

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS

**“HUELLA DE MACROELEMENTOS, MICROELEMENTOS, PLOMO Y
CADMIO, COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN
GRANO FRESCO, SECO Y PASTA DE CACAO”**

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentado por:

TOLENTINO SANTILLÁN, María Estela

Promoción 2017 - I

TINGO MARÍA – PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Carretera Central Km. 1.21. Teléfono
Apartado Postal 156 Tingo María E.mail; fia@unas.edu.pe

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 007-2018

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 28 de noviembre de 2018, a horas 6:00 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, para calificar la tesis presentada por la Bach. **TOLENTINO SANTILLÁN, María Estela**, titulada:

"HUELLA DE MACROELEMENTOS, MICROELEMENTOS, PLOMO Y CADMIO, COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN GRANO FRESCO, SECO Y PASTA DE CACAO"

Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **MUY BUENO**; en consecuencia la Bachiller, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el artículo 45° numeral 45.2, de la Ley Universitaria 30220; los artículos 132 inciso "k" y 135 inciso "f" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

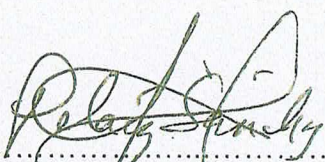
Tingo María, 29 de noviembre de 2018


.....
Dra. Elizabeth Susana Ordoñez Gómez
Presidenta


.....
Ing. Eduardo Alejandro Cáceres Almenara
Miembro


.....
Q.F. Nancy Nery Contreras Gutiérrez
Miembro




.....
Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez
Asesor

DEDICATORIA

Al Dios Eterno, por su Provisión y sustento durante la culminación de mi carrera profesional

A mis padres: TOLENTINO QUINTO, Máximo Tomás y SANTILLÁN MEJÍA, Marilúz, por su cariño y apoyo incondicional, ser mi motor y motivo para hacer de mí una profesional.

Porque ellos caminaron conmigo durante años de estudios, con la perseverancia, resistencia y sin doblegar a las dificultades hasta lograr el objetivo trazado.

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, a la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias a través de todos los catedráticos, que formaron aportaron con mi formación profesional.
- Al Programa Innóvate Perú, por cofinanciar el proyecto de investigación, innovación, para incrementar la productividad empresarial, a través de concursos nacionales integrados.
- A la Cooperativa Agraria Cafetalera la Divisoria Ltda. Al Coordinador proyecto **PITEI-1-P-220-065-14 ING. PEDRO CAMASCA PIÑAN**, por su confianza para desarrollar la investigación “Tesis” dentro del proyecto “**ESTABLECER UN BANCO DE PLANTAS MADRES DE CACAO CON MENOR TASA DE ASIMILACIÓN DE CADMIO EN EL VALLE DEL ALTO HUALLAGA**”, al equipo de profesionales, Ing. SÁNCHEZ CLAUDIO Carmen, Ing. BARRAZA SANDOVAL Laura, Ing. SARAVIA CASTILLEJOS Lesly, por todo su apoyo.
- Al Dr. PELÁEZ SÁNCHEZ Pedro Pablo, Investigador de la CAC la Divisoria Ltda. y a su vez asesor de la presente tesis, por su continua dedicación y asesoramiento en la elaboración del proyecto y ejecución.
- Al Ing. NEYRA TRUJILLO Gilmer, por su asesoramiento y apoyo durante la investigación relacionado a los análisis de MINERALES en el Laboratorio de suelos de Agronomía.
- A los Ingenieros REATEGUI DÍAZ Darlym y PÉREZ PELÁEZ Sissy Meryll, por su asesoramiento y apoyo durante la investigación relacionado con los análisis de compuestos funcionales y Actividad Antioxidante en el CIDBAM.
- A la Sra. RIVERA HUAYTA Guillermina y familia, por su afecto, apoyo,

consejos y acogerme siendo como una madre.

- A todos mis amigos que colaboraron de una y otra manera para la culminación del presente trabajo de investigación en especial a: IGLESIAS ESPINOZA Arquímedes, RIOS REATEGUI Humberto, RUIZ MACEDO Jack Edward, AUCCA ECHARRE Julián, SANGAMA SOTO Wilson Jairo, VÁSQUEZ RIOS Marvía Lía, QUIROZ CASTILLO Flor, entre otros.

A todos los mencionados y a los que por involuntaria omisión no aparecen en esta lista, de verdad, a todos MUCHAS GRACIAS.

INDICE

	Página
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Aspectos generales de cacao	5
2.2.1. Origen y distribución geográfica del cacao	5
2.2.2. Clasificación taxonomía.....	5
2.2.3. Manejo poscosecha y benedicio del cacao	6
2.2.4. Composición química del grano fresco.....	7
2.2.5. Composición química del grano fermentado y seco	8
2.2.6. Composición química de la pasta de cacao	9
2.2.7. Proceso de la obtención de las muestras de cacao	10
2.3. Aspectos generales de minerales	12
2.3.1. Los macroelementos	12
2.3.2. Los microelementos	13
2.3.3. Metales pesados	14
2.4. Generalidades de los compuestos bioactivos.....	16
2.4.1. Polifenoles totales	16
2.4.2. Las antocianinas.....	17
2.5. Capacidad antioxidante	18
2.5.1. Ensayo de actividad antioxidante sobre el radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazil (DPPH)	19

2.5.2. Ensayo de actividad antioxidante sobre sobre el radical 2,2'- azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS ⁰⁺)	20
2.5.3. Equivalente de trolox	20
III. MATERIALES Y METODOS	22
3.1. Lugar de ejecución.....	22
3.2. Muestras de grano de cacao	22
3.3. Materiales, equipos y reactivos utilizados	26
3.3.1. Materiales de laboratorio	26
3.3.2. Equipos de laboratorio y/o procesos.....	26
3.3.3. Reactivos y solventes	27
3.3.4. Otros.....	27
3.4. Método de análisis	28
3.5. Metodología experimental.....	29
3.5.1. Preparación del extracto por digestión ácida – vía húmeda para el análisis de macroelementos, microelementos cadmio y plomo .	30
3.5.2. Determinación de cadmio (Cd), plomo (Pb), cobre (Cu), hierro (Fe) Y manganeso (Mn), en los granos frescos, secos y pasta de cacao.....	32
3.5.3. Determinación de fósforo (P) en los granos frescos, fermentados y pasta de cacao	35
3.5.4. Determinación de Sodio (Na) y Zinc (Zn).....	36
3.5.5. Determinación de Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Potasio (K).....	37
3.5.6. Preparación del extracto hidroalcohólico para los análisis de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los granos frescos, secos y pasta de cacao.....	38

3.5.7. Cuantificación de polifenoles totales	39
3.5.7. Cuantificación de antocianinas.....	41
3.5.6. Determinación de capacidad antioxidante en los granos frescos, secos y pasta de cacao	42
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES	48
5.1. Análisis general de los contenidos de minerales en las muestras muestras.....	48
5.2. Contenidos de macroelementos fosforo (P), sodio (Na), calcio (Ca) y magnesio (Mg) en las muestras.....	52
5.3. Contenidos de cobre (Cu), hierro (Fe), Zinc (Zn) y manganeso (Mn) en las muestras.....	60
5.4. Contenidos de cadmio (Cd) y plomo (Pb) de las muestras.....	67
5.5. Contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante en los granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao..	72
VI. CONCLUSIONES	80
VII. RECOMENDACIONES.....	82
VIII. ABSTRACT	83
IX. REFERENCIAS BIBLIOBGRAFICAS	85
X. ANEXO.....	95

INDICE DE CUADROS

	Pagina
1. Composición fisicoquímica promedio de los granos frescos de cacao.....	8
2. Composición química de las almendras fermentadas y secas.....	9
3. Composición química de la pasta de cacao.....	10
4. Datos de las 31 muestras, considerando sector, códigos, variedad y ubicación geográfica	25
5. Parámetros de calibración del espectrofotómetro de absorción y emisión atómica Cd,Pb, Cu, Fe, Mn.....	34
6. Parámetros para la elaboración de la curva patrón de fósforo.....	36
7. Parámetros de calibración del equipo para determinar Na y Zn	37
8. Parámetros de calibración del equipo para determinar Ca, Mg y K	38
9. Concentraciones utilizadas en la elaboración de los estándares de AG, para realizar la curva patrón de los polifenoles totales	40
10. Contenido de macroelementos en los granos frescos secos de las muestras (n = 3)	54
11. Contenido de macroelementos en las muestras fermentadas secas.	55
12. Contenido de macroelementos en las muestras de pasta de cacao	56
13. Contenido de Microelementos en los granos frescos secos	61
14. Contenido de Microelementos en los granos fermentados secos	62
15. Contenido de Microelementos en las muestras de pasta de cacao.....	63
16. Metales Pesados en los granos frescos secos, fermentados secos y pasta de cacao ($\bar{X} \pm DS$, ppm, n=3).....	68

17. Polifenoles Totales (PPT, g AGE/100 g), Antocianinas Totales (ANT, mg Cianidina-3-Glucósido/100 g) en las muestras	73
18. Capacidad Antioxidante en los granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao ($\mu\text{M ET/g}$) ($\bar{X} \pm \text{DS}$).	75

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
1. Diagrama de proceso de la obtención de pasta de cacao	11
2. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.	19
3. Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante ..	20
4. Datos de las 31 muestras, considerando sector, códigos, variedad y ubicación geográfica.....	24
5. Flujograma para la obtención de las muestras en granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao	31
6. Diseño experimental para determinar contenidos de minerales, compuestos funcionales y capacidad antioxidante en las muestras	46
7. Biplot del ACP, PC1 (53%) y PC2 (24%), que explican la relación entre muestras (granos frescos secos, fermentados secos y pasta de cacao) y contenido de minerales.....	50
8. Gráfico de la Influencia de las muestras en el componente principal 1	51
9. Biplot del ACP, PC1 (97%) y PC2 (1%), que explican la relación entre minerales en granos frescos secos, fermentados secos, pasta de cacao y muestras	53
10. Biplot del ACP, PC1 (96%) y PC2 (2%), que explican la relación entre macroelementos en granos frescos secos, fermentados secos, pasta de cacao y las 12 muestras seleccionadas	59

11. Biplot del ACP, PC1 (92%) y PC2 (4%), que explican la relación entre microelementos cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn) en las 12 muestras seleccionadas.....	66
12. Biplot del ACP, PC1 (99%) y PC2 (1%), que explican la relación entre contenido de cadmio (Cd), y las muestras.....	70
13. Biplot del ACP, PC1 (70%) y PC2 (18%), que explican la relación entre contenido de plomo (Pb), y las muestras	71
14. Grafica de puntajes del ACP, PC1 (94%) y PC2 (2%), que explican la relación entre las variables de capacidad antioxidante, polifenoles y antocianinas .	78
15. Grafica de cargas del ACP, PC1 (94%) y PC2 (2%), que correlaciona las muestras y que explican la afinidad de características entre ellas, en el análisis de capacidad antioxidante, polifenoles y antocianinas	79

RESUMEN

Se han investigado treinta y un muestras de granos de cacao (*Theobroma cacao L.*) frescos secos (GFRS), 31 de granos fermentados secos (GFS) y 31 muestras de pasta de cacao (PC); procedentes del Alto Huallaga, área de influencia de la Cooperativa Cafetalera Divisoria; determinándose los macroelementos fósforo, sodio, calcio y magnesio; los microelementos cobre, hierro, zinc, manganeso; los metales pesados cadmio, plomo; se determinó el contenido de polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante (CA) como 2,2-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS), expresados como equivalente de trolox (ET). Resultó que el calcio fue el mineral con el mayor contenido en la muestra M26 de GFRS, con 3,14%; considerando el potasio (K1) en GFRS, el mayor contenido lo tuvo la muestra M13, con 2,44%. De igual modo el ACP estableció que 12 muestras influyeron en los CP1 y CP2, en el ACP general de minerales y muestras. El ACP (96%) estableció que el zinc (Zn1) en los GFRS, se encontraba en mayor cantidad en M30, M22, M23 y M9; con $90,46 \pm 0,19$ ppm en M30. 25 muestras en cada tipo, alcanzaron no más de $0,61 \pm 0,01$ ppm de cadmio; valor menor al establecido por la CEU. El contenido de plomo fue mayor en los GFRS, en la M20 con $3,44 \pm 0,05$ ppm y menor en M22 con $1,33 \pm 0,05$ ppm; el menor

contenido de Pb lo presentó la muestra M15, de PC con $0,20 \pm 0,02$ ppm. Se encontró que la muestra M10, de GFRS, presentó la mayor CA en función a los radicales ABTS y DDPH (GFRS), con valores de $591,50 \pm 3,76$ y $513,68 \pm 0,84$ $\mu\text{M ET/g}$; también se determinó que la muestra M19 de PC, presentó la mayor CA en función al radical ABTS, con el valor de $412,34 \pm 2,26$ $\mu\text{M ET/g}$.

I. INTRODUCCION

Los árboles de cacao se siembran principalmente en África occidental, América del Sur, Asia. Ghana, Indonesia, Nigeria, Brasil, Ecuador, México y Perú aproximadamente el 90% de la producción mundial de cacao según IMCO (2015). Perú cuenta con óptimas condiciones naturales para el cultivo del cacao. Más del 90% de la producción mundial de las semillas de cacao (*Theobroma cacao*), proviene de la variedad Forastero, mientras que el mejor cacao se produce principalmente a partir de las variedades Criollo y Nacional (AFOAKWA, 2010). Las variedades de cacao que cultivan los socios de la Cooperativa Agraria Cafetalera La Divisoria Ltda., son Criollo, Común, CCN-51, ICS-95, Criollo Morado, entre otras variedades.

Los macroelementos son los minerales que necesitamos a diario en cantidades del orden de gramos por día, son el Na, K, Cl, P, Ca, Mg y S (BAKIRCIOGLU *et al.*, 2016) y los microelementos o elementos traza, son sustancias inorgánicas que aparecen en el cuerpo en diminutas cantidades, pero son esenciales para la salud. La mayoría de los microelementos (Cu, Fe, Mn, Mg, Se y Zn) desempeñan un papel vital como parte estructural en muchas enzimas (GHARIBZAHEDI *et al.*, 2017); estos elementos también se encuentran en los granos de cacao, por lo tanto, van a estar presentes en el proceso de fermentación, secado, obtención de pasta o licor de cacao; llegando finalmente a los productos comerciales que se elaboran a base de licor de cacao, influyendo en la calidad nutritiva y sensorial. De igual modo existen metales pesados como

el plomo y el cadmio, los cuales son elementos tóxicos para la salud, cuya presencia en los granos de cacao disminuye su calidad (OVACO Y PINEDA, 2011), estos compuestos como los polifenoles, antocianinas, teobromina, cafeína, catequinas, también se encuentran en los granos de cacao.

Los elementos minerales y compuestos funcionales enunciados en los párrafos anteriores aún no han sido debidamente investigados en los granos de cacao, de las diversas variedades que se cultivan en la zona del Alto Huallaga y el país, lo cual motivó el desarrollo de la investigación, considerando como objetivo general determinar la huella de diversos minerales, compuestos funcionales, capacidad antioxidante en grano fresco, seco y pasta de cacao; con los objetivos específicos:

Aplicar el análisis de componentes principales (ACP) para evaluar el contenido de minerales y relación con las muestras; de igual modo al contenido de macroelementos fósforo, potasio, sodio, calcio y magnesio; de microelementos cobre, hierro, zinc, manganeso; a los metales pesados cadmio, plomo y al contenido de polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante (DPPH, ABTS), en granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antecedentes

DANIELA *et al.* (2016), han reportado que el contenido de 56 macro, micro y trazas de 61 granos de cacao producidos en 23 países de África Oriental y Occidental, Asia y América Central y del Sur usando ICP-MS y prueba la eficacia y robustez de un nuevo enfoque quimiométrico de trazabilidad geográfica desarrollada sobre la base de perfiles elementales. El modelo basado en los 29 elementos (Ag, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Hg, K, Li, Mg, Mn, Na, Rb, Se, Sr, Th, Tl, U, Y y Zn) indicada como la más predictiva por el análisis discriminante proporcionó una discriminación óptima entre los 5 orígenes subcontinentales, logrando el 100% de la reclasificación correcta.

BARTOSZ KRUSZEWSKI *et al.* (2017), estudiaron un enfoque integral de la contaminación por metales pesados cadmio (Cd), plomo (Pb), níquel (Ni), en cacao y en las masas resultantes de los diversos pasos del proceso de fabricación del chocolate en tres empresas diferentes. Este estudio proporcionó datos nuevos y confiables para autoridades de seguridad alimentaria, partes interesadas y consumidores. También amplió el conocimiento de la contribución hecha por materias primas particulares, procesos de producción y máquinas en el nivel general de estos metales en el producto final.

La reducción total observada en los niveles de metales variados según la línea de producción 10,5 - 33% Cd, 0 - 100% Pb, 11 - 42% Ni. El níquel fue el metal tóxico más abundante (máximo 12,1 mg / kg en el cacao en bruto y 4,5 mg / kg en el chocolate) y su presencia crea un grave riesgo para la salud de los niños. El chocolate obtenido de uno de los productores presentó un peligro similar en términos de su contenido de cadmio (0,43 mg / kg). Por lo tanto, los productos de chocolate se deben monitorear constantemente y se debe establecer un límite absoluto con respecto a los niveles permisibles de metales pesados.

RAMÍREZ *et al.* (2013), determinaron la capacidad antioxidante y contenido de grasa de clones de cacao, provenientes de especies nativas del Estado de Chiapas, México. Utilizaron extractos de 34 muestras de semillas de cacao diluidas en metanol al 95% y clasificadas según pH en tres grupos: I (5,52-5,90), II (5,91- 6,28) y III (6,29-6,67). El Grupo I con menor pH, mostró menor contenido calórico ($26,3 \pm 3,6\%$ de grasas), con la mejor actividad antioxidante con menor valor EC_{50} de 4182 ppm y mayor contenido de polifenoles $6,6 \pm 0,32$ equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra seca.

SUDHIR *et al.* (2005), reportaron el contenido de níquel, plomo y cadmio en 69 diferentes marcas de chocolates y dulces disponibles en los mercados locales de las zonas suburbanas de Mumbai, India. El nivel de cadmio varió de 0,001 a 2,73 $\mu\text{g} / \text{g}$ con un promedio de 0,105 $\mu\text{g} / \text{g}$. El níquel varió de 0,041 a 8,29 $\mu\text{g} / \text{g}$ con un promedio de 1,63 $\mu\text{g} / \text{g}$. El nivel de plomo varió de 0,049 a 8,04 $\mu\text{g} / \text{g}$ con un promedio de 0,93 $\mu\text{g} / \text{g}$. Los chocolates a base de cacao se encontraron con mayores contenidos de los metales pesados.

2.2. Aspectos generales de cacao

2.2.1. Origen y distribución geográfica del cacao

ANECACAO (2009), menciona que el cacao (*Theobroma cacao*), es una especie endémica de América del sur cuyo centro de origen está localizado en la región comprendida entre las cuencas de los ríos Caquetá, Putumayo y Napo, tributarios del río Amazonas. En la cuenca amazónica, se distribuye en Bolivia, Brasil, Colombia, Venezuela, Surinam y Guyana. En la selva peruana se cultiva en los Departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Huánuco, Junín, Pasco, Madre de Dios, Cuzco y Ayacucho.

ICT (2004), indicó que algunos investigadores han señalado que el centro primario de diversidad del cacao se encuentra en la región nororiental de Perú; sin embargo, la existencia de una gran diversidad de poblaciones silvestres y nativas dispersos en la región central y sur de la Amazonía Alta, apoyaría la hipótesis de que el centro de origen no solo estaría confinado a dicha región, sino que además incluiría la región centro y suroriental del Perú; las cuencas de los ríos Huallaga, Ucayali y Urubamba.

2.2.2. Clasificación taxonomía

Según RIERA (2009), La ubicación taxonómica de la especie es:

Reino: Plantae (plantas)

División: Magnoliophyta (plantas con flores, angsiospermas)

Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas)

Subclase: Dilleniidae
Orden: Malvales
Familia: Sterculiaceae
Género: Theobroma
Especie: Cacao L.

2.2.3. Manejo postcosecha o beneficio del cacao

El beneficio del cacao se puede definir como la serie de operaciones sucesivas que comienzan con la cosecha y apertura de las mazorcas maduras para la obtención de los granos (desgrane), continúa con la fermentación, secado y limpieza, terminando con la selección, clasificación y almacenamiento del grano (ÁLVAREZ, 2004). El proceso de beneficio contempla dos pasos: la fermentación y el secado. En este, el cacao se prepara como materia prima para la industria, además es el proceso que mayor influencia tiene en el desarrollo de los precursores del sabor y aroma a chocolate; de esta manera se acondiciona el cacao para su comercialización a nivel nacional e internacional y define la calidad final (RECALDE, 2007).

Fermentación: La fermentación de los granos de cacao es la combinación de reacciones microbianas y enzimáticas que ocurren en la pulpa., en la cual ocurren dos fenómenos importantes durante la fermentación: el primero es la actividad microbiana en la pulpa mucilaginosa, con producción de alcohol y ácidos que libera calor, el segundo son las complejas reacciones bioquímicas en el interior de los cotiledones iniciadas productos del metabolismo

de la pulpa. Entonces, la fermentación del cacao se produce en dos fases; la primera se denomina anaerobia y la segunda denominada aerobia (LIMA *et al.*, 2011). En ellas intervienen diferentes grupos de levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias ácido acéticas, principalmente (SCHWAN y FLEET, 2015). Uno de los métodos de fermentación considera la utilización durante el proceso, de cajones sencillos contruidos con tablonos de maderas finas, resistentes a la humedad, tales como: el cedro o el nogal, y otras de tipo blando, que carecen de resinas y no desprenden sustancias extrañas que interfieran en la calidad final del grano. Para cubrir el cajón se utilizan hojas de plátano o sacos de yute, además de la cubierta del cajón (ÁLVAREZ, 2004).

Secado: El contenido de humedad en los granos fermentados es alrededor del 55%, pero para un almacenamiento seguro debe bajar a menos del 7%, durante el secado continúan las reacciones iniciadas en la fermentación, sigue disminuyendo el amargor y la astringencia de los polifenoles, se completan los cambios de color en las almendras; en los cotiledones, se observa un color pardo o canela. Por esto, el contenido de humedad debe disminuir lentamente, en un lapso de 5 a 7 días, cuando se hace al sol (NTP, 2006).

2.2.4. Composición fisicoquímica del grano fresco

Según RODRÍGUEZ (2001), reportó que los granos de cacao fresco estaban contruidos por lípidos cuyo contenido fueron significativamente diferentes según cada variedad de cacao (Cuadro 1).

2.2.5. Composición química del grano fermentado y seco

Según WACAO (2002), la composición química de los granos de cacao (Cuadro 2) depende de varios factores como: tipos de cacao, origen geográfico, grado de madurez, calidad de fermentación secado y el beneficio de poscosecha.

Cuadro 1. Composición fisicoquímica promedio de los granos frescos de cacao.

Componente	%
Humedad	36,86
pH	6,36
Acidez titulable	0,31
Taninos	0,80
Azúcares reductores	3,24
Azúcares totales	8,07
Proteína	13,59
Ceniza	3,59
Grasas	49,52

Fuente: Rodríguez (2011).

Cuadro 2. Composición química de las almendras de cacao fermentadas y secas.

Componente	Fermentado y seco		Germen o radícula
	(%)	Cáscara (%)	
Agua	5,00	4,50	8,50
Grasa	54,00	1,50	3,50
Cafeína	0,20	-	-
Teobromina	1,20	1,40	-
Polihidroxifenoles	6,00	-	-
Proteína bruta	11,50	1,90	25,10
Mono oligosacáridos	1,00	0,10	2,30
Almidón	6,00	-	-
Pentosa	1,50	7,00	-
Celulosa	9,00	26,50	4,30
Ácidos carboxílicos	1,50	-	-
Otras sustancias	0,50	-	-
Cenizas	2,60	8,00	6,30

Fuente: CALDERON (2002).

2.2.2. Composición química de la pasta de cacao

La composición química de la pasta de cacao puede ser afectada por diversos factores como la variedad, el clima, el suelo y otros (Cuadro 3)

Cuadro 3. Composición química de la pasta de cacao.

Componente	Porcentaje (%)
Grasa	55
Carbohidratos	17
Proteínas	11
Teobromina	1,5

Fuente: Hernández (2010)

2.2.3. Proceso de la obtención de las muestras de cacao

Según DIAZ y PINOARGOTE (2012), para la obtención de pasta de cacao se utiliza en el siguiente diagrama de proceso, tal como se muestra en la Figura 1.

- **Limpieza:** Los granos llegan con una serie de impurezas como granos pequeños, vanos, materia extraña (piedras, hojas, tierra, etc), siendo necesarias la eliminación para conservar la calidad del producto (HERNANDEZ, 2010).
- **Tostado:** Se tuestan para ayudar el desarrollo de todas las cualidades aromáticas y de sabor a temperaturas comprendidas entre 100 y 150 °C/20 a 40 minutos. Posteriormente las almendras son enfriadas por ventilación, para detener las reacciones térmicas y conservar su aroma. Las principales reacciones químicas que se desarrollan durante el tostado son: las reacciones de maillard, la caramelización de los azúcares, la degradación de las proteínas y la síntesis de compuestos azufrados (PORTILLO, *et al.*, 2009).

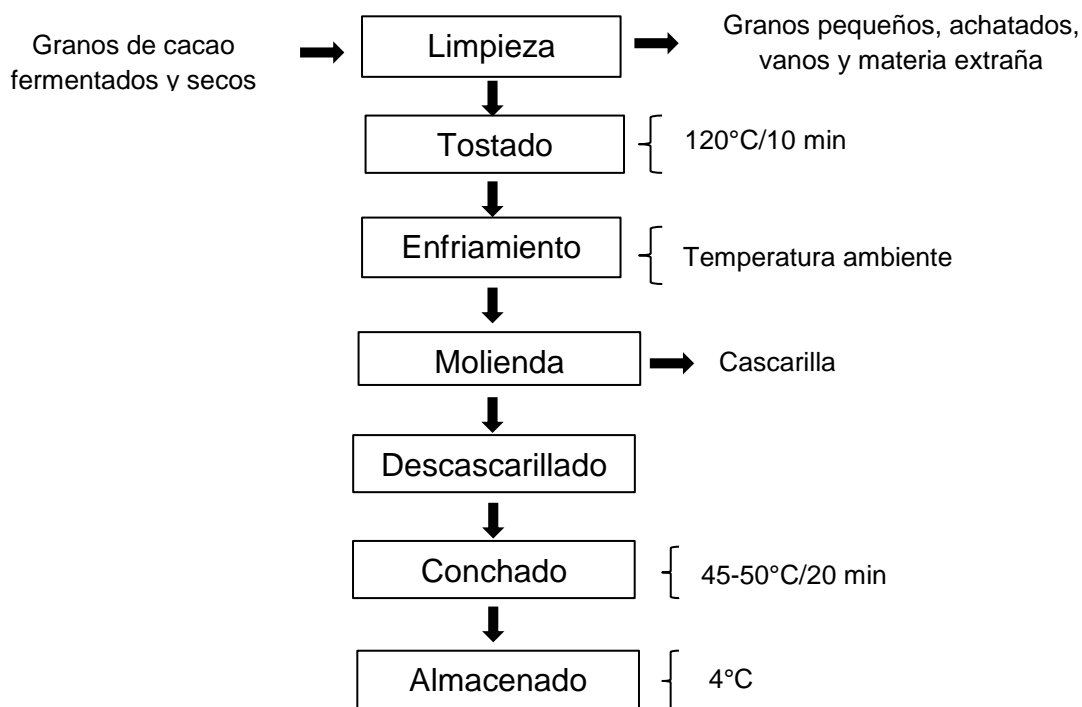


Figura 1. Diagrama de proceso de la obtención de pasta de cacao

- **Enfriamiento:** Se enfría a 25°C/20 min aproximadamente para que no haya una pérdida de aroma (HERNANDEZ, 2010).
- **Descascarillado:** Es el proceso en el que se elimina la cáscara la cual constituye la cubierta exterior de la semilla de cacao de forma manual (LIENDO, 2005).
- **Molienda:** Los nibs son molidos para producir la pasta de cacao, La temperatura y la intensidad de moliendo fluctúa según el tipo de semilla empleada y de las especificaciones del diseño exigido para el producto final (LIENDO, 2005).

