiento y eso provoca que la temperatura de la fermentación se prolongue.

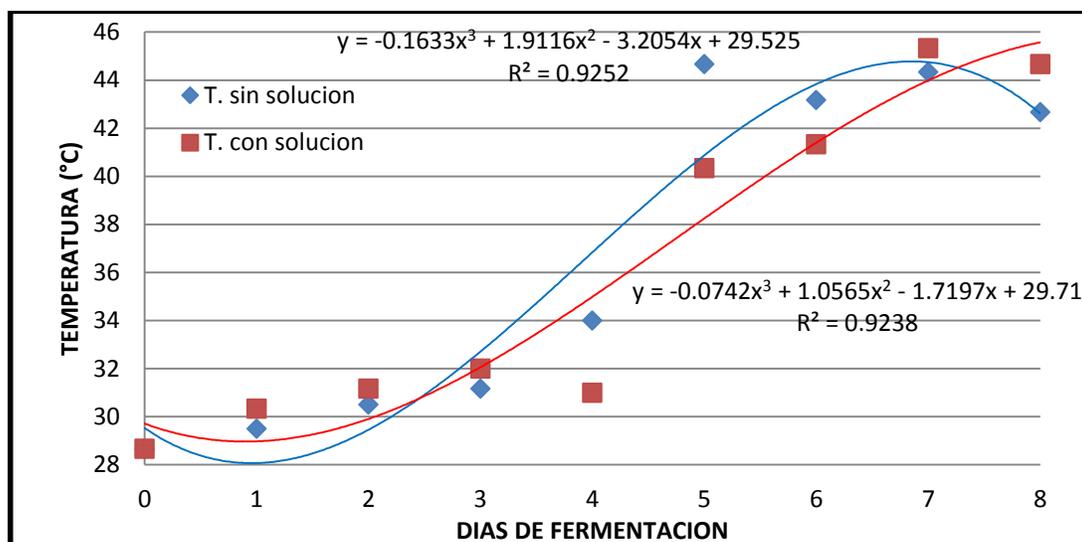
En el séptimo día de evaluación del tratamiento FS, mostro su valor más alto alcanzado en su temperatura, el cual fue de 45°C, promedio.

En los últimos días de fermentación, el comportamiento de la temperatura del tratamiento FN, tuvo un descenso leve, donde los valores obtenidos en el sexto día fue de 43°C en promedio y el octavo día fue de 41°C de temperatura en promedio de la masa de fermentación del tratamiento FN, el cual hace una diferencia de disminución

de temperatura entre el sexto y octavo día de 2°C de temperatura. En el tratamiento FS, el descenso de la temperatura se da en el octavo día de fermentación, donde el valor fue de 43°C de temperatura promedio. Este comportamiento del descenso en la temperatura al final de la fermentación en los dos tratamientos se debe a la falta de nutrientes en la masa fermentada y esto provoca la muerte de los microorganismos presentes en el proceso de fermentación. Según las investigaciones realizadas por Portillo et al. (2005), nos indica que el descenso de la temperatura en los últimos días de la etapa de fermentación, se debe a la inactivación de las bacterias acéticas y la muerte del cotiledón, ocasionado por la penetración del ácido acético al interior de la cotiledón.

Durante todo la investigación del proceso de fermentación, en los resultados se observó que el comportamiento de la temperatura en los tres niveles tomados fueron en la superficie (TS), medio (TM) e interno (TI) de la masa de fermentación, donde tuvo un comportamiento de la temperatura diferente en los tres niveles tomados, en donde el nivel de la superficie tomada se obtuvo los valores más altos en el comportamiento de temperatura de los dos tratamientos FN y FS.

Según los estudios realizados con referencia al cacao por Senanayake et al (1995), nos indica que el comportamiento de la temperatura en los tres puntos; superficie, medio e interno del proceso de fermentación del cacao, observa que en la superficie de la masa de cacao, la temperatura es mayor que en el medio y en el interno de la masa de fermentación.



**Gráfico 1.** Curva de comportamiento de la temperatura en la fermentación.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 1, se puede apreciar gráficamente la curva del comportamiento de la temperatura con respecto a los días de fermentación de los dos tratamientos, donde los resultados obtenidos fueron eficientes ya que alcanzaron la temperatura adecuada para la muerte del cotiledón en los dos tratamientos, donde el tratamiento FN, tuvo como valor más alto en el quinto día de fermentación que fue de 44°C de temperatura promedio. En el tratamiento FS, se obtuvo un valor mayor que el otro tratamiento que fue de 45°C de temperatura en el séptimo día.

Los datos obtenidos en el comportamiento de la temperatura en los tres niveles (superficie, medio e interno) del cotiledón son semejantes a los estudios de investigación realizados por Criollo (2010).

### 3.3.2. Comportamiento del pH de la pulpa y cotiledón.

En la evaluación del comportamiento de pH de la pulpa y el cotiledón durante el proceso de fermentación se observó que el pH de la pulpa tiene un comportamiento ascendente y en el pH del cotiledón tiene un comportamiento descendente lo cual significa que los comportamientos de las masas fermentantes fueron buenas tanto para el pH de la pulpa y pH del cotiledón. A continuación explicaremos el comportamiento del pH en la pulpa y cotiledón del fruto del copoazu.

### a. pH de la Pulpa.

Los resultados de la evaluación del comportamiento del pH que se realizó a los dos tratamientos de fermentación, muestra un comportamiento, donde existe una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre la FN y FS, se pudo observar un comportamiento de forma ascendente en los dos tratamientos de fermentación, teniendo valores similares reportados de acuerdo con lo analizado por Hernández y León (2003), quienes aseguran que el ascenso del pH se genera gracias a la conversión del etanol a ácido acético, dándose una migración en la semilla de compuestos de la testa al cotiledón. Los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvío estándar, así como se muestra en la tabla 10.

**Tabla 10.** Comparación del comportamiento del pH de la pulpa en los dos tratamientos de fermentación.

pH DE PULPA			
DIA	FN	FS	
0	3,07	3,1	
1	3,44	3,31	
2	3,72	3,42	
3	4,04	3,47	
4	4,21	3,53	
5	4,23	3,75	
6	4,53	4,45	
7	5,13	4,5	
8	6,15	4,73	

**Fuente:** Elaboración propia 2015.

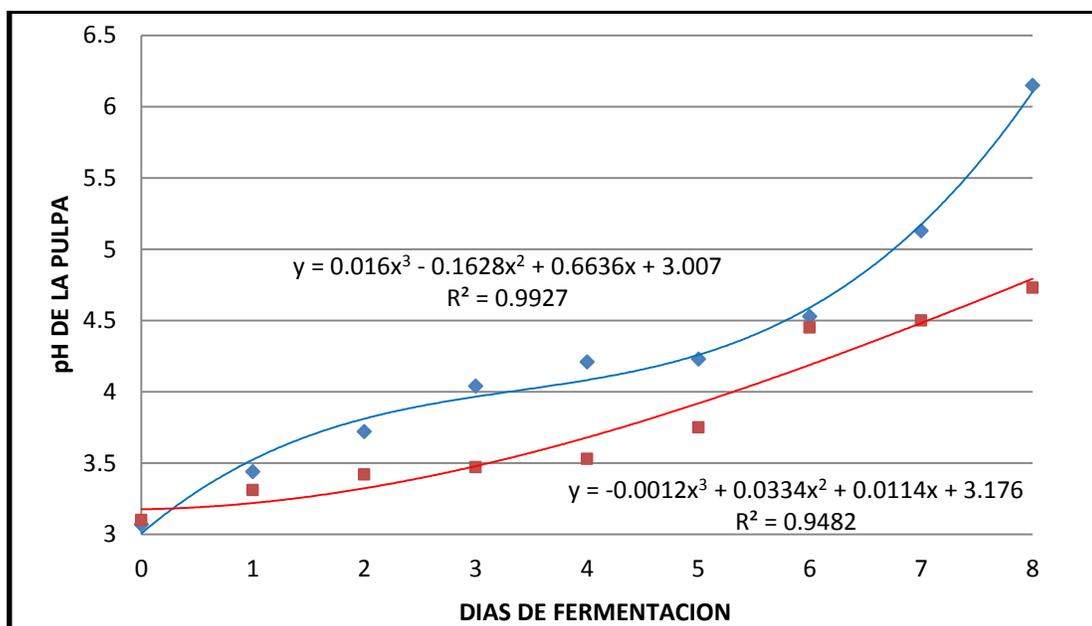
En la tabla 10, se muestra los datos obtenidos durante la evaluación del pH de los dos tratamientos como son Fermentación Natural (FN) y Fermentación con Solución (FS),

el comportamiento del día cero tuvo una diferencia significativa mínima, donde el tratamiento FN, comenzó con un pH ácido de 3.07 y FS con un pH, 3.1.

En el tratamiento FN, se observa que en los primeros días uno, dos y tres existe un incremento acelerado, debido al incremento de la masa de fermentación donde esto provoca un desdoblamiento y transformación de los carbohidratos existentes en la pulpa y a la formación del ácido acético por la formación del alcohol el cual provoca una fermentación eficiente donde los valores del primer día fue un pH de 3.44 y el tercer día fue de 4.04, con una diferencia de ascenso de un pH de 0.6 el incremento. En el caso del tratamiento FS, los primeros días uno, dos y el tres día, tuvo un incremento moderado, esto se debe a la agregación de sacarosa en el tratamiento, donde provocó un incremento en los nutrientes y esto hace que los microorganismos produzcan poco ácido acético por la alta concentración de nutrientes, donde los valores obtenidos en el día uno fue de un pH 3.31 y el tercer día tuvo un pH de 3.47, con una diferencia de un pH de 0.16 del incremento de los tres días.

En el cuarto y quinto días de fermentación el tratamiento FN, tuvo un comportamiento de su incremento moderado de pH, debido a que en esos días la temperatura de fermentación estuvo en sus valores más altos, esto provoca el desgaste de los nutrientes, en donde los microorganismo se encontraba en la fase estacionaria en el proceso de fermentación, donde la diferencia entre los dos días fue de un incremento de un pH de 0.17. En el tratamiento FS, tuvo un incremento de pH en los días cuatro y quinto, donde la diferencia de incremento fue de un pH de 0.06.

Los resultados del pH de la pulpa de copoazu en los últimos días de fermentación tuvo un comportamiento en el tratamiento FN, un incremento moderado en donde tuvo como valor final del octavo día de fermentación un pH de 6.15 mayor que el tratamiento FS, donde solo se obtuvo un pH de 4.73, final, la diferencia en los dos tratamientos se da por una diferencia de 1.42. Los datos obtenidos en esta investigación sobre el comportamiento del pH en la pulpa son semejantes a los datos obtenidos por Hernández y León (2003).



**Gráfico 2.** Perfil del comportamiento del pH de la pulpa.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 2, se muestra gráficamente las curvas del comportamiento de pH de la pulpa que tuvo los dos tratamientos de fermentación, se puede apreciar que existe una variación en el comportamiento de pH en los dos métodos de fermentación durante los ocho días evaluados. En el método de fermentación natural se puede observar que tuvo un incremento mayor, esto se debe a las propias condiciones que fue acondicionado el fermento de una forma natural. Por el otro lado el método de fermentación con solución de sacarosa tuvo un comportamiento aceptable para la formación del ácido acético y la muerte del cotiledón.

#### **b. pH del cotiledón.**

Los resultados del comportamiento del pH en el cotiledón, fue de forma descendente en los dos tratamientos de fermentación y teniendo valores similares reportados de acuerdo con lo analizado por Hernández y León (2003), quienes aseguran que el descenso del pH se genera gracias a la conversión del etanol a ácido acético, dándose una migración en la semilla de compuestos de la testa al cotiledón.

En la siguiente tabla 11, se muestra los valores obtenidos del comportamiento del pH del cotiledón durante los días de fermentación, donde los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvío estándar, así como se muestra en la tabla 11.

**Tabla 11.** Comportamiento del pH del cotiledón

pH DEL COTILEDON		
DIA	FN	FS
0	6,46	6,25
1	6,85	6,78
2	6,62	6,64
3	6,66	6,53
4	6,05	6,46
5	5,28	6,21
6	5,79	5,06
7	4,95	5,21
8	5,08	4,79

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 11, se aprecia los valores de pH del cotiledón obtenidos durante el proceso de fermentación, donde se muestra la comparación de Fermentación Natural (FN) y Fermentación con Solución (FS), en su comportamiento del pH del cotiledón con relación a los días de fermentación, donde se observa que el inicio de los dos métodos de FN, fue con un pH, 6.46 y FS con un pH, 6.25.

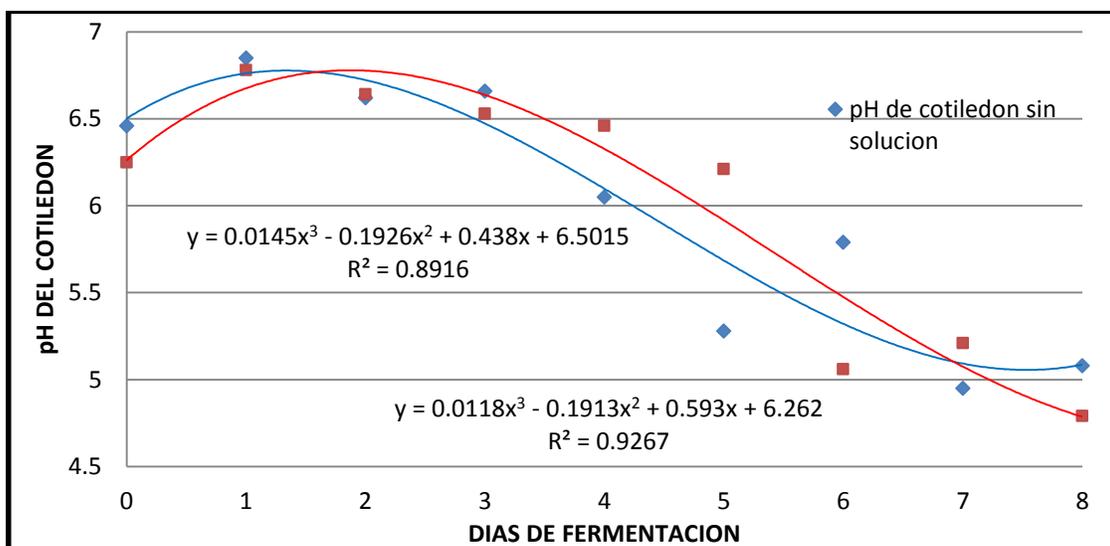
En el día uno se observa una variación de incremento de pH en el cotiledón en los dos tratamientos, donde en tratamiento FN, tuvo un valor de 6.85 de pH y una diferencia

con el día cero de incremento moderado de 0.39 de pH y el tratamiento FS, tuvo como valor 6.78 de pH y una diferencia de incremento leve con el día cero de 0.53 de pH., estos incrementos en los dos tratamiento se debe a que existe una retención de la penetración del ácido cítrico hacia el interior del cotiledón.

En los días dos, tres y cuatro existe un descenso leve del pH del cotiledón en ambos tratamientos, donde el tratamiento FN, tuvo un pH en el día dos de 6.62 hasta el cuarto día que tuvo un pH de 6.05, con una diferencia de descenso moderado de 0.57 de pH. En el tratamiento FS, se obtuvo un pH en el día dos de 6.64 hasta el días cuatro que se tuvo un pH de 6.46, con una diferencia mínima de descenso que fue de 0.18 de pH. Este descenso del pH del cotiledón en los dos tratamientos se debe a que existe una penetración del ácido acético producido por los microorganismos presentes en la parte externa de la semilla.

En los últimos días de fermentación el comportamiento del pH del cotiledón, tuvo un descenso moderado en ambos tratamientos, donde existe una variación en los datos finales, donde el tratamiento FN, tuvo un pH final de 5.08, que fue menor que el otro tratamiento. El tratamiento FS, donde se obtuvo el valor de pH de 4.79. El más bajo y acido que fue de un pH de 4.79.

Los resultados obtenidos en el comportamiento del pH del cotiledón, durante el proceso de fermentación son semejantes a los datos obtenidos por el estudio de investigación de Hernández y León (2003).



**Gráfico 3.** Perfil de las curvas del comportamiento de pH del cotiledón

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 3, se muestra gráficamente las curvas del comportamiento del pH del cotiledón, donde las curvas del descenso se refleja de una forma paulatino, donde existe una variación de ascenso en el primer día y descenso en los posteriores días de fermentación en los dos tratamientos, donde se observa que el tratamiento FS, tuvo el valor más bajo de pH de 4.79, a comparación del tratamiento FN, donde solo tuvo un valor de 5.08.

### 3.3.3. Comportamiento de la acidez en la pulpa y cotiledón.

Durante la evaluación del comportamiento de acidez de la pulpa y cotiledón del fruto de copoazu, existe una barrera llamada testa, cuyo grosor tiene alrededor de 0.54 mm, superior y casi doble del grosor de la testa del cacao que es de 0.26 mm. Esta diferencia del espesor implica el tiempo de fermentación de la semilla de copoazu y el buen desarrollo de los microorganismos para generar ácido acético y romper la estructura de la pared de la testa, para el ingreso del ácido acético al interior de la semilla y provocar la muerte del cotiledón. A continuación se describirá e interpretara los resultados del comportamiento de la acidez que tuvo la pulpa y el cotiledón, durante los días de fermentación.

### a. Comportamiento del porcentaje de acidez en la pulpa

Los resultados de los valores obtenidos en el comportamiento del acidez de la pulpa de copoazu, mostro una variación leve en el comportamiento de los dos tratamiento de fermentación FN y FS, el cual se obtuvo datos aceptable durante su evaluación, donde el descenso del acidez fue de forma leve en los dos tratamientos. La acidez de la pulpa al inicio de la fermentación se le considera ácido cítrico ya que por su naturaleza del fruto contiene este acido, durante los días de fermentación el ácido cítrico se va convirtiendo en ácido acético debido al desdoblamiento de los nutriente por los microorganismos presentes en la pulpa. En la tabla 12, se muestra el comportamiento de acidez de la pulpa de los dos tratamientos de fermentación, donde los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvió estándar, así como se muestra en la tabla 12.

**Tabla 12.** Comportamiento del % acidez de la pulpa de copoazu.

% DE ACIDEZ DE LA PULPA		
DIA	FN*	FS*
0	2,47 ± 0.02	2,31 ± 0.09
1	2,19 ± 0.01	2,7 ± 0.03
2	1,83 ± 0.01	2,4 ± 0.02
3	1,34 ± 0.01	2,4 ± 0.03
4	1,32 ± 0.01	1,54 ± 0.86
5	1,88 ± 0.30	1,68 ± 0.06
6	0,77 ± 0.01	1,21 ± 0.02
7	0,46 ± 0.01	0,97 ± 0.01
8	0,22 ± 0.02	0,96 ± 0.01

\*Media ± Desviación estándar

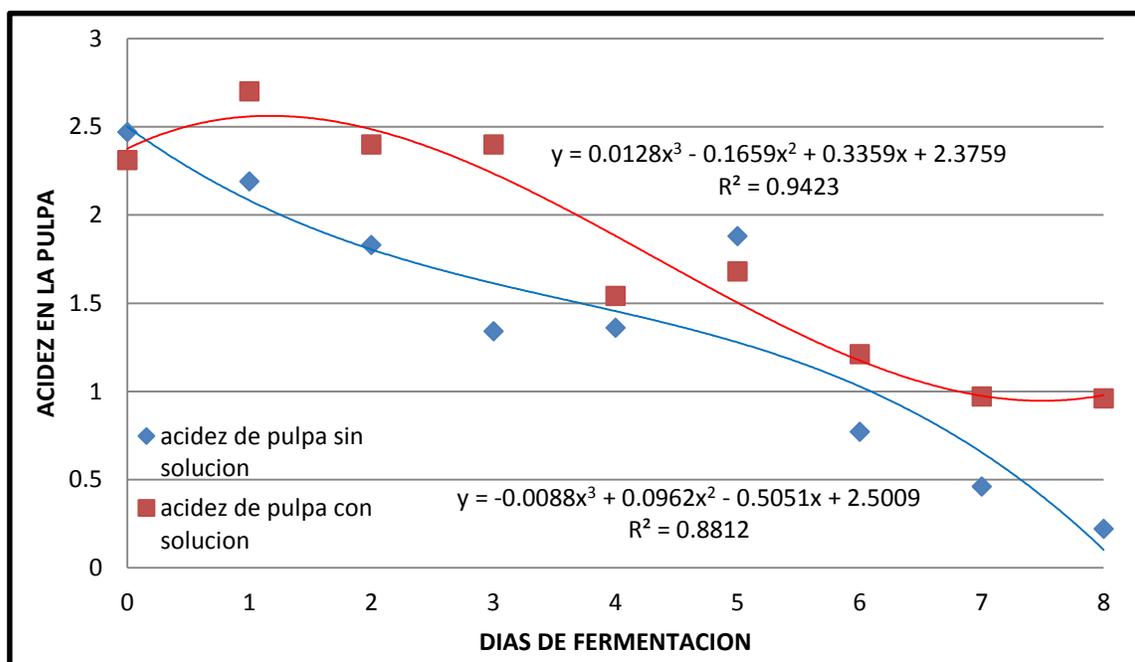
**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 12, se muestra los valores obtenidos durante la evaluación del porcentaje de acidez de la pulpa, en los dos tratamientos de fermentación, en donde obtuvieron una variación en su descenso de la acidez en los dos tratamientos. El tratamiento FN, tuvo como valor inicial en el día cero un acidez de 2.47% y el tratamiento FS, tuvo un acidez de 2.31%, menor al del tratamiento FN.

En el comportamiento del primero, segundo, tercero y cuarto día se puede observar que existe una disminución moderada del porcentaje de acidez en la pulpa en ambos tratamientos. El tratamiento FN, tuvo un comportamiento de forma descendente, donde los valores obtenidos fueron menores al tratamiento FS, ya que se obtuvo un valor de acidez de 2.19% en el día uno y en el cuarto día se obtuvo un valor de acidez de 1.32%, con una variación entre el primero al cuarto día con una disminución de 0.87%. El tratamiento FS, se observó que existe un mayor descenso del porcentaje de acidez en la pulpa, donde observo que en el primer día uno obtuvo un porcentaje de acidez de 2.7% y cuarto día con un porcentaje de acidez de 2.4%, esto hace una diferencia en su disminución entre el primero y cuarto día de 1.16%. Este descenso de la acidez de la pulpa, se deben a la leve producción de ácido acético generado por los microorganismos presentes en la pulpa.

En los últimos días de fermentación del comportamiento del porcentaje de acidez de la pulpa, se observó una disminución elevada en ambos tratamientos, donde el tratamiento FN, se evaluó una disminución mayor al otro tratamiento, donde se obtuvo en el día quinto un valor de 1.88 % de acidez y en el octavo y último día tuvo un valor de 0.22% de acidez, con una diferencia en su disminución del quinto al octavo día de 1.66% de acidez. El tratamiento FS, se obtuvo un descenso leve, donde se obtuvo un valor de acidez en el quinto día de 1.68% y en el octavo y último día se obtuvo 0.96% de acidez en la pulpa, con una diferencia entre el quinto y octavo día de 0.72% de descenso del acidez. Este comportamiento de descenso del acidez en la pulpa en los últimos días se debe a que la temperatura se encuentra en sus valores más altos, estos factores provocan la muerte del cotiledón, donde el ácido acético producido por los microorganismos comienza a perforar la testa que rodea al cotiledón, en donde comienza la penetración del ácido acético con el agua, donde este fenómeno provoca

el hinchamiento de la semilla de copoazú durante la etapa de fermentación. Este comportamiento del acidez en la pulpa se presentó de igual forma en los estudios realizados por Hernández & León (2002) y Marçal de Vasconcelos (1999).



**Gráfico 4.** Perfil de las curvas del comportamiento de acidez de la pulpa.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 4, se aprecia gráficamente el comportamiento de las curvas del porcentaje del acidez en la pulpa en los dos tratamientos de fermentación, donde se observa que existe un descenso de forma paulatina en ambos tratamientos, donde existe una variación de ascenso y descenso en los tratamientos, donde se observa que el tratamiento FN, tuvo el valor más bajo del porcentaje de acidez que fue 0.22%, a comparación con el tratamiento FS, donde solo se obtuvo un valor de 0.96% de acidez.

Según los estudios realizados por Portillo et al. (2005), nos da a conocer que el comportamiento del ascenso y descenso del porcentaje de la acidez de la pulpa en el proceso de fermentación, es un buen indicador del avance en el proceso de fermentación.