- **El conchado:** Es esencialmente la eliminación de los sabores indeseables y la transferencia de sabor entre los ingredientes, para que el producto final resulte con las características sensoriales deseadas sabor deseado (TORRES, 2012).
- **Almacenamiento:** Se almacena en sitios secos a 4°C /24h (DÍAZ y PINOARGOTE, 2012)

2.3. Aspectos generales de minerales

Los minerales son elementos inorgánicos necesarios para la vida humana y desempeñan funciones estructurales y reguladoras dentro del organismo cumpliendo un papel importante en las funciones metabólicas, los minerales llamados también micronutrientes (vitaminas y minerales) se dividen ampliamente en minerales principales (macroelementos) y minerales de traza (microelementos) (GHARIBZAHEDI y JAFARI, 2017).

2.3.1. Los macroelementos

Son los minerales que necesitamos a diario en cantidades del orden de gramos por día son el Na, K, Cl, P, Ca, Mg y S (BAKIRCIOGLU *et al.*, 2016).

- **Sodio:** Es un elemento químico con el símbolo Na y el número atómico 11 y tiene un peso atómico de solo 22,9898 g/M. casi todas las fuentes de alimentos contienen sodio de forma natural (HOUSECROFT y SHARPE, 2008).
- **Potasio:** Es un elemento químico con el símbolo K y el número atómico 19 y tiene un peso atómico de solo 39,098 g/M. El potasio puede ser encontrado

en vegetales, frutas, patatas, carne, pan, leche y frutos secos (CACERES *et al.*, 2006).

- **Fósforo:** Es un elemento químico con el símbolo químico P y el número atómico 15 y tiene un peso atómico de solo 30,9738 g/M. El fósforo es el elemento número 11 en abundancia en la corteza terrestre, con un promedio de 0,01 %. Se encuentra principalmente en la materia orgánica dispersa, en los sedimentos y rocas sedimentarias (ROGER, 2011).
- **Calcio:** Es un elemento químico con el símbolo Ca y el número atómico 20 y tiene un peso atómico de solo 40,08 g/M (EMSLEY, 2001).
- **Magnesio:** Es un elemento químico con el símbolo Mg y el número atómico 12 y tiene un peso atómico de solo 24,3 g/M; se ha informado que las mejores fuentes de Mg dietético incluyen espinacas, legumbres, nueces, semillas y granos integrales. Además, también se encuentra que las especias, nueces, cereales, cacao y vegetales son fuentes ricas en Mg (EMSLEY, 2001).

2.3.2. Los microelementos

Son sustancias inorgánicas que aparecen en el cuerpo en diminutas cantidades; en bioquímica, es un mineral dietético que se necesita en cantidades muy pequeñas para el correcto crecimiento, desarrollo y fisiología del organismo (BAILON, 2017); pero son esenciales para la salud y derivan de las cantidades que una planta necesita para su desarrollo. La mayoría de los microelementos (Cu, Fe, Mn, Mg, Se y Zn) desempeñan un papel vital como parte estructural en muchas enzimas (GHARIBZAHEDI *et al.*, 2017).

- **Cobre:** Es un elemento químico con el símbolo Cu y el número atómico 29. Está en la parte superior del grupo 11, de la tabla periódica, por encima de la plata y el oro. Tiene un peso atómico de 63,5 g/mol (REYNOLDS, 2018).
- **Hierro:** Es un elemento químico con el símbolo Fe y el número atómico 26 y se conoce desde el principio de los tiempos. Tiene un peso atómico de 55,8 g/mol (REYNOLDS, 2018).
- **Zinc:** Es un elemento químico con el símbolo Zn y el número atómico 30. Es el primer elemento del grupo 12 de la tabla periódica. Tiene un peso atómico de 65,4 g/mol (REYNOLDS, 2018).
- **Manganeso:** Es un elemento químico con el símbolo Mn y el número atómico 25 y tiene un peso atómico de 54,9 g/mol (REYNOLDS, 2018). Se establece que las fuentes ricas en la dieta de Mn incluyen varios frijoles secos, guisantes, nueces, germen de trigo y granos enteros (CABRERA *et al.*, 2009).

2.3.3. Metales pesados

El término se refiere al elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones bajas, su densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua. Entre estos tenemos al: aluminio (Al), bario (Ba), berilio (Be), cobalto (Co), cobre (Cu), estaño (Sn), hierro (Fe), manganeso (Mn), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As), cromo (Cr), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plata (Ag), selenio (Se), talio (Tl), vanadio (Va), oro (Au) y zinc (Zn) (SHIMADA, 2005 y CONCON, 2009). En general se considera, que los metales son perjudiciales, pero muchos resultan esenciales en nuestra dieta y en algunos casos, su deficiencia o exceso

puede conducir a problemas de salud, por ejemplo, el organismo requiere de hierro, cobalto, cobre, manganeso, molibdeno, vanadio, estroncio y zinc. Otros en cambio no cumplen una función fisiológica conocida, alteran la salud y es mejor evitarlos siempre (IPCS, 2002). Aquellos que serán objeto de análisis son el plomo y el Cadmio:

- **Cadmio:** Es un elemento divalente, con un peso atómico de 48, masa atómica de 112,41 g/mol, punto de fusión 320,9 °C y punto de ebullición de 767 °C. Es fácilmente soluble en ácidos minerales, con los que forma las sales correspondientes y es insoluble en agua, aunque sus sales de cloro y sulfato sí lo son. La incorporación natural de cadmio procede, principalmente, de la actividad volcánica, lixiviación de rocas e incendios forestales (NIÑO, 2015). Para la mayoría de los seres vivos la principal fuente de exposición al cadmio son los alimentos y el agua, en animales, los rangos de absorción son muy diversos, pero más bajos que en humanos (ROGERS *et al.*, 2012). Las especies con dieta vegetal son las de mayor acumulación de cadmio, debido a que los alimentos ricos en fibra como cereales, vegetales y papas contribuyen a una mayor exposición (DICKSON, 2013).
- **Plomo:** El plomo es un metal pesado de color grisáceo que presenta un aspecto de color brillante al corte, y que se oxida rápidamente, tiene como número atómico 82, peso atómico 207 g/mol, color azulado, Forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos (HARDMAN *et al.*, 2011).

2.4. Generalidades de los compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos alimentarios son componentes naturales que tienen actividad biológica y en algunos casos proporcionan un valor nutricional. Desempeñan un papel importante en la salud y seguridad de la comunidad debido a los roles confirmados en el crecimiento y desarrollo humano, además de reducir los riesgos de enfermedades (LAGOS *et al.*, 2015). Durante las últimas dos décadas, la industria alimenticia ha invertido muchos esfuerzos en la investigación y el desarrollo de alimentos más saludables y más nutritivos (MADUREIRA *et al.*, 2015).

2.4.1. Polifenoles totales

Según RAMIREZ *et al.* (2013) nos dice que los frutos, en adición a los nutrientes esenciales y a una serie de micronutrientes tales como minerales, fibras y vitaminas, aportan además diversos metabolitos secundarios de naturaleza fenólica que se caracterizan por la presencia de uno o más anillos tipo benceno, denominados polifenoles que también se encuentran naturalmente en alimentos y bebidas de origen vegetal. Los compuestos polifenólicos, constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, estos se caracterizan por la presencia de más de un grupo de fenol por molécula, estas moléculas son importantes para la fisiología de las plantas porque contribuyen a la resistencia al ataque de microorganismos, insectos y ayudan a preservar su integridad debido a su exposición a los ambientes estresantes incluyendo radiaciones ultravioletas y temperaturas relativamente altas (GIL,2012).

Polifenoles en cacao: Los flavonoides son los polifenoles más abundantes en el cacao, por lo tanto, el chocolate es rico en catequina y epicatequina y sobre todo de los polímeros tipo procianidinas que se forman mediante el procesamiento del grano de cacao por unión desde 2 a 10 monómeros de epicatequina debido a la acción en esas condiciones de la enzima polifenol oxidasa. Las procianidinas formadas por la unión de 2 a 6 monómeros de epicatequina son las más abundantes, mientras las que contienen de 2 a 5 monómeros son las más activas, probablemente debido a que la forma monomérica es metabolizada rápidamente y excretada, mientras las poliméricas mayores de 6 unidades pueden tener dificultades para penetrar las membranas celulares y son por tanto pobremente absorbidas (GUTIERREZ, 2002). Son almacenados en las células pigmentarias de los cotiledones de los granos de cacao y le aportan colores que van desde el blanco hasta un morado oscuro, en la semilla de cacao los polifenoles se encuentran en la cascara y en el cotiledón, el cual se caracteriza por el color violeta intenso, color relacionado con polifenoles (ZAPATA *et al.*, 2013).

2.4.2. Las antocianinas

Las antocianinas tienen significado del griego *anthos flor* y *kyanos* azul, son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visible para el ojo humano, forman parte de la familia de los polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos. Los colores rosas, rojo, azul, malva y violeta de las flores, frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos, se hallan en las células epidermales o subepidermales de la planta (CUEVAS *et al.*, 2008).

Las antocianinas en el cacao y antocianidinas están asociadas a la formación de precursores del sabor característico del chocolate, tras formar complejos con proteínas y péptidos, y de la polimerización oxidativas con otros polifenoles durante la fermentación. Se ha establecido la relación entre la constitución de polifenoles presentes en los cotiledones y en el desarrollo del sabor al chocolate a mayor concentración de antocianinas más amargo es el producto y mayor es el tiempo de fermentación de los granos de cacao (MARQUEZ, 2009).

2.5. Capacidad antioxidante

Según CADENA y HERRERA (2008), la determinación de polifenoles totales en cacao sus productos incluyen su medición por el método de Folín Ciocalteu o la cuantificación por HPLC (cromatografía Líquida de alta presión) de (-)- epicatequina y (+)-catequina, Existen métodos que se aplican los dos tipos de mecanismos como el ABTS y DPPH. Se conoce como capacidad antioxidante total o actividad antioxidante total a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado (In vitro) (CIAPPINI y STOPPANI, 2014). Los antioxidantes son de gran interés nutricional contribuyendo al mantenimiento de salud humana protegiendo al organismo del daño producido por agentes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental y sustancias químicas presentes en alimentos es decir son sustancias que cuando están presentes en los alimentos retrasan, controlan e inhiben la oxidación y el deterioro de la calidad de los alimentos (OVACO y PINEDA, 2011).

2.5.1. Ensayo de actividad antioxidante sobre el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Este método fue propuesto por BLOIS, (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un átomo de hidrógeno (H) proveniente de una molécula de cisteína, actualmente se utiliza el método acondicionado por BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995) la molécula DPPH es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres, la deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual se disuelve en metanol y adsorbe a 515 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la Figura 2, el color violeta se desvanece sin embargo el cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes (ALAM *et al.*, 2012).

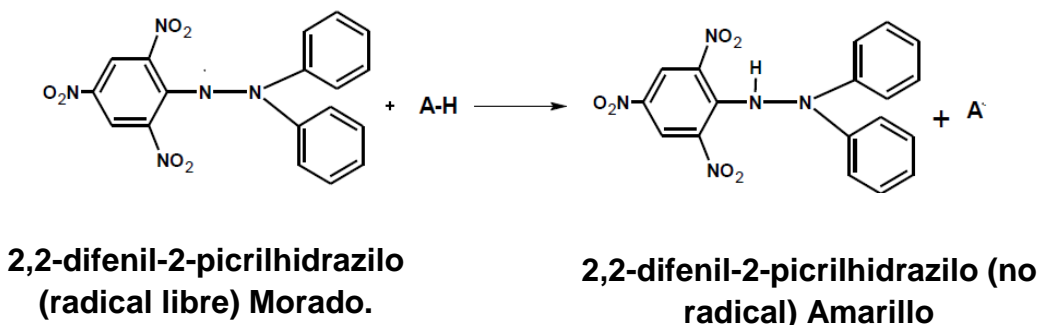


Figura 2. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante

2.5.2. Ensayo de actividad antioxidante sobre el radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺)

Un formato más apropiado para el ensayo consiste en la técnica de decoloración, en la cual el radical es generado directamente en una forma estable antes de la reacción con los antioxidantes RE *et al.* (1999) la estructura antes y después de la reacción con el antioxidante (Figura 3).

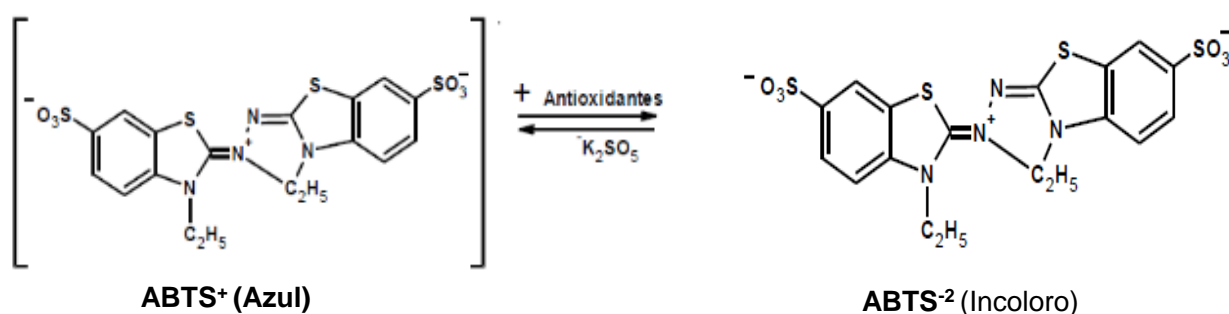


Figura 3. Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante

El radical ABTS⁰⁺ presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS⁰⁺. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS⁰⁺ está determinado en función de la concentración y el tiempo (TOVAR, 2013).

2.5.3. Equivalente de trolox

Los resultados del ensayo DPPH y ABTS se pueden expresar en diferentes maneras, en esta ocasión la capacidad antioxidante se expresó en equivalente de trolox (TEAC) por sus siglas en inglés "The Trolox Equivalent

Antioxidant Capacity” (MILLER *et al.*, 1993). El trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico es un análogo del α -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 (MARTÍNEZ *et al.*, 2011) principalmente para los métodos de DPPH y ABTS, puesto que los protocolos seguidos por los diferentes investigadores en la determinación de la actividad antioxidante varían las condiciones (proporciones de los reactivos, concentraciones y tiempos de medición) (ARTS *et al.*, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Ingeniería de Alimentos, Análisis de Alimentos, Análisis de Suelos y el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía-CIDBAM de la Universidad Nacional Agraria de la Selva – UNAS, ubicada en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco con una presión atmosférica, 701,16 mmHg. a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de longitud oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84 % y temperatura media anual de 24°C. En planta de la CAC. Divisoria, ubicada en el Km 4,40 de la carretera Federico Basadre, Santa Marta, caserío Mapresa en el distrito de Pablo Felipe Luyando, provincia de Leoncio prado, región Huánuco.

3.2. Muestras de granos de cacao

Las mazorcas de los árboles de cacao georreferenciados, seleccionados de 10 parcelas de investigación, pertenecientes a socios de la cooperativa, fueron protegidas con bolsas biodegradables. La selección se realizó considerando la información de producción y calidad proporcionada por los agricultores y técnicos de campo, con apoyo de 2 extensionistas de la

Cooperativa Agraria Cafetalera la Divisoria. Ltda. Parte de las mazorcas de cacao recolectadas fueron trasladadas al laboratorio de Ingeniería de Alimentos y la otra parte fue llevada al centro de fermentación de la cooperativa con el fin de obtener granos fermentados secos. Parte de los granos fermentados secos fueron utilizados para la elaboración de la pasta de cacao. La Figura 4, representa la ubicación geográfica de las muestras de cacao, considerando los sectores:

- Pumahuasi (7 muestras).
- San José de Pucate (3 muestras).
- Mapresa (3 muestras).
- Pendencia (6 Muestras).
- Huayhuantillo (3 muestras).
- Frontera (9 muestras).

En el Cuadro 4, se muestran los datos de las 31 muestras analizadas, considerando sector, códigos, variedad y ubicación geográfica. Las variedades evaluadas fueron Criollo, Común, CCN-51, FC2, FC3, FC4, VPA-1, ICS-95, VPA-2 y Criollo Morado.

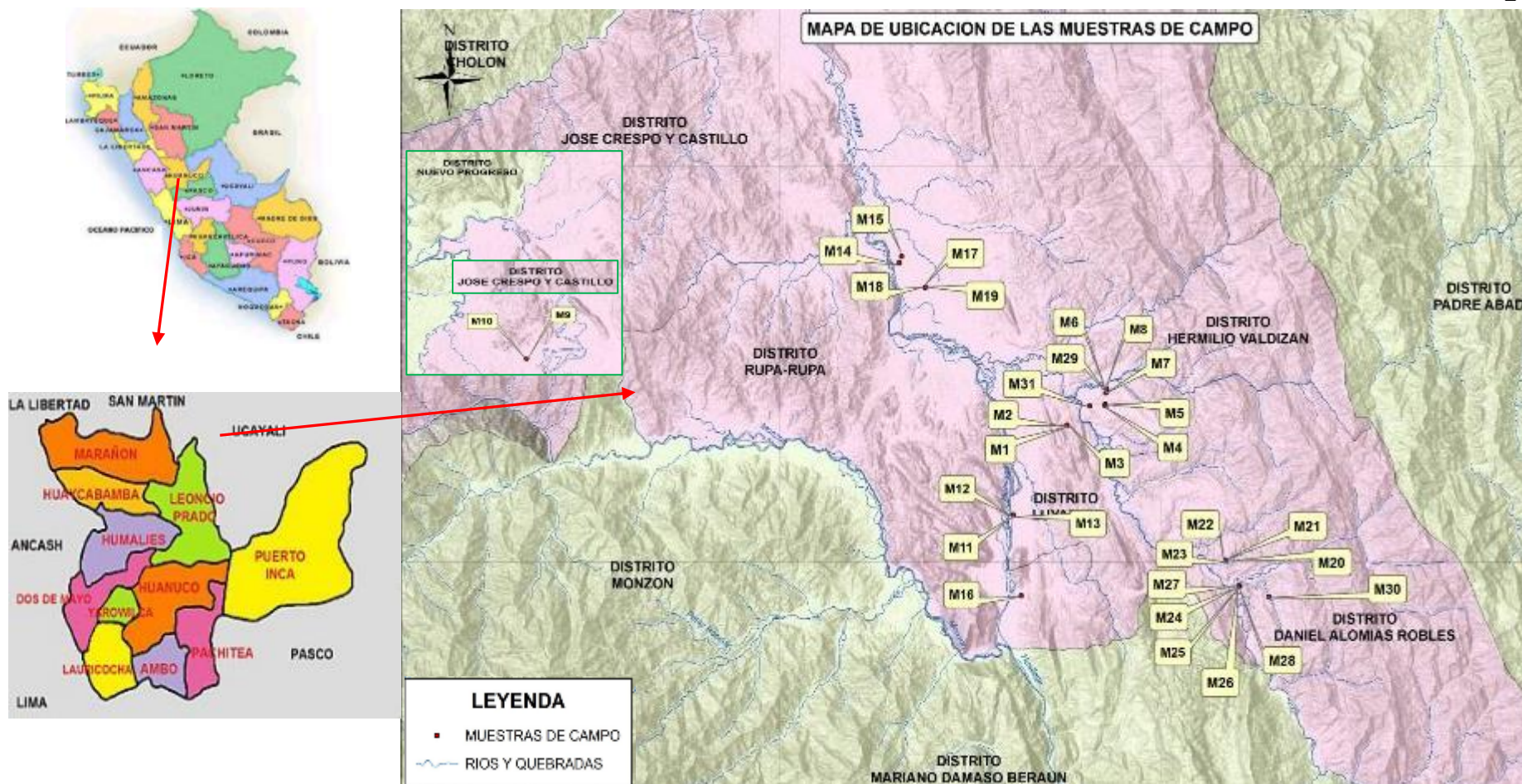


Figura 4. Ubicación geográfica de los lugares donde se tomaron las muestras de cacao.

Cuadro 4. Datos de las 31 muestras, considerando sector, códigos, variedad y ubicación geográfica.

Nº	DATOS DE LAS MUESTRAS							
	Sector	Código del poblador (socio)	Código de Laboratorio	Variedad cacao	Ubicación Geográfica			
					18L	UTM	Altura m.s.n.m.	
M1	Pumahuasi	3N	32F	Criollo	393849	8983627	718	
M2			33F	Común	393845	8983625	717	
M3			34F	CCN-51	393849	8983625	721	
M4		FC		35F	Común	396335	8984847	759
M5				36F	FC2	396339	8984839	760
M6				37F	FC3	396334	898939	761
M7				38F	FC4	396355	8984831	762
M8	San José de Pucate	RA1	39F	VPA-1	396440	8985907	667	
M9			40F	CCN-51	372155	9019528	560	
M10			41F	Criollo	372163	9019525	560	
M11	Mapresa	BSV1	42F	Común	390300	8977957	652	
M12			43F	CCN-51	390311	8977961	656	
M13			44F	ICS-95	390291	8977970	655	
M14	Pendencia	JM1	45F	Común	382849	8993879	597	
M15			46F	CCN-51	322840	8993881	598	
M16			47F	VPA-2	390841	8972868	508	
M17		BP1	48F	Común	384563	8992325	611	
M18			49F	CCN-51	384565	8992323	611	
M19			50F	Criollo	384553	8992319	611	
M20	Huayhuantillo	QR3	51F	Común	404252	8975107	769	
M21			52F	CCN-51	404261	8975116	767	
M22			53F	Criollo Morado	404260	8975104	766	
M23	Frontera	OC1	54F	Común	405156	8973461	760	
M24			55F	CCN-51	405134	8973457	760	
M25			56F	ICS-95	405141	8973468	758	
M26		OC2	57F	Común	405098	8973489	782	
M27			58F	CCN-51	405093	8973487	783	
M28			59F	ICS-95	405095	8973503	784	
M29			60F	CCN-51	396382	8985673	755	
M30	CSM2	61F	Común	407038	8972795	759		
M31		62F	ICS-95	395331	8984828	761		

3.3. Materiales, equipos y reactivos utilizados

3.3.1. Materiales de laboratorio y/o proceso

Matraces de Erlenmeyer de 10, 25, 50, 100, 250 mL; vasos de precipitación de 25, 50, 250, 500 mL; de 1, 5 y 10 mL; tubos de ensayo de 10 mL; fioles de 10, 25, 50, 250, 1000 mL; probeta graduada de 10, 100, 250, 500, 1000 mL; espátulas metálicas, tips fisherbrand (5000 μ l, 1000 μ l, 200 μ l), cubetas de poliestireno, (1cm x 1cm x 4.5cm), varilla de vidrio, micro tubos (1.5 – 2 mL); papel filtro, gradilla, tubos eppendorf (2 ml); vasos de silicona (50ml), soporte gradilla de madera; mangas de polietileno de alta densidad; placas petri de vidrio, .

3.3.2. Equipos de laboratorio y/o procesos

Espectrofotómetro de absorción y emisión atómica por flama (USA agilent technology) VARIAM modelo SPECTRAA, serie 55B; Espectrofotómetro modelo Genesys 6 (USA Thermo Electrón Corporation) SN 2M6G2; Balanza de determinación de humedad (Japón ADAM) capacidad 50 g, balanza analítica modelo ESJ-210-4 (Digital precisión), capacidad 200 g y modelo Adventurer Pro AV114 (USA OHAUS) capacidad 110 g, estufa modelo ODH6-9240^a (Hungría TOMOS Heating Drying Oven); congelador FFV-2065FW -20°C (USA Frigidaire); refrigerador IcebeamDoorCooling (LG Corea) modelo GR-5392QLC, homogenizador modelo (USA VORTEX GENIE-2 Scientific industries. SITM); centrífuga modelo MIKRO 22R (Inglaterra Hettich); pH-metro (Suiza Mettler Toledo Seven Easy) pH – 14, termómetro digital infrarrojo con puntero laser tipo pistola – 32 a 380 °C, succionador de pipeta, pipette pum, bel-products pequeannock, molino eléctrico (Alemania BOCSH) 220-230V, 180W, Typ:KM13; GPS (Taiwán GARMIM), conchadora de capacidad 4 Kg. Motor 110-120V, 1/4 HP; tostadora de laboratorio de 2 tambores OKADA 220°C.

3.3.3. Reactivos y solventes

Ácido clorhídrico (HCL) (Germany Merk) 36,5% de pureza; cloruro de potasio (KCL) (España Scharlau Chemie) al 99,5% de pureza; acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) (USA Sigma) al 99% de pureza; ácido gálico ($C_7H_6O_5$) (USA Sigma) al 98,1%; Follin-Ciocalteu phenolre agent 2N, (Sigma Aldrich); carbonato de sodio (Na_2CO_3) (España Scharlau Chemie) al 99,5% de pureza; etanol al 96% de pureza; 1,1-Diphenyl-1-picri-hydrayl DPPH (Sigma Aldrich, USA); 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazoline-6-ácido sulfónico) ABTS (USA Sigma Aldrich); agua destilada H_2O ; persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) p.a. (USA Sigma Chemical) ; estándar de cadmio (Cd) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de Plomo (Pb), de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (Cu) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (Mg) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (k) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (Na) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (Fe) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (Mn) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (zn) de 1000 ppm marca (USA CertiPUR); estándar de cobre (Mg) de 1000 ppm (USA CertiPUR); estándar de cobre (Ca) de 1000 ppm (USA CertiPUR); ácido Nítrico (HNO_3) concentrado 65% (Germany Merck); Óxido de lantano (La_2O_3) al 0.5 N (USA Merck); molibdato de amonio: $(NH_4)_6O_{24}4H_2O$ al 5% (Germany Merck); vanadato de amonio (NH_4VO_3) al 0.25% concentrado (Germany Merck); dihidrógeno fosfato de potasio: (KH_2PO_4) al 10N (Germany Merck); 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (TROLOX) (USA Sigma).

3.3.4. Otros

Cajón de fermentación, campana extractor de gases (hechiza), cuchillo de acero inoxidable.

3.4. Método de análisis

3.4.1. Determinación de minerales: Se realizó por el método de espectrofotometría de absorción y emisión atómica por flama, empleando el método de digestión ácida (característica: extracto – vía húmeda) (BARRUETA, 2013 y VARIAN, 1989).

3.4.2. Determinación de Fósforo (P): Por el método molibdato – vanadato de amonio, espectro UV visible thermo scientific USA (CALDERÓN Y PAVLOVA, 2004).

3.4.3. Cuantificación de polifenoles totales: se determinó espectrofotométricamente según el método de Follin-Ciocalteau (SINGLETON Y ROSSI, 1965). expresado como equivalentes de ácido gálico.

3.4.4. Cuantificación de antocianinas, se determinó por el método del pH diferencial (MARTÍNEZ *et al.*, 2011).

3.4.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante

- **Capacidad de inhibir radical 2,2-difenil-1- picrythydrazyl (DPPH):** Se realizó por el método espectrofotómetro UV/Visible a 510 nm descrito por Brand-WILLIAMS *et al.* (1995).

- **Capacidad de inhibir radical libre 2,2-azinobis (3- etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺):** Se realizó por el método descrito por RE *et al.* (1999), Los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante se expresaron en equivalente Trolox (ET) descrito por MILLER *et al.* (1993).

3.5. Metodología experimental

En la Figura 5, se muestra los parámetros y procedimientos de la obtención de granos frescos secos, fermentados secos y pasta de cacao la cual se describe a continuación.

- **Enfundado:** esta técnica nos sirvió para una cosecha sana en un 90% de todas las muestras enfundadas; es decir, una mazorca libre de plagas más comunes como: el mazorquero o carmenta, la Phytophthora, Monilia, chinche, etc, (TECNATROP, 2018).
- **Cosecha:** Se tuvo en cuenta el índice de madurez de las mazorcas, siendo debidamente rotuladas por cada variedad de cacao en cada parcela de investigación para posteriormente ser transportadas a los centros de investigación.
- **Quiebre y desgrane:** Para ello se utilizó un cuchillo sin filo y en seguida las semillas fueron separadas de la placenta y puestas en mallas de nylon debidamente rotuladas por cada muestra de investigación.
- **Fermentación:** Se añadieron las muestras en los cajones de fermentación donde se encontraban las semillas de cacao cubiertas de baba o pulpa del proceso normal de la cooperativa, realizándose las remociones y controlando los días (5 días) para retirarlas del cajón (APCACAO, 2015).
- **Secado:** Las muestras frescas fueron sometidas a 60°C por 21 horas en la estufa mientras que las muestras fermentadas fueron expuestas al sol sobre mantadas o costales hasta obtener una humedad de 7% en ambos casos, según la NTP (2006).

- **Tostado:** Los granos fueron tostados a 120 °C por 9 min, en la tostadora de doble tambor dejando enfriar a temperatura ambiente.
- **Descascarillado:** Se realizó de forma manual separando la cascarilla de la nuez.
- **Molido:** Se realizó de forma manual con ayuda de un pilón de madera y un bol de acero inoxidable ya que son pequeñas cantidades.
- **Conchado:** Se sometió a temperaturas de 53 °C por 20 minutos.
- **Empaquetado/Envasado:** En el caso de las muestras fresco secas y fermentado secas se empaquetó (400 g aproximadamente) en mangas de alta densidad y finalmente codificadas y selladas, en el caso de las muestras de pasta de cacao se utilizó envases de plástico (300 gramos aproximadamente), finalmente codificadas y serradas herméticamente.
- **Almacenado.** En el caso de las muestras frescos secas y fermentadas secas se almacenaron en cajas de cartones a temperatura ambiente mientras que las muestras de pasta de cacao se almacenaron a 8°C (refrigeración), para posteriormente proceder a obtener los extractos y luego realizar los análisis químicos correspondientes que se muestran gráficamente en la Figura 5.

3.5.1. Preparación del extracto por digestión ácida – vía húmeda para el análisis de macroelementos, microelementos cadmio y plomo

El procedimiento para la preparación de los extractos fue por digestión ácida – vía húmeda, se inició una vez obtenidas las muestras de granos de cacao frescos secos, granos fermentados secos y pasta de cacao, luego se procedió a realizar la molienda, pesando así 2 g de muestra, utilizaron matraces

Erlenmeyer previamente lavados con una solución (1:1) ácido nítrico con agua destilada ($\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ d), se adicionó a cada matraz 5ml de la mezcla ácida 1:4 (4ml de ácido nítrico (HNO_3) concentrado al 65% y 1ml de ácido clorhídrico (HCL) concentrado al 36,5%). Luego se colocaron los matraces en las placas de

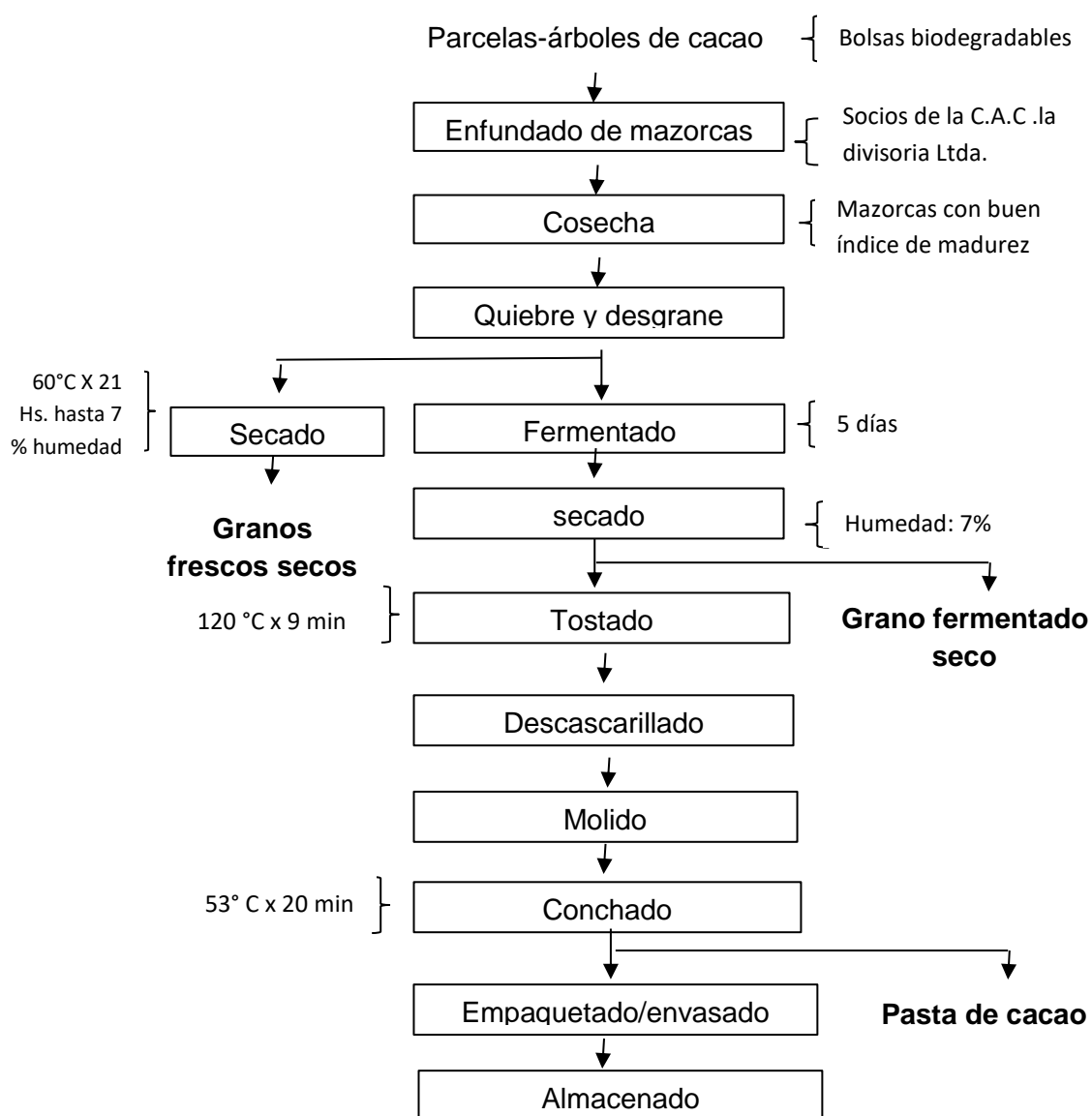


Figura 5. Flujograma para la obtención de las muestras en granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao.

digestión dentro de la campana del extractor de gases (la mezcla ácida digiere los componentes de la muestra como las proteínas, grasa, etc. quedando en mayor proporción los minerales, luego se cubrió cada matraz con un embudo, para dilatar el proceso de volatilización, la temperatura máxima de trabajo fue 200 °C por 60 min (a mayor temperatura, mayor volatilización de la mezcla ácida), se tomó como punto final de la digestión cuando el color del digerido fue amarillo tenue. Luego de ello se dejó enfriar a temperatura ambiente sin agitar, se añadió 1ml de peróxido de hidrogeno (H_2O_2 – Agua oxigenada), se esperó 30 minutos y se filtró (papel filtro) enrazando en una fiola de 25ml con agua destilada; el filtrado se envasó en tubos falcon rotulados, posteriormente se tomaron las alícuotas y se realizó el análisis correspondiente en el espectrofotómetro de absorción y emisión atómica de flama, se analizó K, Na, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn, Cd, Pb. El fósforo (P) se analizó por espectrofotometría visible, las muestras se analizaron por triplicado.

3.5.2. Determinación de cadmio (Cd), plomo (Pb), cobre (Cu), hierro (Fe) y manganeso (Mn), en los granos frescos, secos y pasta de cacao

Se determinó por lectura directa del extracto (filtrado) obtenido de la digestión ácida, cuyos parámetros de calibración del equipo se encuentran indicados en el Cuadro 5, los parámetros de calibración de las concentraciones de los estándares de control y los valores de las pendientes para cada mineral (Anexo I a Anexo V).

Cuadro 5. Parámetros de calibración del espectrofotómetro de absorción y emisión atómica Cd, Pb, Cu, Fe, Mn.

Parámetros de calibración	Minerales				
	Cd	Pb	Cu	Fe	Mn
1. Longitud de onda (λ)	228,8 nm	228,8 nm	324,7 nm	248,3 nm	403, 1 nm
2. Ancho de hendidura de la celda (AH)	0,5 nm	0,5 nm	0,2 nm	0,2 nm	0,2 nm
3. Punto de trabajo óptimo (RTO)	0,02-3 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0,1-3 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0,03-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0,06-1,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0,02-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$
4. Gas	Acetileno	Acetileno	Acetileno	Óxido nitroso/ Acetileno	Acetileno
5. Concentración del patrón standard	1000 ppm	1000 ppm	1000 ppm	1000 ppm	1000 ppm

Cálculos:

$$\text{ppm del mineral} = (\text{ppm leídas mineral} \times V. \text{ de aforamiento}) / (\text{gr. de muestra}) = (\text{ppm leídas} \times 25 \text{ mL}) / 2\text{g de muestra}$$

5.5.1. Determinación de fósforo (P) en los granos frescos, fermentados y pasta de cacao

El procedimiento para la determinación de P en las muestras se empieza tomando una alícuota de 0,5 mL de filtrado de digestión ácida, se agregan 2 mL de agua destilada y 1 mL de la solución molibdato – vanadato de amonio, desarrollándose inmediatamente el color amarillo, se deja 5 min en reposo y para posteriormente proceder con la lectura. Para los patrones se proceden de igual manera que para las muestras, tomándose 2,5 mL de cada patrón + 1 mL de la solución de molibdato – vanadato de amonio. Se prepararon dos soluciones como son, la solución A pesando 12,5 g de molibdato – vanadato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}4\text{H}_2\text{O}$) al 5%, se agregó 150 mL de agua destilada, se calentó suavemente hasta completar la dilución aforando a 250 mL y la solución B: vanadato de amonio (NH_4VO_3) al 0,25%, se pesaron 0,25g seguidamente se agregó 125 mL de agua destilada más 62,5 mL de HNO_3 concentrado al 65%, se dejó enfriar para aforar a 250 mL. Finalmente, en un balón de 500 mL se disuelve la solución A sobre la solución B en una proporción 1:1 y el conjunto resultante se diluyó aforando a 1 L de agua destilada.

Para la preparación de solución patrón primario de fósforo (100 ppm), Se pesó 0,439 g de dihidrógeno fosfato de potasio (KH_2PO_4) 7 N se agregó 300 mL de agua destilada y 10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 10 N y se aforó a 1 L con agua destilada, el ácido Sulfúrico 10 N (H_2SO_4); se tomó 280.31 g H_2SO_4 y se aforó en 1 L de agua destilada, guardar la solución en un frasco color caramelo y bien tapado. Se construyó la curva patrón empleándose 6

concentraciones del estándar, tal como se detalla en el Cuadro 6 y el grafico en el Anexo VI.

Cuadro 6. Parámetros para la elaboración de la curva patrón de fósforo.

N° de tubos	estándar P (mL)	Agua (mL)	Molibdato de Amonio (mL)	Total (mL)	ppm
1 (blanco)	0,0	5,0	5	10	[0]
2	0,4	4,6	5	10	[2]
3	0,8	4,2	5	10	[4]
4	1,2	3,8	5	10	[6]
5	1,6	3,4	5	10	[8]
6	2,0	3,0	5	10	[10]

Luego de la preparación de soluciones se dejó reposar por 15 minutos para leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda $\lambda = 470$ nm en el espectrofotómetro UV visible.

Cálculos:

Constante K = Concentración

$\%P = (K \times \text{absorbancia} \times V. \text{ aforamiento} \times \text{Alícuota} \times 100)$

Es $(10(6) \times 0,5g = K \times \text{abs} \times 0,0025)$

5.5.2. Determinación de los minerales sodio (Na), zinc (Zn)

Se determinó por lectura del extracto (filtrado) obtenido de la digestión ácida diluida en una proporción de 1:10, (200 μ L de muestra y 1800 μ L de agua destilada en tubos eppendorf, los parámetros de calibración del equipo

se encuentran indicados en el Cuadro 7, los parámetros de calibración de las concentraciones de los estándares de control y los valores de las pendientes para cada mineral (Anexo VII, Anexo VIII).

Cuadro 7. Parámetros de calibración del equipo para determinar Na y Zn.

Parámetros de calibración	Minerales	
	Na	Zn
1. Longitud de onda (λ)	589,0 nm	213,9 nm
2. Ancho de hendidura de la celda (AH)	0,5 nm	1,0 nm
3. Punto de trabajo óptimo (RTO)	0,002-1.0 $\mu\text{g/ml}$	0,01-2 $\mu\text{g/ml}$
4. Gas	Acetileno	Acetileno
5. Concentración del patrón standard	1000 ppm	1000 ppm

5.5.3. Determinación de calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K)

Se determinó por lectura del extracto (filtrado) obtenido de la digestión ácida diluida en una proporción de 1:1000 es decir, primero se hizo una dilución 1:100 (20 μL de muestra (extracto) cogidas de los tubos falcon y 1980 μL de óxido de Lantano La_2O_3 0,5 N en un tubo eppendorf, cogemos nuevamente 20 μL de esta dilución 1:100 y 1980 μL de óxido de lantano en un tubo eppendorf, cuyos parámetros de calibración del equipo se encuentran indicados en Cuadro 8 y los parámetros de calibración de las concentraciones de los estándares de control y los valores de las pendientes para el calcio, magnesio y potasio (Anexo IX, Anexo X, Anexo XI).

Cuadro 8. Parámetros de calibración del equipo para determinar Ca, Mg y K.

Parámetros de calibración	Minerales		
	Mg	Ca	K
1. Longitud de onda (λ)	202,6 nm	213,9 nm	766,5 nm
2. Ancho de hendidura de la celda (AH)	1,0 nm	0,5 nm	1,0 nm
3. Punto de trabajo óptimo (RTO)	0,003-1 $\mu\text{g/ml}$	0,01-3 $\mu\text{g/ml}$	0,03-2,0 $\mu\text{g/ml}$
4. Gas	Óxido nitroso/Acetileno	Óxido nitroso/Acetileno	Acetileno
5. Concentración del patrón standard	1000 ppm	1000 ppm	1000 ppm

La preparación del óxido de lantano (La_2O_3) al 0,5 N se realizó teniendo en cuenta que en 1 L se utiliza 6 g de óxido de lantano (La_2O_3) y 50 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado al 36,5%. Entonces, en una fiola de 2000 mL se añadió 12g de La_2O_3 pesados en un vaso precipitado para disolver con agua destilada agitando la mezcla (varilla), una vez disuelto se adicionó 100 mL de ácido clorhídrico, con ligeros movimientos se enrasó con agua destilada

5.5.4. Preparación del extracto hidroalcohólico para los análisis de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los granos frescos, secos y pasta de cacao

Las muestras de granos de cacao, fueron sometidas a una extracción hidroalcohólica 50:50 (V:V), empleando 20 mL de solución hidroalcohólica por cada muestra (cada tubo falcon rotulado), se procedió a dejar

en agitación por 24 horas a temperatura ambiente, luego de cumplidas las 24 horas se procedió a realizar el filtrado, el extracto obtenido de la filtración se llenó en tubos eppendorf para centrifugar a una temperatura de 4°C, un tiempo de 10 minutos y a una velocidad de 10000 rpm, finalmente se guardaron 2 mL muestras en la refrigeradora dejando muestras a temperatura de congelación para utilizarlas como reservas por cualquier percance ocurrido mediante el proceso de análisis.

5.5.5. Cuantificación de polifenoles totales

En el procedimiento para la cuantificación de polifenoles totales en las muestras se prepararon las siguientes soluciones: Solución de carbonato de sodio (NaCO_3) al 7,5 % con agua destilada. (7,5 g enrazados a 100 mL de agua destilada) también la solución de ácido gálico 12 mM en metanol, luego de ello se determinó la dilución apropiada de la muestra para cada caso entonces se agregó 100 uL en una cubeta alcohol (OH - muestra control) y en las otras cubetas 100 uL de la muestra y/o estándar luego se agregó 500 uL de solución de fenol de folin-ciocalteau diluido (1/10), 10%. Se vorteo nuevamente y reposó 8 min a temperatura ambiente. Para neutralizar la reacción se agregó 400 uL de carbonato de sodio (NaCO_3) al 7,5 %, se puso a reposo por 2 horas en un lugar oscuro a temperatura ambiente, tiempo en el que hay una completa reacción. Seguido de ello se encendió y calibró el espectrofotómetro (calentó 30 min), para el análisis. Para determinar la cantidad de compuestos fenólicos producidos durante la reacción, se preparó la solución stock de [100 mg/mL] de ácido gálico (AG) es decir 0,01g AG en 100mL de agua destilada y finalmente se realizó las lecturas de la absorbancia a 740 nm, para cada muestra con sus respectivas

repeticiones. Se preparó las soluciones estándares utilizando las siguientes concentraciones para la elaboración de la curva estándar especificadas en el Cuadro 9, en el anexo se aprecia las concentraciones y absorbancias (Anexo XII).

Cuadro 9. Concentraciones utilizadas en la elaboración de los estándares de AG, para realizar la curva patrón de los polifenoles totales.

Estándar	AG ($\mu\text{g/mL}$)	V_{stockd} ($\mu\text{g/mL}$)	$V_{\text{aguad.}}$ (uL)	V_f (uL)
S1	10	100	900	1000
S2	25	250	750	1000
S3	50	500	500	1000
S4	75	750	250	1000
S5	100	1000	0	1000

Se realizó un análisis de regresión lineal, a partir del cual se obtuvo la curva estándar con un $Y = 0,0098x - 0,0313$ y $R^2 = 0,9972$, cuyo gráfico se muestra en el Anexo XIII. Luego se realizaron los cálculos de polifenoles totales de la siguiente manera. Los resultados de las absorbancias obtenidas fueron sometido al análisis de regresión lineal, para lo cual se utilizó el modelo matemático $y = a + bX$, luego se multiplicó por el factor de dilución: FD de muestras de granos de cacao frescos secos = (1:50), FD de muestras de granos de cacao fermentados secos = (1:25), FD de muestras de pastas de cacao = (1:25), seguido a ello se dividió entre la concentración del extracto (1:20) = 50 mg/mL. Es decir, 1 g de muestra 20 mL de solución Hidroalcohólica $x = \frac{1g}{20mL} =$

$\frac{0.05g}{mL} \times \frac{1g}{1000mg} = 50mg/mL$ luego se multiplicó por el factor de dilución de la reacción = 10, es decir, $\frac{c_1}{c_2} = \frac{V_2}{V_1} = FD$ y finalmente los resultados se expresaron en equivalente de ácido gálico (g EAG/100 g de muestra).

5.5.6. Cuantificación de antocianinas

El procedimiento para la cuantificación antocianinas se inició con la preparación las soluciones buffer, primero de cloruro de potasio, buffer, 0,025 M, pH 1,0, es decir se mezcló 1,86 g de cloruro de potasio (KCl) en 980 mL de agua destilada ajustando el pH a 1,0 con HCl concentrado y se transfirió a una fiola de 1 L y se enrazó con agua destilada. Segundo se preparó la solución de acetato de sodio, buffer, 0,4 M, pH 4,5, es decir se mezcló 54,43 g de acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) con 970 mL de agua destilada. Se midió el pH y ajustó a 4,5 con (HCl) concentrado y luego se transfirió a una fiola de 1 L y enrazó con agua destilada. Las soluciones serán estables a temperatura ambiente durante unos meses, pero el pH debe ser medido y ajustado antes de su uso. Seguidamente Se encendió y calibró el espectrofotómetro (calentó 30 min), para las lecturas correspondientes, pero antes de ello se determinó la dilución apropiada preparando dos diluciones de las muestras que son: FD de la muestra de granos frescos secos es (1:20), es decir, 50 μ L de muestra en 950 50 μ L de Buffer 1 y pH 4,5 el siguiente FD de la muestra de granos fermentados secos es (1:5), es decir 200 μ L de muestra en 800 μ L de Buffer 1 y pH 4,5 y el último FD de la muestra pasta de cacao (1:5), es decir, 200 μ L de muestra en 800 μ L de Buffer 1 y pH 4.5. Finalmente, e hizo las lecturas mediante un barrido entre 510 a 700 nm, utilizar agua destilada como blanco para determinar la línea base. Se

calcularon las absorbancias de las diluciones de las muestras de acuerdo a la ecuación 1. $Abs = (A_{\lambda Vis-Max} - A_{700nm})_{pH1} - (A_{\lambda Vis-Max} - A_{700nm})_{pH4.5}$ (Ley de Lambert-Beer), finalmente se calculó el contenido de los pigmentos como cianidin-3-glucocido, donde $MW=449.32$ y $\epsilon=26900$. La ecuación presentada asume un espesor de celda de 1 cm (MÓNICA y RONALD, 2001), Entonces reemplazando a nuestros resultados la absorbancia (A) se calculó sí: $A = (A_{\lambda max} - A_{700})_{pH=1.0} - (A_{\lambda max} - A_{700})_{pH=4.5}$; $A = (510 - 700)_{pH=1} - (510 - 700)_{pH=4.5}$

La concentración de antocianinas totales se obtuvo de la ecuación 2:

$$AT(mg/L) = \frac{A \times MW \times FD \times 1000}{\epsilon \times l}, \quad \text{Donde: } AT: \text{ Antocianinas Totales; } A:$$

Absorbancia = lecturas; MW = PM: Peso molecular. = 449.32; FD: Factor de dilución (fresco seco 1:20, fermentado seco y pasta 1:5); ϵ : Absortividad molar = 26900 y 1000 es el factor de conversión de gramos a miligramos, finalmente la concentración de antocianinas se expresó como mg cianidina-3-glucósido/L de extracto.

5.5.7. Determinación de capacidad antioxidante en los granos frescos, secos y pasta de cacao.

- Capacidad de inhibir radical ABTS⁰⁺ (Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

Según la metodología este radical ABTS⁰⁺ se forman después de la reacción de ABTS, el procedimiento inicia a partir de las preparaciones de las soluciones stocks teniendo en cuenta el peso molecular del ABTS⁰⁺ = 548,68g/mol: 10 mL de solución peroxodisulfato de Potasio (K₂O₈S₂) 122,5 mM

y 10 mL Solución de $ABTS^{0+}$ 7mM (0,038g de *ABTS*) con agua destilada desionizada más 200 uL de solución peroxodisulfato de potasio 122,5 mM. Se almacenaron en un frasco ámbar a temperatura ambiente por 16 horas, se tomó 1 mL de solución $ABTS^{0+}$ y se enrazó en una fiola de 50 mL con alcohol al 100% hasta obtener una absorbancia de $(0,7 \pm 0,01)$ a 734 nm. Los factores de dilución (FD) que se utilizaron para cada Face de muestras fueron los siguientes: FD fresco seco: 1/25; FD fermentado seco: 1/10; FD pasta: 1:15; La inhibición de los radicales $ABTS^{0+}$ es determinado por la decoloración del verde a amarillo, el cual es medido por espectrofotometría a 734 nm. Para ello se hace reaccionar 10 uL de muestra con 990 uL de radical $ABTS^{0+}$ por 10 minutos, en este caso el control o muestra blanco es el alcohol. Para expresar en equivalentes trolox se inició a partir la curva estándar y del porcentaje de actividad antioxidante obtenido para cada concentración. Se usó una curva de calibración ($y = 0,0334x + 0,0451$), en el rango de 0,25-1,5 mM de trolox / mL por 30 min los mM convertidos a μ M, para la cuantificación de la actividad antioxidante, y mostró una buena linealidad ($R^2 = 0,9978$). Los resultados se expresaron como mM de trolox equivalentes (TE) Para calcular la capacidad de secuestro de los radicales $ABTS^{0+}$ calculamos el porcentaje de inhibición utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición } ABTS^{0+} = \left[\frac{A_{control} - A_{muestra(t)}}{A_{control}} \right] * 100$$

Donde: $A_{control}$: Absorbancia del control; $A_{muestra(t)}$: Absorbancia del compuesto experimental en un tiempo "t". Entonces se calculó la absorbancia inhibida utilizando la siguiente fórmula ($A_{Control} - A_{Muestra}$) Donde: $A_{control}$: Absorbancia del control; $A_{muestra(t)}$: Absorbancia del compuesto experimental en

un tiempo (15min), seguido a ello se calculó la pendiente de la curva utilizando la siguiente formula (*Conocido_y,ConocidoX*) Donde: Conocido_ Y: concentraciones; conocido X : Absorbancias del compuesto experimental en el tiempo (15 min), luego se halló el intersepto de la curva y finalmente se calculó la actividad antioxidante ($\mu\text{M TE/g}$) en las muestras utilizando la siguiente Fórmula:

$$\mu\text{M} \frac{\text{TE}}{\text{g}} = \frac{(\text{AMuestra} - \text{Intersecto})}{\text{Pendiente}} \times \text{FDR} \times \text{FDE} \times \text{FDM} \times \text{SSDPPH}$$

Donde: $A_{\text{muestra}(t)}$: Absorbancias del compuesto experimental en el tiempo (15 min) Intersecto: Que se obtuvo de la regresión lineal $A_{\text{Muestra}(t)}$ VS [trolox], pendiente: ($A_{\text{Muestra}(t)}$, [trolox]) \times FDR (factor de dilución de la reacción)); FDE : factor de dilución del extracto; FDM : Factor de la Muestra; SSDPPH: Solución Stock ABTS

- Capacidad de inhibir radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

El procedimiento para la evaluación de capacidad antioxidante para inhibir el radical DPPH en primer lugar se prepara las siguientes soluciones stock 1 mM de DPPH teniendo en cuenta el peso molecular del mismo = 394,32g/mol, (0,0394 g de DPPH en 100 mL de alcohol al 100%), luego se vorteo la solución por 2-3 minutos hasta una completa solubilización del compuesto dejando en almacenamiento en un frasco ámbar a 4 °C protegido de la luz. A partir de la solución stock se preparó 5 mL de solución DPPH en 50 mL de etanol 100%, como concentración final para medir la capacidad de secuestro de las muestras experimentales amarillo hasta obtener una absorbancia de 0,9+-0,01 en el espectrofotómetro UV/VIS a 510 nm. Los factores de dilución (FD) que se

utilizaron para cada Face de muestras fueron los siguientes: FD fresco seco: 1/20, FD fermentado seco: 1/5, FD pasta: 1:10 La inhibición de los radicales libres DPPH⁰ o la capacidad de eliminación de radicales libres es determinado por la decoloración de la solución de violeta a amarillo. Para ello se hizo reaccionar 25 uL de muestra más 975 uL de la solución de DPPH (1mM), A medida que hay un mayor secuestro de los radicales libres por un antioxidante, la absorbancia disminuye; en este caso muestra control o blanco es alcohol OH 96%.