**b. Porcentaje del comportamiento de acidez en el cotiledón:**

Los resultados de los valores obtenidos en el comportamiento de la acidez del cotiledón en los dos tratamientos de fermentación, se observó que tuvo una variación de ascenso gradual del porcentaje de acidez en ambos tratamientos FN y FS, el cual se obtuvo datos aceptables durante su evaluación.

**Tabla 13.** Comportamiento del % acidez del cotiledón de copoazu.

% DE ACIDEZ DEL COTILEDÓN		
DIA	FN*	FS*
0	0,22 ± 0.02	0,19 ± 0.02
1	0,21 ± 0.03	0,19 ± 0.02
2	0,26 ± 0.01	0,28 ± 0.07
3	0,24 ± 0.04	0,32 ± 0.03
4	0,35 ± 0.01	0,34 ± 0.03
5	0,59 ± 0.15	0,27 ± 0.01
6	0,44 ± 0.00	0,77 ± 0.02
7	0,88 ± 0.07	0,67 ± 1.80
8	0,66 ± 0.03	0,86 ± 0.01

\*Media ± Desviación estándar

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

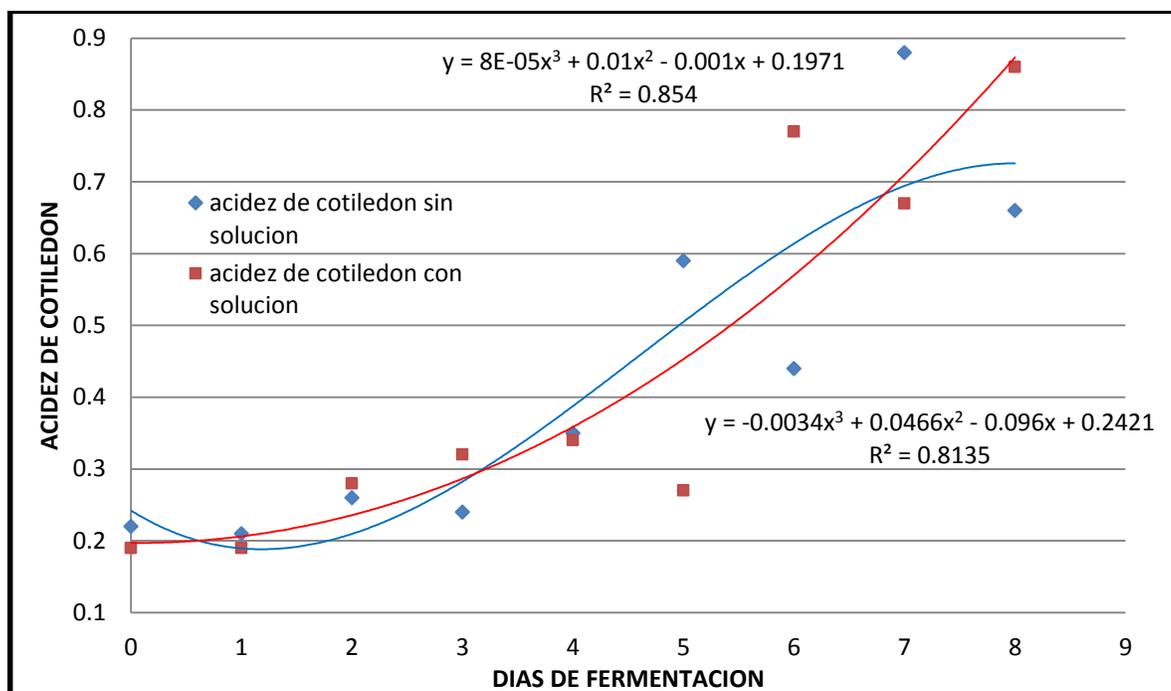
En la tabla 13, se muestra el comportamiento de acidez del cotiledón de los dos tratamientos de fermentación, donde los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvió estándar, así como se muestra en la tabla 3.8, donde se muestra que el inicio del tratamiento FN, obtuvo como valor 0.22% de acidez y el tratamiento FS, tuvo un 0.19% de acidez.

En los primeros cuatro días, el comportamiento de la acidez en el cotiledón del tratamiento FN, se mostró de forma ascendente en el primero, segundo y cuarto día y también se mostró una descendiente en el tercer día, el valor obtenido en el primer día

fue de 0.21% de acidez y en el cuarto con un valor de 0.35% de acidez, en donde la diferencia de incremento del primero al cuarto es de 0.14% de acidez. El tratamiento FS, tuvo como valor en el primer día 0.19% de acidez y en el cuarto día 0.34% de acidez, donde hace una diferencia de incremento de 0.15% de acidez. Este comportamiento de ascenso lento se explica al retraso en la pérdida de la viabilidad del grano y en consecuencia de un retardo en la ruptura de las células de la pulpa y en la liberación de los jugos, lo que ocasiona un menor desarrollo de las bacterias acéticas.

En los últimos días la acidez mostro en el tratamiento FN, un incremento leve, donde se obtuvo en el quinto día un 0.59% de acidez y en el octavo y último día un 0.66% de acidez, esto hace una diferencia entre el quinto al octavo día crecimiento mínimo que fue de 0.07% de acidez. En tratamiento FS, mostro un mayor crecimiento en los últimos días de fermentación, donde los valores fueron en el quinto día 0.27% de acidez y el octavo y último día un 0.86% de acidez, esto hace una diferencia de crecimiento entre el quinto y octavo de 0.59% de acidez y que fue mayor que el otro tratamiento en el resultado final.

Durante la fermentación, los ácidos acético y láctico producidos por la degradación microbiana de la pulpa son difundidos hacia el cotiledón, aumentando la acidez de la fracción del cotiledón de la almendra, este comportamiento de ascenso en la acidez influye en la muerte del cotiledón, en donde el ácido acético penetra a los tejidos del cotiledón provocante la muerte y el cambio de pigmentación del cotiledón, este comportamiento del acidez en la pulpa se presentó de igual forma en los estudios realizados por Hernández & León (2002) y Marçal de Vasconcelos (1999), a continuación se mostrara el gráficamente el comportamiento del acidez del cotiledón durante los días de fermentación (figura 5).



**Gráfico 5.** Perfil de las curvas del comportamiento de acidez en el Cotiledón.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 5, se puede apreciar gráficamente las curvas de los dos tratamientos, donde existe una variación del porcentaje de la acidez en el cotiledón en los dos tratamientos FN y FS del cotiledón con relación a los días de fermentación, donde se observa que existe una eficiencia en el tratamiento FS, debida a la penetración de una mayor cantidad de ácido acético en el cotiledón.

Según los estudios realizados por Enríquez (1985), en cacao la muerte de las almendras producen un aumento en la permeabilidad de las paredes celulares, lo cual permite la interdifusión de los componentes del jugo celular y por ello las enzimas actúan con los polifenoles y proteínas iniciando ciertas reacciones hidrolíticas en la que los pigmentos sufren un cambio y se produce el precursor del sabor característico del chocolate.

### 3.3.4. Comportamiento de sólidos solubles de la pulpa.

El contenido de los sólidos solubles totales expresados en °Brix de la pulpa de copoazu, se evaluó en el proceso de fermentación de los dos tratamientos, donde se

obtuvo un comportamiento de forma descendente durante todo el proceso de fermentación.

**Tabla 14.** Comportamiento del ° Brix de la pulpa de copoazu.

<b>SOLIDOS SOLUBLES</b>		
<b>DIA</b>	<b>°Brix sin solución</b>	<b>°Brix con solución</b>
0	12.46	13.11
1	10.48	11.02
2	6.46	8.37
3	5.24	7.76
4	4.6	7.17
5	4.21	6.49
6	3.91	5.81
7	3.28	5.19
8	3.24	3.87

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

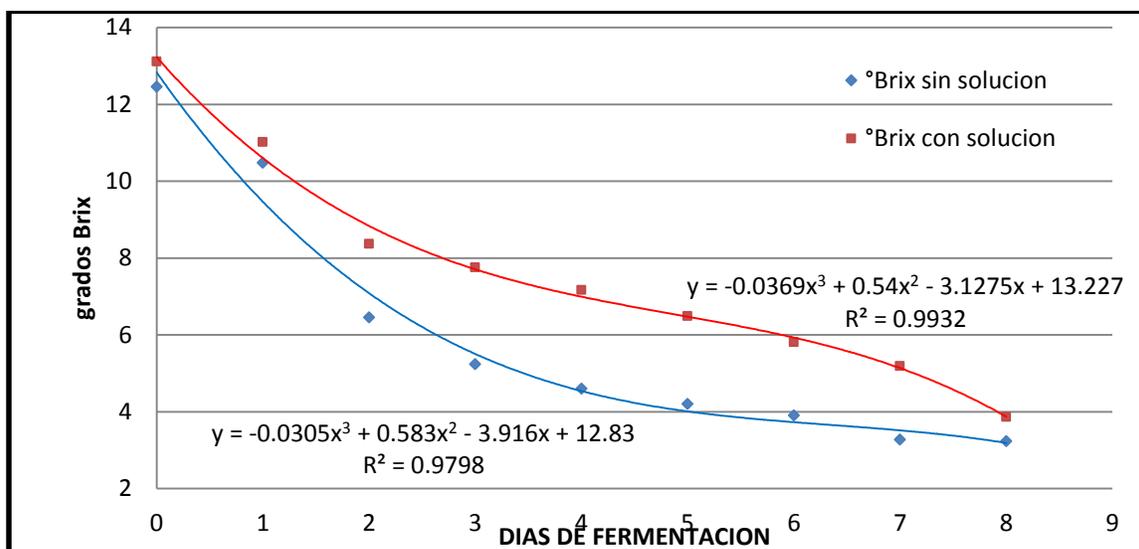
En la tabla 14, se muestra el comportamiento de los sólidos solubles totales de la pulpa de copoazu en el proceso de fermentación de los dos tratamientos de fermentación, donde los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvió estándar, así como se muestra los valores obtenidos durante la evaluación de los sólidos solubles totales (°Brix) de los días de fermentación en los dos tratamientos, donde se puede apreciar que al comienzo existe una variación debido a que uno de los tratamiento que es FS se adiciono una concentración del 30% de sacarosa en donde se tuvo como valor inicial 13.11°Brix y el otro tratamiento FN, se obtuvo un valor inicial de 12.46°Brix.

En los primeros cuatro días de fermentación se observa que existe un descenso rápido de los sólidos solubles en los dos tratamientos, donde en el tratamiento FN, se obtuvo como valor en el comportamiento de los sólidos solubles en el día uno de 10.48°Brix

y en el cuarto día tuvo un valor de 4.6°Brix, con una variación de disminución entre el primero y el cuarto día, de un valor de 5.88°Brix en pérdida, El tratamiento FS, tuvo como valor en el comportamiento de los sólidos solubles en el día uno 11.02°Brix y el cuarto día con un valor de 7.17°Brix, donde existe una diferencia de disminución de 3.85°Brix en pérdida. Estos resultados de descenso o pérdida excesivos de los sólidos solubles durante los días de fermentación, se debe al consumo excesivo de los nutrientes presentes en la pulpa por los microorganismos.

En el comportamiento de los sólidos solubles de la pulpa, en los últimos días de fermentación tuvo como resultado una leve disminución del °Brix en ambos tratamientos de la investigación. El tratamiento FN, tuvo como datos en el quinto día un valor de 4.21°Brix y en el octavo e último día tuvo un valor de 3.24°Brix, en donde existe una diferencia de disminución de 0.97°Brix de pérdida. El tratamiento FS, tuvo un comportamiento diferente al otro tratamiento ya que se aprecia en los resultados de la tabla 3.9, que tuvo una mayor disminución en el °Brix de la pulpa, donde tuvo valores en el día cinco de 6.49°Brix y el octavo e último día tuvo un valor de 3.87°Brix, donde la diferencia de disminución entre el quinto y octavo día es de 2.62°Brix. Estos resultados obtenidos en los últimos días de fermentación del comportamiento de descenso leve de los sólidos solubles en los dos tratamientos, se debe al desgaste de la fuente de nutrientes que existe en la masa de fermentación.

La determinación del contenido de sólidos solubles es de mucha importancia en la predicción del proceso de fermentación ya que indirectamente refleja la cantidad de azúcares presentes en la pulpa. En la actualidad no existen análisis bibliográficos que relacionen este parámetro con el proceso de fermentación.



**Gráfico 6.** Perfil de las curvas del comportamiento del °Brix en la pulpa.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 6, se aprecia gráficamente el comportamiento de las curvas de los sólidos solubles totales de la pulpa en los dos tratamientos de fermentación, donde se observa que existe un descenso rápido en los primeros cuatro días y en los últimos días un descenso lento así como se muestra en el gráfico en ambos tratamientos, donde existe una variación de ascenso y descenso, donde se observa que el tratamiento FN, tuvo el valor más bajo de los sólidos solubles que fue 3.24°Brix, a comparación con el tratamiento FN, donde solo se obtuvo un valor de 3.87°Brix.

El comportamiento de los sólidos solubles en el proceso de fermentación, es muy importante conocer ya que es un indicador de la concentración de nutrientes de sacarosa para el consumo de los microorganismos presentes en la naturaleza de la pulpa y que ayudan el incremento de temperatura de la fermentación.

### 3.3.5. Comportamiento de la humedad en el cotiledón.

En la evaluación del comportamiento de la humedad en el cotiledón, se observó un aumento ascendente y descendente en ambos tratamientos, durante los días de fermentación, en los resultados de la evaluación existe una variación del porcentaje de humedad en ambos tratamientos.

Según las investigaciones Hernández et al., (2006) nos indica que durante el proceso de fermentación, el interior de la semilla va adquiriendo agua y ácido acético de la parte externa de la pulpa adherida a la semilla que traspasa las membranas de la semilla, aumentando el porcentaje de humedad en el cotiledón.

En la siguiente tabla 15, se muestra los valores obtenidos del comportamiento de humedad del cotiledón durante los días de fermentación, donde los resultados que se obtuvieron fueron tomados por triplicado y promediado con su desvió estándar, así como se muestra en la tabla 15.

**Tabla 15.** Comportamiento del % de humedad del cotiledón.

% DE HUMEDAD DEL COTILEDÓN		
DIAS	FN*	FS*
0	36.29 ± 0.77	38.2 ± 0.45
1	35.51 ± 0.82	36.66 ± 0.32
2	34.94 ± 0.59	35.2 ± 0.98
3	34.72 ± 0.80	34.01 ± 0.23
4	35.7 ± 0.17	35.02 ± 0.25
5	36.42 ± 0.93	37.39 ± 0.54
6	37.42 ± 0.99	41.08 ± 0.30
7	38.18 ± 0.29	42.02 ± 1.13
8	43.67 ± 0.22	45.05 ± 0.19

\*Media ± Desviación estándar

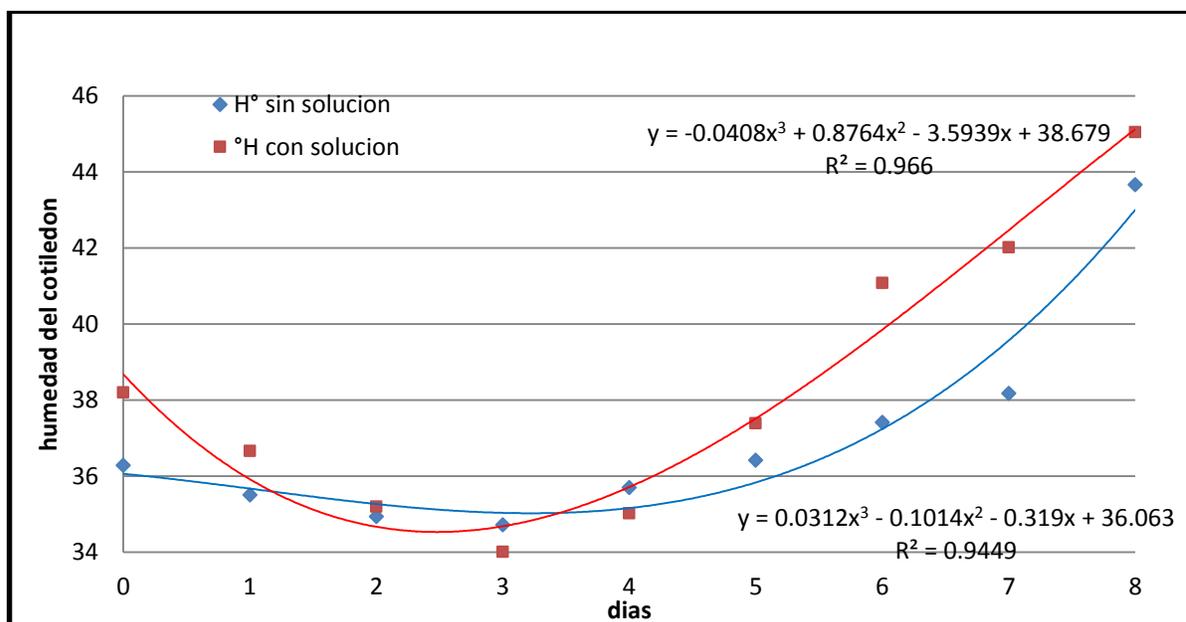
**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 15, se puede apreciar los valores obtenidos del porcentaje de humedad en los dos tratamientos de fermentación, donde el inicio del tratamiento FN, obtuvo un valor de humedad de 36.29% y el tratamiento FS, tuvo una humedad de 38.2%,

En los primero tres días se observa que existe un descenso leve en el tratamiento FN y FS, donde los valores obtenidos en el tratamiento FN, en el día uno es de 35.51% de humedad y en el tercer día es de 34.72% de humedad, esto hace una diferencia del porcentaje de disminución de la humedad del día uno al tercer día un valor de

0.79%. En el tratamiento FS, ocurre lo mismo que el tratamiento FN, en donde los tres primeros días existe un descenso en la humedad, donde los valores obtenidos en el día uno es de 36.66% y el tercer día de 34.01% de humedad en el cotiledón, donde esto hace una diferencia de disminución de pérdida de humedad entre el día uno y el quinto día es de 2.65%. Este comportamiento al descenso del porcentaje de la humedad en los primeros tres días de fermentación se debe a que durante estos primeros días el ácido acético no afectó las paredes celulares de la testa, debido a la poca producción del ácido acético por los microorganismos.

A partir del cuarto y octavo día existe un incremento elevado del porcentaje de humedad en el cotiledón, donde el resultado en los últimos días de fermentación tuvo un comportamiento aceptable. El tratamiento FN, tuvo como valor en el cuarto día una humedad de 35.02% y el octavo e último día tuvo 45.05% de humedad en el cotiledón, esto hace una diferencia entre el cuarto y octavo día de 10.03% de humedad ganada durante el proceso de fermentación. En el tratamiento FS, mostro un mayor incremento de la humedad que el otro tratamiento, donde los valores obtenidos fueron en el cuarto día 35.02% de humedad y en el octavo un valor de 45.05% de humedad en el cotiledón, esto hace una diferencia en el incremento entre el cuarto y el octavo día un valor de 10.0% de humedad de ganancia en el cotiledón. Este comportamiento del incremento elevado en los dos tratamientos se debe a la ruptura de la testa de la semilla, debido a la producción de ácido acético de los microorganismos presente en su naturaleza de la pulpa de copoazu, según las investigaciones de Lemus et al. (2001) nos indica que durante la etapa de fermentación ocurre la descomposición microbiana de la pulpa que causa ruptura de las células y desprendimiento de jugos y se elimina parte del agua en el exudado. Los datos obtenidos en esta investigación sobre el comportamiento del porcentaje de humedad del cotiledón son semejantes a los datos obtenidos por Criollo et al (2010). En los estudios realizados por Enríquez (1985), nos manifiesta que al inicio del proceso de fermentación el cotiledón tiene una humedad entre 35 y 38% de humedad, donde también nos indica que al finalizar el proceso de fermentación el cotiledón aumenta su contenido de humedad hasta niveles de 40% y 45% y esto indica un buen proceso de fermentación.



**Gráfico 7.** Perfil de las curvas del comportamiento de humedad del cotiledón.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 7, se puede observar gráficamente las curvas de comportamiento del porcentaje de humedad del cotiledón adquirida durante el proceso de fermentación en los dos tratamientos, gráficamente se observa que tuvo un comportamiento en los primeros tres días un descenso del porcentaje de humedad en el cotiledón y luego en el cuarto hasta el octavo existe un aumento elevado de la humedad en el cotiledón, donde esto nos indica que ambos tratamientos tuvieron un aceptable comportamiento del porcentaje de humedad en el cotiledón. Portillo et al. (2005), quienes afirman que durante el proceso de exudación busca establecer un equilibrio osmótico entre la pulpa y el cotiledón, de forma que el agua presente en la pulpa adherida durante el proceso de fermentación se difunden a través de la testa hacia el cotiledón, logrando un incremento en el porcentaje de humedad interna del cotiledón.

### 3.3.6. Comportamiento del cambio de pigmentación del cotiledón.

Durante los ocho días de fermentación se evaluó el cambio de pigmentación del cotiledón mediante la prueba de corte, donde se evaluó el estado de fermentación mediante tres niveles, donde fueron granos bien fermentados, insuficientemente

fermentado, pizarrosos. Estos parámetros establecidos de los tres niveles de coloración fueron adaptados de acuerdo a la norma, pues el fruto del copoazú posee un cotiledón de color blanco y que no es igual al de cacao, porque no desarrolla el color de violeta o tonalidades intensas como las desarrolladas en cacaos trinitarios y forasteros.

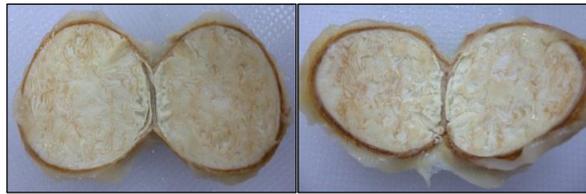
Los resultados del porcentaje obtenidos en los dos tratamientos de fermentación, tuvo un comportamiento aceptable en el cambio de pigmentación del cotiledón así como se muestra en la figura 26 y figura 27.

En la Figura 26, en el tratamiento de Fermentación Natural (FN) se muestra los cambios en la pigmentación que tuvo durante los ocho días de fermentación, el cambio de coloración del cotiledón empieza a notarse a partir del segundo día con pequeñas manchas pardas, hasta el quinto día se observa el cambio lento de coloración del cotiledón, al final de la fermentación se puede apreciar una distribución de la coloración pardo gris con manchas rojas y en el centro una coloración color blanco como se observa en la figura 26.

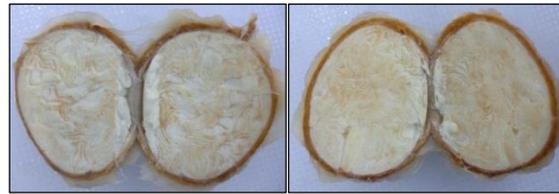
En la figura 27, el tratamiento de Fermentación con Solución (FS), tuvo un comportamiento mucho mejor en la coloración de su pigmentación del cotiledón, el cambio comienza a partir del segundo día con manchas de color pardo; el aumento de este color se da de forma progresiva hasta el sexto día donde el cotiledón presenta un color marrón, mientras que en los dos últimos días su coloración fue más intenso como su desprendimiento de la testa como el cotiledón, esto se debe a la excelente fermentación que tuvo este tratamiento así como muestra la figura 27.

Según las investigaciones de Enríquez (1985), nos indica que los cambios de pigmentación se da debido a la muerte del cotiledón, donde hay difusión de pigmentos en las células que inicialmente no las contenía ya que al penetrar el ácido acético destruye la semipermeabilidad de las membranas de las células de la testa para que los pigmentos se difundan por todo el cotiledón.

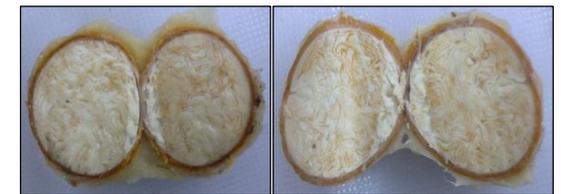
### FERMENTACION NATURAL (FN)



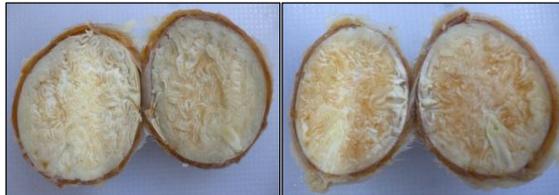
Semilla fresca – DIA 0



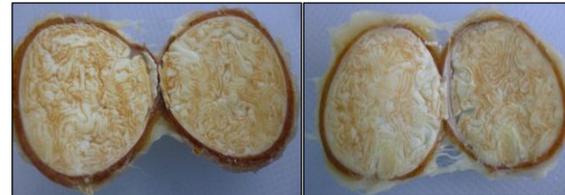
DIA 1



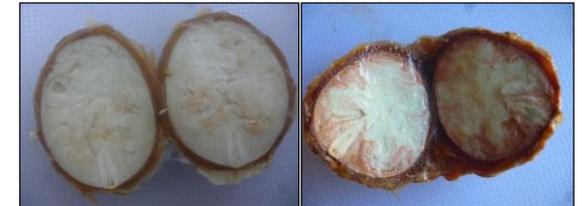
DIA 2



DIA 3



DIA 4



DIA 5



DIA 6



DIA 7

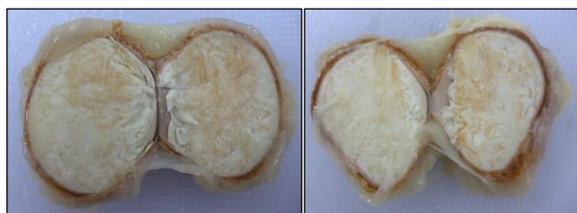


DIA 8

**Figura 26.** Cambio de pigmentación del cotiledón en el tratamiento FN.

Fuente: Elaboración propia (2015).