Se usó una curva de calibración ($y = 0,9928x + 0,0427$), en el rango de 0,25 – 1,5 mM de trolox / mL por 30 min los mM convertidos a μ M, para la cuantificación de la actividad antioxidante y mostró una buena linealidad ($R^2 = 0.9972$). Los resultados se expresaron como mM trolox equivalentes (TE). Los análisis se realizaron por triplicado, se presentan en el Anexo XIV. Para calcular la capacidad de secuestro de radicales DPPH por un compuesto desconocido, se utilizó la siguiente expresión:

$$\% \text{, DPPH Inhibición} = \left[\frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}(t)})}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

Donde A_{control} : Absorbancia del control, $A_{\text{muestra}(t)}$: Absorbancia de compuesto experimental en tiempo (15min) Y el procedimiento de los demás cálculos son los mismos que se utilizó en la capacidad de inhibir radicales libre ABTS⁰⁺.

La figura 6, se muestra el diseño experimental para la determinación de minerales (macroelementos, microelementos, cadmio, plomo, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante), en las muestras.

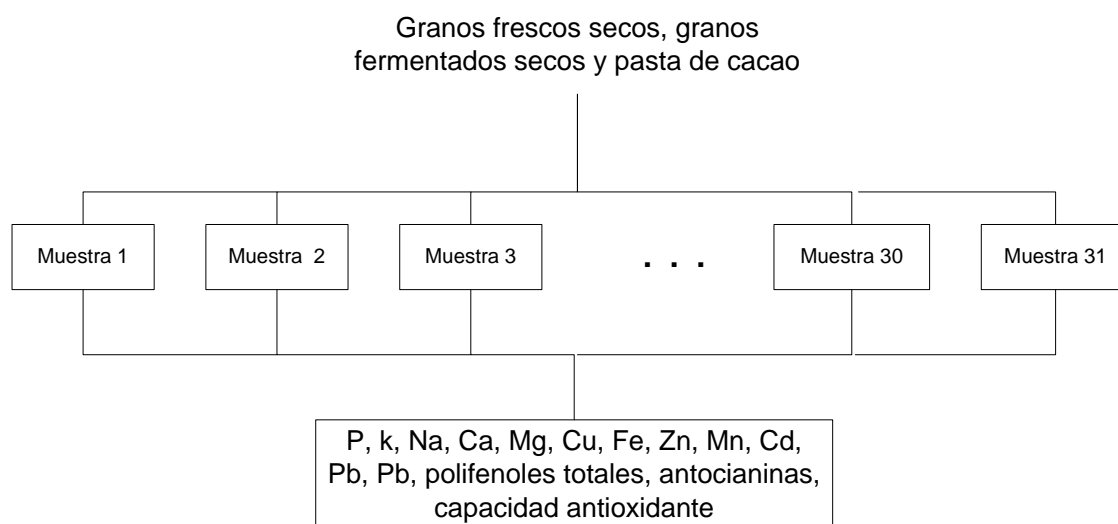


Figura 6. Diseño experimental para determinar contenidos de minerales, compuestos funcionales y capacidad antioxidante en las muestras.

Los resultados del diseño experimental que se muestra en la Figura 6, fueron evaluados estadísticamente mediante el método multivariado, de análisis de componentes principales (ACP) (MESA *et al.*, 2018). Cada componente principal explica una cierta cantidad de la información total contenida en los datos originales y la primera PC contiene la mayor fuente de información en el conjunto de datos. Cada componente principal subsiguiente contiene, en orden, menos información que la anterior.

En la representación matricial, el modelo con un número dado de componentes tiene la siguiente ecuación: $X = T P^T + E$

Donde:

T es la matriz de puntuaciones,

P la matriz de cargas y

E la matriz de errores.

La combinación de puntuaciones y cargas es la parte estructurada de los datos: la parte que es más informativa lo que queda se llama error o residual, y representa la fracción de variación que no se puede modelar bien. Al interpretar los resultados de un análisis de componentes principales (ACP), uno se enfoca en la parte de la estructura y descarta la parte residual. Está bien hacerlo, siempre que los residuos sean realmente insignificantes. Es una cuestión de cuán grande es el error que uno está dispuesto a aceptar. El análisis estadístico se realizó utilizando el software The Unscrambler® X, versión: 10.4. © 2016. CAMO Software AS (ESBENSEN y SWARBRICK, 2017).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Análisis general de los contenidos de minerales en las muestras

La información de muestras y minerales investigados, que se presentan en los Cuadros 10 al 16 fueron utilizadas para desarrollar el modelo de componentes principales (ACP) general, el cual se utilizó para identificar la similitud entre las 31 muestras, las muestras fueron de granos frescos secos, de granos fermentados secos y de las respectivas pastas, fueron denominadas desde M1 hasta M31, estas fueron consideradas variables independientes y sus contenidos de minerales (Macroelementos: fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg); Microelementos: Cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn) y los metales pesados: Cadmio (Cd) y plomo (Pb)), como variables dependientes; con el fin de establecer correlaciones entre ellos. Se debe aclarar que, si el mineral correspondía al grano fresco seco, se identificó con el número 1, si correspondía al grano fermentado seco como 2 y si correspondía a pasta de cacao, como 3; es decir en el caso del fósforo (P), tendríamos P1, P2 y P3; para cada tipo de muestra respectivamente, de igual manera se debe considerar al resto de los minerales.

En el análisis de componentes principales (ACP), según (BERNARDO *et al.*, 2018), indicaron que la principal ventaja del ACP fue transformar las variables correlacionadas en nuevos componentes no

correlacionados (ejes ortogonales), por lo que los datos se vuelven más fáciles de explicar.

En la Figura 7, se apreció que los dos primeros componentes principales (CPs) explican el 77 % de la variancia de los datos; LI *et al.*, (2018) indicaron que CPs con porcentajes cercanos a 100, representarán mejor a todas las variables. El gráfico para el CP1 versus CP2, claramente distinguió tres grupos de muestras, dos de ellas fueron influenciadas por el contenido de calcio; el grupo de la derecha del eje X, tuvo correlación positiva con el contenido de calcio en los granos frescos secos (Ca1), en los granos fermentados secos (Ca2) y el grupo de muestras de la izquierda del eje X, tuvo correlación negativa con el Ca1 y Ca2. El tercer grupo fue influenciado por el contenido de potasio (K1) en los granos frescos secos de cacao, influyendo positivamente en el CP2. Se pudo apreciar que la muestra M26 presento el mayor contenido de calcio en los granos frescos secos con 31,420.8 ppm y la muestra M12 el menor contenido, con 12,550 ppm. El contenido de calcio encontrado en los granos frescos de cacao, fue mayor a lo reportado por (BERTOLDI *et al.*, 2016), quienes encontraron valores entre 1100 –1700 ppm, en granos frescos, de igual modo a lo reportado por (DJIKENG *et al.*, 2018), quienes encontraron 2290 ppm en granos fermentados secos; esta diferencia en el contenido de calcio puede ser atribuido a diversos factores, como suelo, clima, variedad.

El resto de minerales evaluados, presentaron menor influencia en la variabilidad de respuestas, por lo cual se aprecian de manera confundida en torno al cruce de los ejes que forman los CPs.

Se aprecia también que el mayor contenido de potasio (K1), lo tuvo la muestra M13, en el grano fresco seco, con 24,429.2 ppm y la muestra M20 presentó, el menor contenido con 12,950 ppm. Estos contenidos encontrados son similares a valores reportados por (BERTOLDI *et al.*, 2016), entre 1,200 - 14,500 ppm en granos de cacao de diferentes orígenes del mundo y por (PEREA *et al.*, 2011), quienes reportaron valores entre 10,000 – 13,000 ppm en granos de cacao colombianos.

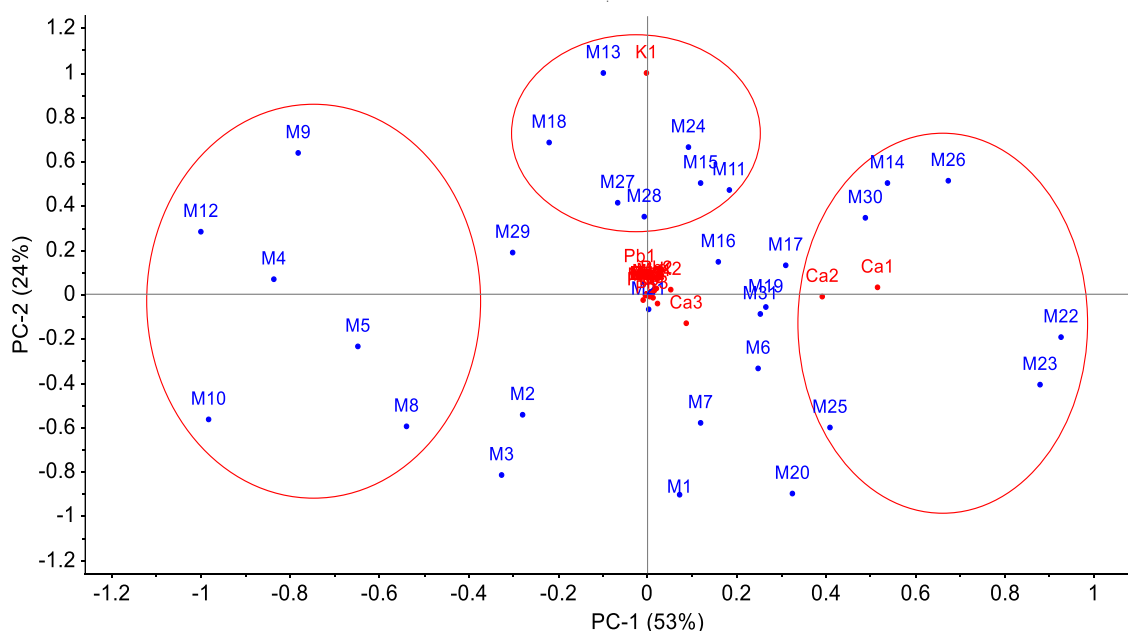


Figura 7. Biplot del ACP, PC1 (53%) y PC2 (24%), que explican la relación entre granos frescos secos, fermentados secos, pasta de cacao y contenido de minerales.

La Figura 8, indicó que el modelo describió adecuadamente el comportamiento de las muestras, no se encontraron muestras con valores residuales elevados, que se diferencien del resto. Los valores de influencia, describieron que existen muestras con valores altos y bajos para algunos

componentes en comparación con el resto de las muestras. Con la información mostrada en la Figura 8, se seleccionaron las muestras que más destacaron en la variabilidad de respuestas e influyeron en los ACPs y fueron 12: M4, M5, M8, M9, M10, M12, M14, M22, M23, M25, M26 y M30 (MESA *et al.*, 2018), obtuvieron una representación similar al hacer una investigación en un proceso de fermentación.

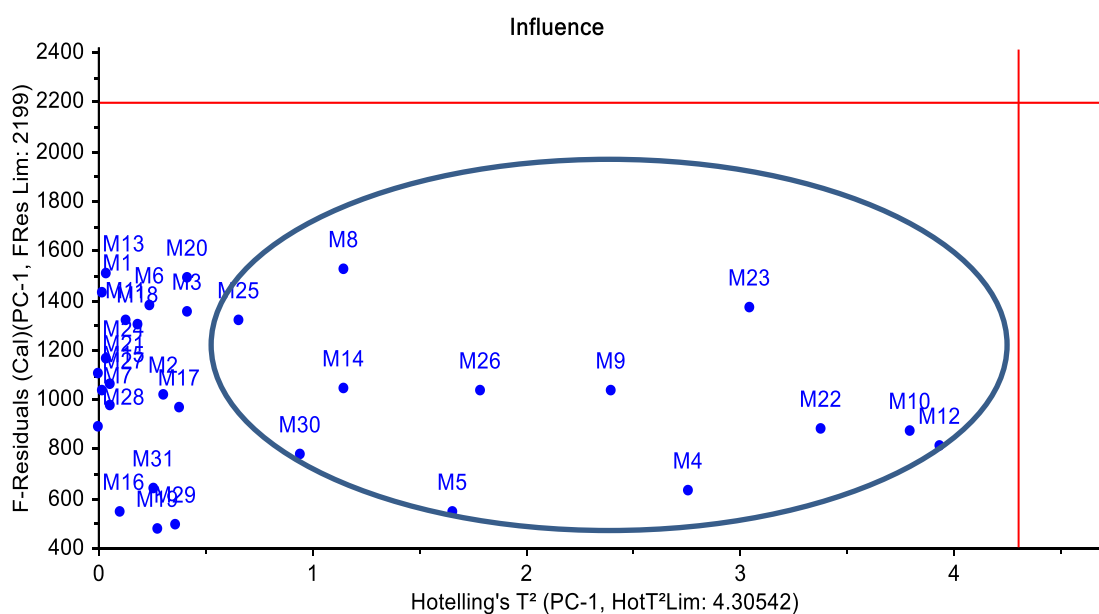


Figura 8. Gráfico de Influencia de las muestras en el componente principal 1.

En la Figura 9, se apreció que los macrominerales influyeron positivamente en la variación de respuestas, en el CP1 (97%). Se apreció también que destacaron los contenidos de calcio en las muestras de granos de cacao fermentados secos (Ca2), en granos de cacao frescos secos (Ca1), en pasta de cacao (Ca3) y el contenido de potasio en el grano fresco seco (K1). Se apreció también que los microelementos: Cobre, hierro, zinc y manganeso influyeron negativamente en la variabilidad de respuesta del CP1. De igual modo

se observó, que existe un grupo de muestras que presentaron un contenido similar de potasio (K3, K2), plomo (Pb1), magnesio (Mg1, Mg2, Mg3).

En grupo de minerales de la izquierda, datos que forman una mancha, confundiendo los valores obtenidos, estuvo conformado por los minerales cobre, sodio, cadmio, manganeso, hierro y zinc; los cuales se encontraban en los granos frescos, secos, granos fermentados secos y en las muestras de pasta de cacao, estos fueron los minerales que influyeron negativamente en el CP1 y presentaron los contenidos más bajos en las muestras.

5.2. Contenidos de macroelementos fósforo (P), sodio (Na), calcio (Ca) y magnesio (Mg) en las muestras

En los cuadros 10 al 12, se presentan los contenidos de macroelementos en los granos frescos secos, granos fermentados secos y en la pasta de cacao. El contenido de fósforo (P) encontrado, varió entre valores de $483,24 \pm 23,86$ - $1,975.54 \pm 13,59$ ppm, correspondiente a la muestra de grano fermentado seco M15, de la variedad CCN-51 del sector de Pendencia y a la muestra de pasta de cacao de la muestra M8, VPA-1 del sector de San José de Pucate, respectivamente. Estos valores encontrados fueron inferiores a los reportados por (BERTOLDI *et al.*, 2016), en la investigación realizada en muestras del oeste y este del África, Asia, Sud América y América Central, con valores entre $4,540 \pm 38$ - $5,830 \pm 50$ ppm; también (PEREA *et al.*, 2011), reportaron que el P fue el mineral más abundante con contenidos entre 1000 - 1300 ppm, en muestras de cacao SCC_41, Criollo y FSA_12, en Colombia.

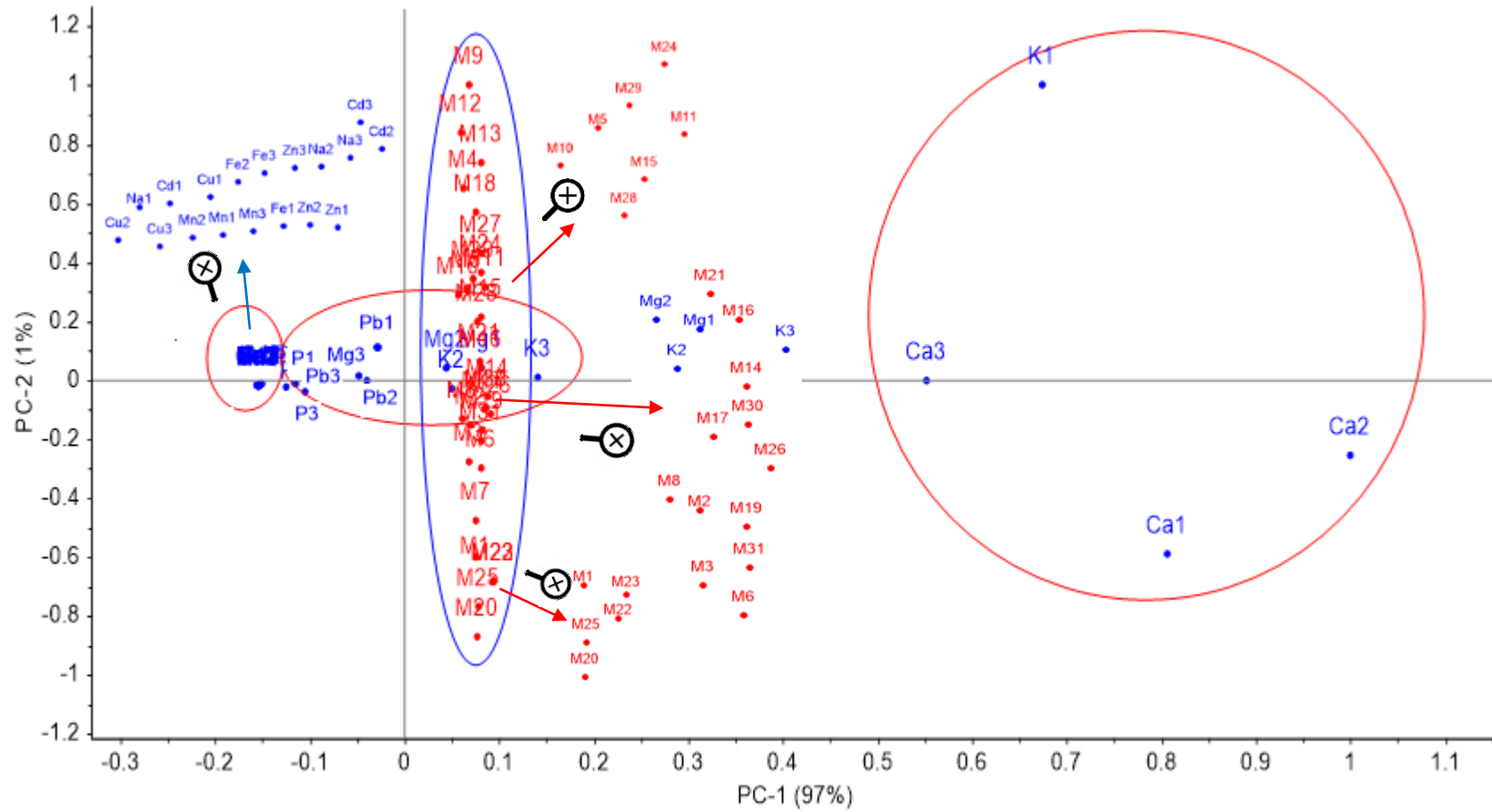


Figura 9. Biplot del ACP, PC1 (97%) y PC2 (1%), que explican la relación entre minerales en granos frescos secos, fermentados secos, pasta de cacao y muestras.

Cuadro 10. Contenido de macroelementos en los granos frescos secos de las muestras (n = 3).

Nº	Macroelementos ($\bar{X} \pm DS$, ppm)				
	P1	K1	Na1	Ca1	Mg1
M1	820,65 ± 06,79	13,687.50 ± 25,00	125,50 ± 0,00	23,912.50 ± 12,50	5,720.83 ± 7,22
M2	942,93 ± 13,59	16,525.00 ± 12,50	165,08 ± 0,07	20,683.33 ± 50,52	5,429.17 ± 43,90
M3	811,59 ± 03,92	14,412.50 ± 54,49	280,71 ± 0,44	20,829.17 ± 38,19	5,550.00 ± 12,50
M4	1,167.12 ± 27,17	21,783.33 ± 36,08	118,71 ± 2,56	14,566.67 ± 40,18	5,658.33 ± 7,22
M5	1,427.54 ± 33,51	19,058.33 ± 38,19	129,46 ± 1,69	16,275.00 ± 0,00	5,462.50 ± 12,50
M6	1,316.58 ± 13,59	18,195.83 ± 19,09	98,75 ± 6,75	22,587.50 ± 33,07	5,525.00 ± 12,50
M7	1,241.85 ± 06,79	15,937.50 ± 37,50	126,46 ± 0,44	25,950.00 ± 25,00	6,787.50 ± 64,95
M8	1,300.72 ± 20,75	15,683.33 ± 56,37	201,71 ± 2,56	22,375.00 ± 0,00	5,512.50 ± 12,50
M9	1,022.19 ± 17,10	26,633.33 ± 7,22	161,08 ± 6,94	14,783.33 ± 36,08	5,979.17 ± 7,22
M10	967,84 ± 19,61	16,287.50 ± 25,00	173,83 ± 5,69	13,150.00 ± 12,50	5,925.00 ± 54,49
M11	963,32 ± 24,49	25,425.00 ± 33,07	355,75 ± 5,63	22,541.67 ± 26,02	5,895.83 ± 19,09
M12	831,97 ± 23,86	23,066.67 ± 50,52	344,96 ± 10,44	12,550.00 ± 12,50	6,304.17 ± 52,04
M13	897,64 ± 21,84	29,429.17 ± 36,08	154,13 ± 2,00	23,570.83 ± 31,46	5,358.33 ± 7,22
M14	841,03 ± 17,97	24,787.50 ± 37,50	237,63 ± 3,37	31,220.83 ± 7,22	7,408.33 ± 38,19
M15	757,25 ± 17,10	24,783.33 ± 38,19	179,08 ± 11,81	26,475.00 ± 45,07	6,550.00 ± 45,07
M16	1,013.13 ± 21,84	22,183.33 ± 19,09	256,38 ± 2,50	24,587.50 ± 37,50	6,545.83 ± 7,22
M17	1,278.08 ± 10,38	22,287.50 ± 25,00	201,38 ± 0,00	29,470.83 ± 7,22	6,837.50 ± 25,00
M18	831,97 ± 28,28	26,658.33 ± 31,46	151,63 ± 11,50	23,983.33 ± 7,22	5,137.50 ± 0,00
M19	684,78 ± 20,38	20,591.67 ± 36,08	216,71 ± 3,56	26,308.33 ± 7,22	7,412.50 ± 25,00
M20	895,38 ± 13,59	12,950.00 ± 0,00	195,25 ± 1,50	28,820.83 ± 38,19	5,195.83 ± 38,19
M21	834,24 ± 20,38	21,112.50 ± 0,00	129,96 ± 3,81	22,525.00 ± 12,50	7,462.50 ± 0,00
M22	1,178.44 ± 10,38	19,816.67 ± 40,18	245,83 ± 1,31	34,012.50 ± 12,50	5,412.50 ± 0,00
M23	1,017.66 ± 29,61	18,087.50 ± 33,07	128,33 ± 2,81	28,787.50 ± 12,50	5,966.67 ± 14,43
M24	693,84 ± 21,84	26,587.50 ± 0,00	139,58 ± 3,94	26,837.50 ± 33,07	5,941.67 ± 38,19
M25	759,51 ± 24,49	15,166.67 ± 40,18	140,08 ± 0,56	30,058.33 ± 28,87	6,025.00 ± 25,00
M26	1,173.91 ± 06,79	25,062.50 ± 25,00	235,04 ± 72,13	31,420.83 ± 19,09	5,375.00 ± 0,00
M27	985,96 ± 07,84	24,954.17 ± 31,46	155,25 ± 1,25	20,912.50 ± 33,07	5,458.33 ± 31,46
M28	831,97 ± 17,10	23,720.83 ± 19,09	221,50 ± 8,50	25,987.50 ± 25,00	5,295.83 ± 31,46
M29	1,235.05 ± 27,17	22,587.50 ± 33,07	354,00 ± 0,00	21,345.83 ± 43,90	5,566.67 ± 38,19
M30	1,035.78 ± 03,92	23,804.17 ± 36,08	129,75 ± 1,00	30,566.67 ± 40,18	6,941.67 ± 43,90
M31	1,223.73 ± 21,84	19,920.83 ± 31,46	73,33 ± 0,75	25,525.00 ± 0,00	7,187.50 ± 0,00

Cuadro 11. Contenido de macroelementos en las muestras fermentadas secas (n = 3).

Nº	Macroelementos ($\bar{X} \pm DS$, ppm)				
	P1	K1	Na1	Ca1	Mg1
M1	727,81 ± 3.92	3,879.17 ± 21,95	61,75 ± 2,38	30,291.67 ± 38,19	5,087.50 ± 12,50
M2	816,12 ± 19.61	1,714.58 ± 18,04	66,08 ± 1,56	27,670.83 ± 31,46	5,033.33 ± 31,46
M3	759,51 ± 20.38	4,402.08 ± 26,02	61,21 ± 1,81	25,383.33 ± 43,90	5,220.83 ± 19,09
M4	754,98 ± 21.84	5,708.33 ± 20,09	90,21 ± 3,56	23,066.67 ± 40,18	2,708.33 ± 7,22
M5	544,38 ± 23.86	5,891.67 ± 15,73	72,63 ± 2,75	24,900.00 ± 33,07	2,758.33 ± 7,22
M6	743,66 ± 20.75	5,912.50 ± 0,00	78,50 ± 0,00	36,450.00 ± 12,50	4,712.50 ± 12,50
M7	954,26 ± 23.86	6,297.92 ± 3,61	62,38 ± 3,13	28,816.67 ± 38,19	5,037.50 ± 12,50
M8	716,49 ± 3.92	4,404.17 ± 21,95	62,50 ± 2,63	12,695.83 ± 31,46	3,125.00 ± 12,50
M9	546,65 ± 17.10	4,847.92 ± 94,65	61,71 ± 0,44	24,208.33 ± 14,43	5,475.00 ± 25,00
M10	739,13 ± 6.79	4,222.92 ± 21,95	58,75 ± 0,37	22,020.83 ± 19,09	5,170.83 ± 31,46
M11	961,05 ± 10.38	3,516.67 ± 3,61	53,00 ± 0,37	34,900.00 ± 0,00	5,162.50 ± 25,00
M12	662,14 ± 23.86	4,716.67 ± 28,18	49,71 ± 0,31	23,087.50 ± 33,07	5,070.83 ± 19,09
M13	621,38 ± 3.92	4,483.33 ± 18,04	66,46 ± 0,81	27,875.00 ± 12,50	5,295.83 ± 31,46
M14	696,11 ± 23.86	4,397.92 ± 3,61	55,25 ± 0,88	31,800.00 ± 25,00	5,675.00 ± 25,00
M15	483,24 ± 23.86	2,722.92 ± 26,02	62,83 ± 0,07	29,420.83 ± 19,09	5,070.83 ± 19,09
M16	831,97 ± 10.38	5,156.25 ± 16,54	60,96 ± 0,81	31,679.17 ± 50,52	5,375.00 ± 25,00
M17	820,65 ± 20.38	4,943.75 ± 6,25	114,13 ± 0,12	27,929.17 ± 19,09	5,083.33 ± 7,22
M18	750,45 ± 17.10	7,483.33 ± 18,04	50,13 ± 1,38	24,050.00 ± 33,07	4,987.50 ± 0,00
M19	689,31 ± 30.63	4,397.92 ± 9,55	64,63 ± 1,25	31,562.50 ± 12,50	5,100.00 ± 12,50
M20	893,12 ± 30.63	5,000.00 ± 0,00	44,96 ± 1,69	29,933.33 ± 43,90	3,712.50 ± 0,00
M21	759,51 ± 6.79	4,035.42 ± 15,73	59,75 ± 2,00	30,108.33 ± 7,22	2,783.33 ± 7,22
M22	1,151.27 ± 20.75	8,154.17 ± 15,73	58,75 ± 0,13	34,712.50 ± 12,50	5,383.33 ± 7,22
M23	908,97 ± 17.97	7,387.50 ± 0,00	68,58 ± 4,69	40,587.50 ± 0,00	5,137.50 ± 0,00
M24	761,78 ± 23.86	4,284.38 ± 9,38	54,50 ± 0,13	27,483.33 ± 7,22	5,025.00 ± 0,00
M25	893,12 ± 19.61	6,718.75 ± 18,75	53,83 ± 1,81	30,425.00 ± 12,50	4,920.83 ± 7,22
M26	782,16 ± 3.92	8,893.75 ± 12,50	50,46 ± 0,19	33,795.83 ± 38,19	5,312.50 ± 12,50
M27	759,51 ± 20.38	3,893.75 ± 12,50	72,88 ± 1,88	31,454.17 ± 38,19	5,037.50 ± 33,07
M28	976,90 ± 17.97	7,227.08 ± 19,09	48,96 ± 0,56	26,162.50 ± 0,00	4,945.83 ± 7,22
M29	904,44 ± 20.75	6,422.92 ± 9,55	42,08 ± 0,19	25,662.50 ± 25,00	5,075.00 ± 0,00
M30	707,43 ± 3.92	4,966.67 ± 28,18	51,00 ± 0,00	31,012.50 ± 37,50	4,908.33 ± 7,22
M31	816,12 ± 28.28	5,139.58 ± 9,55	49,46 ± 0,19	32,858.33 ± 7,22	5,020.83 ± 19,09

Cuadro 12. Contenido de macroelementos en las muestras de pasta de cacao (n = 3).

Nº	Macroelementos ($\bar{X} \pm DS$, ppm)				
	P1	K1	Na1	Ca1	Mg1
M1	1,364.13 ± 35,30	8,335.42 ± 29,54	92,71 ± 2,19	20,058.33 ± 43,90	3,208.33 ± 14,43
M2	1,495.47 ± 33,51	8,581.25 ± 27,24	120,50 ± 7,62	17,350.00 ± 12,50	3,012.50 ± 0,00
M3	1,038.04 ± 6,79	7,535.42 ± 3,61	84,50 ± 0,00	21,179.17 ± 40,18	3,079.17 ± 28,87
M4	897.64 ± 20,75	9,831.25 ± 27,24	111,46 ± 6,19	16,887.50 ± 33,07	2,437.50 ± 21,65
M5	875.00 ± 6,79	6,831.25 ± 22,53	84,08 ± 0,94	17,770.83 ± 7,22	2,658.33 ± 28,87
M6	1,635.87 ± 17,97	9,593.75 ± 22,53	77,63 ± 0,00	16,320.83 ± 31,46	2,720.83 ± 7,22
M7	1,364.13 ± 6,79	6,529.17 ± 9,55	82,33 ± 0,94	18,304.17 ± 38,19	2,450.00 ± 0,00
M8	1,975.54 ± 13,59	8,966.67 ± 21,95	65,83 ± 0,69	16,804.17 ± 40,18	2,908.33 ± 7,22
M9	820.65 ± 13,59	7,281.25 ± 25,00	85,38 ± 4,13	16,787.50 ± 0,00	3,058.33 ± 14,43
M10	1,033.51 ± 23,86	6,981.25 ± 6,25	73,00 ± 2,00	16,487.50 ± 0,00	2,762.50 ± 0,00
M11	1,438.86 ± 20,38	6,525.00 ± 22,53	105,88 ± 1,50	19,283.33 ± 19,09	3,158.33 ± 36,08
M12	1,038.04 ± 13,59	5,766.67 ± 23,66	73,96 ± 2,81	13,316.67 ± 28,87	2,316.67 ± 14,43
M13	1,343.75 ± 6,79	6,883.33 ± 9,55	84,00 ± 0,38	16,458.33 ± 7,22	2,612.50 ± 21,65
M14	963.32 ± 17,97	5,075.00 ± 0,00	102,08 ± 2,81	16,908.33 ± 19,09	2,437.50 ± 21,65
M15	1,293.93 ± 10,38	7,168.75 ± 6,25	77,63 ± 0,38	14,800.00 ± 25,00	3,133.33 ± 28,87
M16	1,359.60 ± 23,86	5,887.50 ± 6,25	114,21 ± 1,69	18,537.50 ± 0,00	2,604.17 ± 14,43
M17	1,427.54 ± 23,86	9,918.75 ± 0,00	124,75 ± 0,00	20,537.50 ± 54,49	2,995.83 ± 7,22
M18	1,024.46 ± 24,49	7,493.75 ± 0,00	114,21 ± 1,69	17,350.00 ± 0,00	2,866.67 ± 14,43
M19	1,092.39 ± 20,38	6,081.25 ± 16,54	82,63 ± 3,57	19,458.33 ± 19,09	2,720.83 ± 28,87
M20	1,432.07 ± 20,38	6,912.50 ± 16,54	57,08 ± 0,44	17,325.00 ± 25,00	2,920.83 ± 14,43
M21	1,033.51 ± 10,38	4,841.67 ± 15,73	68,75 ± 2,38	22,579.17 ± 19,09	2,654.17 ± 14,43
M22	1,699.28 ± 21,84	11,018.75 ± 18,75	71,46 ± 1,31	21,566.67 ± 40,18	2,354.17 ± 7,22
M23	1,708.33 ± 17,10	8,043.75 ± 12,50	75,71 ± 0,31	22,900.00 ± 25,00	2,529.17 ± 50,52
M24	1,368.66 ± 3,92	5,779.17 ± 15,73	71,25 ± 4,00	17,970.83 ± 19,09	2,812.50 ± 0,00
M25	1,180.71 ± 6,79	5,831.25 ± 22,53	59,33 ± 0,94	15,312.50 ± 25,00	2,575.00 ± 21,65
M26	1,176.18 ± 20,75	8,839.58 ± 26,02	64,21 ± 0,81	16,400.00 ± 76,03	2,566.67 ± 14,43
M27	1,158.06 ± 20,75	9,020.83 ± 21,95	81,58 ± 2,44	18,812.50 ± 25,00	2,583.33 ± 28,87
M28	1,642.66 ± 27,17	7,447.92 ± 9,55	73,13 ± 5,50	17,033.33 ± 31,46	2,612.50 ± 0,00
M29	822.92 ± 20,75	7,668.75 ± 6,25	80,25 ± 0,00	17,937.50 ± 37,50	2,779.17 ± 36,08
M30	1,289.40 ± 20,38	9,537.50 ± 12,50	60,63 ± 1,25	17,770.83 ± 19,09	2,816.67 ± 14,43
M31	1,708.33 ± 10,38	7,968.75 ± 18,75	95,79 ± 4,07	16,291.67 ± 31,46	2,637.50 ± 43,30

El contenido de K determinado, varió entre $1,714.58 \pm 18,04 - 29,429.17 \pm 36,08$ ppm, para la muestra M2 de grano fermentado seco, de la variedad Común del sector de Pumahuasi y para la muestra M13 de grano fresco seco, variedad ICS-95 del sector de Mapresa, respectivamente. Los contenidos de K encontrados fueron diferentes al reportado por (BERTOLDI *et al.*, 2016) en la investigación realizada en muestras de granos de cacao de diversas partes del mundo, con valores entre $12,000 \pm 80 - 14,500 \pm 60$ ppm, de igual modo (BAKIRCIOGLU *et al.*, 2016), en otra investigación encontraron en muestras de leche en polvo un valor de $12,600 \pm 40$ ppm, éste contenido se encuentra dentro del rango determinado en las muestras de cacao.

El contenido de Na, en las muestras de granos y pasta de cacao varió entre $42,08 \pm 0,19 - 355,75 \pm 5,63$ ppm, para las muestras de grano fermentado seco M29, de la variedad CCN-51 del sector de Frontera y de grano fresco seco M11, de la variedad Común del sector de Mapresa, respectivamente. Estos valores fueron similares a los reportados por (BILANDZIC *et al.*, 2015), para muestras de leche, mantequilla, queso fresco, con contenidos de 600 ± 13 , 110 ± 26 y 430 ± 210 ppm, respectivamente.

El contenido de Mg, encontrado en las muestras varió entre $7,462.50 \pm 0,00 - 2,316.67 \pm 14,43$ ppm, para la muestra de grano fresco seco M21, de la variedad CCN-51 del sector Huayhuantillo y de pasta de cacao M12, de la variedad CCN-51 del sector de Mapresa, respectivamente. El Mg es el cuarto mineral más abundante y es necesario en más de 300 reacciones en el cuerpo, tiene función de cofactor en más de 300 sistemas enzimáticos, regulando diversas reacciones bioquímicas en el cuerpo, incluida la síntesis de proteínas,

funcionamiento de los músculos y nervios, además de diversas otras funciones. Según (FARTUSIE Y MOHSSAN, 2017), el Mg es uno de los diez minerales esenciales con una dosis diaria recomendada de 400 mg / día para hombres adultos sanos y 320 mg / día para mujeres adultas sanas; según los resultados obtenidos, 100 gramos de las muestras estudiadas estarían cubriendo la ingesta de Mg requerida. Al respecto (AFOAKWA *et al.*, 2011), han reportado que el grano fermentado y sin fermentar presento $2,868\pm 31,9$ y $3,642\pm 18,2$ ppm, en cacao de Ghana. La información de macrominerales investigados, en las 12 muestras seleccionadas y que se presentan incluidas en los resultados de los Cuadros 9 al 11, fueron utilizados para desarrollar el modelo de componentes principales (ACP) para los macrominerales (Figura 10), el cual se utilizó para identificar la similitud en el contenido de minerales de las muestras, estableciéndose las correlaciones entre ellas.

En la Figura 10, se apreció claramente que el calcio se encuentra en mayor proporción en todas las muestras (Ca1, Ca2, Ca3), de igual modo el potasio (K1). Se apreció también que los minerales sodio (Na1, Na2, Na3), fosforo (P1, P2, P3) y sodio (Na1. Na2, Na3), se encontraron en menor proporción en las muestras seleccionadas. De igual modo se apreció que los contenidos de potasio (K2, K3), magnesio (Mg1, Mg2, Mg3), se encontraron en cantidades similares e intermedias, en las muestras estudiadas.

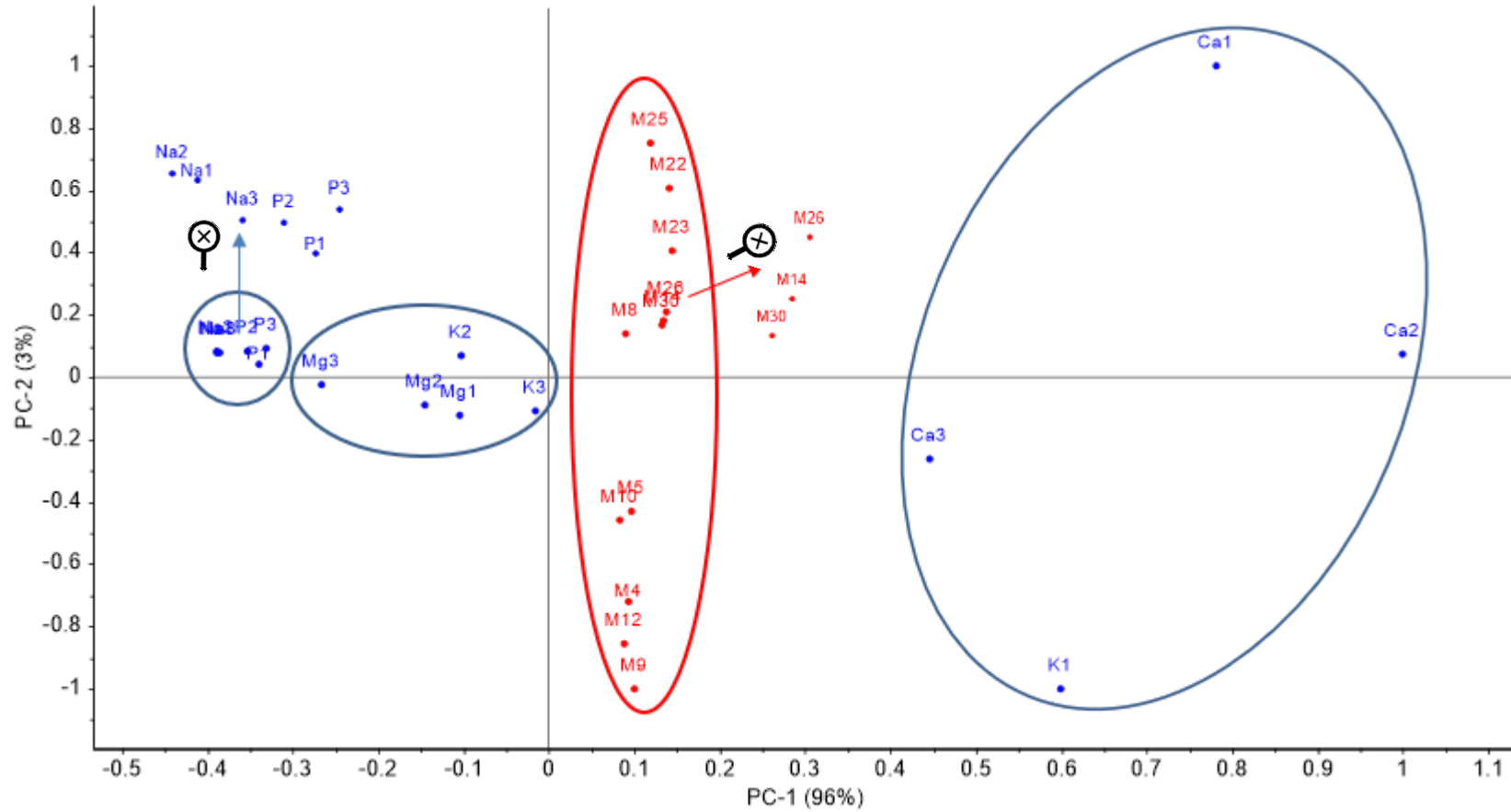


Figura 10. Biplot del ACP, PC1 (96%) y PC2 (2%), que explican la relación entre macroelementos en granos frescos secos, fermentados secos, pasta de cacao y las 12 muestras seleccionadas.

5.3. Contenidos de microelementos cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (zn), manganeso (Mn) en las muestras

En los Cuadros 13 al 15, se presentan los resultados de los contenidos de microelementos en los granos frescos secos, granos fermentados secos y en la pasta de cacao. Al respecto se ha indicado que las características de los orígenes geográficos de los granos de cacao fermentados podrían vincularse tanto con el procedimiento de fermentación y secado como con las variedades de cacao, dando una gama de valores económicos al producto, por lo tanto, una necesidad de métodos adecuados de trazabilidad (DIOMANDE *et al.*, 2015). El contenido de cobre Cu, encontrado en las muestras varió entre $29,02 \pm 0,01 - 4,07 \pm 0,05$ ppm, para la muestra de grano fresco seco M4, de la variedad Común del sector de Pumahuasi y de pasta de cacao M3, de la variedad CCN-51 del sector Pumahuasi, respectivamente.

El Cu es un oligoelemento esencial en plantas y animales. El cuerpo humano solo contiene unos 150 mg de este mineral vital. La dosis diaria recomendada de Cu en adultos sanos normales es de 2 mg / día (FARTUSIE y MOHSSAN, 2017). Es necesario para el crecimiento y la formación de hueso, la formación de vainas de mielina en los sistemas nerviosos, ayuda en la incorporación de Fe en la hemoglobina, ayuda en la absorción de Fe del tracto gastrointestinal y en la transferencia de Fe de los tejidos al plasma (STUDZINSKI *et al.*, 2006). Los resultados del contenido de cobre encontrado en las muestras, indican que estos derivados son buenas fuentes de cobre.

Cuadro 13. Contenido de Microelementos en los granos frescos secos.

Nº	Microelementos ($\bar{X} \pm DS$, ppm, n = 3)			
	Cu1	Fe1	Zn1	Mn1
M1	17,22 ± 0,47	37,95 ± 0,03	86,58 ± 0,07	16,83 ± 0,09
M2	15,46 ± 0,01	32,30 ± 0,02	84,42 ± 0,44	19,58 ± 0,04
M3	20,48 ± 0,00	31,68 ± 0,00	78,38 ± 0,25	15,04 ± 0,03
M4	29,02 ± 0,01	31,41 ± 0,05	54,21 ± 0,38	11,93 ± 0,04
M5	20,36 ± 0,07	28,57 ± 0,02	60,50 ± 0,00	11,86 ± 0,01
M6	18,56 ± 0,12	28,18 ± 0,05	61,83 ± 0,44	12,69 ± 0,00
M7	23,38 ± 0,24	33,16 ± 0,06	62,33 ± 0,47	9,76 ± 0,01
M8	19,82 ± 0,38	30,68 ± 0,02	55,83 ± 0,19	7,93 ± 0,06
M9	20,47 ± 0,53	28,18 ± 0,04	70,54 ± 0,38	6,36 ± 0,08
M10	13,36 ± 0,24	27,33 ± 0,03	63,92 ± 0,19	5,23 ± 0,04
M11	13,22 ± 0,09	30,47 ± 0,02	68,00 ± 0,33	4,20 ± 0,11
M12	22,53 ± 0,06	31,31 ± 0,04	63,08 ± 0,44	10,32 ± 0,13
M13	20,50 ± 0,01	22,80 ± 0,04	46,71 ± 0,14	13,33 ± 0,68
M14	16,46 ± 0,04	25,58 ± 0,01	36,92 ± 0,62	13,66 ± 0,06
M15	19,46 ± 0,08	32,94 ± 0,04	30,75 ± 0,38	33,04 ± 0,10
M16	14,46 ± 0,01	28,43 ± 0,04	32,00 ± 0,33	20,41 ± 0,27
M17	15,40 ± 0,09	30,26 ± 0,01	30,71 ± 0,38	25,50 ± 0,04
M18	17,03 ± 0,19	27,92 ± 0,02	33,50 ± 0,00	31,41 ± 0,87
M19	14,19 ± 0,18	33,40 ± 0,02	41,63 ± 0,54	20,67 ± 0,07
M20	14,79 ± 0,18	36,71 ± 0,00	67,13 ± 0,25	21,58 ± 0,03
M21	19,98 ± 0,48	27,33 ± 0,04	48,13 ± 0,45	19,68 ± 0,06
M22	19,98 ± 0,48	36,30 ± 0,05	83,25 ± 0,13	19,22 ± 0,31
M23	20,13 ± 0,01	32,79 ± 0,03	70,71 ± 0,31	21,61 ± 0,05
M24	20,66 ± 0,09	34,07 ± 0,04	65,54 ± 0,36	24,16 ± 0,37
M25	15,58 ± 0,02	27,92 ± 0,03	41,96 ± 0,44	14,16 ± 0,62
M26	24,38 ± 0,05	21,93 ± 0,22	54,08 ± 0,31	22,09 ± 0,79
M27	17,87 ± 0,17	24,05 ± 0,04	69,42 ± 0,51	14,34 ± 0,28
M28	21,95 ± 0,17	35,06 ± 0,04	69,63 ± 0,25	30,78 ± 0,21
M29	20,00 ± 0,44	36,80 ± 0,03	74,88 ± 0,50	24,04 ± 0,11
M30	18,40 ± 0,11	36,94 ± 0,04	90,46 ± 0,19	30,21 ± 0,39
M31	25,96 ± 0,35	40,51 ± 0,01	68,00 ± 0,00	26,89 ± 0,32

Cuadro 14. Contenido de Microelementos en los granos fermentados secos.

Nº	Microelementos ($\bar{X} \pm DS$, ppm, n = 3)			
	Cu1	Fe1	Zn1	Mn1
M1	15,45 ± 0,03	15,94 ± 0,04	40,58 ± 0,44	12,68 ± 0,04
M2	13,88 ± 0,03	17,93 ± 0,01	56,79 ± 0,52	12,73 ± 0,04
M3	16,98 ± 0,13	14,46 ± 0,01	58,42 ± 0,36	14,22 ± 0,49
M4	13,15 ± 0,07	29,55 ± 0,05	47,04 ± 0,36	10,11 ± 0,01
M5	12,23 ± 0,08	29,68 ± 0,03	40,13 ± 0,00	10,94 ± 0,11
M6	10,11 ± 0,14	26,42 ± 0,04	49,29 ± 0,52	10,97 ± 0,04
M7	14,03 ± 0,05	18,05 ± 0,03	36,58 ± 0,19	5,94 ± 0,06
M8	12,65 ± 0,09	16,05 ± 0,03	45,50 ± 0,25	4,38 ± 0,04
M9	11,85 ± 0,16	20,66 ± 0,03	38,21 ± 0,31	4,48 ± 0,04
M10	10,91 ± 0,38	24,17 ± 0,06	47,71 ± 0,07	4,81 ± 0,04
M11	12,45 ± 0,03	15,32 ± 0,05	55,08 ± 0,07	3,78 ± 0,00
M12	20,81 ± 0,03	29,32 ± 0,04	36,54 ± 0,40	7,46 ± 0,01
M13	14,42 ± 0,02	29,31 ± 0,02	46,58 ± 0,36	13,38 ± 0,04
M14	15,70 ± 0,46	29,58 ± 0,04	39,29 ± 0,52	11,41 ± 0,01
M15	14,16 ± 0,02	25,70 ± 0,04	27,83 ± 0,07	20,67 ± 0,02
M16	10,42 ± 0,02	26,89 ± 0,00	56,88 ± 0,50	19,79 ± 0,01
M17	10,90 ± 0,19	28,57 ± 0,06	37,88 ± 0,38	19,06 ± 0,07
M18	13,86 ± 0,34	20,15 ± 0,03	20,75 ± 0,25	12,23 ± 0,20
M19	12,65 ± 0,06	15,82 ± 0,05	51,79 ± 0,38	18,06 ± 0,04
M20	13,32 ± 0,26	15,43 ± 0,02	44,33 ± 0,14	13,93 ± 0,21
M21	15,55 ± 0,33	22,15 ± 0,01	38,00 ± 0,38	12,87 ± 0,19
M22	11,37 ± 0,14	20,95 ± 0,04	49,38 ± 0,38	17,89 ± 0,03
M23	12,06 ± 0,04	20,78 ± 0,01	45,46 ± 0,07	18,18 ± 0,33
M24	12,50 ± 0,73	18,17 ± 0,04	45,38 ± 0,12	22,4 ± 0,11
M25	11,71 ± 0,23	31,43 ± 0,04	56,83 ± 0,44	13,81 ± 0,03
M26	11,93 ± 0,25	28,43 ± 0,05	42,92 ± 0,36	15,32 ± 0,01
M27	11,93 ± 0,20	26,20 ± 0,04	45,58 ± 0,31	13,42 ± 0,06
M28	11,66 ± 0,27	27,91 ± 0,05	51,75 ± 0,00	21,35 ± 0,00
M29	11,78 ± 0,38	25,43 ± 0,05	65,58 ± 0,56	23,42 ± 0,03
M30	11,73 ± 0,16	29,08 ± 0,03	48,17 ± 0,36	20,13 ± 0,03
M31	11,46 ± 0,09	35,04 ± 0,00	57,92 ± 0,40	16,21 ± 0,13

Cuadro 15. Contenido de Microelementos en las muestras de pasta de cacao.