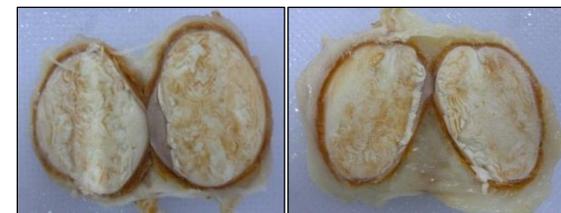
### FERMENTACION NATURAL (FS)



Semilla fresca – DIA 0



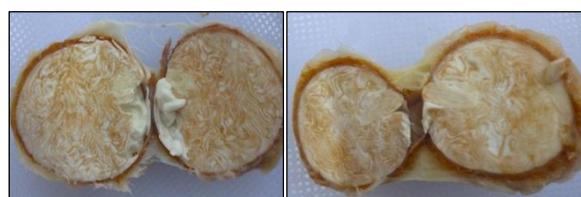
DIA 1



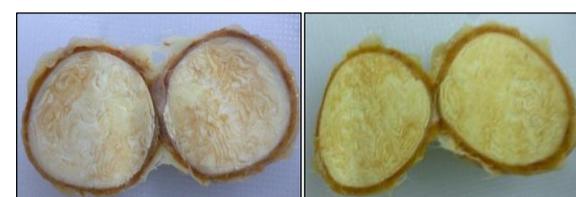
DIA 2



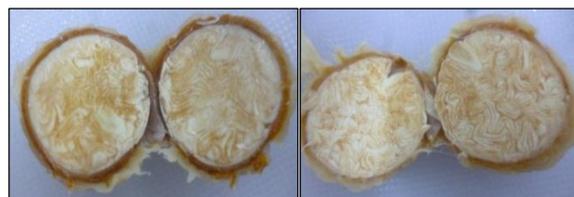
DIA 3



DIA 4



DIA 5



DIA 6



DIA 7



DIA 8

**Figura 27.** Cambio de pigmentación del cotiledón en el tratamiento FS.

Fuente: Elaboración propia (2015).

### **3.4. Resultado de los análisis del comportamiento del proceso de secado de los tres métodos.**

En esta etapa de la investigación se evaluaron tres métodos de secado de la semilla fermentada de copoazu, donde los primeros dos métodos son de forma natural, las cuales son secado con bandeja de madera y secado con bandeja galvanizada, en donde estos dos métodos tuvieron un buen comportamiento en la pérdida de humedad de la semilla de copoazu. El tercer método de secado, es de forma artificial de las cuales se utilizó por el método de Estufa, este método tuvo un buen comportamiento en la pérdida de humedad de la semilla de copoazu.

Según las investigaciones por Rincon (1999), nos indica que la etapa de secado natural tiene como finalidad, disminuir el exceso de humedad de los granos fermentados de 55% a 7%, condiciones necesarias para su posterior almacenamiento y comercialización

Según las investigaciones por Enríquez (1995), nos indica que el proceso de secado interfiere en el desarrollo de los precursores del sabor y aroma a chocolate que inicio en la fermentación y termina en el proceso de secado.

A continuación explicaremos con mucho detalles el comportamiento de la evaluación de estos tres métodos de secado que se realizó a la semilla fermentada.

#### **3.4.1. Comportamiento de los dos métodos de secados naturales.**

Durante la evaluación de estos dos métodos de secado de forma natural, se realizó en cuatro días, donde a cada hora se hacía su respectiva remoción para que el proceso de secado natural sea homogéneo y eficiente, donde los valores obtenidos en estos dos métodos tuvieron una pérdida de humedad del cotiledón aceptable.

Según los estudios realizados por Braudeau (1970), nos indica el proceso de secado se puede realizar de forma natural, donde se aprovecha el calor producido por los rayos solares durante ocho días, según las condiciones climáticas de la zona.

En la tabla 16, se aprecia los valores obtenidos que fueron tomados por triplicado durante la evaluación de la humedad del cotiledón en los dos métodos de secado natural de los dos tratamientos de fermentación, mostrando una variación durante los cuatro días de secado, así como se muestra en el tabla 16.

**Tabla 16.** Comportamiento del % de humedad del cotiledón en la etapa de secado natural.

<b>PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD DEL COTILEDON</b>				
<b>DIA</b>	<b>FN</b>		<b>FS</b>	
	<b>FN-SNBM</b>	<b>FN-SNBG</b>	<b>FS-SNBM</b>	<b>FS-SNBG</b>
0	43.67	43.67	45.05	45.05
1 (2hr)	40.66	39.23	37.33	39.07
2 (3hr)	25.67	23.65	21.35	23.42
3 (10hr)	14.57	13.96	15.79	16.98
4 (10hr)	5.53	5.11	7.65	7.62

FN: Fermentación Natural, FS: Fermentación con Solución

SNBM: Secado Natural con Bandeja de Madera, SNBG: Secado Natural con Bandeja Galvanizada

**Fuente:** Elaboración Propia (2015).

En la tabla 16, se puede apreciar los resultados de los dos tratamientos de fermentación, como también los dos métodos de secado natural, que se aplica a los dos tratamientos de fermentación, donde los resultados de la humedad del cotiledón en el tratamiento FN, tuvo como valor 43.67% de humedad para el inicio de los dos métodos de secado natural. En el tratamiento FS, tuvo como valor inicial un 45.05% de humedad para el inicio de los dos métodos de secado natural.

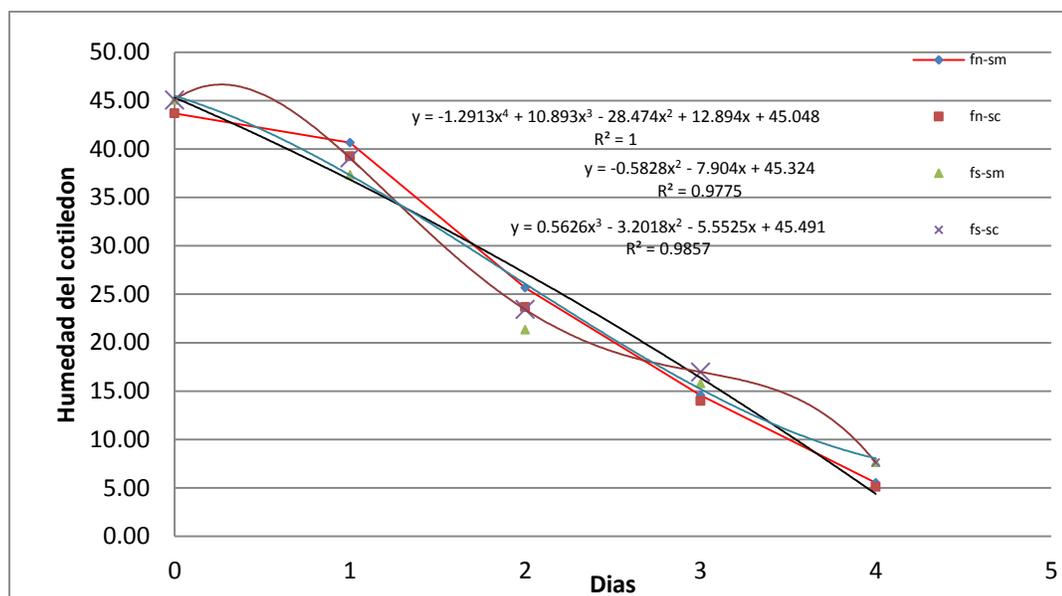
En el día uno, se puede observar que el tratamiento FN-SBM, tuvo como valor 40.66% de humedad en el cotiledón, donde su pérdida de humedad fue moderada. El tratamiento FN-SBG, tuvo como resultado en el día uno un valor de 39.23% de humedad, con una pérdida superior al otro tratamiento de FN-SBM.

El tratamiento FS-SBM, tuvo un comportamiento de descenso moderado, donde se obtuvo un valor de 37.33% de humedad en el cotiledón y el tratamiento FS-SBG, tuvo un valor de 39.07% de humedad.

Estos valores obtenidos en el día uno de secado natural en los cuatro tratamientos, tuvo un descenso leve, debido al tiempo de secado que se expuso a los tratamientos, ya que en el día uno solo se hace arear la semilla y en donde solo se expuso dos horas en el día uno. Esto se debe para evitar el arrugamiento de la testa y provoque que se pegue con el cotiledón y eso no permite un fácil descascarillado.

En el día dos, de la evaluación se tuvo como resultado en los cuatro tratamientos en el comportamiento de humedad del cotiledón durante el secado natural, en el tratamiento FN-SBM, se tuvo un valor de 25,67% de humedad, con una pérdida entre el día uno con el dos un valor de 14.99% de humedad. En el tratamiento FN-SBG, se obtuvo un valor de 23.67% de humedad, donde la diferencia entre el día uno y el dos hay una pérdida de 15.58% de humedad. El tratamiento FS-SBM, tuvo un resultado de 21.35% de humedad, donde se observó una diferencia entre el día uno y dos una pérdida de 15.98% de humedad. En el tratamiento FS-SBG, se obtuvo un valor de 23.42% de humedad, con una diferencia entre el día uno y dos de 15.65% de pérdida de humedad del cotiledón. Estos resultados de descenso obtenidos de pérdida de humedad del cotiledón en el día dos, se debe a que se expuso seis horas durante todo el día dos, donde el secado se hizo también en montón y con una remoción de cada hora.

El tercer y cuarto día se expuso en una totalidad de dieciséis horas al solo, donde se obtuvo como resultados finales en los tratamientos datos aceptables ya que tuvieron la humedad adecuada para su almacenamiento, el resultado de la humedad final de los cuatro tratamientos tuvo una diferencia ya que se debe a la humedad inicial que comenzaron en el proceso de secado.



**Gráfico 8.** Perfil de las curvas del comportamiento de humedad del cotiledón.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 8, se aprecia gráficamente el comportamiento de las curvas de la pérdida de humedad del cotiledón durante el proceso de secado natural de los cuatro tratamientos, donde se observa que existe un descenso lento en los dos primeros días y en los últimos días se observa un descenso elevado de la pérdida de humedad del cotiledón, así como se muestra en el gráfico de los cuatro tratamientos, donde existe una variación de descenso en, donde se observa que el tratamiento FN-SBG, que tuvo el valor más bajo de pérdida de humedad que fue 5.11%.

Según las investigaciones por Bradley et al. (2003), nos indica que el contenido de humedad en la semilla es un factor de calidad para su almacenamiento y preservación, como también para su calidad sensorial de la semilla. Durante el proceso de secado natural de la semilla de copoazu, el tiempo y la velocidad promedio de descenso de la humedad en la semilla es en función del número de días de secado y varía considerablemente según las condiciones climáticas imperantes al exponer las semillas al sol, dependiendo de la temperatura ambiental y la velocidad de viento, Ghosh y Cunha (1975), puesto que el calor y el movimiento del aire contribuyen a la

remoción de la humedad, Jinap et al. (1994). En este proceso, la pérdida de agua es gradual y continua. Jinap et al. (1994).

### 3.4.2. Comportamiento del secado artificial (estufa)

Durante la evaluación del contenido de humedad en el cotiledón en los dos tratamientos de secado por el método de secado artificial, tuvieron un comportamiento aceptable ya que los resultados finales del porcentaje de humedad del cotiledón, estuvieron en los rangos permitidos para su almacenamiento. El secado artificial se realizó mediante una estufa, donde se utilizó los parámetros de a una temperatura de 45°C por un tiempo de 18hr de acuerdo a Gómez (2008)

Según las investigaciones realizadas por Gómez (2008), nos indica que el secado de las semillas no debe ser violento debido a que sella la testa con el cotiledón y esto evita la evaporación de agua y ácido acético presente en el interior de la semilla. Este método tuvo un comportamiento descendente con variación de la pérdida de humedad en función del tiempo y temperatura, donde la finalidad era reducir el porcentaje de humedad del cotiledón. En la tabla 3.12, se aprecia los datos obtenidos y que fueron tomados por triplicado durante la evaluación del porcentaje de humedad del cotiledón en los dos tratamientos de secado por el método de secado artificial, mostrando una variación durante el tiempo y temperatura aplicada, así como se muestra en la tabla 17.

**Tabla 17.** Comportamiento del % de humedad del cotiledón de copoazu durante el tiempo de secado Artificial.

<b>PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD DEL COTILEDON</b>		
<b>Hora</b>	<b>FN-SA*</b>	<b>FS-SA*</b>
0	43.67 ± 0.24 %	45.05 ± 0.22 %
18	9.34 ± 0.12 %	8.23 ± 0.17 %

\*Media ± Desviación estándar , SA: Secado Artificial

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 17, se muestra los datos obtenidos durante la evaluación de los dos tratamientos de secado artificial, en donde se observa que tuvo un comportamiento con el tiempo y temperatura establecida por Gómez (208), donde se obtuvo como valor final de  $9.34 \pm 0.12\%$  del tratamiento FN-SA y el resultado en el tratamiento FS-SA se obtuvo  $8.23 \pm 0.17\%$ .

### 3.5. Porcentaje de índice físico de fermentación: Prueba de corte

Los resultados que se obtuvieron en el índice físico de fermentación de los granos fermentados y secados, se observó que los tratamientos tuvieron un comportamiento aceptable en el porcentaje de índice de fermentación, donde el índice se clasificó en tres niveles así como se muestra en la figura 28.



**Figura 28.** Grano de copoazu bien fermentado (A), insuficientemente fermentado (B) y pizarrosos (C).

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la figura 28, se puede observar la diferencia que existe en el índice de fermentación de semilla seca, donde se clasificó en tres niveles que son grano bien fermentado, insuficientemente fermentado y pizarrosos, estos análisis se realizó después del proceso de secado donde se utilizó 100 granos secos de semilla de copoazu de cada tratamiento, así como se muestra en la tabla 18.

**Tabla 18.** Porcentaje de índice de fermentación en los granos de copoazu estudiados.

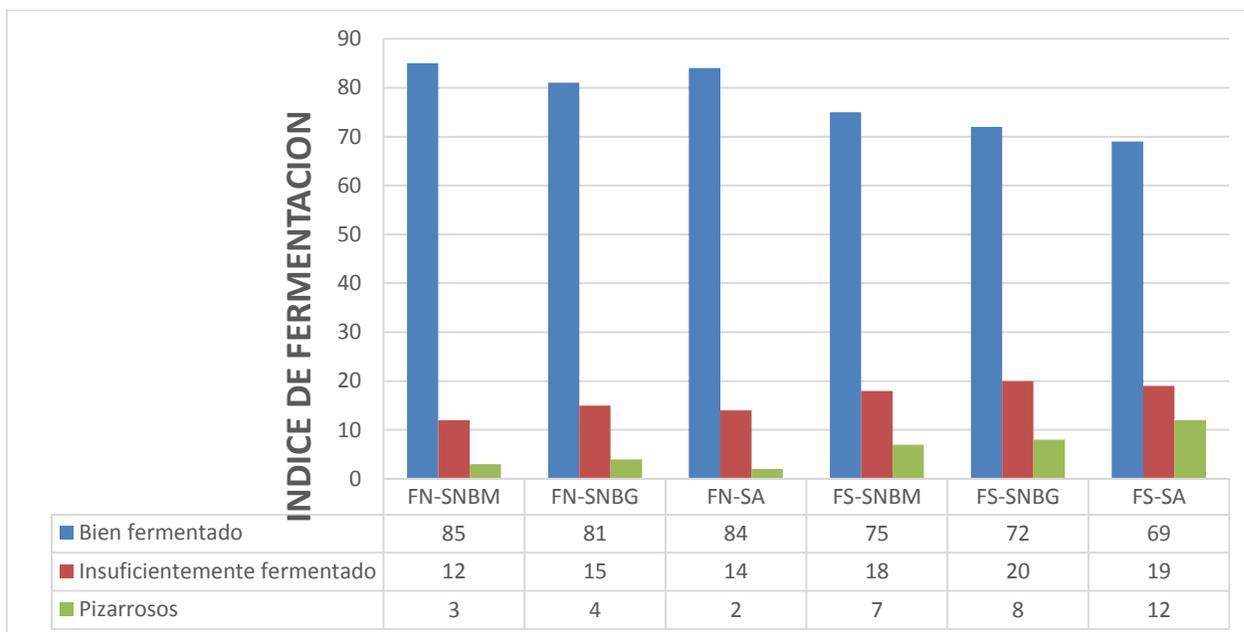
NIVELES	TRATAMIENTOS					
	FN			FS		
	FN-SNBM	FN-SNBG	FN-SA	FS-SNBM	FS-SNBG	FS-SA
Bien fermentado	85	81	84	75	72	69
Insuficientemente fermentado	12	15	14	18	20	19
Pizarrosos	3	4	2	7	8	12

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 18, se observa los valores obtenidos del índice de fermentación de los seis tratamientos evaluados, donde se observa que los tratamientos que fueron fermentados de forma natural obtuvieron los valores más altos alcanzados a comparación de la fermentación con solución. El tratamiento FN-SNBM, tuvo el valor más alto en su índice de fermentación que fue un 85% de grano bien fermentado. El tratamiento FS-SA, tuvo el más bajo que fue de 69% de grano bien fermentado. Estos resultados nos indican que los tratamientos que tuvieron la fermentación de forma natural son de mayor calidad en el índice de fermentación de la semilla de copoazu fermentada y seca. Los valores obtenidos en los dos tratamientos de fermentación obtuvieron los valores adecuados que se encuentran en el rango establecidos de los granos con buena fermentación.

Los resultados del índice de fermentación encontrados en los dos tratamientos fueron similares encontrados por Criollo et la (2010) y Castro (2010), esta variación de los resultados se produjo probablemente por diferencias en el procesamiento de grano y condiciones climáticas. Así mismo los resultados superan los rangos establecidos por INDECOPI (2006) como requisito para considerar el producto como copoazu fino de primera calidad.

El análisis de varianza para los índices físicos de fermentación promedio en la semilla de copoazu, reveló que no existe diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre: fermentación natural (FN) y fermentación con solución (FS).



**Gráfico 9:** Porcentaje del índice de fermentación de la semilla de copoazu

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

El gráfico 9, se puede apreciar que el tratamiento FS tuvo un porcentaje menor del índice de fermentación ya que tuvo aproximadamente en promedio de 72% de semillas bien fermentadas y un 19% de insuficientemente fermentadas y el 9% la mal fermentada, dentro de esto se encuentra los granos mohosos que también se presentan en la evaluación.

El mejor tratamiento fue el FN fue de 83.3% de semillas bien fermentadas y con un 13.7% de granos insuficientemente fermentados y un 3% mal fermentado. Según los estudios por Rohan et al (1964), nos indica que el índice de fermentación de los granos secos se relacionan con el grado de madurez de los frutos, donde nos trata de decir que si el fruto se encuentra en un estado no completamente maduro dan origen a granos insuficientemente fermentados, pizarrosos, ya que carecen de suficiente cantidad de azúcar para su adecuado proceso de fermentación.

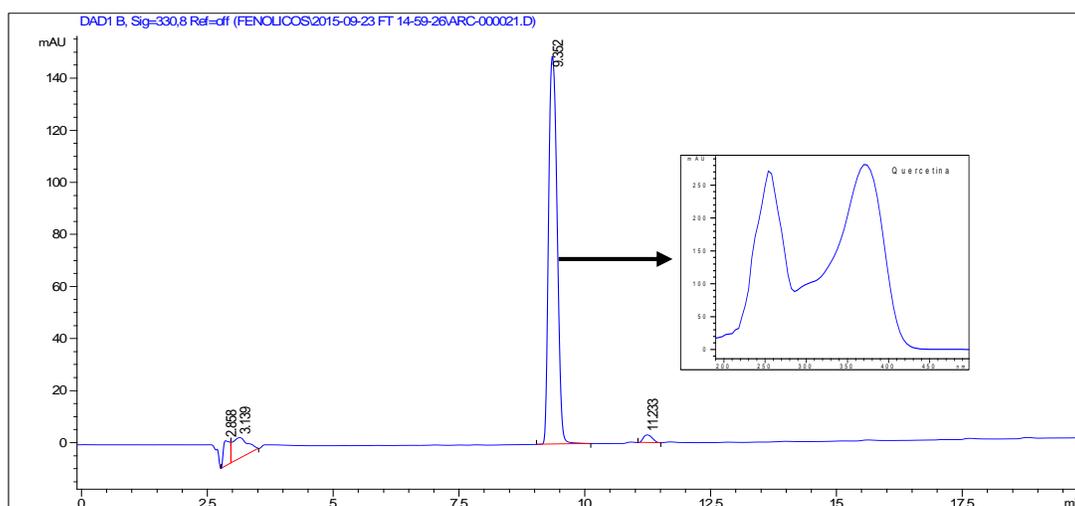
### 3.6. Comportamiento de los resultados de la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos de la calidad de la pasta de chocolate de copoazu.

El análisis realizado por cromatografía líquida por HPLC, se realizó para determinar los compuestos fenólicos totales de seis muestras de pasta de chocolate y de una muestra de semillas frescas de copoazu para su comparación de la pérdida de los compuestos fenólicos., los extractos metanolicos fueron obtenidos a partir de las muestras de pasta de chocolate e semillas, las cuales primeramente se sometieron a purificación con y a seguir fueron analizados por cromatografica liquida de HPLC-DAD. Para interpretación de los cromatograma de las muestras, primeramente se realizó a los dos estándares su cromatograma.

#### 3.6.1. Resultados de perfil de cormatografico de los estándares utilizados.

##### Estándar Quercetina 3 $\beta$ -D-Glucósido:

Este estándar Quercetina 3- $\beta$ -D-glucosido se utilizó para poder determinar flavonoides en las seis muestras de pasta de chocolate natural y semilla fresca de copoazú, a una longitud de onda de 330 nm, por la cromatografía por HPLC.



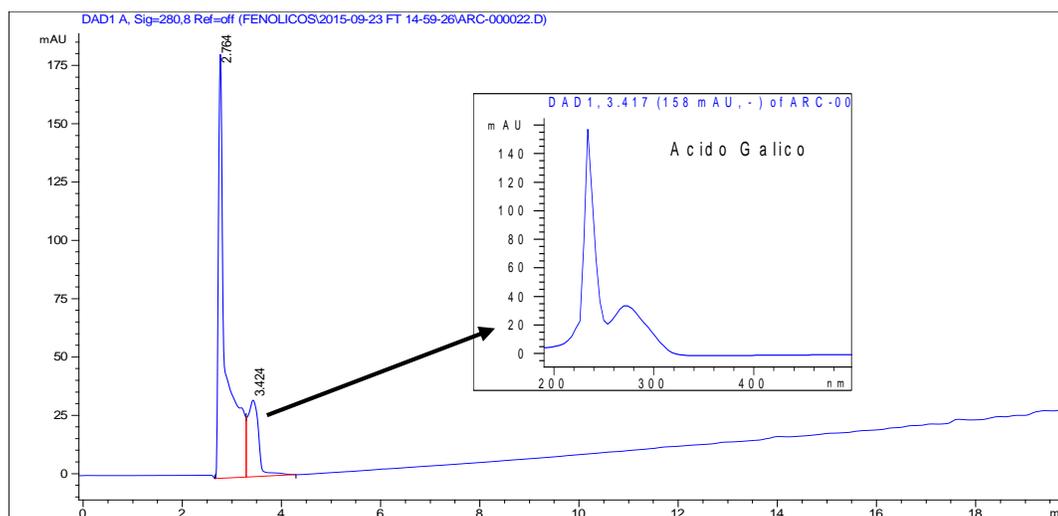
**Grafico 10.** Cromatograma y espectro UV del estándar quercetina 3- $\beta$ -D-glucosido monitorizado a 330 nm.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el gráfico 10, se muestra el primer cromatograma del estándar de la Quercetina 3- $\beta$ -D-glucosido, nos muestra un pico claramente definido y grande, donde también se observa otro pico de tamaño pequeño, el pico del estándar está acompañado con su respectivo espectro UV. Se puede apreciar el cromatograma en una longitud de onda de 330 nm del estándar Quercetina 3  $\beta$ -D-Glucósido, cuyo tiempo de retenciones es de 9.352 minutos y su correspondiente espectro UV se muestra en el gráfico, también se puede ver una impureza no identificada cuyo tiempo de retención es a 11.233 minutos, en la descripción del estándar de Quercetina 3- $\beta$ -D-glucósido, esta medida y este reactivo se usaron para detectar todos los compuestos de ácidos fenólicos en las muestra estudiadas.