Nº	Microelementos ($\bar{X} \pm DS$, ppm, n = 3)			
	Cu1	Fe1	Zn1	Mn1
M1	6,46 ± 0.06	41,43 ± 0,02	53,13 ± 0,33	16,83 ± 0,15
M2	6,79 ± 0.01	27,53 ± 0,03	58,13 ± 0,50	14,01 ± 0,02
M3	4,07 ± 0.05	43,43 ± 0,01	70,46 ± 0,38	10,48 ± 0,30
M4	4,17 ± 0.01	43,56 ± 0,02	59,21 ± 0,36	13,98 ± 0,04
M5	5,34 ± 0.07	40,41 ± 0,01	53,25 ± 0,25	14,64 ± 0,13
M6	6,49 ± 0.09	42,41 ± 0,07	48,33 ± 0,19	16,22 ± 0,04
M7	6,80 ± 0.11	41,69 ± 0,04	53,38 ± 0,00	9,00 ± 0,05
M8	6,53 ± 0.14	39,07 ± 0,04	57,96 ± 0,07	7,38 ± 0,02
M9	4,72 ± 0.20	39,33 ± 0,02	44,25 ± 0,25	12,37 ± 0,01
M10	4,34 ± 0.01	43,32 ± 0,04	57,71 ± 0,07	12,38 ± 0,00
M11	5,06 ± 0.00	43,68 ± 0,03	63,08 ± 0,38	10,06 ± 0,03
M12	4,29 ± 0.00	35,33 ± 0,03	55,63 ± 0,38	9,19 ± 0,05
M13	4,10 ± 0.01	43,48 ± 0,00	59,58 ± 0,31	16,03 ± 0,06
M14	5,09 ± 0.09	41,80 ± 0,04	46,63 ± 0,33	18,13 ± 0,04
M15	5,10 ± 0.10	41,91 ± 0,00	28,29 ± 0,38	21,29 ± 0,02
M16	5,09 ± 0.09	40,69 ± 0,02	58,00 ± 0,00	21,10 ± 0,01
M17	5,09 ± 0.09	30,53 ± 0,03	47,96 ± 0,19	27,87 ± 0,16
M18	5,09 ± 0.09	32,58 ± 0,02	58,21 ± 0,07	22,20 ± 0,03
M19	5,33 ± 0.10	35,80 ± 0,05	65,54 ± 0,29	19,93 ± 0,03
M20	5,10 ± 0.12	30,68 ± 0,01	54,33 ± 0,31	24,92 ± 0,17
M21	5,41 ± 0.00	36,18 ± 0,05	46,92 ± 0,44	20,48 ± 0,41
M22	5,41 ± 0.00	35,44 ± 0,01	52,13 ± 0,33	21,73 ± 0,23
M23	5,41 ± 0.00	37,32 ± 0,02	49,21 ± 0,31	31,63 ± 0,13
M24	5,39 ± 0.01	38,29 ± 0,03	58,13 ± 0,33	25,78 ± 0,27
M25	5,40 ± 0.00	28,18 ± 0,05	65,42 ± 0,36	15,13 ± 0,02
M26	5,04 ± 0.00	28,54 ± 0,03	61,67 ± 0,52	31,68 ± 0,01
M27	5,39 ± 0.00	36,81 ± 0,04	85,71 ± 0,19	32,53 ± 0,48
M28	5,40 ± 0.00	33,20 ± 0,04	76,58 ± 0,14	23,96 ± 0,55
M29	5,10 ± 0.11	27,81 ± 0,04	82,88 ± 0,38	24,85 ± 0,06
M30	5,40 ± 0.00	34,18 ± 0,04	64,21 ± 0,44	31,52 ± 0,01
M31	5,31 ± 0.09	34,06 ± 0,00	75,46 ± 0,31	24,60 ± 0,20

El contenido de Fe, encontrado en las muestras varió entre $40,51 \pm 0,01$ – $14,46 \pm 0,01$ ppm, el mayor contenido lo presentó la muestra de grano fresco seco M31, de la variedad ICS-95 del sector de Frontera y el menor el grano fermentado seco M3, de la variedad CCN-51 del sector Pumahuasi, respectivamente. Se sabe que la dosis diaria recomendada de Fe en adultos sanos normales es de 8 mg / día para hombres y mujeres posmenopáusicas y 18 mg / día para mujeres que menstrúan (FARTUSIE y MOHSSAN, 2017), los resultados encontrados de Fe, estarían cubriendo fácilmente estos requerimientos. También se ha reportado contenidos 183 – 65,5 ppm en granos de cacao y derivados (BERTOLDI *et al.*, 2016).

El contenido de Zn, encontrado en las muestras vario entre $90,46 \pm 0,19$ – $20,75 \pm 0,25$ ppm, el mayor contenido lo presentó la muestra de grano fresco seco M30, variedad Común del sector de Frontera y el menor el grano fermentado seco M18, de la variedad CCN-51 del sector de Pendencia, respectivamente. La cantidad diaria recomendada (RDA) establecida para Zn es 8 mg / día para mujeres y 11 mg / día para hombres, apreciándose que las muestras presentaron una cantidad suficiente para cubrir este requerimiento. Se ha reportado que el Zn se encontró entre 39,4 – 73,4 ppm en muestras de granos de cacao y derivados (BERTOLDI *et al.*, 2016), rango similar al encontrado en las muestras evaluadas.

El contenido de manganeso (Mn) vario entre $33,04 \pm 0,10$ – 3,78 ppm, el mayor contenido lo presento el grano fresco seco, muestra M15, variedad CCN-51 del sector de Pendencia y el menor contenido lo presentó el grano fermentado seco, muestra M11, variedad Común del sector de Mapresa,

respectivamente. Mn ayuda al cuerpo a formar tejido conectivo, huesos, factores de coagulación de la sangre y hormonas sexuales. También desempeña un papel en el metabolismo de las grasas y los carbohidratos, la absorción de calcio y la regulación del azúcar en la sangre. Mn también es necesario para la función normal del cerebro y los nervios. Además, el Mn es un componente clave de los sistemas enzimáticos, incluidas las enzimas que manejan oxígeno. Es un componente que ayuda a combatir los radicales libres. La dosis diaria recomendada de Mn es de 2,3 mg / día para los varones adultos y 1,8 mg / día para las mujeres adultas (FARTUSIE y MOHSSAN, 2017). Los valores encontrados en las muestras estudiadas satisfacen adecuadamente estos requerimientos. También se reportó un contenido de Mn para granos de cacao y derivados entre 24,1 – 35,4 (BERTOLDI *et al.*, 2016), valores similares a los encontrados.

La información de microelementos investigados, en las 12 muestras seleccionadas y que se presentan incluidas en los resultados de los Cuadros 12 al 14, fueron utilizados para desarrollar el modelo de componentes principales (ACP) para estos elementos (Figura 11), el cual se utilizó para identificar la similitud en el contenido de minerales de las muestras, estableciéndose las correlaciones entre ellas.

La Figura 11, explica el ACP (96%), del contenido de microelementos y su correlación con las muestras; se puede apreciar claramente que el mayor contenido lo tiene el Zn1 en las muestras frescas secas M30, M22,

M23 y M9 y el menor en las muestras M25, M14 y M4; también se aprecia que el contenido de Manganeso (Mn3) es mayor en las muestras de pasta de cacao y en las mismas muestras indicadas, luego disminuyó para muestras frescas secas y muestras fermentadas secas. La presencia de cobre en las muestras fermentadas secas y en pasta de cacao fueron ligeramente diferentes. La figura indica también que el hierro estaba presente en menor cantidad en la muestra M25, luego aumentó en las muestras M14, M4, M8 y M10.

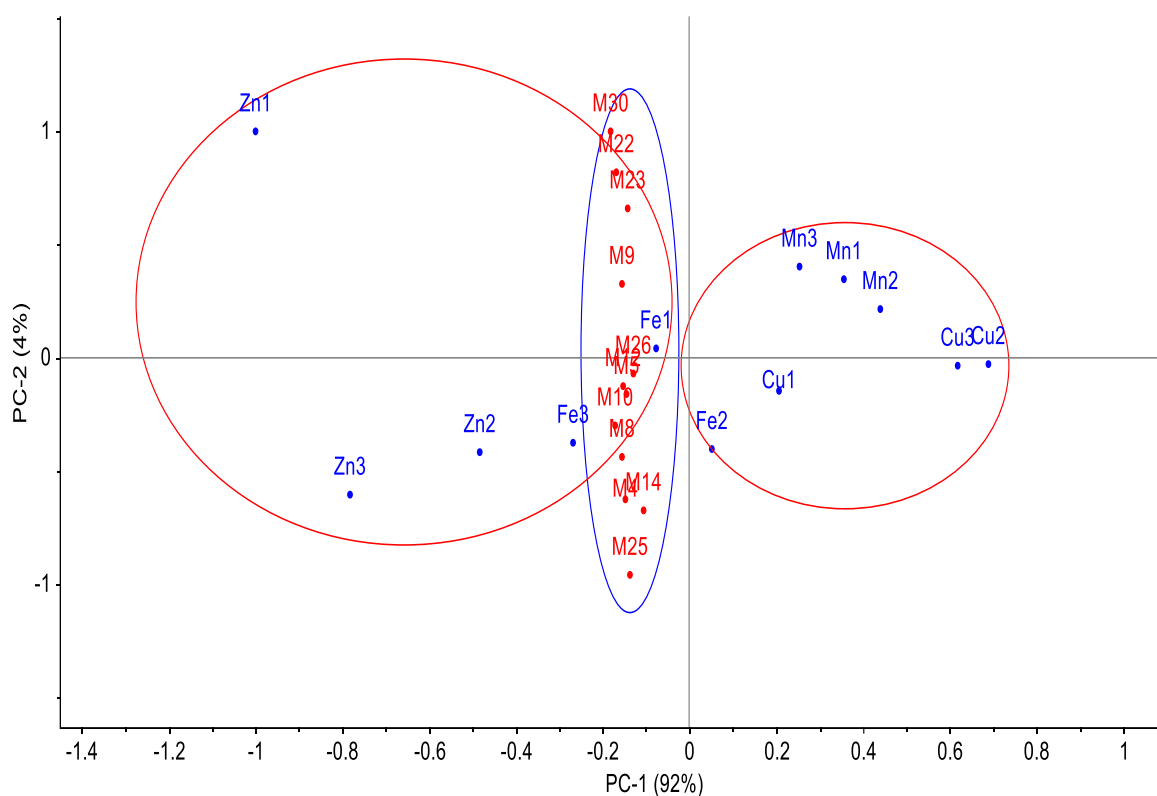


Figura 11. Biplot del ACP, PC1 (92%) y PC2 (4%), que explican la relación entre microelementos cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn) en las 12 muestras seleccionadas.

5.4. Contenidos de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en las muestras

En el Cuadro 16, se muestra el contenido de Metales Pesados en las muestras de granos frescos secos, fermentados secos y pasta de cacao. En forma general, considerando todas las muestras, el menor contenido de cadmio (Cd) fue encontrado en la muestra de pasta de cacao M27, de la variedad CCN-51 del sector de Frontera con 0.05 ppm y el mayor contenido en la muestra de grano fresco seco M17, de la variedad Común del sector de Pendencia con $1,20 \pm 0,02$ ppm. El menor contenido de plomo (Pb) lo presentó la muestra de pasta de cacao M15, variedad CCN-51 del sector de Pendencia con $0,20 \pm 0,02$ ppm y el mayor contenido lo presento la muestra de grano fresco seco M15, de variedad CCN-51 del sector de Pendencia con $4,66 \pm 0,01$ ppm.

Cuadro 16. Metales Pesados en los granos frescos secos, fermentados secos y pasta de cacao ($\bar{X} \pm DS$, ppm, n = 3).

Nº	Granos frescos secos		Granos fermentados secos		Pasta de cacao	
	Cd1	Pb1	Cd2	Pb2	Cd3	Pb3
M1	0,93 ± 0,01	1,28 ± 0,01	0,18 ± 0,01	1,96 ± 0,03	0,10 ± 0,00	0,38 ± 0,01
M2	0,91 ± 0,03	2,54 ± 0,03	0,16 ± 0,02	2,53 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,78 ± 0,03
M3	0,66 ± 0,02	3,96 ± 0,00	0,20 ± 0,01	2,56 ± 0,04	0,08 ± 0,01	1,84 ± 0,01
M4	0,11 ± 0,00	4,48 ± 0,00	0,08 ± 0,00	2,08 ± 0,04	0,05 ± 0,00	2,27 ± 0,01
M5	0,09 ± 0,00	4,39 ± 0,00	0,09 ± 0,00	2,48 ± 0,01	0,08 ± 0,00	1,42 ± 0,02
M6	0,08 ± 0,01	2,93 ± 0,02	0,11 ± 0,00	2,81 ± 0,05	0,06 ± 0,00	1,35 ± 0,02
M7	0,05 ± 0,01	3,19 ± 0,04	0,06 ± 0,01	2,40 ± 0,02	0,06 ± 0,01	2,01 ± 0,01
M8	0,33 ± 0,01	3,91 ± 0,01	0,15 ± 0,00	2,57 ± 0,02	0,14 ± 0,00	0,66 ± 0,01
M9	0,34 ± 0,00	3,20 ± 0,04	0,14 ± 0,00	2,45 ± 0,00	0,13 ± 0,01	0,90 ± 0,01
M10	0,61 ± 0,01	2,57 ± 0,05	0,16 ± 0,00	2,70 ± 0,01	0,15 ± 0,00	1,58 ± 0,02
M11	0,61 ± 0,01	2,55 ± 0,03	0,11 ± 0,00	2,83 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,82 ± 0,01
M12	0,15 ± 0,00	3,05 ± 0,03	0,15 ± 0,01	3,16 ± 0,05	0,09 ± 0,03	0,44 ± 0,01
M13	0,22 ± 0,03	3,84 ± 0,04	0,14 ± 0,00	2,82 ± 0,04	0,07 ± 0,01	0,60 ± 0,01
M14	0,33 ± 0,03	4,43 ± 0,03	0,08 ± 0,00	2,84 ± 0,03	0,05 ± 0,00	0,54 ± 0,04
M15	0,30 ± 0,02	4,66 ± 0,01	0,09 ± 0,00	3,01 ± 0,00	0,08 ± 0,00	0,20 ± 0,02
M16	0,33 ± 0,02	4,46 ± 0,03	0,13 ± 0,00	2,54 ± 0,02	0,09 ± 0,00	0,35 ± 0,01
M17	1,21 ± 0,02	4,41 ± 0,03	0,15 ± 0,00	3,05 ± 0,05	0,13 ± 0,01	0,51 ± 0,01
M18	1,18 ± 0,02	4,40 ± 0,2	0,18 ± 0,00	3,07 ± 0,04	0,18 ± 0,00	0,79 ± 0,04
M19	1,20 ± 0,04	3,05 ± 0,04	0,14 ± 0,00	3,28 ± 0,01	0,13 ± 0,00	0,82 ± 0,01
M20	0,16 ± 0,01	3,44 ± 0,05	0,08 ± 0,01	3,57 ± 0,04	0,08 ± 0,00	0,93 ± 0,03
M21	0,19 ± 0,01	1,35 ± 0,02	0,11 ± 0,01	2,88 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,93 ± 0,01
M22	0,14 ± 0,01	1,33 ± 0,05	0,08 ± 0,01	3,07 ± 0,04	0,08 ± 0,00	1,16 ± 0,00
M23	0,17 ± 0,01	3,08 ± 0,04	0,10 ± 0,00	3,21 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,97 ± 0,01
M24	0,17 ± 0,03	3,59 ± 0,03	0,09 ± 0,00	3,33 ± 0,04	0,07 ± 0,01	1,08 ± 0,02
M25	0,15 ± 0,00	3,08 ± 0,04	0,08 ± 0,00	3,45 ± 0,05	0,05 ± 0,00	1,22 ± 0,02
M26	0,16 ± 0,03	2,79 ± 0,01	0,10 ± 0,01	3,54 ± 0,03	0,07 ± 0,01	1,27 ± 0,01
M27	0,14 ± 0,01	2,95 ± 0,05	0,06 ± 0,00	3,17 ± 0,01	0,05 ± 0,00	1,33 ± 0,00
M28	0,21 ± 0,03	4,23 ± 0,00	0,14 ± 0,00	3,03 ± 0,02	0,09 ± 0,00	1,38 ± 0,02
M29	0,95 ± 0,02	4,55 ± 0,04	0,16 ± 0,00	3,34 ± 0,03	0,15 ± 0,01	1,36 ± 0,01
M30	0,59 ± 0,03	4,08 ± 0,01	0,16 ± 0,00	3,42 ± 0,02	0,13 ± 0,01	1,30 ± 0,01
M31	0,42 ± 0,04	4,55 ± 0,04	0,14 ± 0,00	3,56 ± 0,05	0,13 ± 0,00	1,32 ± 0,03

En la Figura 12, se muestra el ACP, para el cadmio y su relación con las muestras, allí se aprecia que el PC1 explica el 99% del contenido de este metal en las muestras y el PC2 solamente el 1%. Indico que las muestras de granos frescos secos M19, M18, M17, M29, M1, M2, M3, M10, M11 y M30, presentaron los contenidos más altos de cadmio (Cd1), variando entre $0,59 \pm 0,03$ (M30) – $1,21 \pm 0,02$ (M17) ppm y los más bajos, 20 muestras; variando entre $0,05 \pm 0,01$ – $0,34 \pm 0,00$ ppm; siendo la muestra M7, variedad FC4 del sector Pumahuasi la que presentó 0.34 ppm de cadmio. Al respecto el reglamento (UE) No 488/2014 (REGLAMENTO (UE), 2014), establecerá un contenido máximo de cadmio de 0,8 ppm para chocolate con un contenido de materia seca total de cacao ≥ 50 %, a partir de enero del año 2019. Por lo tanto, ninguna de las muestras señaladas supera este límite. También se estaría incluyendo las muestras M31, M30, M10, M11 hasta la M3 con un contenido de cadmio máximo de $0,61 \pm 0,01$ ppm; llegando a 25 muestras de un total de 31, que no superaron la reglamentación establecida. (BERTOLDI *et al.*, 2016), han reportado contenidos de cadmio en granos de cacao y subproductos entre 0,0926 – 1,388 ppm y entre 0,17 – 2,16 ppm; (LEWIS *et al.*, 2018), además indicaron que el cadmio (Cd) es un metal pesado no esencial que es tóxico tanto para las plantas como para los animales. En los seres humanos, el bajo nivel de exposición al Cd se ha relacionado con la disfunción renal, la osteoporosis y varios tipos de cáncer.

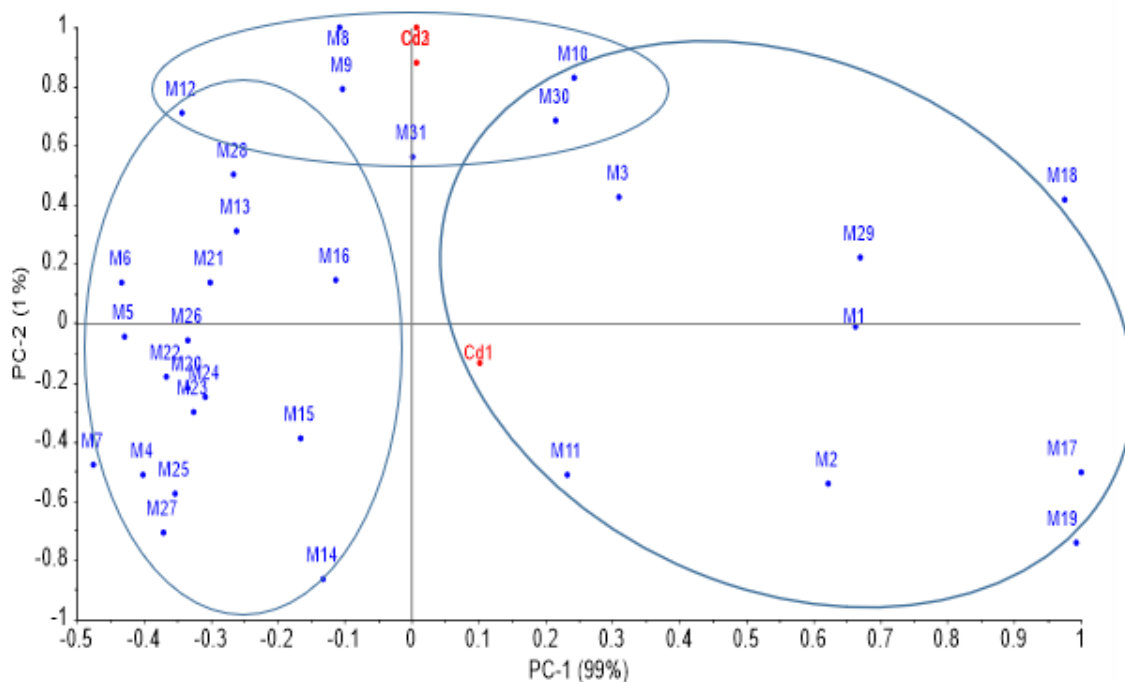


Figura 12. Biplot del ACP, PC1 (99%) y PC2 (1%), que explican la relación entre contenido de cadmio (Cd), y las muestras.

En la Figura 13, se muestra el ACP, para el plomo y su relación con las muestras, allí se aprecia que el PC1 explica el 70% del contenido de este metal en las muestras y el PC2 el 18%. El biplot explica el 88% de la variabilidad de las respuestas, apreciándose que existieron tres grupos diferentes, las muestras de granos de cacao fresco secos, con el mayor contenido de Pb, variando entre $3,44 \pm 0,05$ (M20) – $4,66 \pm 0,007$ (M15) ppm; las de contenido medio variando entre $2,54 \pm 0,03$ (M2) - $3,20 \pm 0,04$ (M9) ppm y las muestras con los contenidos más bajos de Pb, muestras M1 ($1,28 \pm 0,01$ ppm), M21 ($1,35 \pm 0,02$ ppm) y M22 ($1,33 \pm 0,05$ ppm). Según (BERTOLDI *et al.*, 2016), han reportado contenidos de Pb en granos de cacao y derivados, procedentes de diversas partes del mundo con valores entre $0,0528$ – $0,1881$ ppm, el

REGLAMENTO (UE), (2015), ha establecido límites en el contenido de Pb en diversos alimentos que varía entre 0,01 – 3,00 ppm; de igual modo se ha indicado que el plomo podía tener graves efectos nocivos, como neurotoxicidad en los niños de corta edad, y efectos cardiovasculares y nefrotoxicidad en los adultos. Los resultados de Pb encontrados, en algunos casos superan estos límites, pero debe considerarse la cantidad de consumo que realice cada individuo y sería recomendable, profundizar el estudio de este metal, en otras muestras de granos de cacao y derivados, considerando un especial interés al método de determinación de plomo.

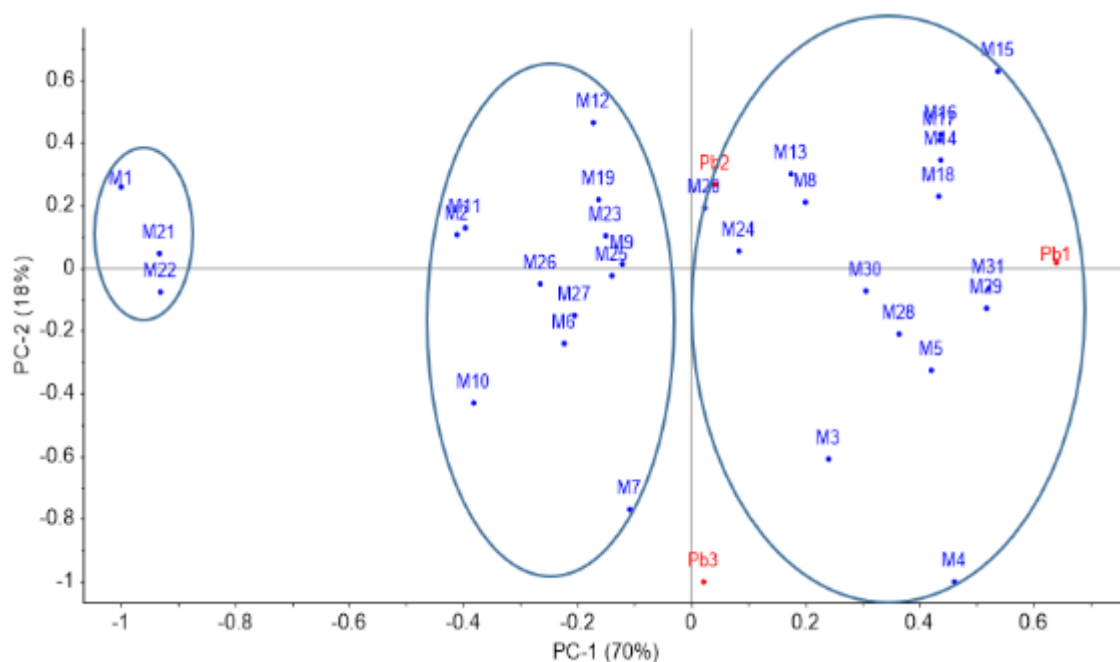


Figura 13. Biplot del ACP, PC1 (70%) y PC2 (18%), que explican la relación entre contenido de plomo (Pb), y las muestras.

5.5. Contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante en los granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao

En el Cuadro 17, se presenta el contenido de compuestos bioactivos en estudio; es decir el contenido de polifenoles totales (PPT) y antocianinas totales (ANT), en los granos frescos secos, fermentados seco y pasta de cacao, se presentaron como sigue. El contenido de PPT fue mayor en el grano fresco seco, lo presentó la muestra M20, de variedad Común del sector de Huayhuantillo con $5,01 \pm 0,08$ g AGE/ 100 g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M19, variedad Criollo del sector de Pendencia con $3,27 \pm 0,04$ g AGE/ 100 g de muestra. El contenido de PPT disminuyó en los granos fermentados secos, con mayor contenido en la muestra M15, variedad CCN-51 del sector de Pendencia con $3,30 \pm 0,02$ g AGE/100 g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M14 variedad Común del sector de Pendencia con $1,24 \pm 0,03$ g AGE/100 g de muestra. El contenido de PPT, también disminuyó en las muestras de pasta de cacao lo presentó la muestra M18, variedad CCN-51 del sector de Pendencia con $3,12 \pm 0,01$ g AGE/100 g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M30, variedad Común del sector de Frontera con $1,70 \pm 0,02$ g AGE/100 g de muestra. PELÁEZ *et al.*, (2016), han reportado contenidos de polifenoles totales en granos secos de cacao sin fermentar y su variación durante la fermentación, disminuyendo desde $7,0 - 5,05 \pm 0,02$ g AGE/100 g, en un sistema de fermentación semimecanizado.

Cuadro 17. Polifenoles Totales (PPT, g AGE/100 g), Antocianinas Totales (ANT, mg Cianidina-3-Glucósido/100 g) en las muestras.

Nº	Granos frescos secos (n = 3)		Granos fermentados secos (n = 3)		Pasta de cacao (n = 3)	
	PPT	ANT	PPT	ANT	PPT	ANT
M1	3,73 ± 0,03	32,29 ± 0,39	2,32 ± 0,01	5,20 ± 0,19	2,48 ± 0,00	8,02 ± 0,00
M2	4,87 ± 0,02	39,98 ± 1,26	2,27 ± 0,01	3,34 ± 0,33	2,49 ± 0,01	12,81 ± 1,17
M3	4,87 ± 0,01	41,42 ± 0,33	2,33 ± 0,02	2,45 ± 0,19	2,30 ± 0,00	7,02 ± 0,00
M4	4,34 ± 0,04	17,93 ± 0,19	3,20 ± 0,01	20,38 ± 0,33	2,98 ± 0,02	12,58 ± 0,19
M5	4,00 ± 0,04	21,49 ± 0,51	2,27 ± 0,03	4,06 ± 0,35	2,41 ± 0,01	3,79 ± 0,19
M6	3,98 ± 0,02	41,54 ± 0,39	2,30 ± 0,04	3,79 ± 0,19	2,18 ± 0,02	12,58 ± 0,51
M7	4,05 ± 0,05	19,60 ± 0,19	2,75 ± 0,00	21,55 ± 1,93	2,12 ± 0,01	5,57 ± 0,19
M8	3,45 ± 0,09	39,53 ± 1,96	2,41 ± 0,03	24,89 ± 1,17	2,68 ± 0,02	12,81 ± 0,19
M9	4,60 ± 0,08	21,71 ± 0,00	1,63 ± 0,00	4,51 ± 1,37	1,82 ± 0,01	5,23 ± 0,19
M10	3,71 ± 0,06	18,37 ± 0,33	2,30 ± 0,01	19,71 ± 1,00	1,81 ± 0,02	15,37 ± 0,33
M11	4,03 ± 0,03	28,17 ± 0,39	1,34 ± 0,03	4,84 ± 0,17	1,74 ± 0,01	7,91 ± 0,19
M12	4,81 ± 0,01	36,75 ± 1,00	2,27 ± 0,00	18,21 ± 0,17	1,96 ± 0,01	4,90 ± 0,19
M13	4,14 ± 0,05	40,09 ± 1,34	1,98 ± 0,01	4,18 ± 0,17	1,95 ± 0,01	11,02 ± 0,00
M14	3,57 ± 0,01	17,04 ± 0,33	1,24 ± 0,03	15,70 ± 0,00	2,46 ± 0,03	5,01 ± 0,00
M15	4,67 ± 0,02	39,98 ± 0,19	3,30 ± 0,02	27,89 ± 1,81	2,25 ± 0,03	6,12 ± 0,19
M16	3,60 ± 0,06	22,61 ± 0,84	2,69 ± 0,00	4,34 ± 0,58	2,45 ± 0,02	12,92 ± 0,51
M17	3,41 ± 0,04	17,04 ± 0,67	2,77 ± 0,00	4,6 ± 0,63	2,19 ± 0,02	8,57 ± 0,19
M18	3,96 ± 0,01	22,83 ± 0,19	1,80 ± 0,01	30,34 ± 0,68	3,12 ± 0,01	11,80 ± 0,51
M19	3,27 ± 0,04	31,63 ± 0,70	2,02 ± 0,01	8,57 ± 0,19	3,01 ± 0,01	12,47 ± 0,19
M20	5,01 ± 0,08	44,88 ± 0,51	2,06 ± 0,02	12,08 ± 0,35	2,95 ± 0,03	11,25 ± 0,19
M21	4,37 ± 0,03	43,43 ± 0,33	2,81 ± 0,01	29,18 ± 0,77	1,79 ± 0,01	6,12 ± 0,19
M22	3,69 ± 0,04	19,15 ± 0,19	1,83 ± 0,03	20,77 ± 0,35	2,02 ± 0,02	4,23 ± 0,19
M23	4,41 ± 0,05	18,37 ± 0,33	1,50 ± 0,01	24,33 ± 0,35	2,00 ± 0,04	3,12 ± 0,19
M24	3,56 ± 0,06	19,71 ± 0,33	2,24 ± 0,04	21,49 ± 1,68	2,11 ± 0,03	4,23 ± 0,19
M25	3,57 ± 0,02	15,14 ± 0,39	2,45 ± 0,02	10,47 ± 1,17	2,57 ± 0,02	4,34 ± 0,00
M26	3,71 ± 0,01	17,59 ± 0,39	2,01 ± 0,02	20,38 ± 0,33	2,27 ± 0,02	5,57 ± 0,19
M27	4,03 ± 0,02	27,84 ± 0,39	1,95 ± 0,02	12,03 ± 0,33	1,71 ± 0,02	6,24 ± 0,19
M28	4,17 ± 0,02	32,63 ± 0,19	2,73 ± 0,03	10,47 ± 0,84	2,14 ± 0,01	11,14 ± 0,19
M29	4,67 ± 0,03	43,87 ± 2,84	2,39 ± 0,00	7,46 ± 0,39	1,97 ± 0,02	8,57 ± 0,19
M30	3,79 ± 0,07	27,95 ± 1,51	1,84 ± 0,04	16,59 ± 0,19	1,70 ± 0,02	13,03 ± 0,00
M31	3,46 ± 0,03	10,24 ± 0,51	2,24 ± 0,01	20,88 ± 0,50	2,69 ± 0,02	11,36 ± 0,00

En términos generales el contenido de ANT, disminuyó, siendo mayor en el grano fresco seco y menor en las muestras de pasta. El mayor contenido de ANT en los granos frescos secos, lo presentó la muestra M20, variedad Común del sector de Huayhuantillo con $44,88 \pm 0,51$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M31, variedad ICS-55 del sector de Frontera con $10,24 \pm 0,51$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra. El mayor contenido de ANT en los granos fermentados secos, lo presentó la muestra M18, variedad CCN-51 del sector de Pendencia con $30,34 \pm 0,68$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M3, variedad CCN-51 del sector de Pumahuasi con $2,45 \pm 0,19$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra. El mayor contenido de ANT en las pastas de cacao, lo presentó la muestra M10, variedad Criollo del sector de José de Pucate con $15,37 \pm 0,33$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M23, variedad Común del sector de Frontera con $3,12 \pm 0,19$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra. En cuanto al contenido de antocianinas en granos de cacao, (ZAPATA *et al.*, 2013), han reportado variaciones entre 0,16 – 0,027 g cianidina-3-glucósido/100 g, para granos fermentados y sin fermentar respectivamente.

En el Cuadro 18, se presentan los resultados de Capacidad Antioxidante como Equivalente Trolox (CAET) de los granos frescos secos, fermentados secos y en la pasta de cacao.

Cuadro 18. Capacidad Antioxidante en los granos frescos secos, fermentados secos y en pasta de cacao ($\mu\text{M ET/g}$) ($\bar{X} \pm \text{DS}$).

Nº	Granos frescos secos (n = 3)		Granos fermentados secos (n = 3)		Pasta de cacao (n = 3)	
	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH
M1	461,35 ± 0,86	464,19 ± 0,49	247,17 ± 2,39	125,09 ± 0,21	311,82 ± 0,52	194,83 ± 0,42
M2	491,27 ± 0,86	481,06 ± 0,49	155,02 ± 0,00	119,29 ± 0,11	334,85 ± 1,80	154,05 ± 1,90
M3	387,55 ± 1,50	413,28 ± 0,84	224,43 ± 0,60	79,95 ± 0,21	285,79 ± 1,37	200,31 ± 0,42
M4	392,54 ± 0,86	425,38 ± 0,49	227,42 ± 1,80	124,45 ± 1,69	277,41 ± 0,90	195,25 ± 0,42
M5	450,38 ± 1,50	458,28 ± 0,49	262,73 ± 0,00	93,03 ± 0,21	223,55 ± 1,80	146,32 ± 1,27
M6	427,94 ± 2,99	444,50 ± 0,84	170,78 ± 5,09	98,40 ± 0,53	252,28 ± 0,90	91,05 ± 0,42
M7	450,88 ± 0,86	458,28 ± 0,49	235,20 ± 0,60	95,45 ± 0,53	224,45 ± 2,69	155,18 ± 0,42
M8	395,03 ± 1,50	409,06 ± 0,84	264,72 ± 1,51	107,58 ± 0,63	380,93 ± 0,52	123,26 ± 0,64
M9	344,67 ± 0,86	380,66 ± 0,49	148,04 ± 2,70	71,93 ± 1,69	383,62 ± 1,37	129,02 ± 0,42
M10	591,50 ± 3,76	513,68 ± 0,84	231,61 ± 1,80	104,52 ± 1,79	307,33 ± 1,37	187,52 ± 1,22
M11	447,39 ± 2,99	429,88 ± 1,76	249,16 ± 0,35	121,40 ± 0,74	277,41 ± 0,00	129,86 ± 0,42
M12	383,06 ± 1,50	393,88 ± 0,84	239,59 ± 0,91	137,43 ± 0,32	283,09 ± 1,37	166,35 ± 1,05
M13	445,89 ± 2,99	412,44 ± 1,69	250,96 ± 2,10	109,06 ± 1,27	219,37 ± 1,37	178,80 ± 0,84
M14	461,85 ± 3,11	438,03 ± 2,12	145,05 ± 0,35	95,77 ± 1,05	411,45 ± 0,52	192,72 ± 0,42
M15	486,28 ± 2,99	454,62 ± 2,23	227,82 ± 1,92	116,65 ± 0,21	357,29 ± 0,90	191,88 ± 0,84
M16	365,11 ± 2,99	383,75 ± 1,69	117,12 ± 2,83	69,19 ± 0,63	403,67 ± 1,37	139,15 ± 1,69
M17	407,00 ± 0,00	407,38 ± 0,00	278,88 ± 2,61	100,09 ± 0,53	377,34 ± 1,37	203,90 ± 1,90
M18	361,12 ± 0,86	381,50 ± 0,49	177,36 ± 1,73	96,72 ± 0,32	164,61 ± 1,37	138,51 ± 0,63
M19	293,31 ± 2,99	342,13 ± 2,58	116,33 ± 0,91	109,58 ± 0,53	412,34 ± 2,26	206,64 ± 3,37
M20	326,22 ± 3,96	362,10 ± 2,12	121,81 ± 1,37	70,77 ± 0,32	221,16 ± 0,52	207,06 ± 0,42
M21	482,29 ± 0,86	449,84 ± 0,49	214,56 ± 2,34	121,50 ± 0,84	206,80 ± 4,05	195,46 ± 1,05
M22	499,75 ± 2,59	459,12 ± 2,12	238,79 ± 1,20	110,32 ± 0,21	220,86 ± 1,80	192,93 ± 0,63
M23	535,15 ± 1,73	478,81 ± 2,12	206,78 ± 2,89	108,74 ± 0,11	232,53 ± 2,37	175,00 ± 0,42
M24	558,59 ± 2,29	492,87 ± 1,29	211,57 ± 1,37	112,85 ± 0,21	250,18 ± 2,59	170,92 ± 1,29
M25	534,15 ± 2,99	482,47 ± 3,37	126,00 ± 1,82	116,33 ± 0,32	329,77 ± 1,37	195,25 ± 0,42
M26	514,71 ± 1,50	476,56 ± 0,84	225,33 ± 2,89	111,69 ± 2,64	260,95 ± 1,87	189,56 ± 0,21
M27	541,63 ± 2,99	483,31 ± 1,69	177,16 ± 2,61	118,02 ± 0,32	195,43 ± 2,74	163,40 ± 1,90
M28	426,45 ± 3,96	418,34 ± 2,23	283,37 ± 1,37	117,49 ± 0,21	278,31 ± 0,90	204,32 ± 1,48
M29	327,71 ± 1,50	362,66 ± 0,84	244,18 ± 2,61	126,04 ± 0,32	262,15 ± 1,80	233,85 ± 1,48
M30	336,69 ± 2,99	370,82 ± 1,76	198,40 ± 2,34	109,16 ± 0,32	200,22 ± 1,80	216,20 ± 1,29
M31	298,29 ± 0,86	346,07 ± 0,49	187,93 ± 1,20	118,23 ± 0,11	222,36 ± 1,37	217,40 ± 1,05

El mayor contenido de CAET determinado por ensayo ABTS en el grano fresco seco, lo presentó la muestra M10, variedad Criollo del sector San José de Pucate con $591,50 \pm 3,76 \mu\text{M ET/g}$ de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M19, variedad Criollo del sector Pendencia con $293,31 \pm 2,99 \mu\text{M ET/g}$ de muestra. El mayor contenido de CAET determinado por ensayo DPPH en los granos frescos secos, lo presentó la muestra M10, variedad Criollo del sector San José de Pucate con $513,68 \pm 0,84 \mu\text{M ET/g}$ de muestra y el menor contenido lo presentó la muestra M19, variedad Criollo del sector Pendencia con $342,13 \pm 2,58 \mu\text{M ET/g}$ de muestra.

El mayor contenido de CAET por ensayo ABTS en los granos fermentados secos, lo presentó la muestra M28, variedad ICS-95 del sector Frontera con $283,37 \pm 1,37 \mu\text{M ET/g}$ de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M19, variedad Criollo del sector Pendencia con $116,33 \pm 0,91 \mu\text{M ET/g}$ de muestra. El mayor contenido de CAET por ensayo DPPH en los granos fermentados secos, lo presentó la muestra M12, variedad CCN-51 del sector Mapresa con $137,43 \pm 0,32 \mu\text{M ET/g}$ de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M16, VPA-2 del sector Pendencia con $69,19 \pm 0,63 \mu\text{M ET/g}$ de muestra.

El mayor contenido de CAET por ensayo ABTS en pasta de cacao, lo presentó la muestra M19, variedad Criollo del sector Pendencia con $412,34 \pm 2,26 \mu\text{M ET/g}$ de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M18, variedad CCN-51 del sector Pendencia con $164,61 \pm 1,37 \mu\text{M ET/g}$ de muestra. El mayor contenido de CAET por ensayo DPPH en pasta de cacao, lo presentó la muestra M29, variedad CCN-51 del sector Mapresa con $233,85 \pm 1,48 \mu\text{M}$

ET/g de muestra, y el menor contenido lo presentó la muestra M6, FC3 del sector Pumahuasi con $91,05 \pm 0,42 \mu\text{M ET/g}$ de muestra.

Las gráficas de puntajes del ACP de la Figura 14 y gráfica de cargas de la Figura 15, explican el 99% de la variabilidad de respuestas, apreciándose la formación de cuatro agrupamientos, de izquierda a derecha; uno formado en el PC-1, por las variables de capacidad antioxidante (ABTS1, DDPH1), de muestras de granos de cacao frescas secas, relacionadas a 10 muestras, M10, M24, M25, M23, M26, M2, M15, M27, M1, y M22. En este grupo la muestra M10, de grano fresco seco, presentó la mayor capacidad antioxidante en función a los radicales ABTS1 y DDPH1, con valores de $591,50 \pm 3,76$ y $513,68 \pm 0,84 \mu\text{M ET/g}$, capacidad que fue disminuyendo según la ubicación de las muestras hacia la derecha del grupo.

El agrupamiento dos, formado por las variables de capacidad antioxidante (ABTS2, DPPH2), de muestras de granos fermentados secos y capacidad antioxidante (DPPH3), de muestras de pasta de cacao, relacionadas a 10 muestras: M21, M5, M7, M11, M28, M6, M13, M4, M3 y M12. Estas muestras presentaron valores de capacidades antioxidantes intermedias, en relación a las variables indicadas.

El agrupamiento tres, formado por las variables del contenido de polifenoles totales y antocianinas (PPT1, PPT2, PPT3, ANT1, ANT2, ANT3), en las muestras de granos de cacao frescos secos, granos fermentados secos y en las muestras de pasta de cacao, relacionadas con 5 muestras: M29, M18, M30, M20 y M31. Estas muestras son las que presentaron las menores capacidades antioxidantes, en el orden de izquierda a derecha, con valores de ABTS entre

244,18 \pm 2,61 – 327,71 \pm 1,50 μ M ET/g y de DPPH entre 126,04 \pm 0,32 – 362,66 \pm 0,84 μ M ET/g; con la característica de que las muestras de grano fresco seco presentaron los valores más altos y los granos fermentados secos los valores más bajos.

El agrupamiento cuatro, superior, formado en el PC-2, por la variable de capacidad antioxidante (ABTS3), en las muestras de pasta de cacao, relacionada con 6 muestras: M19, M16, M9, M14, M8 y M7. En este grupo la muestra M19, de pasta de cacao, presentó la mayor capacidad antioxidante en función al radical ABTS3, con el valor de 412,34 \pm 2,26 μ M ET/g, capacidad que fue disminuyendo según la ubicación de las muestras hacia abajo del grupo.

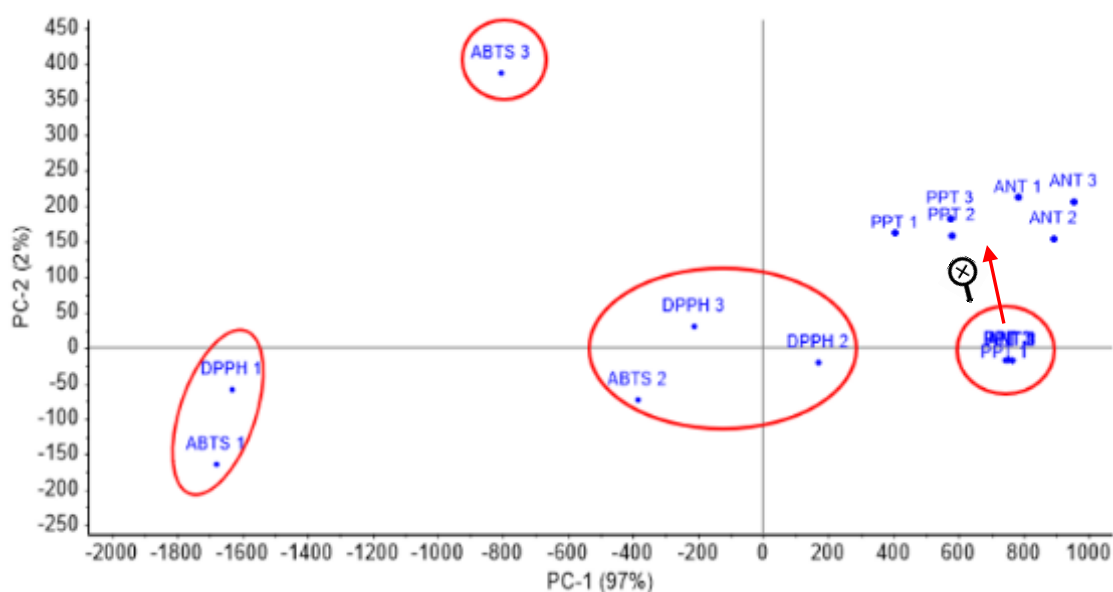


Figura 14. Grafica de puntajes del ACP, PC1 (94%) y PC2 (2%), que explican la relación entre las variables de capacidad antioxidante, polifenoles y antocianinas.

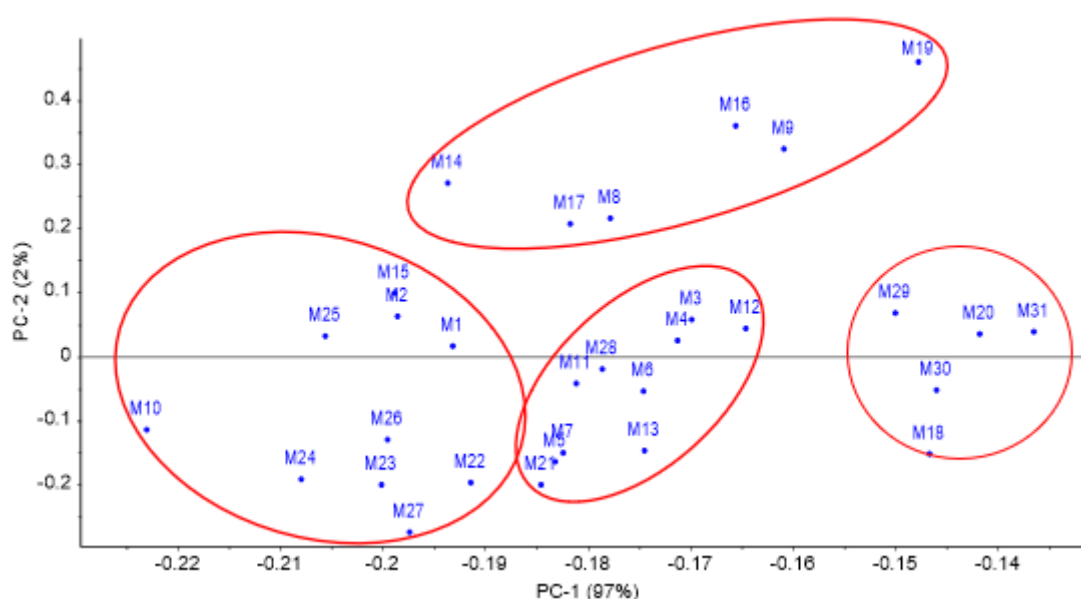


Figura 15. Grafica de cargas del ACP, PC1 (94%) y PC2 (2%), que correlaciona las muestras y que explican la afinidad de características entre ellas, en el análisis de capacidad antioxidante, polifenoles y antocianinas.

ZAPATA *et al.* (2013), han reportado capacidades antioxidantes DPPH, expresados en equivalentes de trolox, en diversas muestras de granos de cacao sin fermentar y fermentados, con valores que variaron en el rango de $251,59 \pm 10,62 - 464,64 \pm 21,68 \mu\text{M ET/g}$, siendo mayor en el grano sin fermentar. PEREA *et al.*, (2009), también han reportado capacidades antioxidantes ABTS, expresados en equivalentes de trolox, en muestras de granos fermentados secos y pasta de cacao, con valores que variaron en el rango de $270,11 \pm 82,40 - 361,45 \pm 44,68 \mu\text{M ET/g}$, con mayor capacidad antioxidante en los granos fermentados secos. En términos generales, los contenidos de polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, expresados como $\mu\text{M ET/100g}$), encontrados en las muestras evaluadas fueron similares a los reportados en las diversas referencias citadas.

VI. CONCLUSIONES

El análisis de componentes principales determinó que el calcio alcanzó el mayor contenido en el grano fresco seco (M26), con 3,14%. El mayor contenido de potasio en el grano fresco seco, correspondió a la muestra M13, con 2,44%. Doce muestras tuvieron mayor influencia en la variabilidad de respuesta.

En el contenido de zinc, en los granos frescos secos, fue mayor en las muestras M30, M22, M23 y M9; con $90,46 \pm 0,19$ ppm, en M30. El contenido de cobre, varió entre $29,02 \pm 0,01 - 4,07 \pm 0,05$ ppm, para la muestra de grano fresco seco (M4) y de pasta de cacao (M3), respectivamente. El hierro varió entre $40,51 \pm 0,01 - 14,46 \pm 0,01$ ppm, para la muestra de grano fresco seco (M31) y para la muestra de grano fermentado seco (M3), respectivamente.

Veinticinco muestras alcanzaron como máximo $0,61 \pm 0,01$ ppm de cadmio; valor que se encontró por debajo del contenido máximo en normas y reglamentaciones internacionales.

El plomo se encontró en mayor contenido en el grano fermentado secos (M20) con $3,44 \pm 0,05$ ppm y el menor en (M22) con $1,33 \pm 0,05$ ppm. El menor contenido de Pb lo presentó la pasta de cacao (M15), con $0,20 \pm 0,02$ ppm.

El mayor contenido de polifenoles totales lo tuvo el grano fresco seco (M20), variedad Común del sector de Huayhuantillo con $5,01 \pm 0,08$ g AGE/ 100

g de muestra; el menor contenido lo presento la pasta de cacao (M30), variedad Común del sector de Frontera, con $1,70 \pm 0,02$ g AGE/100 g de muestra.

El contenido de antocianinas fue mayor en las muestras de grano fresco seco y menor en las muestras de pasta de cacao; el mayor en la muestra (M20), variedad Común del sector de Huayhuantillo con $44,88 \pm 0,51$ mg Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra, y el menor en la muestra (M31), variedad ICS-55 del sector de Frontera con $10,24 \pm 0,51$ Cianidina-3-Glucósido/100g de muestra.

La mayor capacidad antioxidante, lo presento la muestra (M10), de grano fresco seco, en función a los radicales ABTS y DDPH, con valores de $591,50 \pm 3,76$ y $513,68 \pm 0,84$ $\mu\text{M ET/g}$. La pasta de cacao presentó la mayor capacidad antioxidante, muestra (M19), en función al radical ABTS, con $412,34 \pm 2,26$ $\mu\text{M ET/g}$.

VII. RECOMENDACIONES

Que la Cooperativa Agraria Cafetalera la Divisoria Ltda. utilice los resultados de la investigación realizada, en los folletos de publicidad y comercialización de sus productos, lo cual facilitará la comercialización de los mismos.

Que, en futuros trabajos, se realicen investigaciones del contenido de minerales de muestras de granos de cacao, de diversas zonas,

Profundizar el estudio de contenidos de minerales y su correlación con los metales pesados, compuestos funcionales y capacidad antioxidante.

Contemplar siempre las precauciones: Debido a que algunos reactivos son tóxicos, corrosivos e irritantes se recomienda el uso de guantes.

Todo desperdicio líquido o sólido debe ser tratado como material tóxico y eliminados en envases adecuados.