### Estándar de Ácido Gálico:

El estándar del ácido gálico fue utilizado para poder determinar los ácidos fenólicos, en las que eluyen estos componentes a una medida de longitud de onda de 280 nm por cromatografía por HPLC, se utilizó para poder determinar de las seis muestras de chocolate natural y semilla fresca de copoazu.



**Gráfico 11.** Cromatograma y su espectro UV del estándar del Ácido Gálico monitorizado a 280 nm.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

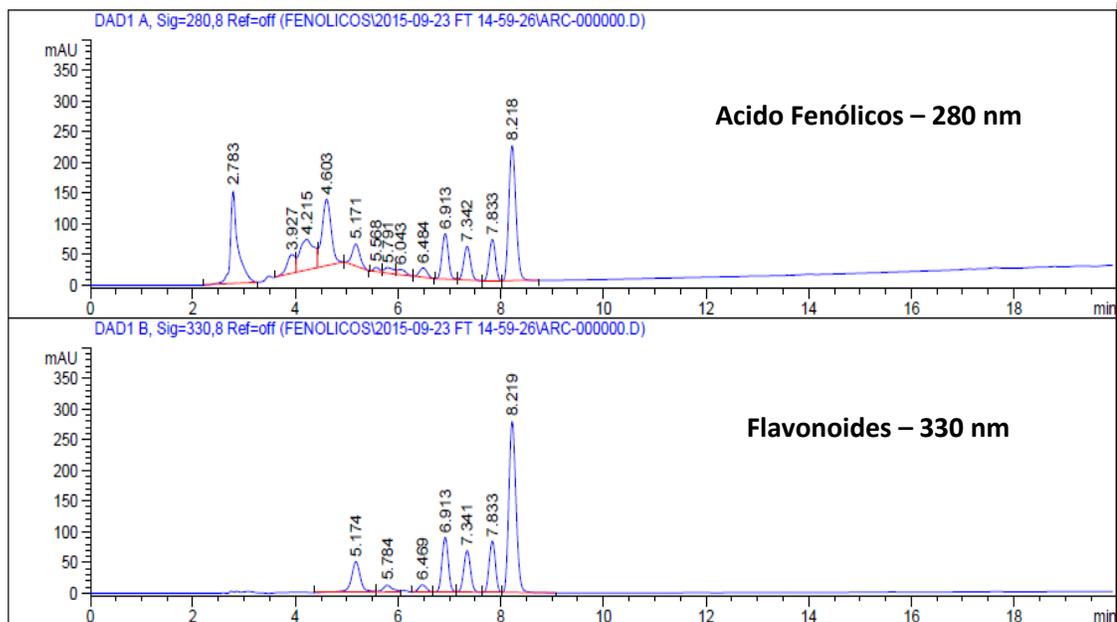
En el gráfico 11, el comportamiento que tuvo el estándar del ácido gálico durante la prueba por el cromatograma por HPLC, donde se puede apreciar un pico claramente definido que corresponde al estándar del ácido gálico, que se encuentra acompañado de su respectivo espectro UV.

Se observa el cromatograma a una longitud de onda de 280 nm del reactivo estándar del ácido Gálico, donde muestra un tiempo de retención de 2.763 minutos, que se muestra con su respectivo espectro UV, en donde la longitud de onda utilizada y el reactivo estándar utilizados fueron para determina el total de los ácidos fenólicos en las muestra estudiadas.

### **3.6.2. Resultados de perfil de cromatografico de los compuestos fenólicos totales por HPLC-DAD.**

Una vez que se determinó la presencia de compuestos fenólicos en la muestra, se realizó hacer la determinó de los compuestos fenólicos en los seis tratamiento de pasta de chocolate natural y una muestra de semilla fresca de copoazu, se determinó mediante el método de cromatografía por HPLC-DAD. Los resultados de los análisis mostraron una variación en los tratamientos en la concentración del contienen de compuestos fenólicos. Así como mostraremos a continuación los perfiles de ácido fenólico y flavonoide de los resultados de las seis muestras de pasta de chocolate natural y semilla fresca de copoazu.

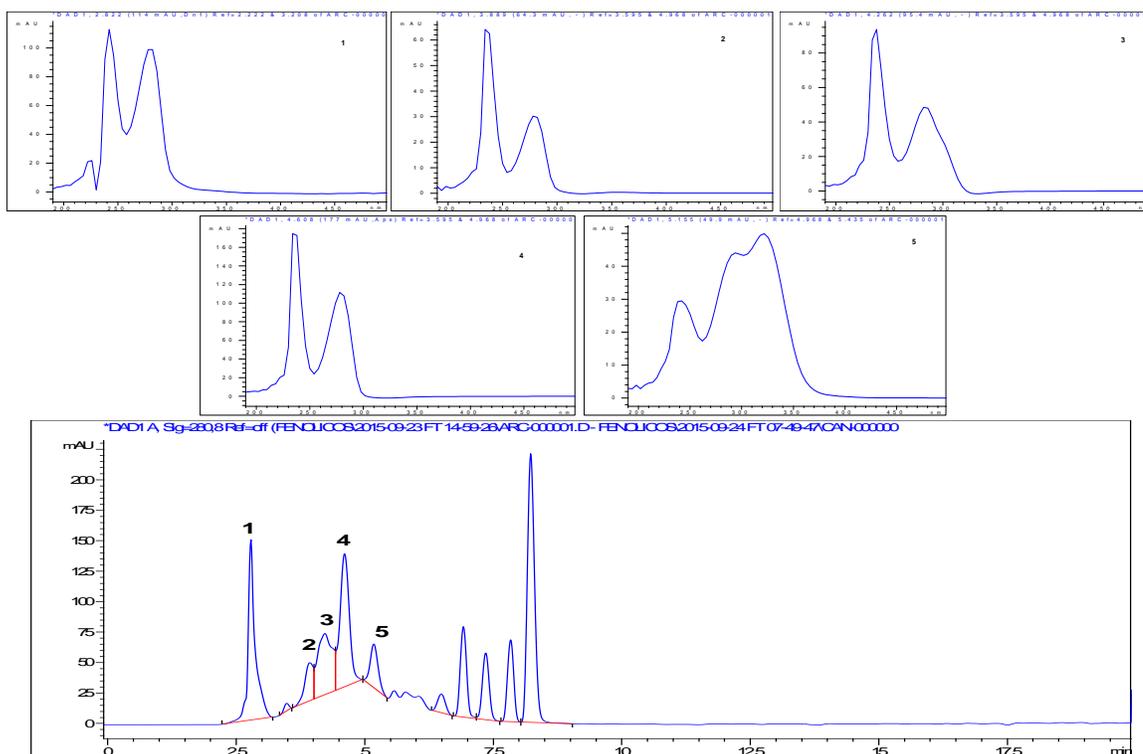
### A. Perfil de resultado de cromatograma de la semilla fresca de copoazu



**Gráfico 12.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra de semilla fresca, motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el gráfico 12, se muestra el comportamiento del perfil cromatográfico por HPLC de la muestra de semilla fresca de copoazu a una medida de longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que eluyen diferentes tiempos de retención, en la primera longitud de onda que se programó fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el gráfico 12.

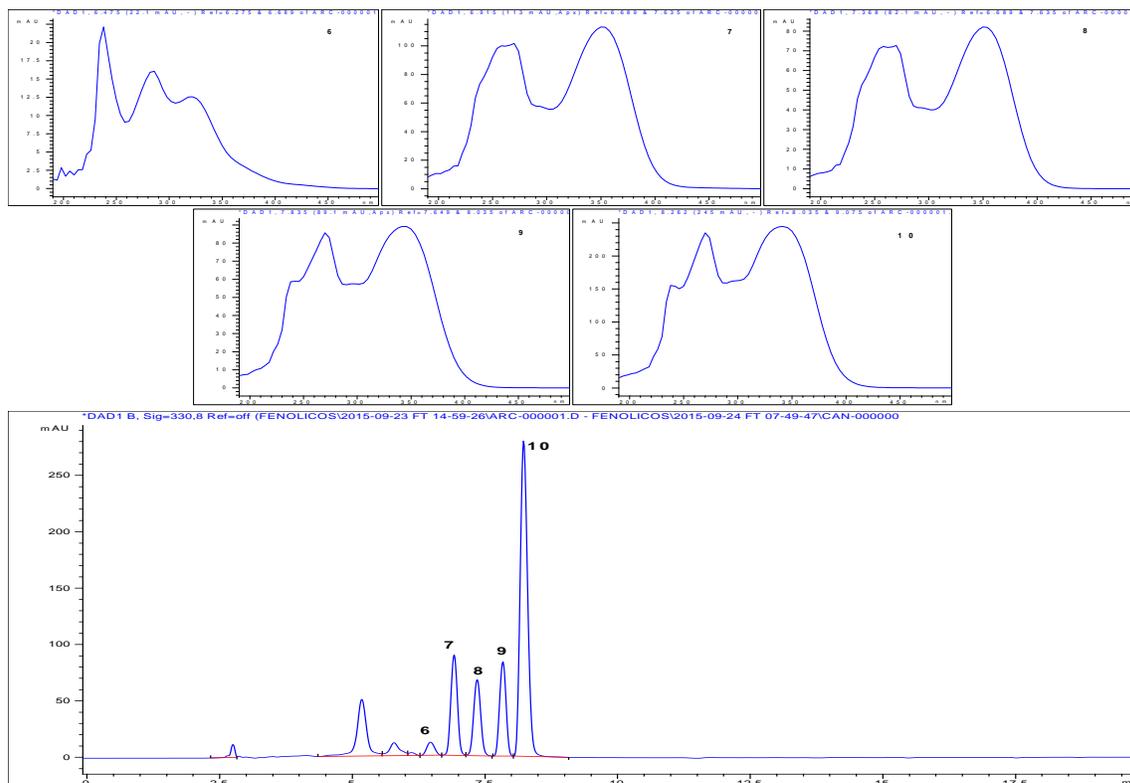


**Grafico 13.** Cromatograma motorizado a 280 nm 1 - 5 compuestos con sus respectivos espectros UV, por HPLC de la muestra de la semilla fresca de copoazu

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 13, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 5, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 2.783 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 3.927 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 4.603 min, para el (4) se tiene un tiempo de retención de 4.603 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 5.171 min, para el (6) se tiene un tiempo de

retención de 5.568 min, para el (7) se tiene un tiempo de retención de 5.791 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 6.043 min, para el (9) se tiene un tiempo de retención de 6.484 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 13.



**Grafico 14.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra de la semilla fresca

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 14, se puede visualizar mejor y una mejor comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 10 a 13, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (10) se tiene un tiempo de retención de 6.913

min, para el (11) se tiene un tiempo de retención de 7.342 min, para el (12) se tiene un tiempo de retención de 7.833 min, para el (13) se tiene un tiempo de retención de 8.218 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el gráfico 14.

**Tabla 19.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide en la semilla fresca de copoazu.

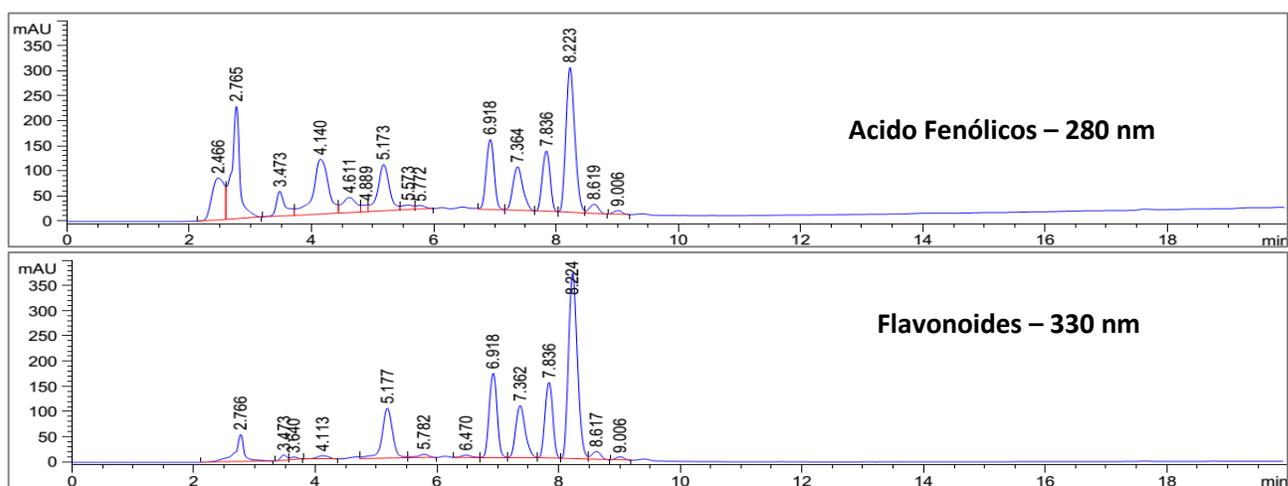
<b>SEMILLA FRESCA</b>	<b>PICOS</b>	<b>TIEMPO DE RETENCION</b>	<b>Area Mau*s</b>	<b>%</b>
<b>Ácidos fenólicos 280 mm</b>	1	2.783	1542.23	15.21
	2	3.927	362.56	3.72
	3	4.215	973.45	10.14
	4	4.603	1369.87	14.20
	5	5.171	385.36	3.91
	6	5.568	61.44	0.64
	7	5.791	125.03	1.28
	8	6.043	99.97	1.04
	9	6.484	164.06	1.67
<b>Flavonoides 330</b>	10	6.913	763.11	7.69
	11	7.342	622.23	6.26
	12	7.833	707.55	7.10
	13	8.218	2703.41	27.15
			9880.27	100

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 19, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en el gráfico 13 y 14, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 9 se tiene 51.81%, para los flavonoides totales 10 - 13 se tiene un 48.2% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos a los flavonoides glicosidicos 10 se tiene un 7.69% que están presentes en el proceso final de purificación.

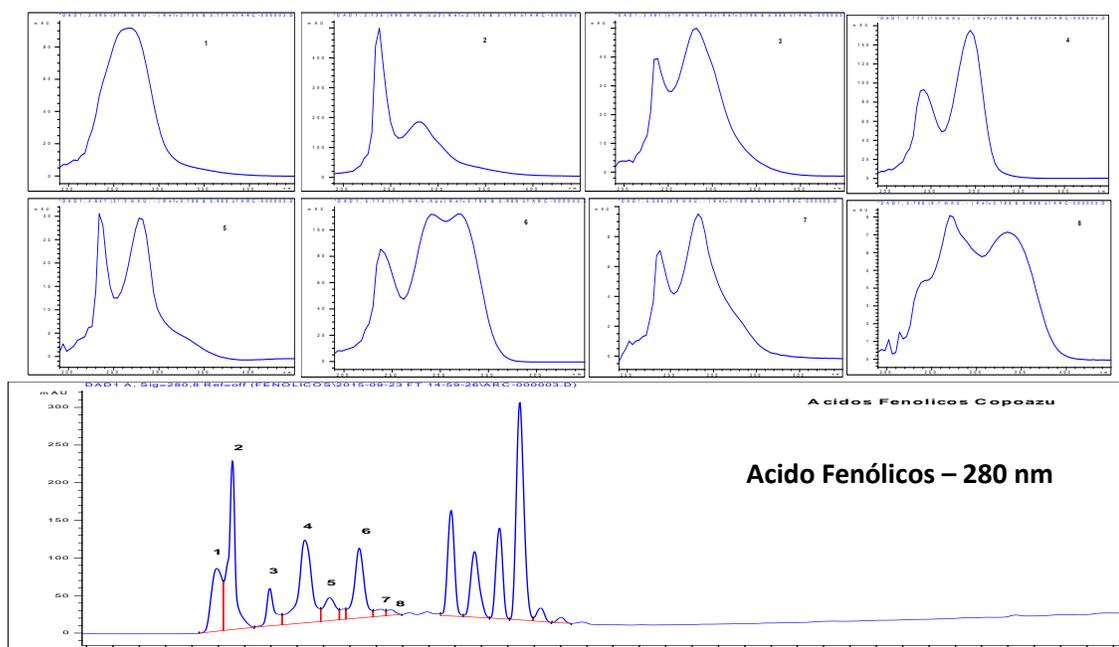
### B. Perfil de resultado de cromatograma del tratamiento FN-SNBM.



**Grafico 15.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra FN-SNBM motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

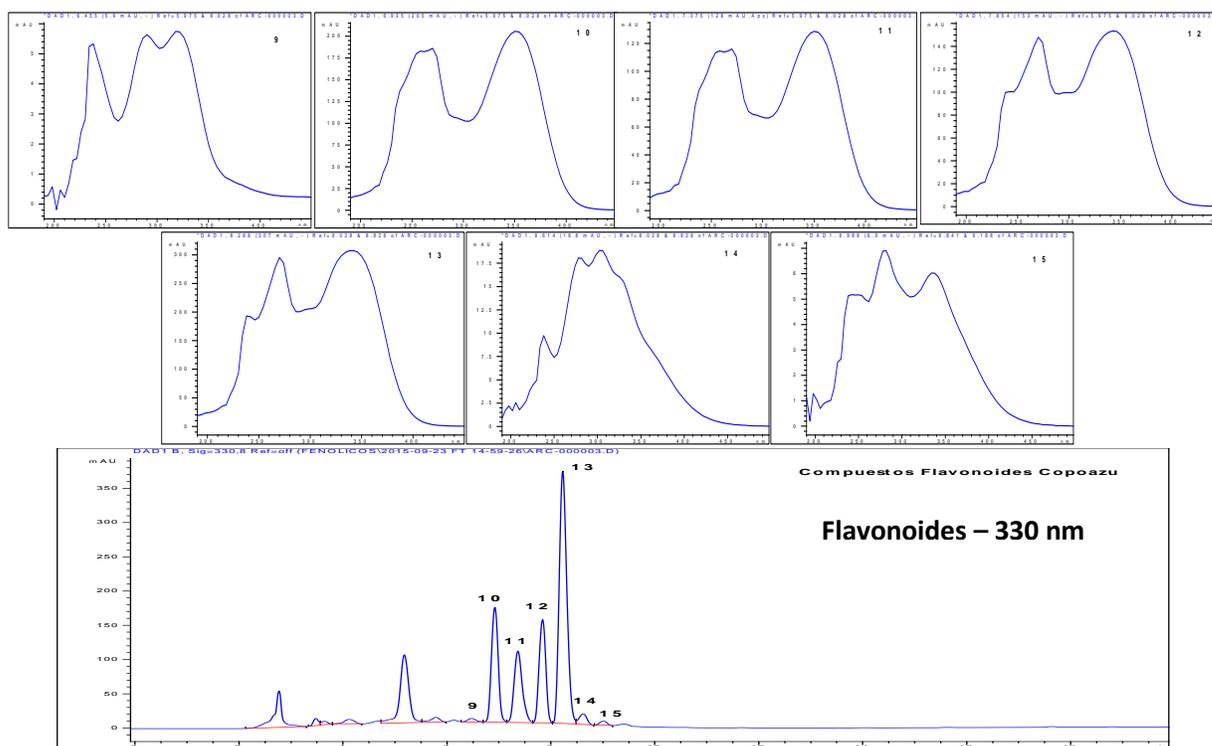
En el grafico 15, se muestra el comportamiento del perfil cromatografico por HPLC del tratamiento FN-SNBM (fermentación natural – secado natural con bandeja de madera) a longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que a eluyen diferentes tiempos, en la primera longitud que se programo fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el grafico 15.



**Grafico 16.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FN-SNBM.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 16, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 5, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 2.466 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 2.765 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 3.473 min, para el (4) se tiene un tiempo de retención de 4.14 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 4.611 min, para el (6) se tiene un tiempo de retención de 4.889 min, para el (7) se tiene un tiempo de retención de 5.173 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 5.573 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 16.



**Gráfico 17.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FN-SNBM

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el gráfico 17, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 9 a 15, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivos espectros UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (9) se tiene un tiempo de retención de 5.772 min, para el (10) se tiene un tiempo de retención de 6.918 min, para el (11) se tiene un tiempo de retención de 7.362 min, para el (12) se tiene un tiempo de retención de 7.836 min, para el (13) se tiene un tiempo de retención de 8.224 min, para el (14) se tiene un tiempo de retención de 8.617 min, para el (15) se tiene un tiempo de retención de 9.006 min,

cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 17.

**Tabla 20.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FN-SNBM de pasta de chocolate de copoazu.

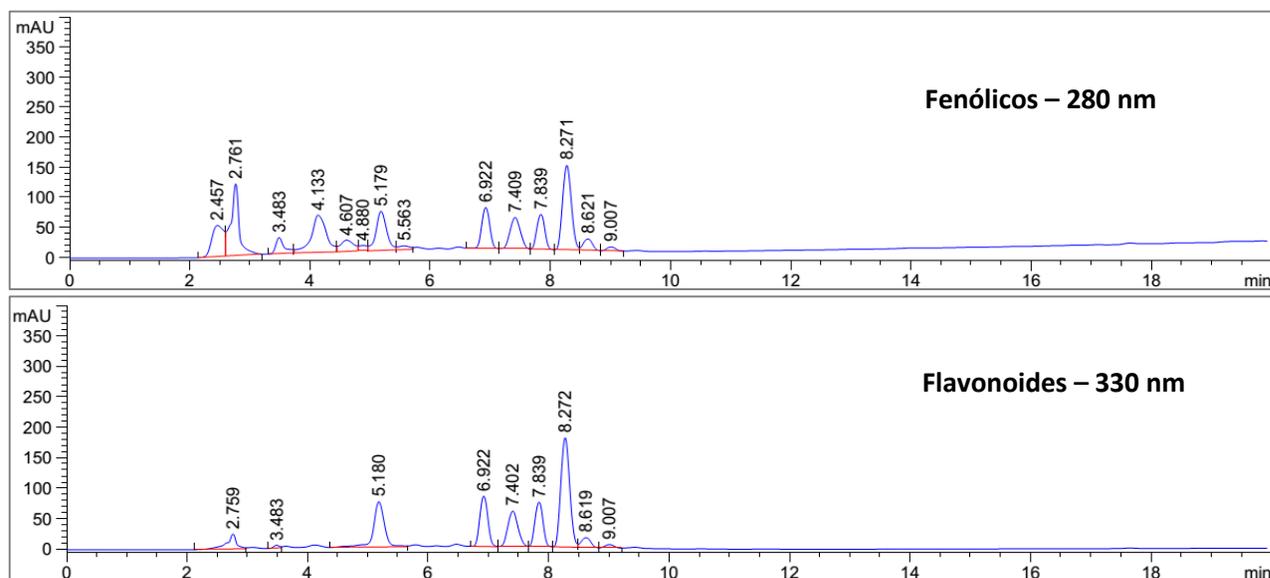
1A	PICOS	TIEMPO DE RETENCION	Área Mau*s	%
	1	2.466	1189.65	7.57
	2	2.765	2084.21	13.26
	3	3.473	522.98	3.28
Ácidos fenólicos 280 nm.	4	4.14	1950.29	12.47
	5	4.611	483.15	3.07
	6	4.889	102.57	0.64
	7	5.173	1219.71	7.76
	8	5.573	126.93	0.76
	9	5.772	78.42	0.51
	10	6.918	1515.95	9.66
	11	7.362	1144.15	7.3
Flavonoides 330 nm.	12	7.836	1343.26	8.57
	13	8.224	3734.35	23.77
	14	8.617	158.79	1.02
	15	9.006	58.02	0.37
			15285.46	100

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 20, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en el grafico 16 y 17, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 8 se tiene 48.81%, para los flavonoides totales 9 - 15 se tiene un 51.20% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos a los flavonoides glicosidicos 14 y 15 se tiene un 1.39% que están presentes en el proceso final de purificación.

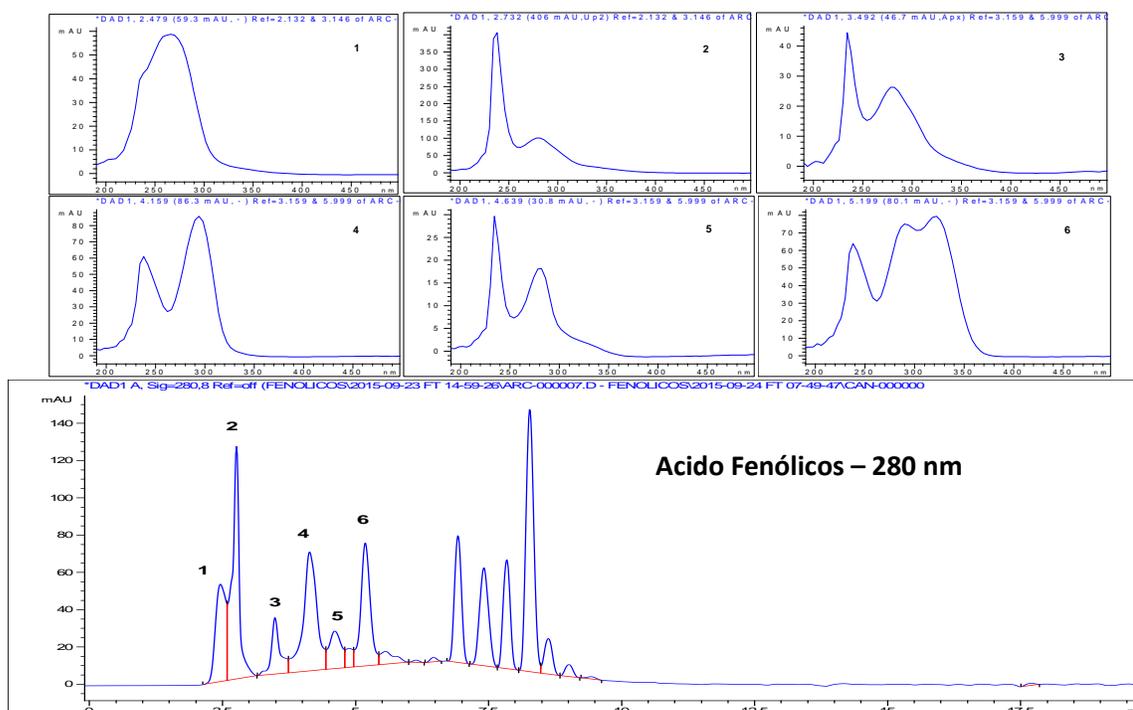
### C. Perfil de resultado de cromatograma del tratamiento FN-SA.



**Grafico 18.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra FN-SA motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 18, se muestra el comportamiento del perfil cromatografico por HPLC del tratamiento FN-SA (fermentación natural – secado artificial) a longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que a eluyen diferentes tiempos, en la primera longitud que se programo fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el grafico 18.

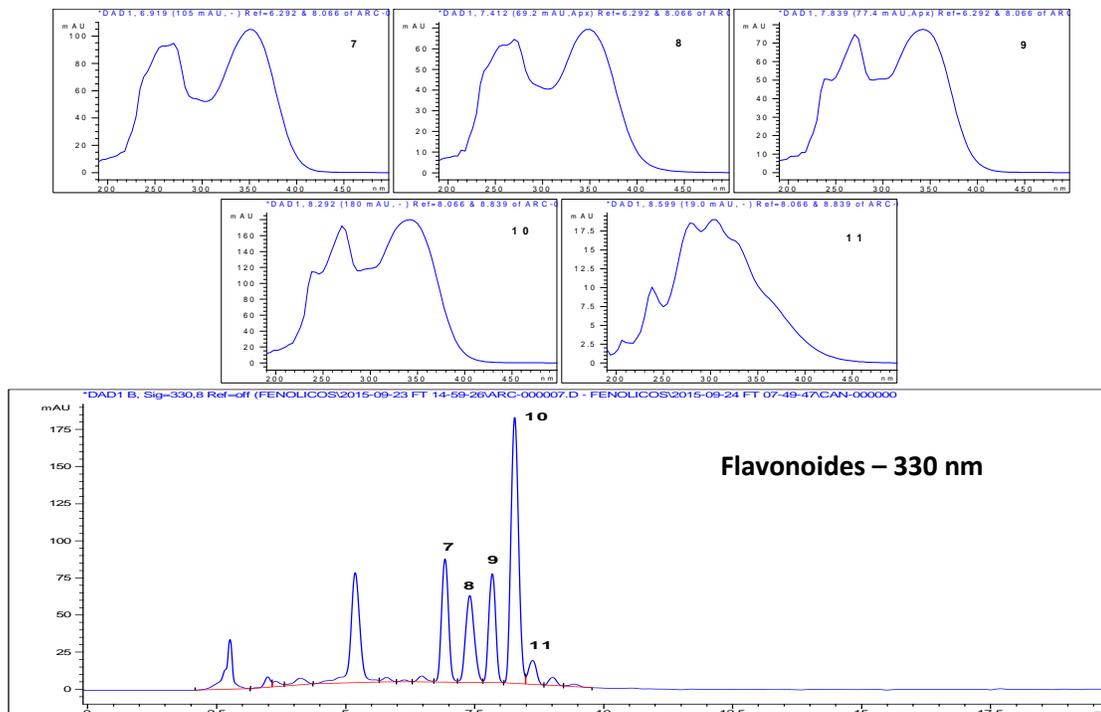


**Grafico 19.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FN-SA

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

En el grafico 19, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 5, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 2.456 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 2.760 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 3.482 min, para el (4) se tiene un tiempo de retención de 4.132 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 4.607 min, para el (6) se tiene un tiempo de retención de 4.879 min, para el (7) se tiene un tiempo de retención de 5.178 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 5.559 min, cada uno de estos compuestos

eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 19.



**Grafico 20.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de ma muestra FN-SA

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

En el grafico 20, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 9 a 15, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (10) se tiene un tiempo de retención de 6.920 min, para el (11) se tiene un tiempo de retención de 7.399 min, para el (12) se tiene un tiempo de retención de 7.839 min, para el (13) se tiene un tiempo de retención de 8.269 min, para el (14) se tiene un tiempo de retención de 8.619 min, para el (15) se tiene un tiempo de

retención de 9.007 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 20.

**Tabla 21.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FN-SA de pasta de chocolate de copoazu.

1B	PICOS	TIEMPO DE RETENCION	Área Mau*s	%
Ácidos fenólicos 280 nm	1	2.456	722.53	8.20
	2	2.760	1184.22	13.39
	3	3.482	275.21	3.12
	4	4.132	1100.71	12.54
	5	4.607	295.46	3.38
	6	4.879	88.66	1.02
	7	5.178	803.12	9.15
	8	5.559	89.27	1.02
	9	0	0.00	0.00
Flavonoides 330 nm	10	6.920	777.43	8.87
	11	7.399	688.76	7.86
	12	7.839	686.17	7.83
	13	8.269	1842.98	21.02
	14	8.619	172.14	1.96
	15	9.007	56.07	0.64
			8775.27	100

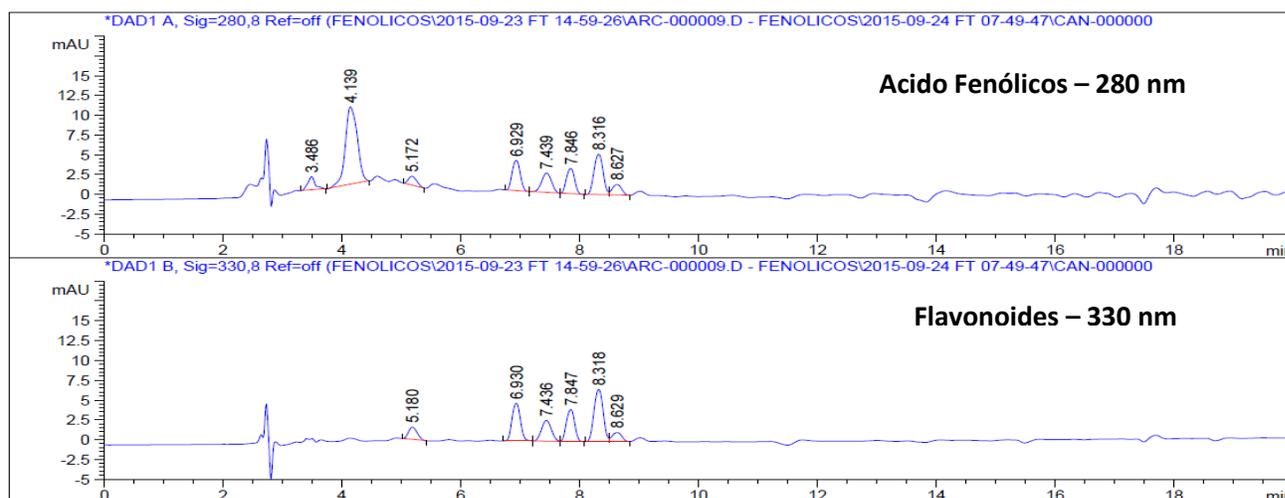
**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 21, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en el grafico 19 y 20, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 9 se tiene 51.82%, para los flavonoides totales 10 - 15 se tiene un 48.18% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos

a los flavonoides glicosidicos 11 se tiene un 0.64% que están presentes en el proceso final de purificación.

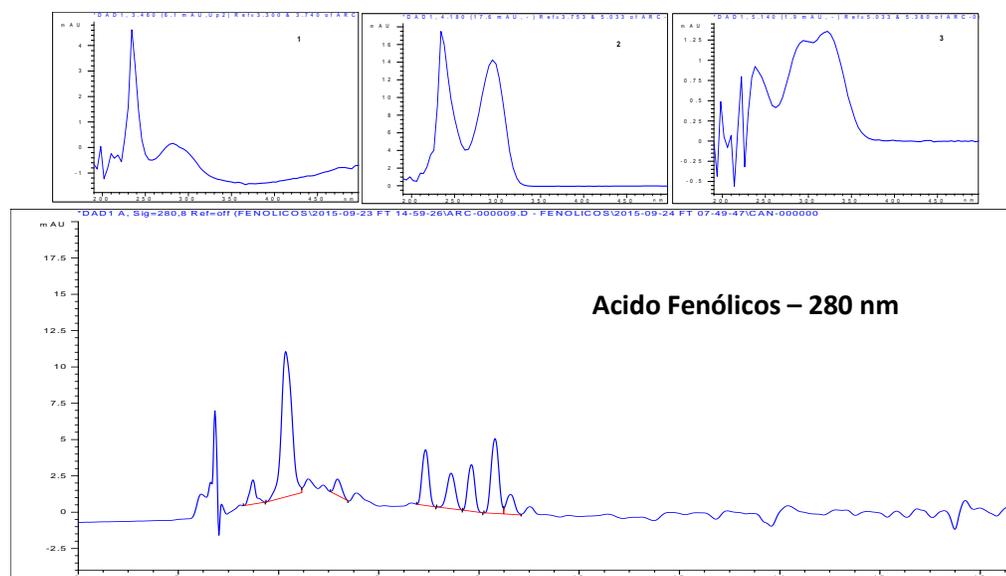
#### D. Perfil de resultado de cromatograma del tratamiento FN-SNBG



**Gráfico 21.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra FN-SNBG motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

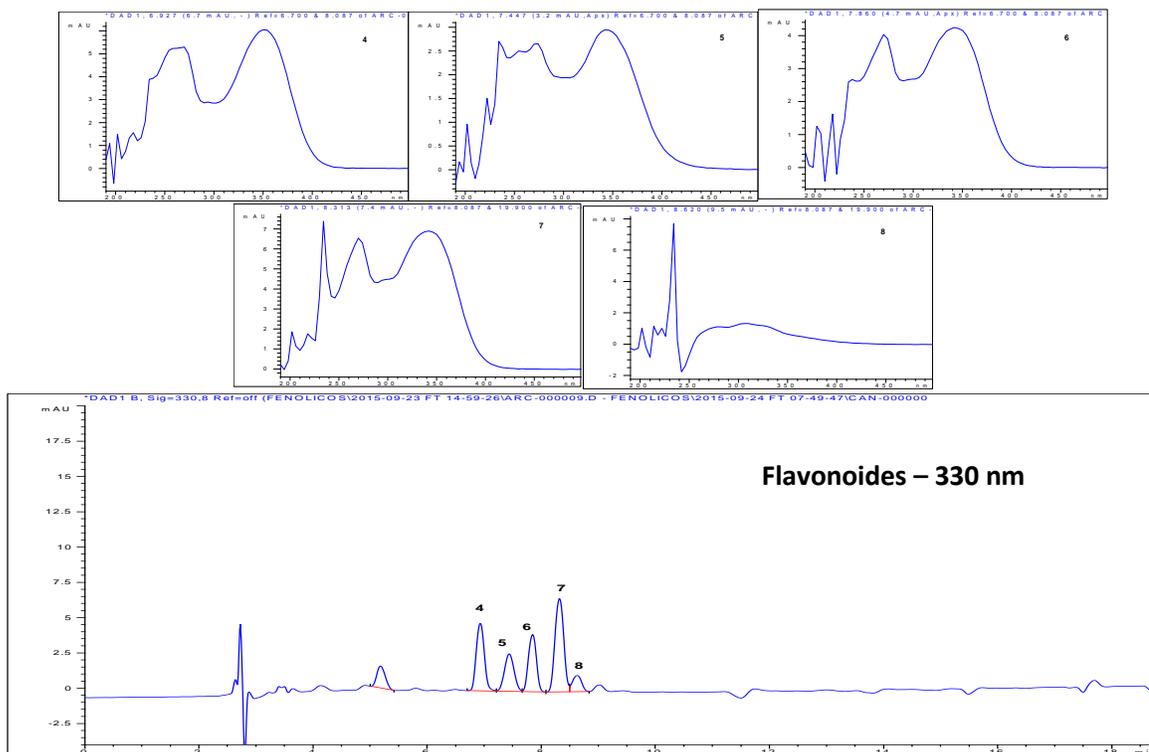
En el gráfico 21, se muestra el comportamiento del perfil cromatográfico por HPLC del tratamiento FN-SNBG (fermentación natural – secado natural con bandeja galvanizado) a longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que eluyen diferentes tiempos, en la primera longitud que se programó fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el gráfico 21.



**Grafico 22.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FN-SNBG.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

En el grafico 22, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 3, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 3.486 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 4.139 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 5.172 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 22.



**Grafico 23.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FN-SNBG.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 23, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 4 a 8, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (4) se tiene un tiempo de retención de 6.920 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 7.439 min, para el (6) se tiene un tiempo de retención de 7.846 min, para el (7) se tiene un tiempo de retención de 8.316 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 8.627 min, cada uno de estos compuestos eluidos

están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el gráfico 23.

**Tabla 22.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoides del tratamiento FN-SNBG de pasta de chocolate de copoazu.

1C	PICOS	TIEMPO DE RETENCION	Área Mau*s	%
Ácidos fenólicos 280 nm	1	3.486	14.83	4.040
	2	4.139	138.49	37.719
	3	5.172	11.02	3.013
Flavonoides 330 nm	4	6.929	47.22	10.008
	5	7.439	31.00	9.976
	6	7.846	39.42	9.994
	7	8.316	70.70	16.393
	8	8.627	12.62	8.858
			369.92	100

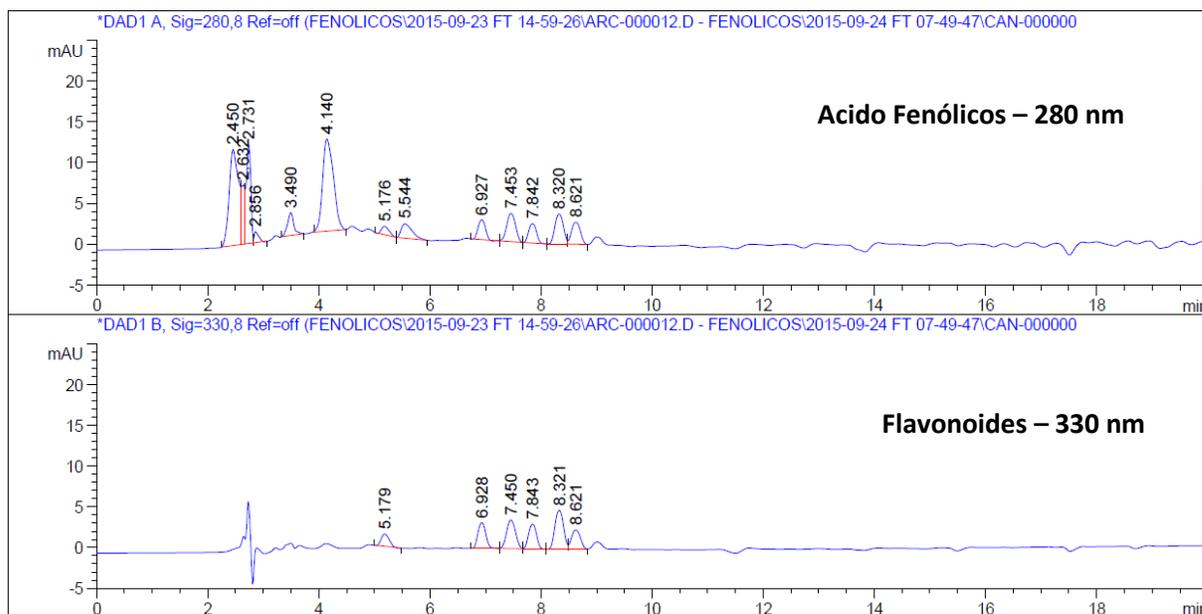
**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 22, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en el gráfico 22 y 23, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 3 se tiene 44.77%, para los flavonoides totales 4 - 8 se tiene un 55.23% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos

a los flavonoides glicosidicos 8 se tiene un 8.858% que están presentes en el proceso final de purificación.

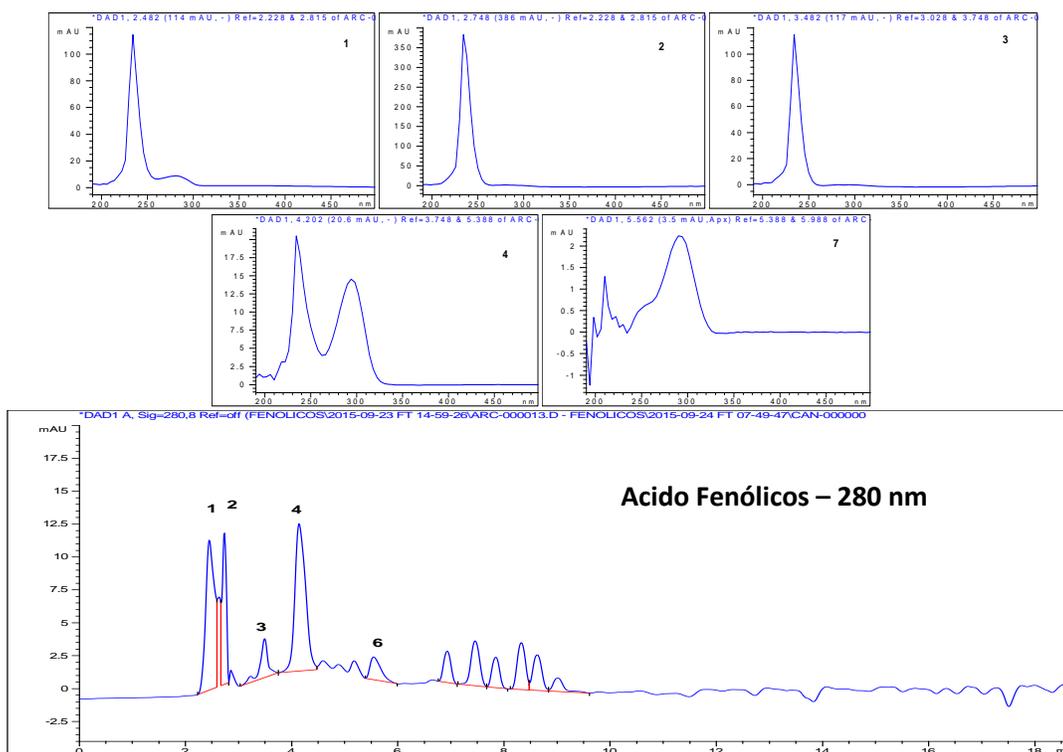
### E. Perfil de resultado de cromatograma del tratamiento FS-SNBM.



**Gráfico 24.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra FS-SNBM motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el gráfico 24, se muestra el comportamiento del perfil cromatográfico por HPLC del tratamiento FS-SNBM (fermentación solución – secado natural con bandeja de madera) a longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que eluyen diferentes tiempos, en la primera longitud de onda que se programó fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el gráfico 24.

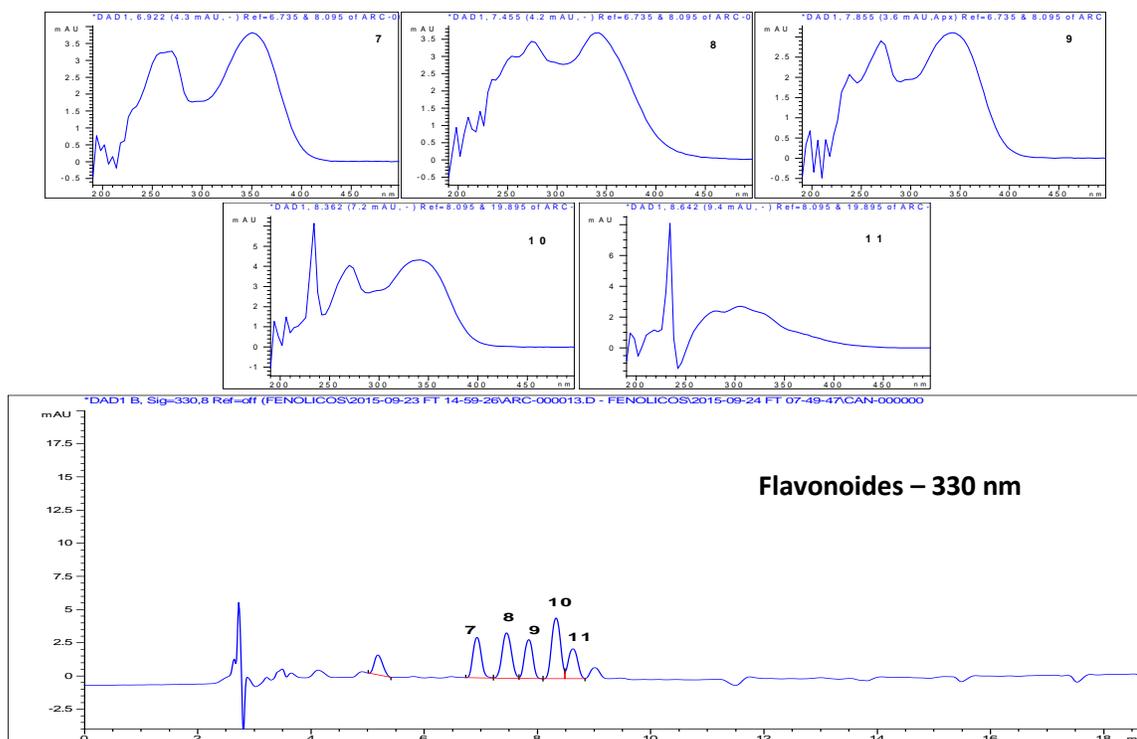


**Grafico 25.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de una muestra FS-SNBM.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 25, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 5, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 2.450 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 2.731 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 3.490 min, para el (4) se tiene un tiempo de retención de 4.140 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 5.176 min, para el (6) se tiene un tiempo de

retención de 5.544 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 25.



**Grafico 26.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de una muestra FS-SNBM.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 26, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 9 a 15, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (7) se tiene un tiempo de retención de 6.928 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 67.450 min, para el (9) se tiene un tiempo de retención de 7.843 min, para el (10) se tiene un tiempo de retención de 8.321 min, para el (11)

se tiene un tiempo de retención de 8.621 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 26.

**Tabla 23.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FS-SNBM de pasta de chocolate de copoazu.

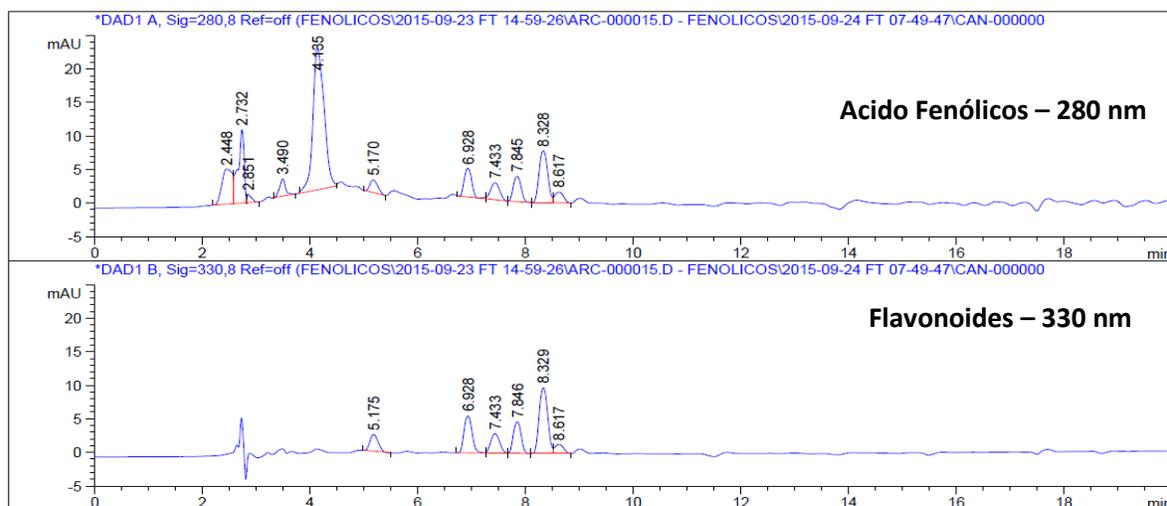
2A	PICOS	TIEMPO DE RETENCION	Área Mau*s	%
<b>Ácidos fenólicos 280 nm</b>	1	2.450	137.76	0.96
	2	2.731	67.82	0.44
	3	3.490	23.06	0.15
	4	4.140	153.86	0.99
	5	5.176	9.94	0.06
	6	5.544	24.54	0.16
<b>Flavonoides 330 nm</b>	7	6.9280	30.70	0.20
	8	7.4500	38.55	0.25
	9	7.8430	29.59	0.19
	10	8.3210	49.95	0.32
	11	8.6210	25.56	0.17
			595.81	3.90

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 23, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en el grafico 25 y 26, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 6 se tiene 2.76%, para los flavonoides totales 7 - 11 se tiene un 1.13% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos a los flavonoides glicosidicos 10 y 11 se tiene un 0.49% que están presentes en el proceso final de purificación.

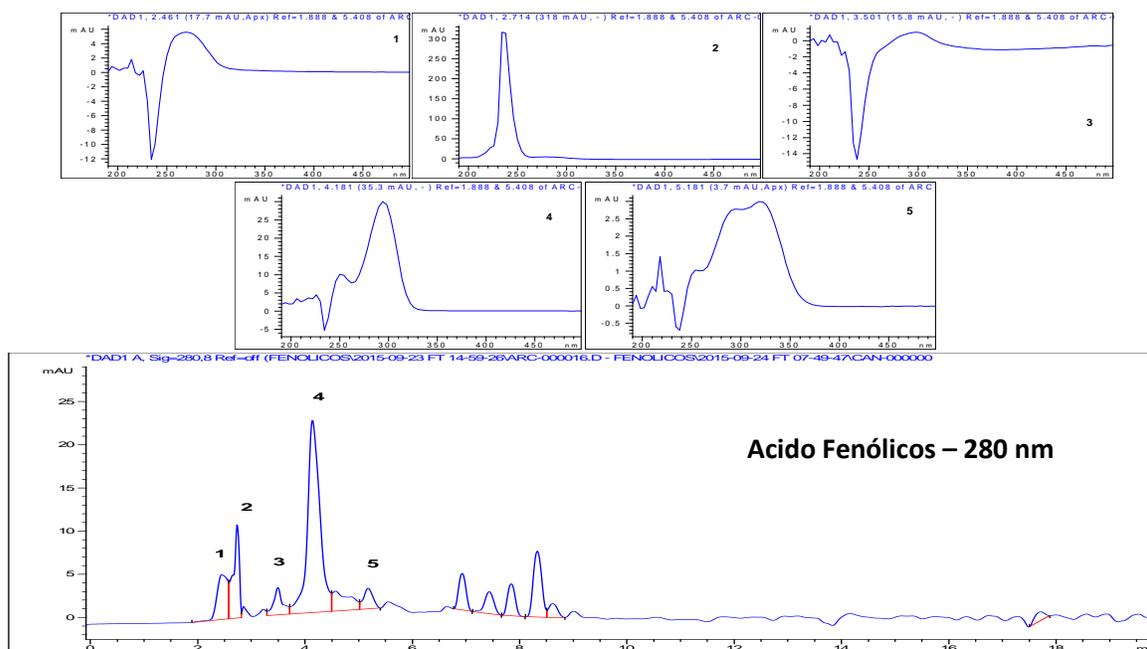
#### F. Perfil de resultado de cromatograma del tratamiento FS-SNBG.



**Grafico 27.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra FS-SNBG motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

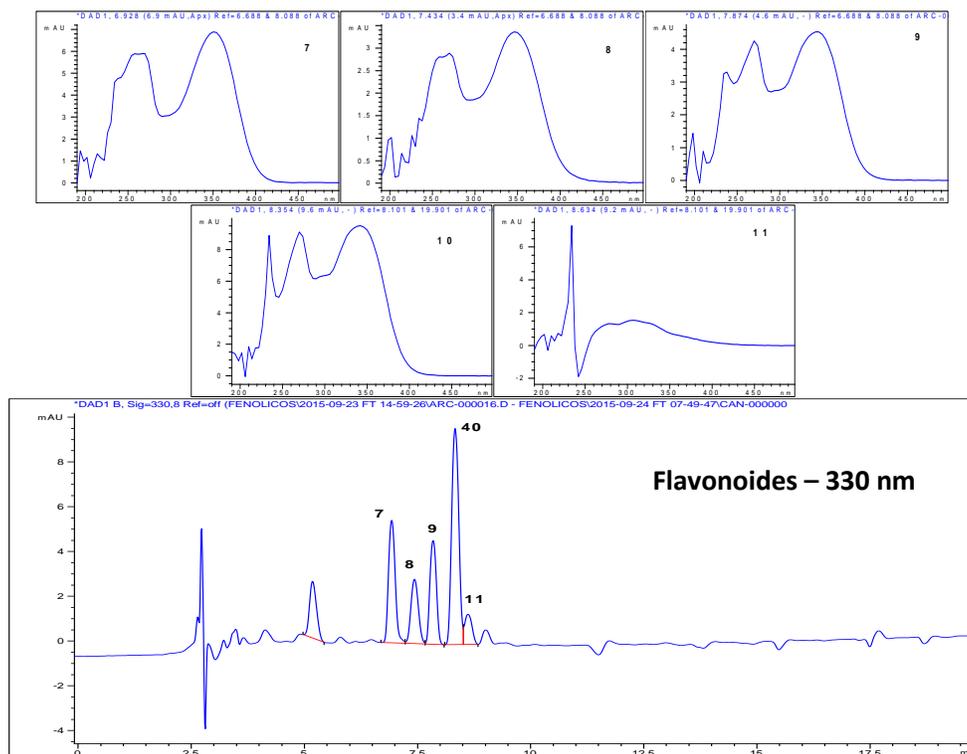
En el grafico 27, se muestra el comportamiento del perfil cromatografico por HPLC del tratamiento FS-SNBG (fermentación con solución – secado natural con bandeja galvanizada) a longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que a eluyen diferentes tiempos, en la primera longitud que se programo fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el grafico 27.



**Gráfico 28.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de ma muestra FS-SNBG.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el gráfico 28, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 5, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 2.448 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 2.732 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 3.49 min, para el (4) se tiene un tiempo de retención de 4.135 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 5.170 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el gráfico 28.



**Grafico 29.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FS-SNBG.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

En el grafico 29, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 9 a 15, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (5) se tiene un tiempo de retención de 5.772 min, para el (6) se tiene un tiempo de retención de 6.918 min, para el (7) se tiene un tiempo de retención de 7.362 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 7.836 min, para el (9) se tiene un tiempo de retención de 8.224 min, para el (10) se tiene un tiempo de retención

de 8.617 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 29.

**Tabla 24.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FS-SNBG de pasta de chocolate de copoazu.

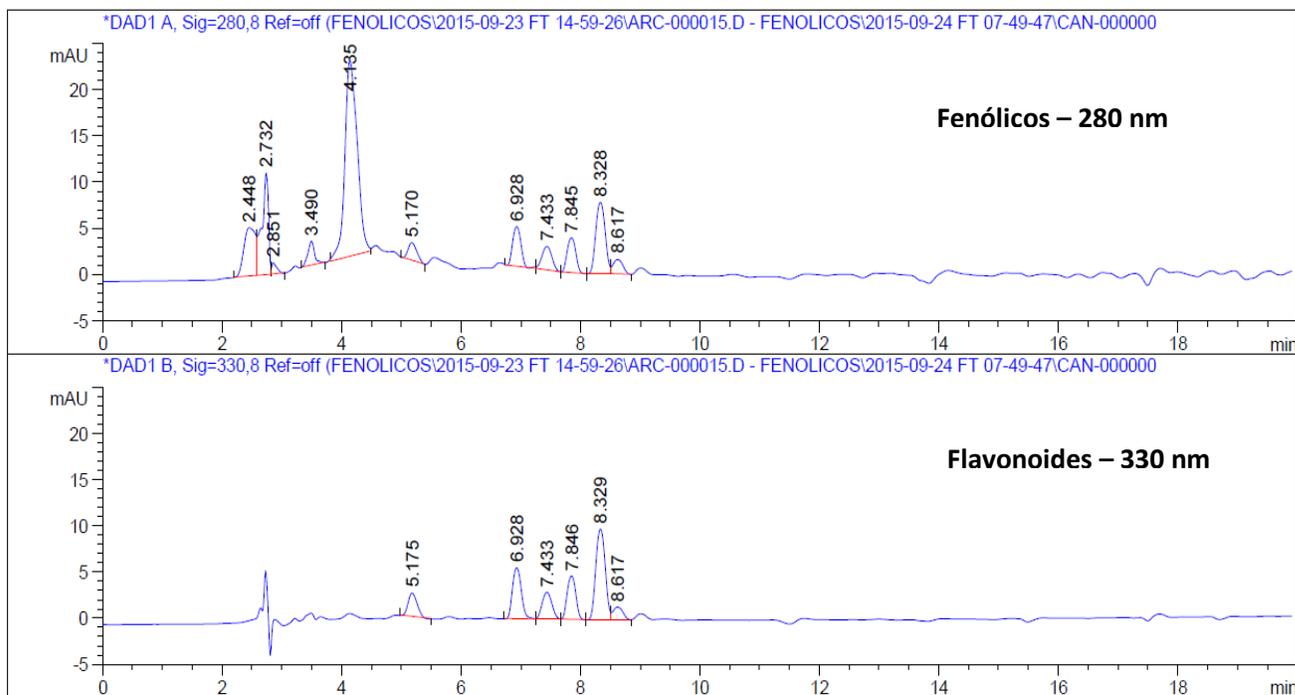
2B	PICOS	TIEMPO DE RETENCION	Área Mau*s	%
Ácidos fenólicos 280 nm	1	2.448	71.52	0.46
	2	2.732	85.59	0.55
	3	3.49	20.77	0.14
	4	4.135	304.57	2.01
	5	5.17	19.62	0.13
Flavonoides 330 nm	6	6.928	57.56	0.37
	7	7.433	33.55	0.21
	8	7.845	47.70	0.30
	9	8.328	108.42	0.69
	10	8.617	15.16	0.10
			758.47	4.96

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 24, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en el grafico 28 y 29, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 5 se tiene 3.29%, para los flavonoides totales 6 - 10 se tiene un 1.67% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos a los flavonoides glicosidicos 10 se tiene un 0.10% que están presentes en el proceso final de purificación.

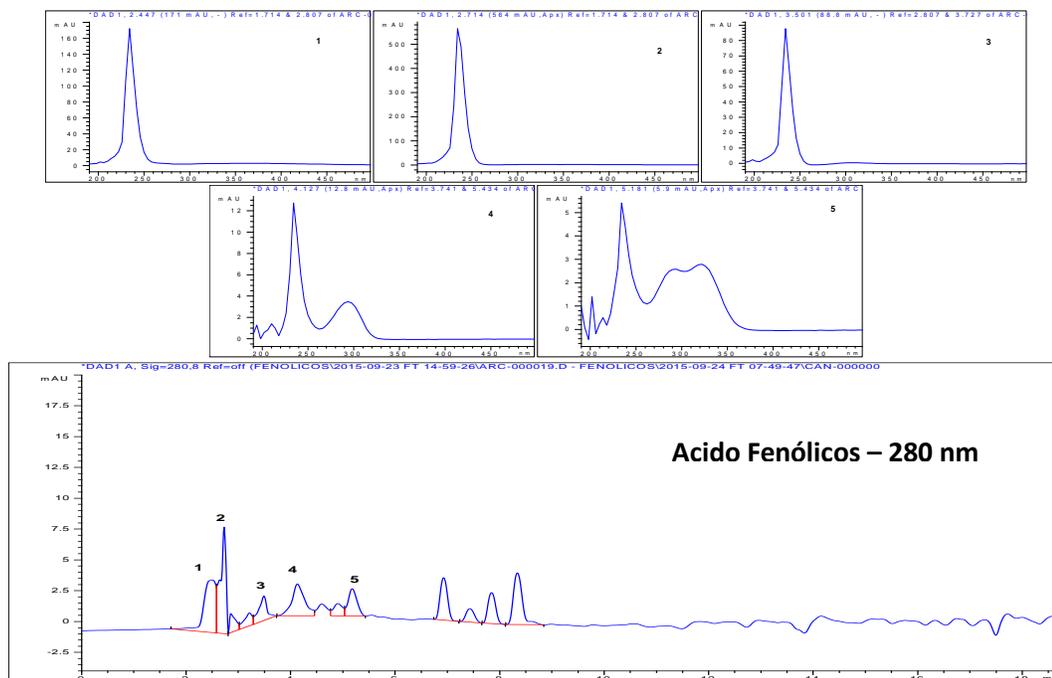
### G. Perfil de resultado de cromatograma del tratamiento FS-SA.



**Grafico 30.** Cromatograma de ácidos fenólicos y flavonoides de la muestra FS-SA motorizado simultáneamente a 280 y 330 nm usando la técnica del HPLC-DAD.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

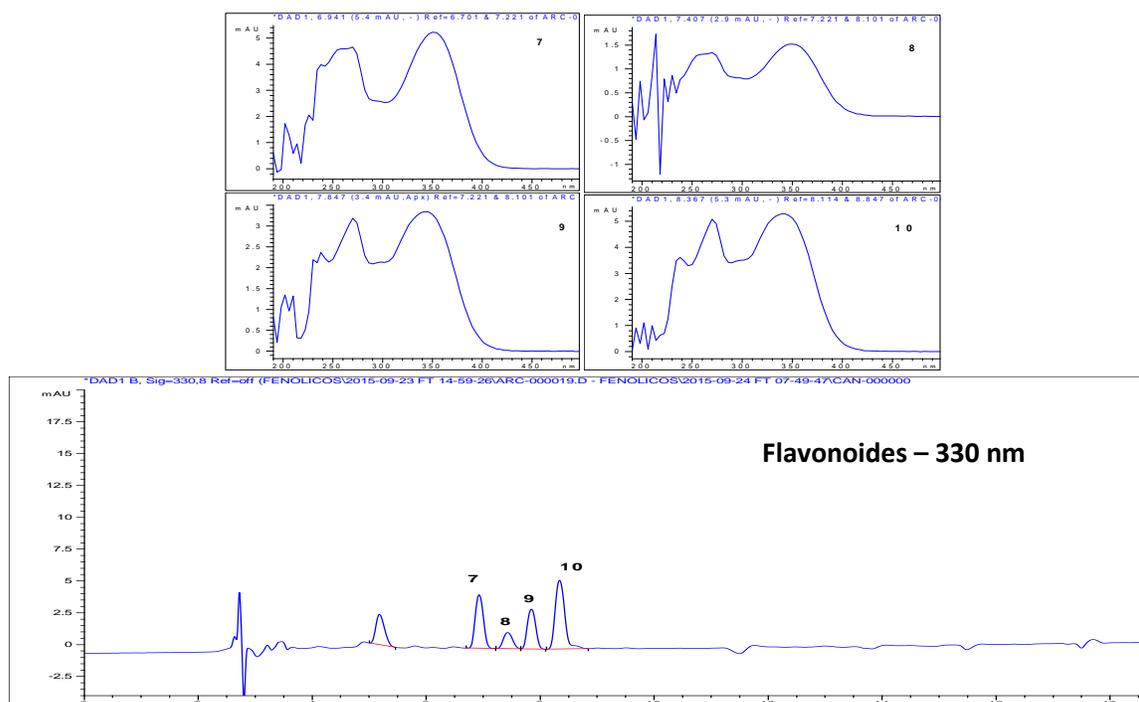
En el grafico 30, se muestra el comportamiento del perfil cromatografico por HPLC del tratamiento FS-SA (fermentación con solución – secado artificial) a longitudes de onda de 280 nm y 330 nm, para todos los componentes que a eluyen diferentes tiempos, en la primera longitud que se programo fue para detectar la presencia de ácidos fenólicos y la segunda para poder detectar los flavonoides como se observa en el grafico 30.



**Gráfico 31.** Cromatograma motorizado a 280 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FS-SA.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el gráfico 31, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 280 nm, se comenzó a enumerar de 1 a 5, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivos espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de los ácidos fenólicos, de los componentes del cromatograma a 280 nm, para los compuestos enumerados como (1) se tiene un tiempo de retención de 2.506 min, para el (2) se tiene un tiempo de retención de 2.725 min, para el (3) se tiene un tiempo de retención de 3.489 min, para el (4) se tiene un tiempo de retención de 4.127 min, para el (5) se tiene un tiempo de retención de 5.176 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el gráfico 31.



**Grafico 32.** Cromatograma motorizado a 330 nm con espectros UV de los primeros compuestos separados por HPLC de la muestra FS-SA.

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, elaboración propia (2015).

En el grafico 32, se puede visualizar mejor y comprensión de los cromatogramas obtenidos por el HPLC-DAD, se procedió a enumerar consecutivamente los picos del cromatograma que corresponde a la longitud de onda de 330 nm, se comenzó a enumerar de 6 a 9, donde se puede observar que se encuentran acompañados de sus respectivo espectro UV en donde se pudo determinar la concentración de flavonoides, de los componentes del cromatograma a 330 nm, para los compuestos enumerados como (6) se tiene un tiempo de retención de 6.926 min, para el (7) se tiene un tiempo de retención de 7.425 min, para el (8) se tiene un tiempo de retención de 7.842 min, para el (9) se tiene un tiempo de retención de 8.333 min, cada uno de estos compuestos eluidos están acompañados con su respectivo espectro, así como se muestra en el grafico 32.

**Tabla 25.** Área de los compuestos eluidos a 280 nm y 330 nm y el contenido de porcentaje de ácidos fenólicos y flavonoide del tratamiento FS-SA de pasta de chocolate de copoazu.

2C	PICOS	TIEMPO DE RETENCION	Área Mau*s	%
Ácidos fenólicos 280 nm	1	2.506	61.35	0.40
	2	2.725	45.60	0.34
	3	3.489	16.85	0.12
	4	4.127	32.18	0.20
	5	5.176	18.13	0.11
Flavonoides 330 nm	6	6.926	43.13	0.27
	7	7.425	14.38	0.09
	8	7.842	32.78	0.21
	9	8.333	62.43	0.40
			327.57	2.14

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 25, se muestra la cantidad en porcentajes calculados en función a las áreas de cada pico de acuerdo a la enumeración que se realizó mostrados en la figura 31 y 32, en donde se sumó todas las áreas mostrados en el reporte del análisis por HPLC, siendo este el 100%, luego se calcula para cada área a cuanto equivale en porcentaje para cada uno de los compuestos.

Para los ácidos fenólicos enumerados del 1 - 5 se tiene 1.17%, para los flavonoides totales 6 - 9 se tiene un 0.97% y para los compuestos cuyo espectros son parecidos a los flavonoides glicosidicos 14 y 15 se tiene un 1.39% que están presentes en el proceso final de purificación.

### 3.6.3. Resumen de los resultados de compuestos fenólicos totales por HPLC.

Para la determinación de los compuestos fenólicos totales se determinó por el método de cromatografía por HPLC, donde se utilizó dos estándares que fue el ácido gálico y la quercetina 3  $\beta$ -D-Glucósido, donde el ácido gálico se utilizó para determinar los ácidos fenoles a una longitud de onda de 280 nm y la quercetina 3  $\beta$ -D-Glucósido fue para determinar los flavonoides a una longitud de onda de medida de 330 nm. Los resultados tuvieron una variación en los tratamientos de pasta de chocolate

En la tabla 26, se aprecia los valores obtenidos que fueron tomados durante la evaluación de los compuestos fenólicos totales en las seis muestras de pasta de chocolate y una muestra de semilla fresca de copoazu, mostrando una variación en los resultados finales, así como se muestra en el tabla 26.

**Tabla 26.** Concentración de compuestos fenólicos totales

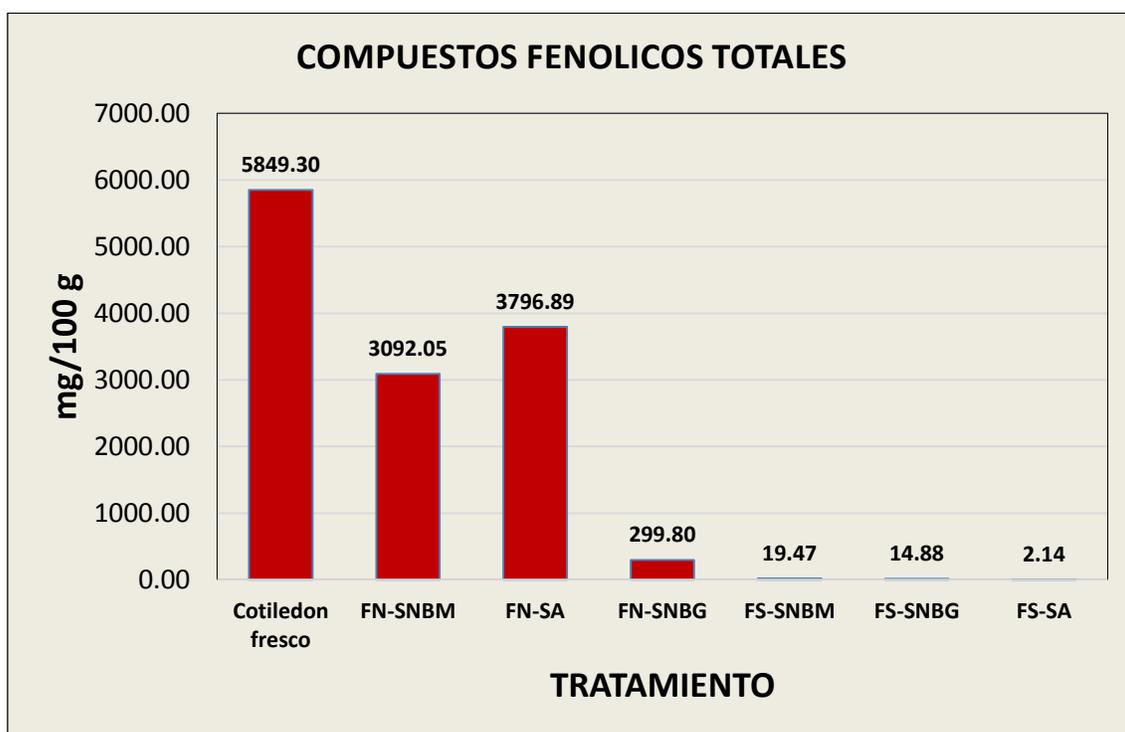
<b>Muestra codificada</b>	<b>Teor fenólicos totales (mg/100g)</b>
Cotiledón	5849,30 <sup>a</sup>
FN-SNBM	3092,05 <sup>c</sup>
FN-SA	3796,89 <sup>b</sup>
FN-SNBG	299,80 <sup>d</sup>
FS-SNBM	19,47 <sup>e</sup>
FS-SNBG	14,88 <sup>f</sup>
FS-SA	2,14 <sup>g</sup>

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En la tabla 26, se observa los valores finales obtenidos durante la evaluación de los compuestos fenólicos totales de las seis muestras de pasta de chocolate natural y una muestra de semilla fresca de copoazu, donde los resultados nos indican que la semilla

fresca contiene una elevada concentración de compuestos fenólicos totales de 5849.0 mg/100g a comparación con las seis muestras de pasta, estos nos indica que durante la etapa de beneficio y obtención de la pasta de chocolate naturas existe cambios y disminución de su componentes.

Los tratamiento de pasta de chocolate natural de copoazu que fueron aplicados con el método de fermentación natural, tuvieron los mejores comportamiento en la concentración de compuestos fenólicos totales donde el tratamiento FN-SA, tuvo el valor más alto de 3796 mg/100g y el tratamiento FN-SNBM con 3092.05 mg/100g, el tratamiento FS-SNBM tuvo 299.80 mg/100g. El método de fermentación con solución tuvo en sus tratamientos de pasta de chocolate una baja concentración de compuestos fenólicos totales, donde el tratamiento más bajo fue el FS-SA con un valor de 2.14 mg/100g.



**Grafico 33.** Concentración de los compuestos fenólicos

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

En el gráfico 33, se aprecia gráficamente el resultado final de la concentración de compuestos fenólicos totales en los tratamientos de chocolate, donde claramente se muestra que en el estado natural de la semilla de copoazu existe una elevada concentración de compuestos fenólicos totales y en los tratamientos de pasta existe una disminución dependiendo al método aplicado en su proceso de fermentación y secado.

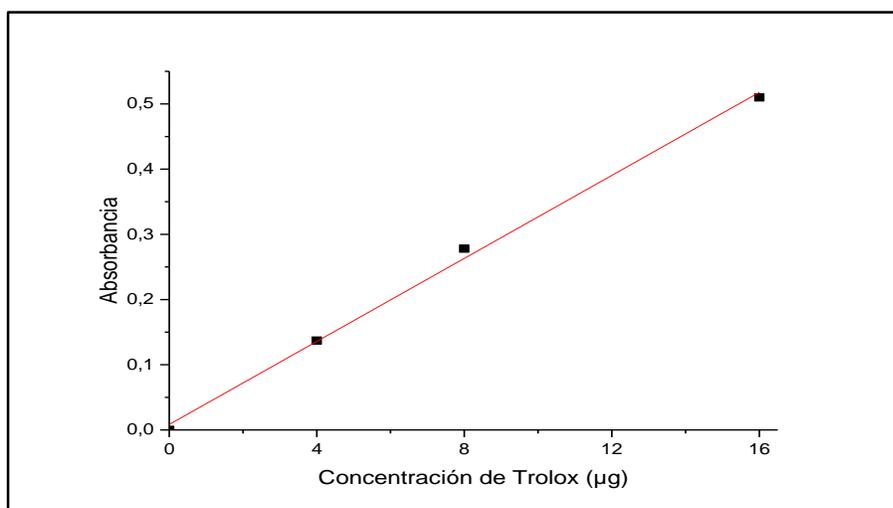
### **3.7. Determinación de la capacidad antioxidante de las seis muestra de pasta de chocolate y una muestra de semilla fresca de copoazu.**

Para la determinación la capacidad antioxidante por el método del DPPH, el rango de longitud para este trabajo fue de 517 nm donde presenta su máxima absorción. La solución del DPPH se preparaba minutos antes de realizar los ensayos, debido a que tiene a degradarse rápidamente por efectos de la luz y la temperatura (Molyneux, 2004)

El método del radical libre DPPH estable, es una manera fácil, rápida y sensible para estudiar la actividad antioxidante de un compuesto específico o extracto de muestras de pasta de chocolate natural y la semilla fresca de copoazu.

#### **3.7.1. Curva de calibración del estándar del Trolox.**

Para la determinación del método del DPPH, primero se determinó la curva patrón del estándar para determinar la capacidad antioxidante, del cual se obtuvo la ecuación por regresión lineal, con el fin de realizar los cálculos de actividad antioxidante expresando en equivalentes Trolox. La curva estándar fue construida con ayuda de un espectrofotómetro (Thermo Scientific Multiskan GO), las absorbancias fueron medidas a 517 nm en un tiempo de 30 minutos. La curva estándar fue construida graficando las lecturas de las absorbancias versus las concentraciones de Trolox presente en cada ensayo, como puede ser visualizada en el gráfico 34.



**Gráfico 34.** Curva de calibración del patrón del estándar del Trolox, donde  $\Delta A$  DPPH-Trolox es la diferencia de la absorbancia del DPPH y el estándar.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

El gráfico 34, se aprecia la curva de calibración del patrón estándar del Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-acido carboxílico) es un análogo del  $\alpha$ -tocoferol soluble en agua. Es conocido por su alta capacidad antioxidante y por tanto es utilizado como compuesto de referencia y actividad antioxidante es expresada como equivalentes Trolox (Oehlke et al., 2011), principalmente para el método del DPPH.

La ecuación fue determinada por regresión lineal utilizando el método de mínimos cuadrados con ayuda del software OriginPro 2015 64 bit, obteniéndose una ecuación (ecuación 1) con un  $R^2$  ajustado de 0,9964. Los factores de correlación obtenidos indican claramente que la ecuación hallada es capaz de explicar en 99,64% las variaciones de los datos experimentales, lo que lleva a considerar esta ecuación como apropiada para previsión de la absorbancia en función de la concentración del antioxidante, a partir de las cuales fue posible expresar la actividad antioxidante de las seis muestras de pasta de chocolate y una muestra de semilla fresca de copoazu, evaluadas en  $\mu\text{g}$  Trolox/g de extracto. Por tanto, la ecuación determinada puede ser utilizada para calcular la concentración de un antioxidante natural expresado en Trolox, a partir de la absorbancia.

$$\text{Absorbancia} = 0,0084 + 0,03184 * (\mu\text{g Trolox}) \quad (1)$$

### 3.7.2. Resultado de la capacidad antioxidante de los tratamientos por el método de DPPH

Una vez determinado la calibración del estándar del Trolox, se prosiguió a la determinación de la capacidad antioxidantes de los seis tratamientos de muestras de pasta de chocolate y una muestra de semilla fresca de copoazu. Donde se obtuvo valores altos y bajos en su concentración de capacidad antioxidante en las muestras de la investigación.

En la tabla 27, se aprecia los valores obtenidos que fueron tomados por triplicado y con su respectivo desvío estándar durante la evaluación de la capacidad antioxidante en los tratamientos de pasta de chocolate, mostrando una variación en las concentraciones de cada tratamiento, así como se muestra en la tabla 27.

**Tabla 27.** Capacidad antioxidante por DPPH en  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g muestra en húmeda.

TRATAMIENTO	DPPH* ( $\mu\text{mol}$ de ET/100 g.h.)
Cotiledón	1644,855 $\pm$ 1,813 <sup>a</sup>
FN-SNBM	343,832 $\pm$ 0,361 <sup>b</sup>
FN-SA	336,900 $\pm$ 0,363 <sup>c</sup>
FS-SNBM	17,094 $\pm$ 0,048 <sup>d</sup>
FN-SNBM	16,941 $\pm$ 0,018 <sup>ed</sup>
FS-SNBM	16,927 $\pm$ 0,036 <sup>fd</sup>
FS-SA	16,656 $\pm$ 0,031 <sup>gd</sup>

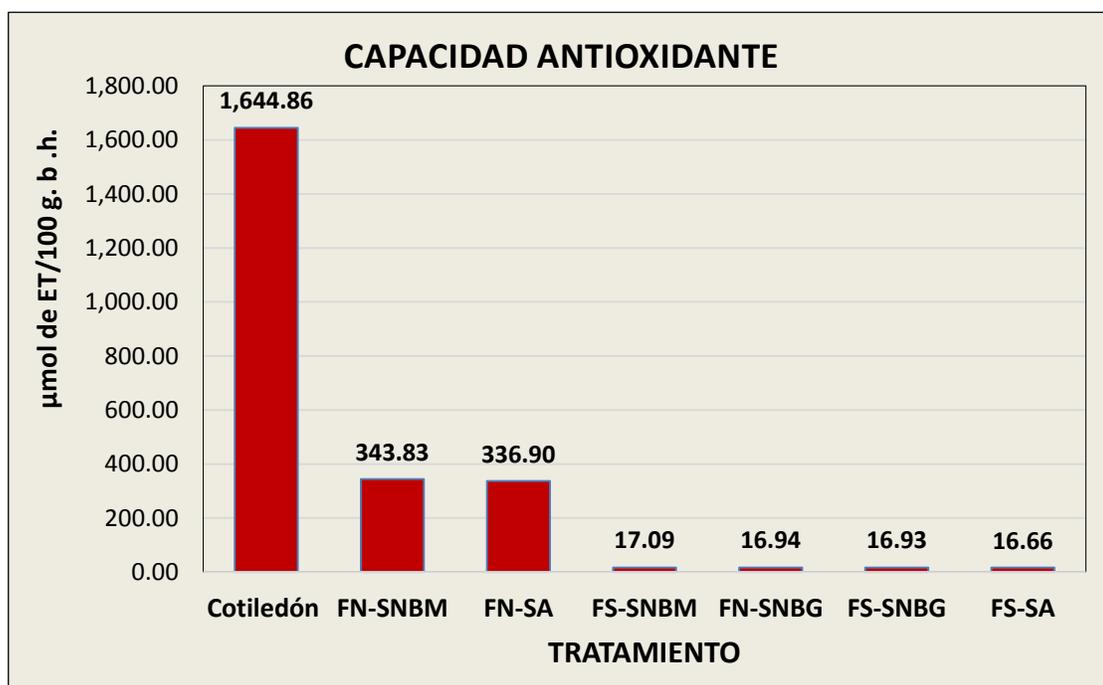
\* Media  $\pm$  desvío estándar

Fuente: Elaboración propia (2015).

En la tabla 27, se puede apreciar los resultados obtenidos en las muestras, donde se observa claramente que la semilla fresca de copoazu contiene un elevado contenido

de capacidad antioxidante de 1644.855  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h. en su naturaleza a comparación con los resultados de las muestras de pasta de chocolate de copoazu, esto nos indica que los métodos de proceso de fermentación y secado afecta la concentración de la capacidad antioxidante en la pasta de chocolate. Los tratamientos FN-SNBM y FN-SA tuvieron los valor más alto en la concentración de capacidad antioxidante de los tratamientos de muestras de chocolate, en donde el tratamiento FN-SNBM tuvo un valor de 343.832  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h. y el tratamiento FN-SA, tuvo un valor de 336.90  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h que los demás tratamientos de pasta de chocolate.

En tratamiento FS-SA tuvo el valor más bajo en la evaluación de la capacidad antioxidante que fue de 16.658  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h. El análisis estadístico indico que no existe diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos de pasta de chocolate ya que solo la muestra de semilla fresca mostró una significancia mayor ( $P \leq 0.05$ ) que el restos de los tratamiento.



**Grafico 35.** Concentración de la capacidad antioxidante

**Fuente:** Elaboración propia (2015).

El grafico 35, se aprecia gráficamente los resultados finales de la capacidad antioxidante de los tratamientos de pasta de chocolate y la muestra de semilla fresca de copoazu, donde se observa que existe un alto valor de 1644.86  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h en la semilla fresca en comparación a los tratamiento de pasta de chocolate, esto indica que los métodos aplicados en la investigación causan un efectos en la concentración de la capacidad antioxidante de la pasta de chocolate de copoazu, en el anexo 3 se muestran los datos obtenidos en el análisis de la determinación de capacidad antioxidantes. .

## CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en la determinación de las características físico-químicas del copoazu, se pudo determinar su rendimiento de la semilla que es de 17.29%, pulpa 41.01% y su corteza un 42.22%. Con respecto a la semilla se obtuvo un peso promedio de 6.65g, una longitud de 2.72cm y un diámetro de 1.15cm. Los datos obtenidos son similares a los reportados por (Barbosa, 1979 y Calzavara et al, 1984) y (Venturieri, 1993 y Rocha Neto, 1999). Los valores más relevantes obtenidos en su composición química de la semilla es el porcentaje de humedad que es de 36%, grasa de 18.07% y carbohidratos de 21.25%, estos valores se aproximan a los valores referenciales obtenidos por Calzavara et al. ,1984.
- Respecto a los resultados de la evaluación de la fermentación natural (FN) y fermentación con solución (FS), se pudo determinar que el método de FN tuvo una eficiencia en el grado de fermentación, las cuales tuvieron los mejores resultados en su comportamiento de sus variables más resaltantes como temperatura que tuvo un máximo promedio de 44°C en el quinto día, una humedad final de 43% y una coloración gradual en su pigmentación del cotiledón durante los 8 días de fermentación. Como se observa en el proceso de fermentación natural alcanza en menor tiempo las temperaturas óptimas necesarias para que el cotiledón cese su actividad biológica.
- Respecto a los efectos de los tres métodos de secado aplicado a la presente investigación tales como secado natural con bandeja de madera (SNBM), secado natural con bandeja galvanizada (SNBG) y secado artificial (SA), donde el mejor resultado se obtuvo en las muestras sometidas a fermentación natural y secado natural con bandejas de madera (FN-SNBM), alcanzaron los más bajos niveles de humedad (7%) en 4 días. Una vez fermentado y secado se pudo determinar por la prueba de corte los mejores resultados en el índice de fermentación: el tratamiento que tuvo el mejor resultado fue la fermentación natural con secado natural con bandeja de madera (FN-SNBM), donde se obtuvo semillas bien

fermentados (85%), semillas insuficientemente fermentadas (12%) y pizarrosos (3%). Valores que se aproximan a lo establecido en las Normas Técnicas Peruanas (NTP) para conservación de granos.

- Los métodos aplicados en las etapas de fermentación y secado si causaron un efecto en la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las muestras de la pasta de chocolate natural, donde el mejor resultado en su concentración se obtuvo en el tratamiento de fermentación natural con secado artificial (FN-SA) cuyos valores fueron de 3796.05 mg/100g de compuestos fenólicos y 343.83  $\mu\text{mol}$  de ET/100 g b.h. de capacidad antioxidante.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda que antes de iniciar el proceso de fermentación, de la pulpa adherida a la semilla un rango de 15% mínimo y un máximo de 30%, para que tenga un buen acondicionamiento en el proceso de fermentación, con respecto a los cajones nuevos de madera, tiene que hacerse un curado a los cajones debido a que por su naturaleza la madera contiene un pH y una acidez elevada que afecta al proceso de fermentación de la semilla de copoazu.
- Es importante estandarizar el proceso de fermentación y secado de la semilla de copoazu para determinar su índice de fermentación adecuada mediante la prueba de corte y un registro fotográfico donde se muestre el cambio progresivo de la pigmentación de los granos bien fermentados, insuficientemente fermentado y pizarrosos y así brindar a los productores de dicho fruto una herramienta de fácil acceso para que la puedan comparar con sus proceso de índice de fermentación.
- Una vez concluido la investigación, se nos permite proponer futuras investigaciones orientadas a profundizar con respecto a la evaluación del comportamiento microbiológico durante el proceso de fermentación.
- Evaluar el proceso de tostado ya que es una de las etapas fundamental para la calidad de la pasta de chocolate natural.
- Se recomienda evaluar los periodos de almacenamiento óptimos del grano fermentado y seco al fin de determinar la temperatura y humedades adecuadas y al final evaluar su influencia en el contenido de grasa, compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes.
- Es necesario determinar otros parámetros físicos y fisicoquímicos que permitan diferenciar concluyentemente la calidad de la pasta de chocolate natural en las diferentes variedades. Esta recomendación es aplicable a otras zonas productoras con iguales o diferentes variedades de copoazu.

## BIBLIOGRAFÍA

- Castro Z. 2010. Caracterización del proceso de fermentación del grano de Copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng), (tesis), Bogotá, Programa Interfacultades, Universidad Nacional de Colombia. pp. 24-38.
- CRUZ, P.E.N. Caracterização química e nutricional de algumas frutas do Estado do Maranhão. São Luís: UFMA, 1988. 58p.
- EMBRAPA, 2007, “Boas Práticas Agrícolas da Cultura do Cupuaçuzeiro”, Manaus, Brasil, pp. 17-30.
- Gaitán, T. (2005). Cadena del Cultivo de cacao con potencial exportador. Managua, Vol. 60/ pág. (6-7)
- Gómez A. 2008. Evaluación sensorial de licores de Ecuador y Venezuela. Seminario Internacional. Bogotá
- HERNÁNDEZ, M. y BARRERA, J., 2004, “Manejo pos-cosecha y transformación de frutales nativos promisorio en la Amazonía colombiana”, Santafé de Bogotá, Colombia, pp. 22-32.
- Hernández, M.S y Galvis, J.A. 1994. Análisis del crecimiento del fruto y determinación del momento de cosecha del copoazú (*Theobroma grandiflorum*). Colombia Amazónica Vol 7 (1-2):157-168
- Hernández C, León A. 2003. Evaluación de las etapas de fermentación y secado del proceso de beneficio de semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum*). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia
- INIAP, 2009, “Potencial nutritivo, funcional y procesamiento de tres frutales amazónicos”, plegable N. 301, Quito, Ecuador
- LIMA, H., 1993, “Conservação pós-colheita do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*(Willdenow ex. Sprengel) Schumann) em condições

ambiente e sobrefrigeração”, Tese de Mestrado, Manaus: INPA/FUA, Brasil, p. 118

- LEAL, F.; SERRA, A. y VALDERRAMA, E., 1997, “El copoazú (*Theobromagrandiflorum*) Sterculiaceae, pariente del cacao”, Memorias del I Congreso
- PRODAR, “Productos promisorios de la agroindustria rural”, IICA Biblioteca Venezuela, 1996.
- Reyes, H., Vivas, J. y Romero, A. (2000). La calidad del cacao, cosecha y fermentación. FONAIAP DIVULGA No. 66.
- ROHAN, T. (1964), El beneficio del cacao bruto destinado al mercado. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- URANO, J.; MILLER, C.; BENCHIMOL, R.; KOUZO, A. y ALVES, R., 1999, “Manual Técnico Copoazú [*Theobromagrandiflorum* (Willd.ExSpteng.) Shum]: Cultivo y Utilización”, FAO.
- Venezolano del Cacao y su Industria, FUNDACITE, Maracay, Venezuela.
- ZAPATA, J.; PEREIRA, A. y VARÓN, E., 1996, “El cultivo de Copoazú”, Corpoica Regional 10, Florencia, España, pp. 3-12..

## Anexo 1: Resultados de análisis proximal.

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS**  
 Av. de la Cultura 722 Apartado Postal 921 - Cusco Perú  
 Pabellón C - Of. 106 Teléfono - fax - modem: 224831

**UNIDAD DE PRESTACIONES DE SERVICIO DE ANALISIS QUIMICO**  
**DEPARTAMENTO ACADEMICO DE QUIMICA**  
**INFORME DE ANALISIS** N°0130-15-LAQ

**SOLICITANTE:** ALEX VICTOR ROJAS CORRALES

**PROY. TESIS:** "EVALUACION DE METODOS DE FERMENTACION Y SECADO PARA EL BENEFICIADO DE SEMILLAS DE COPOAZU (*Theobroma grandiflorum*) Y SUS EFECTOS EN LA CALIDAD DE PASTA DE CHOCOLATA NATURAL EN LA PROV. DE TAMBOPATA-M.D.D."

**MUESTRA :** 1.-PULPA DE COPOAZU  
2.-COTILEDON DE COPOAZU

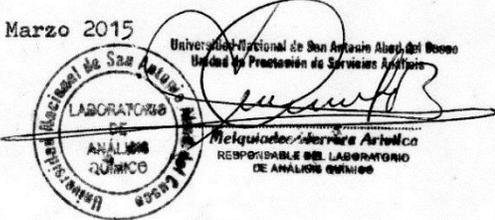
**FECHA :** C/12/03/2015

**RESULTADO ANALISIS FISICOQUIMICO:**

	1	2	
Humedad %	83.77	45.22	NTP 206.011
Proteína %	0.97	5.09	AOAC 935.39C
Grasa %	0.13	18.07	NTP 206.017
Ceniza %	0.27	2.84	AOAC 935.39B
Fibra %	2.14	4.90	FAO 14/7
Carbohidratos %	14.86	21.25	Diferencia
Acidez % (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0.22	0.12	NTP 206.013

\*

Cusco, 19 de Marzo 2015

  
 Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco  
 Unidad de Prestación de Servicios Analíticos  
 Mequialca, Herrera Arce  
 RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO

Fuente: Laboratorio de química de la UNSAAC (2015).

**Anexo 2:** Constancia de análisis de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta de chocolate de copoazu.

	<p><b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO</b> FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS, MATEMÁTICAS y BIOLOGÍA LABORATORIO DE CROMATOGRFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855</p>
<p style="text-align: center;"><b><u>CONSTANCIA DE ANÁLISIS</u></b></p>	
<p>El que suscribe, Responsable del Laboratorio de Cromatografía de la Facultad De Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas y Biología de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, deja Constancia.</p>	
<p>Que el Bach. Alex Víctor Rojas Corrales, de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, ha presentado al Laboratorio 7 muestra denominado “Chocolate Natural” para la determinación de Compuestos Fenólicos y Capacidad Antioxidante, correspondiente al proyecto de investigación titulado “EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE FERMENTACIÓN Y SECADO PARA EL BENEFICIO DE SEMILLA DEL COPOAZU (<i>Theobroma grandiflorum</i>) Y SUS EFECTOS EN LA CALIDAD DE PASTA DE CHOCOLATE NATURAL EN LA PROVINCIA DE TAMBOPATA-M.D.D.” El perfil de Polifenoles fue caracterizado utilizando el Cromatógrafo HPLC-DAD Agilent 1200, y para la actividad antioxidante se determinó por método del DPPH frente al estándar Trolox, para ello se utilizó el espectrofotómetro Thermo Genesis 20.</p>	
<p>Se expide la siguiente constancia a solicitud del interesado para los fines que viera por conveniente.</p>	
<p style="text-align: right;">Cusco, 07 de Abril del 2015</p>	
<p style="text-align: center;"> ----- Quim. Jorge Choquenaira Parí Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC. CGP - 914</p>	

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC (2015).

**Anexo 03:** Datos obtenidos en la determinación de compuestos fenólicos de una muestra fresca del cotiledón y de los seis tratamientos de muestras de pasta de chocolate de copoazu.

### Muestra fresca del cotiledón del Copoazu.

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area 1 mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
	1	2.78	1542.23	15.21	11.7	1.78	50	88.95	10.00	889.40
	2	3.93	362.56	3.72	11.7	0.44	50	21.76	10.00	217.58
	3	4.22	973.45	10.14	11.7	1.19	50	59.34	10.00	593.31
<b>Acidos fenolicos 280 nm</b>	4	4.60	1369.87	14.20	11.7	1.66	50	83.09	10.00	830.82
	5	5.17	385.36	3.91	11.7	0.46	50	22.87	10.00	228.69
	6	5.57	61.44	0.64	11.7	0.07	50	3.73	10.00	37.26
	7	5.79	125.03	1.28	11.7	0.15	50	7.49	10.00	74.94
	8	6.04	99.97	1.04	11.7	0.12	50	6.06	10.00	60.55
	9	6.48	164.06	1.67	11.7	0.20	50	9.79	10.00	97.92
<b>Flavonoides 330 nm</b>	10	6.91	763.11	7.69	11.7	0.90	50	44.97	10.00	449.69
	11	7.34	622.23	6.26	11.7	0.73	50	36.60	10.00	366.00
	12	7.83	707.55	7.10	11.7	0.83	50	41.54	10.00	415.34
	13	8.22	2703.41	27.15	11.7	3.18	50	158.80	10.00	1587.80
	14	0	0	0	11.7	0	50	0	10.00	0.00
	15	0	0	0	11.7	0	50	0	10.00	0.00
<b>Suma Total 100%</b>				100		11.7		585		<b>5849.30</b>

Fuente: Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

### Muestra de Fermentación natural con secado natural en bandeja de madera (FN-SNBM).

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
	1	2.47	1189.65	7.57	6.20	0.47	50.000	23	10.03	234.01
	2	2.77	2084.21	13.26	6.20	0.82	50.000	41	10.03	409.88
	3	3.47	522.98	3.28	6.20	0.20	50.000	10	10.03	101.57
<b>Acidos fenolicos 280 nm</b>	4	4.14	1950.29	12.47	6.20	0.77	50.000	39	10.03	385.50
	5	4.61	483.15	3.07	6.20	0.19	50.000	10	10.03	94.91
	6	4.89	102.57	0.64	6.20	0.04	50.000	2	10.03	19.79
	7	5.17	1219.71	7.76	6.20	0.48	50.000	24	10.03	239.97
	8	5.57	126.93	0.76	6.20	0.05	50.000	2	10.03	23.53
	9	5.77	78.42	0.51	6.20	0.03	50.000	2	10.03	15.70
<b>Flavonoides 330 nm</b>	10	6.92	1515.95	9.66	6.20	0.60	50.000	30	10.03	298.70
	11	7.36	1144.15	7.30	6.20	0.45	50.000	23	10.03	225.70
	12	7.84	1343.26	8.57	6.20	0.53	50.000	27	10.03	264.91
	13	8.22	3734.35	23.77	6.20	1.47	50.000	74	10.03	734.90
	14	8.617	158.79	1.02	6.20	0.063344222	50.000	3	10.03	31.59
	15	9.006	58.02	0.37	6.20	0.022876322	50.000	1	10.03	11.41
<b>Suma Total 100%</b>				100		6.2		310		<b>3092.05</b>

Fuente: Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

### Muestra de fermentación natural con secado artificial (FN-SA)

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
Acidos fenolicos 280 nm	1	2.46	722.53	8.20	7.60	0.62	50	31	10.01	311.44
	2	2.76	1184.22	13.39	7.60	1.02	50	51	10.01	508.58
	3	3.48	275.21	3.12	7.60	0.24	50	12	10.01	118.46
	4	4.13	1100.71	12.54	7.60	0.95	50	48	10.01	476.05
	5	4.61	295.46	3.38	7.60	0.26	50	13	10.01	128.22
	6	4.88	88.66	1.02	7.60	0.08	50	4	10.01	38.74
	7	5.18	803.12	9.15	7.60	0.70	50	35	10.01	347.39
	8	5.56	89.27	1.02	7.60	0.08	50	4	10.01	38.81
	9	0.00	0.00	0.00	7.60	0.00	50	0	10.01	0.00
Flavonoides 330 nm	10	6.92	777.43	8.87	7.60	0.67	50	34	10.01	336.67
	11	7.40	688.76	7.86	7.60	0.60	50	30	10.01	298.31
	12	7.84	686.17	7.83	7.60	0.60	50	30	10.01	297.32
	13	8.27	1842.98	21.02	7.60	1.60	50	80	10.01	797.98
	14	8.619	172.14	1.96	7.60	0.149	50	7	10.01	74.60
	15	9.007	56.07	0.64	7.60	0.049	50	2	10.01	24.31
Suma Total 100%			8782.74	100		7.6		380		3796.89

Fuente: Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

### Muestra de fermentación natural con secado natural de bandeja galvanizada (FN-SNBG)

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
Acidos fenolicos 280 nm	1	3.49	14.83	4.06	0.60	0.02	50	1	10.01	12.17
	2	4.14	138.49	37.91	0.60	0.23	50	11	10.01	113.66
	3	5.17	11.02	3.02	0.60	0.02	50	1	10.01	9.05
	4	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.01	0.00
	5	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.01	0.00
	6	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.01	0.00
	7	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.01	0.00
	8	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.01	0.00
	9	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.01	0.00
Flavonoides 330 nm	10	6.93	47.22	12.93	0.60	0.08	50	4	10.01	38.75
	11	7.44	31.00	8.49	0.60	0.05	50	3	10.01	25.44
	12	7.85	39.42	10.79	0.60	0.06	50	3	10.01	32.35
	13	8.32	70.70	19.36	0.60	0.12	50	6	10.01	58.03
	14	8.627	12.62	3.45	0.60	0.021	50	1	10.01	10.36
	15	0	0.00	0.00	0.60	0.000	50	0	10.01	0.00
Suma Total 100%			365.29	100		0.6		30		299.80

Fuente: Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

### Muestra de fermentación con solución – secado natural de bandeja de madera (FS-SNBM)

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
	1	2.45	137.76	0.96	1.00	0.01	50	0	10.01	4.79
	2	2.73	67.82	0.44	1.00	0.00	50	0	10.01	2.18
	3	3.49	23.06	0.15	1.00	0.00	50	0	10.01	0.75
<b>Acidos fenolicos 280 nm</b>	4	4.14	153.86	0.99	1.00	0.01	50	0	10.01	4.95
	5	5.18	9.94	0.06	1.00	0.00	50	0	10.01	0.32
	6	5.54	24.54	0.16	1.00	0.00	50	0	10.01	0.80
	7	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	50	0	10.01	0.00
	8	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	50	0	10.01	0.00
	9	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	50	0	10.01	0.00
	10	6.93	30.70	0.20	1.00	0.00	50	0	10.01	1.00
	11	7.45	38.55	0.25	1.00	0.00	50	0	10.01	1.26
<b>Flavonoides 330 nm</b>	12	7.84	29.59	0.19	1.00	0.00	50	0	10.01	0.96
	13	8.32	49.95	0.32	1.00	0.00	50	0	10.01	1.62
	14	8.621	25.56	0.17	1.00	0.002	50	0	10.01	0.83
	15	0	0.00	0.00	1.00	0.000	50	0	10.01	0.00
<b>Suma Total 100%</b>			591.33	3.897865346		0.038978653		1.948932673		<b>19.47</b>

Fuente: Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

### Muestra de Fermentación con solución – secado natural con bandeja galvanizada (FS-SNBG)

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
	1	2.45	71.52	0.46	0.60	0.00	50	0	10.00	1.38
	2	2.73	85.59	0.55	0.60	0.00	50	0	10.00	1.65
	3	3.49	20.77	0.14	0.60	0.00	50	0	10.00	0.43
<b>Acidos fenolicos 280 nm</b>	4	4.14	304.57	2.01	0.60	0.01	50	1	10.00	6.03
	5	5.17	19.62	0.13	0.60	0.00	50	0	10.00	0.38
	6	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.00	0.00
	7	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.00	0.00
	8	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.00	0.00
	9	0.00	0.00	0.00	0.60	0.00	50	0	10.00	0.00
	10	6.93	57.56	0.37	0.60	0.00	50	0	10.00	1.10
	11	7.43	33.55	0.21	0.60	0.00	50	0	10.00	0.64
<b>Flavonoides 330 nm</b>	12	7.85	47.70	0.30	0.60	0.00	50	0	10.00	0.91
	13	8.33	108.42	0.69	0.60	0.00	50	0	10.00	2.08
	14	8.617	15.16	0.10	0.60	0.001	50	0	10.00	0.29
	15	0	0.00	0.00	0.60	0.000	50	0	10.00	0.00
<b>Suma Total 100%</b>			764.46	4.96		0.03		1.49		<b>14.88</b>

Fuente: Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

### Muestra de Fermentación con solución – secado artificial (FS-SA)

Semillas	Pico	Tiempo de Retencion min	Area mAU*s (HPLC)	% Corregido	Extracto seco mg/mL	Picos en mg/mL	Volumen de	Volm Extrac mg/50 mL	Peso de Muestra	Contenido en mg/100g
	1	2.51	61.35	0.40	0.20	0.00	50	0	10.00	0.40
	2	2.73	45.60	0.34	0.20	0.00	50	0	10.00	0.34
	3	3.49	16.85	0.12	0.20	0.00	50	0	10.00	0.12
<b>Acidos fenolicos 280 nm</b>	4	4.13	32.18	0.20	0.20	0.00	50	0	10.00	0.20
	5	5.18	18.13	0.11	0.20	0.00	50	0	10.00	0.11
	6	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	50	0	10.00	0.00
	7	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	50	0	10.00	0.00
	8	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	50	0	10.00	0.00
	9	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	50	0	10.00	0.00
	10	6.93	43.13	0.27	0.20	0.00	50	0	10.00	0.27
	11	7.43	14.38	0.09	0.20	0.00	50	0	10.00	0.09
<b>Flavonoides 330 nm</b>	12	7.84	32.78	0.21	0.20	0.00	50	0	10.00	0.21
	13	8.33	62.43	0.40	0.20	0.00	50	0	10.00	0.40
	14	0	0.00	0.00	0.20	0.000	50	0	10.00	0.00
	15	0	0.00	0.00	0.20	0.000	50	0	10.00	0.00
<b>Suma Total 100%</b>			326.84	2.14		0.00		0.21		<b>2.14</b>

**Fuente:** Laboratorio de cromatografía - UNSAAC, elaboración propia (2015)

**Anexo 04:** Datos obtenidos en la determinación de capacidad antioxidantes por el método del DPPH de una muestra fresca del cotiledón y de los seis tratamientos de muestras de pasta de chocolate de copoazu.

**Curva patrón del estándar Trolox.**

tubo	Tolox 100ug/mL	Trolox uM	Trolox Vol uL	EtOH uL	DPPH uL	1	2	3	Promedio	Abs DPPH	$\Delta A_{DPPH-STD}$	Abs DPPH
Control	0	0	0	2000	1000	0.545	0.546	0.544	0.545	0.545	0.0000	0.545
1	4	16	40	1960	1000	0.412	0.412	0.4	0.408	0.545	0.1370	0.545
2	8	32	80	1920	1000	0.267	0.273	0.262	0.2673	0.545	0.2777	0.545
3	16	64	160	1840	1000	0.037	0.034	0.034	0.035	0.545	0.5100	0.545
BLANCO	0		0	3000	0						0.0000	

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

**Muestra fresca del cotiledón del Copoazu.**

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs- Cotiledon	% Inhb	AAO %	$\Delta ADPPH-$ Semilla Copoazu	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (1/100)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox $\mu\text{g}/\text{peso}$ cacao g	Equi-Trolox $\mu\text{g}/\text{g}$ cacao	Volum. Inhb Cl50
0	0.541	0.540	0.540	0.5403	0.5403	0.5403	0.000	0	0.00	0.0318	0.0083	0	100	50	0.00		14.80
50	0.488	0.489	0.485	0.4873	0.5403	0.4873	9.81	9.81	0.0530	0.0318	0.0083	1.406	100	50	7028.30		15.60
100	0.435	0.433	0.425	0.4310	0.5403	0.4310	20.23	20.23	0.1093	0.0318	0.0083	3.177	100	50	15885.74		16.60
150	0.361	0.364	0.360	0.3617	0.5403	0.3617	33.07	33.07	0.1787	0.0318	0.0083	5.357	100	50	26787.21		18.15
200	0.304	0.306	0.306	0.3053	0.5403	0.3053	43.49	43.49	0.2350	0.0318	0.0083	7.129	100	50	35644.65		19.77
250	0.233	0.228	0.229	0.2300	0.5403	0.2300	57.43	57.43	0.3103	0.0318	0.0083	9.498	100	50	47489.52		22.80
300	0.173	0.172	0.177	0.1740	0.5403	0.1740	67.80	67.80	0.3663	0.0318	0.0083	11.259	100	50	56294.55		26.24
350	0.129	0.124	0.126	0.1263	0.5403	0.1263	76.62	76.62	0.4140	0.0318	0.0083	12.758	100	50	63789.31		30.82
400	0.099	0.103	0.095	0.0990	0.5403	0.0990	81.68	81.68	0.4413	0.0318	0.0083	13.617	100	50	68087.00		34.83
450	0.090	0.093	0.079	0.0873	0.5403	0.0873	83.84	83.84	0.4530	0.0318	0.0083	13.984	100	50	69921.38		37.09
500	0.079	0.072	0.073	0.0747	0.5403	0.0747	86.18	86.18	0.4657	0.0318	0.0083	14.383	100	50	71913.00		40.12
202.68				0.2702	0.5403	0.2702	50	50	0.2702	0.0318	0.00830	8.235	100	50	41174.00	4116.91	21.03
202.68				0.2702					0.270167	1.7303	0.00005						202.68

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

### Muestra de Fermentación natural con secado natural en bandeja de madera (FN-SNBM).

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs-1A	% Inhb	AAO %	ΔADPPH-1A	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (1/20)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox μg /peso cacao g	Equi-Trolox μg /g cacao	Volum. Inhb CI50
0	0.566	0.565	0.565	0.565	0.565	0.565	0.000	0.000	0.000	0.032	0.008	0.000	20	50	0.00		0.000
50	0.449	0.450	0.456	0.452	0.565	0.452	20.106	20.106	0.114	0.032	0.008	3.313	20	50	3313.42		124.340
100	0.372	0.360	0.359	0.364	0.565	0.364	35.672	35.672	0.202	0.032	0.008	6.081	20	50	6080.71		140.165
150	0.374	0.370	0.369	0.371	0.565	0.371	34.375	34.375	0.194	0.032	0.008	5.850	20	50	5850.10		218.182
200	0.281	0.270	0.271	0.274	0.565	0.274	51.533	51.533	0.291	0.032	0.008	8.900	20	50	8900.42		194.050
250	0.197	0.190	0.187	0.191	0.565	0.191	66.156	66.156	0.374	0.032	0.008	11.500	20	50	11500.00		188.948
300	0.118	0.113	0.120	0.117	0.565	0.117	79.304	79.304	0.448	0.032	0.008	13.838	20	50	13837.53		189.145
350	0.072	0.071	0.072	0.072	0.565	0.072	87.323	87.323	0.494	0.032	0.008	15.263	20	50	15263.10		200.405
400	0.060	0.058	0.058	0.059	0.565	0.059	89.623	89.623	0.507	0.032	0.008	15.672	20	50	15671.91		223.158
450	0.055	0.056	0.055	0.055	0.565	0.055	90.212	90.212	0.510	0.032	0.008	15.777	20	50	15776.73		249.412
500	0.055	0.053	0.054	0.054	0.565	0.054	90.448	90.448	0.511	0.032	0.008	15.819	20	50	15818.66		276.402
194.05				0.28	0.57	0.28	50.00	50.00	0.28	0.03	0.01	8.63	20.00	50.00	8627.88	862.68	194.050
194.08				0.283						1.730	0.000	0.000					194.080

Fuente: Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

### Muestra de fermentación natural con secado artificial (FN-SA).

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs-1A	% Inhb	AAO %	ΔADPPH-1A	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (1/20)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox μg /peso total g	Equi-Trolox μg /g cacao	Volum. Inhb CI50
0	0.554	0.553	0.553	0.553	0.553	0.553	0.000	0.000	0.000	0.032	0.008	0.000	20	17	0.00		0.000
50	0.453	0.455	0.455	0.454	0.553	0.454	17.892	17.892	0.099	0.032	0.008	-2.852	20	17	-969.75		139.731
100	0.364	0.354	0.364	0.361	0.553	0.361	34.819	34.819	0.193	0.032	0.008	5.798	20	17	1971.22		143.599
150	0.276	0.264	0.254	0.265	0.553	0.265	52.169	52.169	0.289	0.032	0.008	8.817	20	17	2997.63		143.764
200	0.177	0.169	0.169	0.172	0.553	0.172	68.976	68.976	0.382	0.032	0.008	11.741	20	17	3991.97		144.978
250	0.107	0.098	0.095	0.100	0.553	0.100	81.928	81.928	0.453	0.032	0.008	13.995	20	17	4758.22		152.574
300	0.067	0.070	0.065	0.067	0.553	0.067	87.831	87.831	0.486	0.032	0.008	15.022	20	17	5107.48		170.782
350	0.063	0.060	0.059	0.061	0.553	0.061	89.036	89.036	0.493	0.032	0.008	15.232	20	17	5178.76		196.549
400	0.059	0.059	0.090	0.069	0.553	0.069	87.470	87.470	0.484	0.032	0.008	14.959	20	17	5086.10		228.650
450	0.055	0.059	0.059	0.058	0.553	0.058	89.578	89.578	0.496	0.032	0.008	15.326	20	17	5210.84		251.177
500	0.056	0.059	0.059	0.058	0.553	0.058	89.518	89.518	0.495	0.032	0.008	15.316	20	17	5207.27		279.273
143.76				0.28	0.55	0.28	50.00	50.00	0.28	0.03	0.01	8.44	20.00	50.00	8439.20	843.82	143.764
143.76				0.277						1.730	0.000	0.000					198.157

Fuente: Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

### Muestra de fermentación natural con secado natural de bandeja galvanizada (FN-SNBG)

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs-1A	% Inhb	AAO %	ΔADPPH-1A	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (0)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox μg /peso cacao g	Equi-Trolox μg /g cacao	Volum. Inhb CI50
0	0.557	0.556	0.556	0.556	0.556	0.556	0.000	0.000	0.000	0.032	0.008	0.000	1	27.5	0.00		0.000
50	0.473	0.461	0.461	0.465	0.556	0.465	16.417	16.417	0.091	0.032	0.008	-2.611	1	27.5	-71.81		152.281
100	0.372	0.383	0.334	0.363	0.556	0.363	34.751	34.751	0.193	0.032	0.008	5.819	1	27.5	160.01		143.879
150.00	0.30	0.30	0.30	0.30	0.56	0.30	46.38	46.38	0.26	0.03	0.01	7.85	1.00	27.50	215.94		161.72
200	0.210	0.217	0.217	0.215	0.556	0.215	61.414	61.414	0.342	0.032	0.008	10.483	1	27.5	288.29		162.829
250	0.146	0.234	0.139	0.173	0.556	0.173	68.904	68.904	0.383	0.032	0.008	11.794	1	27.5	324.32		181.413
300	0.096	0.099	0.077	0.091	0.556	0.091	83.703	83.703	0.466	0.032	0.008	14.383	1	27.5	395.52		179.205
350	0.065	0.066	0.066	0.066	0.556	0.066	88.197	88.197	0.491	0.032	0.008	15.169	1	27.5	417.14		198.421
400	0.055	0.053	0.063	0.057	0.556	0.057	89.754	89.754	0.499	0.032	0.008	15.441	1	27.5	424.64		222.830
450	0.051	0.051	0.051	0.051	0.556	0.051	90.833	90.833	0.505	0.032	0.008	15.630	1	27.5	429.82		247.708
500	0.051	0.050	0.051	0.051	0.556	0.051	90.893	90.893	0.506	0.032	0.008	15.640	1	27.5	430.11		275.049
162.83				0.28	0.56	0.28	50.00	50.00	0.28	0.03	0.01	8.49	1.00	50.00	424.32	42.43	162.829
197.13				0.278	0.556					1.730	0.000	0.000					197.129

Fuente: Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

### Muestra de fermentación con solución – secado natural de bandeja de madera (FS-SNBM)

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs-1A	% Inhb	AAO %	ΔADPPH-1A	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (0)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox μg /peso cacao g	Equi-Trolox μg /g cacao	Volum. Inhb CI50
0	0.560	0.563	0.561	0.561	0.561	0.561	0.000	0.000	0.000	0.032	0.008	0.000	1	25	0.00		0.000
50	0.476	0.480	0.483	0.480	0.561	0.480	14.549	14.549	0.082	0.032	0.008	-2.307	1	25	-57.68		171.837
100	0.421	0.420	0.415	0.419	0.561	0.419	25.416	25.416	0.143	0.032	0.008	4.225	1	25	105.63		196.729
150	0.339	0.349	0.347	0.345	0.561	0.345	38.539	38.539	0.216	0.032	0.008	6.542	1	25	163.55		194.607
200	0.293	0.270	0.298	0.287	0.561	0.287	48.872	48.872	0.274	0.032	0.008	8.366	1	25	209.15		204.617
250	0.251	0.251	0.248	0.250	0.561	0.250	55.463	55.463	0.311	0.032	0.008	9.529	1	25	238.23		225.375
300	0.217	0.212	0.210	0.213	0.561	0.213	62.055	62.055	0.348	0.032	0.008	10.693	1	25	267.32		241.722
350	0.184	0.180	0.185	0.183	0.561	0.183	67.399	67.399	0.378	0.032	0.008	11.636	1	25	290.91		259.648
400	0.167	0.169	0.170	0.169	0.561	0.169	69.952	69.952	0.393	0.032	0.008	12.087	1	25	302.18		285.908
450	0.146	0.150	0.150	0.149	0.561	0.149	73.515	73.515	0.413	0.032	0.008	12.716	1	25	317.90		306.058
500	0.150	0.153	0.155	0.153	0.561	0.153	72.803	72.803	0.409	0.032	0.008	12.590	1	25	314.75		343.393
204.62				0.28	0.56	0.28	50.00	50.00	0.28	0.03	0.01	8.56	1.00	50.00	428.25	42.82	204.617
195.43				0.281	0.556					1.730	0.000	0.000					195.429

Fuente: Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

### Muestra de Fermentación con solución – secado natural con bandeja galvanizada (FS-SNBG)

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs-1A	% Inhb	AAO %	ΔADPPH-1A	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (0)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox μg /peso cacao g	Equi-Trolox μg /g cacao	Volum. Inhb CI50
0	0.557	0.555	0.555	0.556	0.556	0.556	0.000	0.000	0.000	0.032	0.008	0.000	1	21	0.00		0.000
50	0.436	0.489	0.453	0.459	0.556	0.459	17.337	17.337	0.096	0.032	0.008	-2.768	1	21	-58.14		144.204
100	0.380	0.375	0.373	0.376	0.556	0.376	32.334	32.334	0.180	0.032	0.008	5.389	1	21	113.17		154.638
150	0.294	0.295	0.242	0.277	0.556	0.277	50.150	50.150	0.279	0.032	0.008	8.502	1	21	178.54		149.551
200	0.214	0.220	0.216	0.217	0.556	0.217	61.008	61.008	0.339	0.032	0.008	10.399	1	21	218.39		163.913
250	0.156	0.138	0.141	0.145	0.556	0.145	73.905	73.905	0.411	0.032	0.008	12.653	1	21	265.71		169.136
300	0.099	0.100	0.100	0.100	0.556	0.100	82.064	82.064	0.456	0.032	0.008	14.079	1	21	295.65		182.785
350	0.066	0.066	0.059	0.064	0.556	0.064	88.542	88.542	0.492	0.032	0.008	15.211	1	21	319.42		197.646
400	0.049	0.048	0.048	0.048	0.556	0.048	91.302	91.302	0.507	0.032	0.008	15.693	1	21	329.55		219.054
450	0.044	0.044	0.043	0.044	0.556	0.044	92.142	92.142	0.512	0.032	0.008	15.840	1	21	332.63		244.189
500	0.043	0.043	0.043	0.043	0.556	0.043	92.262	92.262	0.513	0.032	0.008	15.861	1	21	333.07		270.969
149.55				0.28	0.56	0.28	50.00	50.00	0.28	0.03	0.01	8.48	1.00	50.00	423.79	42.37	149.551
149.55				0.278	0.556					1.730	0.000	0.000					197.357

Fuente: Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

### Muestra de Fermentación con solución – secado artificial (FS-SA)

Muestra uL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	ADPPH	Abs-1A	% Inhb	AAO %	ΔADPPH-1A	a	b	Conc. Trolox ug	Factor de dilucion (0)	Volumen Extrac. mL	Equi-Trolox μg /peso cacao g	Equi-Trolox μg /g cacao	Volum. Inhb CI50
0	0.548	0.547	0.546	0.547	0.547	0.547	0.000	0.000	0.000	0.032	0.008	0.000	1	20	0.00		0.000
50	0.468	0.476	0.475	0.473	0.547	0.473	13.528	13.528	0.074	0.032	0.008	-2.066	1	20	-41.32		184.797
100	0.349	0.347	0.389	0.362	0.547	0.362	33.882	33.882	0.185	0.032	0.008	5.567	1	20	111.34		147.572
150	0.320	0.317	0.319	0.319	0.547	0.319	41.743	41.743	0.228	0.032	0.008	6.919	1	20	138.39		179.672
200	0.242	0.255	0.255	0.251	0.547	0.251	54.174	54.174	0.296	0.032	0.008	9.058	1	20	181.15		184.589
250	0.182	0.149	0.175	0.169	0.547	0.169	69.165	69.165	0.378	0.032	0.008	11.636	1	20	232.73		180.727
300	0.117	0.111	0.120	0.116	0.547	0.116	78.793	78.793	0.431	0.032	0.008	13.292	1	20	265.85		190.371
350	0.083	0.079	0.069	0.077	0.547	0.077	85.923	85.923	0.470	0.032	0.008	14.519	1	20	290.38		203.670
400	0.056	0.054	0.055	0.055	0.547	0.055	89.945	89.945	0.492	0.032	0.008	15.211	1	20	304.21		222.358
450	0.051	0.054	0.055	0.053	0.547	0.053	90.250	90.250	0.494	0.032	0.008	15.263	1	20	305.26		249.308
500	0.051	0.049	0.051	0.050	0.547	0.050	90.798	90.798	0.497	0.032	0.008	15.357	1	20	307.15		275.336
184.59				0.27	0.55	0.27	50.00	50.00	0.27	0.03	0.01	8.34	1.00	50.00	416.98	41.69	184.589
149.55				0.274	0.547					1.730	0.000	0.000					200.345

Fuente: Laboratorio de Cromatografía – UNSAAC, Elaboración propia (2015).

#### Anexo 4: Galería de fotos.



**Figura 1:** Trabajo de campo.  
Previo agrícola

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 2:** Trabajo de campo  
Recolección del fruto

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 3:** Área de fermentación.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 4:** Área de secado.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 5:** Secada artificial (Estufa)

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 6:** Semillas secas.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 7:** Secado natural en bandeja de madera.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 8:** Secado natural en bandeja galvanizada.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 9:** Medición de la temperatura del fermentación

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 10:** Remoción de la fermentación

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 11:** Preparación de la muestra de pulpa y cotiledón.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).



**Figura 12:** Determinando la acidez de las muestras.

**Fuente:** Elaboración propia (2015).