VIII. ABSTRACT

Thirty-one samples of fresh dry cocoa beans (GFRS), 31 dry fermented beans (GFS) and 31 samples of cocoa mass (PC) were investigated; from the Alto Huallaga, area of influence of the Cooperativa Cafetalera Divisoria; determining the macroelements phosphorus, sodium, calcium and magnesium; the microelements copper, iron, zinc, manganese; heavy metals cadmium, lead; The content of total polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity (CA), such as 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), was determined. expressed as trolox equivalent (ET). It turned out that calcium was the mineral with the highest content in the M26 sample of GFRS, with 3.14%; considering potassium (K1) in GFRS, the highest content was in the M13 sample, with 2.44%. Likewise, the ACP established that 12 samples influenced CP1 and CP2, in the general ACP of minerals and samples. The ACP (96%) established that the zinc (Zn1) in the GFRS, was in greater quantity in M30, M22, M23 and M9; with 90.46 ± 0.19 ppm in M30. 25 samples in each type, reached no more than 0.61 ± 0.01 ppm of cadmium; value lower than that established by the CEU as of January 2019. The content of lead was higher in the GFRS, in the M20 with 3.44 ± 0.05 ppm and lower in M22 with 1.33 ± 0.05 ppm; the lowest Pb content was presented by sample M15, of PC with 0.20 ± 0.02 ppm. It was found that sample M10, of GFRS, presented the highest CA in function of the radicals ABTS and DDPH (GFRS), with values of

591.50 \pm 3.76 and 513.68 \pm 0.84 $\mu\text{M ET / g}$; it was also determined that the sample M19 of PC, presented the highest CA in function of the radical ABTS (PC), with the value of 412.34 \pm 2.26 $\mu\text{M ET / g}$.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADUREIRA, A., GOMES, A., PINTADO, M. 2015 Functional dairy ingredients. In dairy microbiology and biochemistry: recent developments. Edited by ozer B, Akdemir Evrendilek (España). 288-321 p.
- AFOAKWA, E. 2010. Chocolate science and technology. New Dheli, Wiley Blackwell (India), 296 p.
- AFOAKWA, E., QUAO, J., TAKRAMA, J., BUDU, A., SAALIA, F. 2011. Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian *cocoa beans* as affected by pulp preconditioning and fermentation. Journal of food science and technology. India, 50(6): 1097–1105.
- ALAM, N., BRISTI, N., RAFIQUZZAMAN, M. 2012. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi pharmaceutical journal. Dhaka (Bangladesh), (1): 143-152.
- ÁLVAREZ, M. 2004. Caracterización físico-química de granos (tostados) y mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) de la región de Cumboto, Venezuela. 13 – 17 p.
- ANECACAO, 2009. Asociación nacional de exportadores de cacao. Ecuador [En Línea:] (<http://www.anecacao.com.ec>, documento 13 jul 2018).
- APCACAO. 2015. Asociación Peruana de Productores de Cacao, Perú. 3-9 p.
- ARTS M., HAENEN G., VOSS H-P., BAST A. 2004. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant

- capacity (TEAC) assay. *food and chemical toxicology*. Australia, (42): 45–49.
- BAILON, J. 2017. *Minerales, sustancias inorgánicas esenciales*. [En línea:] (<https://portalacademico.cch.unam.mx/alumno/quimica2/u2/vitaminasyminerale/minerales>, documento, 16 Jun 2018).
- BAKIRCIOGLU, D., TOPRAKSEVER, N., KIZILDERE, M., KURTULUS, Y. 2016. Investigation of macro, micro and toxic element concentrations of milk and fermented milks products by using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer, to improve food safety in Turkey. *Microchemical Journal*. Turkey. (136), 133-138 p.
- BARRUETA, M. 2013. *Guía de métodos de detección y análisis de cadmio en cacao*. Perú 1-45 p.
- BARTOSZ, K; MIECZYŚLAW, W., OBIEDZI, N.; JOLANTA, K.; 2017 Nickel, cadmium and lead levels in raw cocoa and processed chocolate mass materials from three different manufacturers. *Lomza (Polonia)*, (66):127-135.
- BERNARDO, C., ASCHERI, J., CHÁVEZ, D., CARVALHO, C. 2018. Ultrasound assisted extraction of yam (*Dioscorea bulbifera*) ical fruits by UHPLCMS/MS. *Food chemistry*. Brasil, (180): 280–287.
- BERTOLDI, D., BARBERO, A., CAMIN, F., CALIGIANI, A., LARCHER, R. 2016. Multielemental fingerprinting and geographic traceability of *Theobroma cacao beans* and cocoa products. *Food control*. Parma (Italy) (65): 46–53.
- BILANDZIC, N., SEDAK, M., DOKIC, M., BOZIC, D., VRBIC, A. 2015. Content of macro and microelements and evaluation of the intake of different dairy

- products consumed in Croatia. *Journal of food composition and analysis*. Croatia, (40):143–147.
- BLOIS, M., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. Francie, 29 p.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25–30.
- CABRERA, V., BOUZAS, S. 2009. Chromium and manganese levels in convenience and fast foods: In vitro study of the dialyzable fraction, *Food chemistry*, USA (117): 757-763.
- CACERES, E., GARCIA, M., SELGAS, M. 2006. Design of a new cooked meat sausage enriched with calcium. *Meat science*. España (Madrid). Vol. 73 (2): 368-377.
- CADENA, T., HERRERA, Y. 2008. Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante. Tesis Químico. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. Colombia. 91 p.
- CALDERON, L., 2002. Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (*Theobroma cacao* L) de tipo fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación en relación a la calidad. Tesis de Lic. en Química, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito – EC. 114 p.
- CIAPPINI, M., STOPPANI, F. 2014. Determination of antioxidant capacity, flavonoids, and total phenolic content in eucalyptus and clover honeys. *Journal of Apicultural Science*. 58(1): 108-111.

- CONCON, J. 2009. Heavy metals in food. In: food toxicology, part B: Contaminants and additives. Dekker (New York). 3(4): 1043-1045.
- CUEVAS, M., ANTEZANA, A., WINTERHALTER, P. 2008. Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz boliviano. Memorias Red-Alpha-Lagrotech. Comunidad Europea. (Cartagena). 79-95 p.
- DANIELA, B., ALICE, B., FEDERICA, C., AUGUSTA, C., ROBERTO, L. 2016. Multielemental fingerprinting and geographic traceability of *Theobroma cacao* beans and cocoa products. Food Control journal homepage, USA. (65): 46 – 53.
- DIAZ, S., PINOARGOTE, M. 2012. Análisis de las características organolépticas del chocolate a partir del cacao CCN51 tratado encimáticamente y tostado a diferentes temperaturas. Tesis Ing. Alimentos. Escuela Superior Politécnico del Litoral. Guayaquil (Ecuador). 145 p.
- DICKSON, T. 2013. Química Enfoque Ecológico. Limusa, Noriega Editores, 2 ed. México D.F. (México), 102 p.
- DIOMANDE, D., ANTHEAUME, I., LEROUX, M., LALANDE, J., BALAYSSAC, S., REMAUD, G. S., TEA, I. 2015. Multi-element, multi-compound isotope profiling as a means to distinguish the geographical and varietal origin of fermented cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. Food Chemistry, (188): 576–582.
- DJIKENG, F., TEYOMNOU, W., TENYANG, N., TIENCHEU, B., MORFOR, A., TOUKO, B., WOMENI, H. 2018. Effect of traditional and oven roasting on

the physicochemical properties of fermented cocoa beans. *Heliyon*, India 4(2): 533.

EMSLEY, J. 2001. Manganese. *Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements*, Oxford, UK: Oxford University Press. Reino Unido. 249-253 p.

ESBENSEN, K., SWARBRICK, B. 2017. *Multivariate Data Analysis*. 6th Edition. Copenhagen, Sydney, Oslo (EEUU). 1-452 p.

FARTUSIE, F., MOHSSAN, S. 2017. Essential Trace Elements and Their Vital Roles in Human Body. *Indian Journal of Advances in Chemical Science India*, 5(3): 127-136.

GHARIBZAHEDI, S., JAFARI, S. 2017. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology*, Iran. (62): 119–132.

GHARIBZAHEDI, S., JAFARI, S., 2017. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology*, (62): 119–132.

GIL, A. 2012. Estabilidad y actividad antioxidante de catequina en cacaos colombianos durante los procesos de pre e industrialización. Tesis, Mg. Ciencias farmacéuticas. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia 119 p.

GUTIERREZ, B. 2002. Chocolate, polifenoles y protección a la salud. *Acta farmacéutica bonaerense*, Cuba. 2(12): 149-152.

- HARDMAN, J., LIMBRID, L., MOLINOFF, R., RUDDON, G., GILMANA, G. 2011. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Mc Graw-Hill, 9 ed. Nueva York (USA): 532 p.
- HERNANDEZ, E. 2010. Tecnología del cacao. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Monografía. Sogamoso (Colombia). 170 p.
- HOUSECROFT, C., SHARPE, A., 2008. Inorganic Chemistry, 3rd ed. Harlow: Prentice Hall, USA. 305-306 p.
- ICT. 2004. Instituto de Cultivos Tropicales, Revista Informativa. [On Line] Perú. (<http://www.ict-peru.org>, documento, 11 de jul 2018).
- IMCO, 2015. Principales países productores de cacao. Instituto Mexicano para la Cooperatividad A.C. [En línea:] México. (<https://imco.org.mx/home/>, documento, 19 setiembre 2018).
- IPCS, 2002. International programme on chemical safety. Environmental health criteria: Copper. Geneva: World Health Organization. Ginebra (Suiza). 118(1): 234-252.
- LAGOS, J., VARGAS, F., DE OLIVEIRA, T., DA APARECIDA M., DO AMARAL S., 2015. Recent patents on the application of bioactive compounds in food: a short review. Current Opinion in Food Science, USA. (5): 1–7.
- LEWIS, C., LENNON, A., EUDOXIE, G., UMAHARAN, P. 2018. Genetic variation in bioaccumulation and partitioning of cadmium in Theobroma cacao L. Science of The Total Environment. (640-641): 696-703.
- LI, B., LONG, Y., YANG, H. (2018). Measurements and analysis of water content in winter wheat leaf based on terahertz spectroscopy. Int J Agric & Biol Eng. 11(3): 178–182.

- LIENDO, R. 2005. procesamiento del cacao para la fabricación de chocolate y sus subproductos [en línea] INIA, <http://www.indacoperu.com/pdf/EI%20Chocolatepdf>, documento 25 Ago.2018.
- LIMA, L., ALMEIDA, H., NOUT, M., ZWIETERING, M. 2011. Theobroma cacao L., The Food of the Gods: Quality determinants of commercial ocoa Beans, with particular reference to the impact of fermentation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51(8): 731–761.
- MARQUEZ, E. 2009. Contribución a la biología molecular de los genes antocianidina sintasa (*ans*) y sorbitol deshidrogenasa (*sdh*) en cultivares criollos y trinitarios de *teobroma cacao* L. Tesis Lic. En biología universidad de los Andes. Venezuela. 98 p.
- MARTÍNEZ, C., NIEVES, S., ARÉVALO, N., VERDE, K., RIVAS, M., ORANDAY, M., CÁRDENAS, A., NÚÑEZ, M., MORALES, M. 2011. Antocianinas y actividad anti radicales libres de rubus adenotrichus schltl (zarzamora). *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas, México* 42(4): 66-71.
- MESA, L., GOZÁ, O., URANGA, M., TOLEDO, A., GÁLVEZ Y. 2018. Aplicación del Análisis de Componentes Principales en el proceso de fermentación de un anticuerpo monoclonal. *Vaccimonitor. Cuba*, 27(1): 8-15.
- MILLER, N. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. Vol. 84 (4): 407-412.

- NIÑO, I., 2015. Cuantificación de cadmio en cacao proveniente del occidente de Boyacá por la técnica analítica de voltamperometría. Tesis Ing. químico. Tunja, Colombia. 77p.
- NORMA TECNICA PERUANA (NTP) - ISO 2291, 2006. Granos de cacao – determinación del contenido de humedad (método de rutina). 2 Ed. Lima. Perú, INDECOPI. 6 p.
- OVACO, V., PINEDA, LL. 2011. Los residuos de cacao (*Theobroma cacao* L) como fuente alternativa de antioxidante. Tesis ing. Industrias Agropecuarias. Loja, Ecuador. Universidad Católica de Loja .42 p.
- PELÁEZ, P., GUERRA, S., CONTRERAS, D. 2016. Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria*. 07(02): 111–119.
- PEREA, J., CADENA, T., HERRERA, J. 2009. El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Salud*, 41(2): 128-134.
- PORTILLO, E., MARÍA, L., LUCIA, G., EMILE, C., SOPHIE, A., FABRICE, D., RENAUD, B., MARÍA, M. 2009. Formación del aroma del cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Rev. UDO Agrícola*. 9 (2): 458-468.
- RAMÍREZ, G., MARTHA, B., CELY. N., RAMÍREZ, M., 2013. Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao l.*) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas, México. 1-9 p.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE, C. 1999., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation

decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* (26(9-10): 1231–1237.

RECALDE, A. 2007. Evaluación del efecto del presecado y tiempo de fermentación, en los contenidos de polifenoles totales, alcaloides y ácidos volátiles en dos genotipos de cacao. Universidad Central del Ecuador. 31 – 32 p.

REINOLDS, J. 2018. Periodic table, [En línea:] (<http://www.rsc.org/periodic-table/element/29/copper>, documento.16 de agosto 2018).

REGLAMENTO (UE). 2014. Reglamento (UE) No 488, que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios. 5 p.

REGLAMENTO (UE). 2015. Reglamento (UE) 2015/1005 de la comisión, que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de plomo en determinados productos alimenticios. 5 p.

RIERA, M. 2009. Evaluación de tecnologías para la fermentación del cacao beneficiado CCN-51 (*Theobroma cacao L.*). Tesis Ing. Agroindustrial. Universidad Estatal Amazónica. Puyo, Ecuador. 91 p.

RODRÍGUEZ J. 2011. Estudio de los compuestos volátiles de *theobroma cacao.L.*, durante el proceso tradicional de fermentación, secado, tostado. Tesis Doctoral Ciencias de Alimentos. Instituto Politécnico Nacional. DF., México. 188 p.

ROGER, M. 2011. *The Minerals You Need*, Safe Goods Publishing. USA. 21 p.

ROGERS, J., STEWART, M., PETRIE, J., HAYNES, B. 2012. Department and management of metals produced during combustion of Atreated timbers. *Hazard Material, Australia*. 2(4): 500-505.

- SCHWAN, R., FLEET, G. 2015. Cocoa and Coffee Fermentations (first). London.
- SHIMADA, A. 2005. Nutrición animal. México (México): Trillas, 3 Ed. 388 p.
- SINGLETON, V., ROSSI, J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic. American Journal of Enology and Viticulture, (16): 144-158.
- STUDZINSKI, T., MATRAS, J., GRELA, E., PIEDRA, J., TRUCHLINSKI, J., TATARA, M. 2006. Chapter 16 Minerals: functions, requirements, excessive intake and toxicity. Biology of Nutrition in Growing Animals. 467–509 p.
- SUDHIR, D., RUPALI, K., HEGDE., SHARMA. 2005. Original Article Lead, cadmium and nickel in chocolates and candies from suburban areas of Mumbai, India. 5-6 p.
- TECATROP. 2018. Prevención del ataque del mazorquero de cacao [En línea:] (https://drive.google.com/file/d/17R1wAZ0w_vdK5bBONEPfJZu4qqF1eV2f/view?fbclid=IwAR2StL2yjOvaZdFFZ8z5I6B8bCbKTwdnaSEdGlXkLow_a_yFfRJta5p5mLEM, Perú. pdf, 16 set. 2018)
- TOVAR, J. 2013. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetalera. Tesis, Escuela de Tecnología Química, Universidad Tecnológica de Pereira. 150 p.
- WILLIAMS, W., CUVELIER, M., BERSET, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol. (22): 25-30.
- ZAPATA, S., TAMAYO, A., ALBERTO, B. 2013. Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. Revista cubana de planta medicinales. 18(3): 391-404.

X. ANEXOS

Anexo I. Parámetros de calibración para el Cd.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,000
1	[0,020]	0,009
*2	[0,050]	0,019
3	[0,100]	0,037
4	[0,200]	0,054
5	[0,400]	0,05

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para todas las muestras (1,2,3): Cd(ppm)

Anexo II. Parámetros de calibración para el Pb.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,004
1	[0,500]	0,019
*2	[1,000]	0,037
3	[2,000]	0,075
4	[3,000]	0,108
5	[4,000]	0,141

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Pb (ppm)

Anexo III. Parámetros de calibración para el Cu.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,000
*1	[1,000]	0,111
2	[2,000]	0,227
3	[4,000]	0,441

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Cu (ppm)

Anexo IV. Parámetros de calibración para el Fe.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,00
*1	[1,000]	0,042
2	[2,000]	0,099
3	[5,000]	0,304

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Fe (ppm)

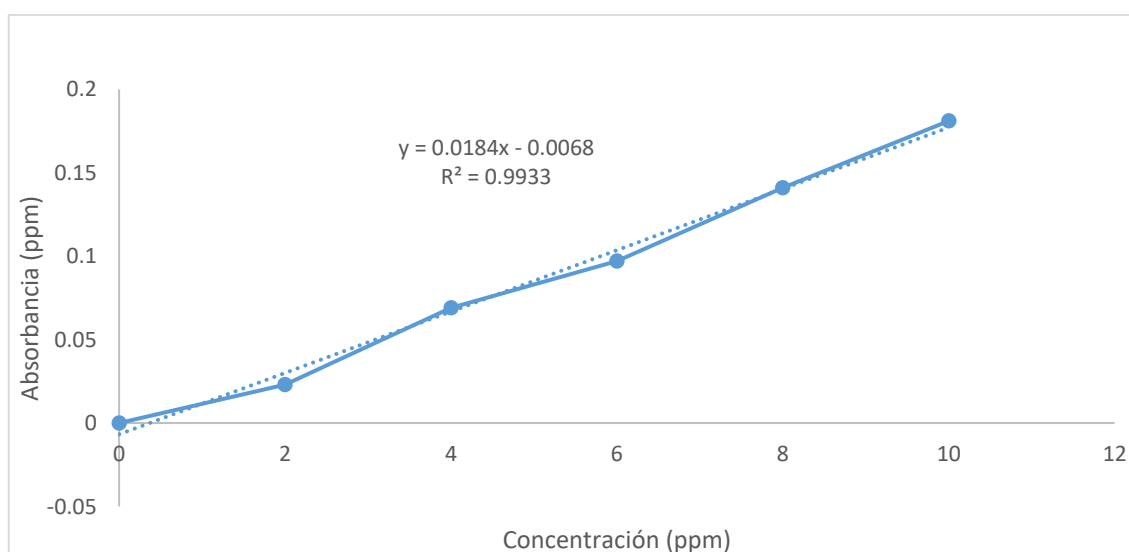
Anexo V. Parámetros de calibración para el Mn.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,000
1	[0,500]	0,087
*2	[1,000]	0,143
3	[3,000]	0,410

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Mn (ppm)

Anexo VI. Gráfico del parámetro de calibración para el P.



Anexo VII. Parámetros de calibración para el Na.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,000
*1	[0,200]	0,074
2	[0,400]	0,142
3	[0,800]	0,218
4	[1,600]	0,364
5	[2,000]	0,403

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Na (ppm)

Anexo VIII. Parámetros de calibración para el Zn.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	-0,001
1	[0,200]	0,05
*2	[0,500]	0,142
3	[1,000]	0,304

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (F,S,P) en Zn(ppm)

Anexo IX. Parámetros de calibración para el Ca.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,000
*1	[0,200]	0,074
2	[0,400]	0,142
3	[0,800]	0,218
4	[1,600]	0,364
5	[2,000]	0,403

Conc. Fijado en 0 AA Cal

Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Ca (ppm)

Anexo X. Parámetros de calibración para el Mg.

Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	0,00
1	[0,100]	0,059
*2	[0,200]	0,106
3	[0,400]	0,195
4	[0,800]	0,310
5	[1,000]	0,403

Conc. Fijado en 0 AA Cal
Curva para las todas las muestras (1,2,3) en Mg (ppm)

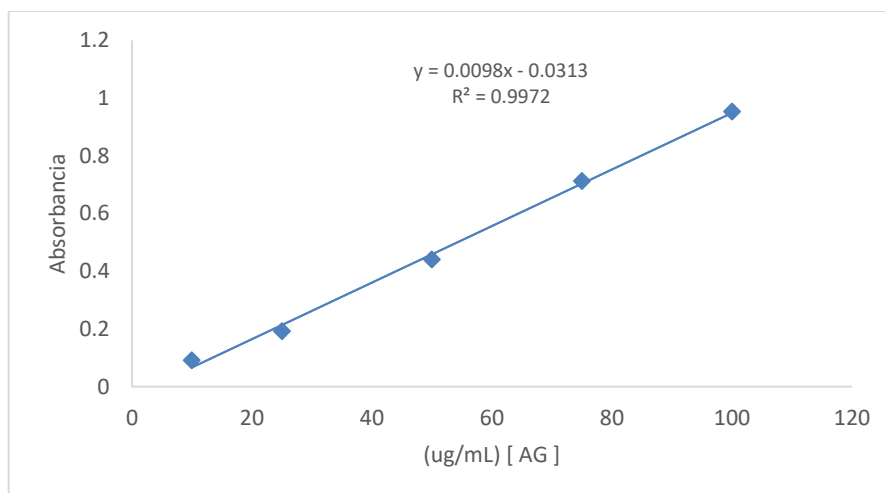
Anexo XI. Parámetros de calibración para el K.

Standard	Conc	Valor Reslope
Standard	Conc	Valor Reslope
0	[0]	-0,002
*1	[0,500]	0,073
2	[1,000]	0,177
3	[2,000]	0,430

Conc. Fijado en 0 AA Cal
Curva para las todas las muestras (F,S,P) en K (ppm)

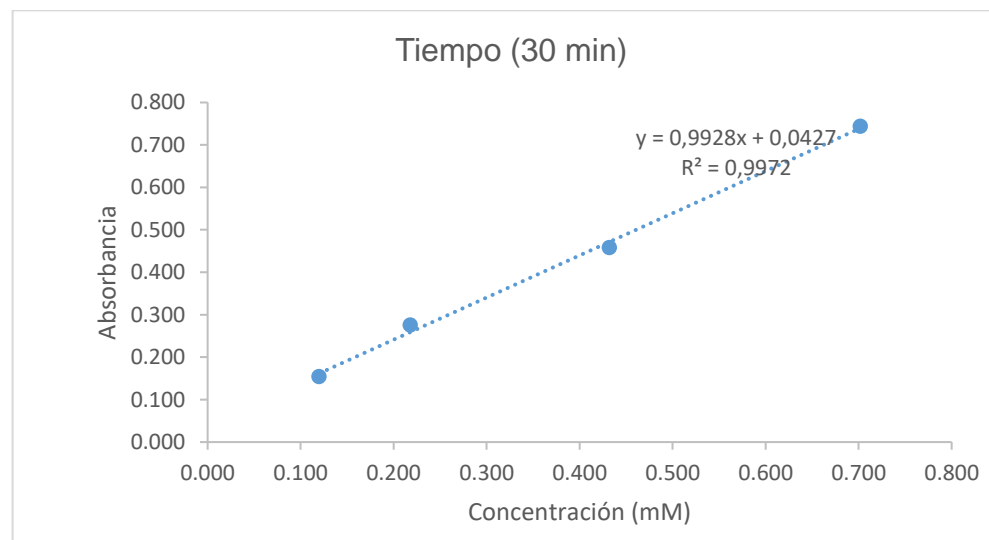
Anexo XII. Concentración vs absorbancias para polifenoles totales

[AG µg/mL]	Abs ppm
10	0.091
25	0.193
50	0.441
75	0.713
100	0.953

Anexo XIII. Curva standard para la determinación de polifenoles totales.

Anexo XIV. Estándares para la elaboración la curva de calibración trolox DPPH (Concentración Vs tiempo (30 min))

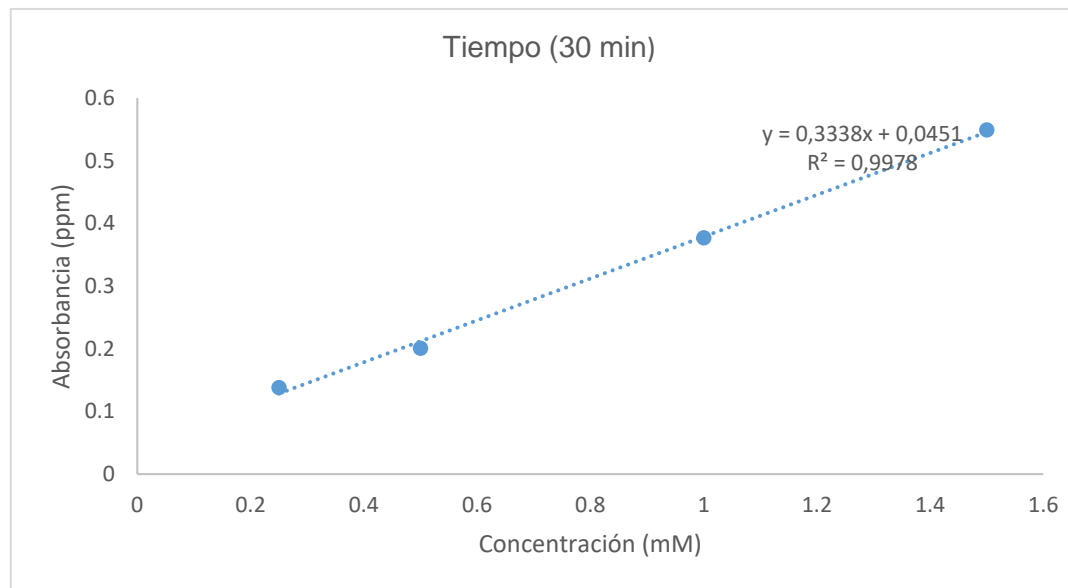
Estándar	Concentración	Cantidades	X							Control	
			Y							Abs.	
S1	1,50 mM	[750 µl trolox+ 250 µL H2Od.]	1,50	0,702	0,724	0,731	0,735	0,738	0,744	0,970	
S2	1,00 mM	[500 µl trolox+ 500 µL H2Od.]	1,00	0,432	0,444	0,447	0,449	0,452	0,458		
S3	0,50 mM	[250 µl trolox+ 750 µL H2Od.]	0,50	0,218	0,232	0,242	0,270	0,273	0,276		
S4	0,25 mM	[125 µl trolox+ 875 µL H2Od.]	0,25	0,120	0,127	0,131	0,140	0,151	0,154		

Anexo XV. Curva de calibración trolox DPPH.

Anexo XVI. Estándares para la elaboración la curva de calibración trolox ABTS (Concentración Vs tiempo (30 min)).

Estándar	Concentración	Cantidades	X							Control	
			Y							Abs.	
S1	1,50 mM	[750 µl trolox+ 250 µL H2Od.]	1,50	0,542	0,546	0,548	0,548	0,548	0,549	0,785	
S2	1,00 Mm	[500 µl trolox+ 500 µL H2Od.]	1,00	0,374	0,376	0,377	0,377	0,377	0,377		
S3	0,50 mM	[250 µl trolox+ 750 µL H2Od.]	0,50	0,196	0,200	0,201	0,201	0,201	0,201		
S4	0,25 mM	[125 µl trolox+ 875 µL H2Od.]	0,25	0,131	0,134	0,136	0,137	0,137	0,138		

Anexo XVII. curva de calibración trolox ABTS.



Anexo XVIII. Correlación de cargas de minerales, considerando grano fresco, grano fermentado y pasta de cacao, para cada componente (Figura 7).

	P1	K1	Na1	Ca1	Mg1	Cu1	Fe1	Zn1	Mn1	Cd1	Pb1
PC-1	-0,049755536	-0,001940481	-0,072830379	0,939150095	0,222717375	-0,162408471	0,150275052	-0,039424505	0,448112935	-0,064697154	-0,167043611
PC-2	-0,15474017	0,99710834	0,172165096	0,026930837	0,088296905	0,160163745	-0,367929876	-0,337887108	0,235707566	0,042770516	0,340751559
PC-3	0,05889196	0,045503382	-0,143159747	-0,340628624	0,068094701	-0,034183107	-0,134884045	0,227510899	-0,334751636	-0,16381298	-0,386326671
PC-4	-0,077225767	-0,059343163	-0,12119285	-0,003503536	0,046486635	0,006385257	-0,041270342	-0,160794243	-0,055962749	-0,275073022	0,195736602
PC-5	-0,606228232	-0,002213614	0,12572816	0,031344988	0,568592548	-0,458839774	-0,000124357	-0,260222793	-0,02883137	0,27929455	-0,061235406
PC-6	-0,103459805	-0,008550929	0,119779959	-0,013078494	0,047649279	0,139868081	-0,171578035	-0,226413935	-0,08272209	-0,313823938	0,007070296
PC-7	-0,303918064	0,009582842	0,146159038	0,007861044	-0,289787501	-0,158926293	-0,19508943	0,232807443	-0,250983775	-0,092309155	-0,800208449
	P2	K2	Na2	Ca2	Mg2	Cu2	Fe2	Zn2	Mn2	Cd2	Pb2
PC-1	0,478205085	0,343082428	0,090518661	0,851227462	0,229216903	-0,245774508	0,005236145	0,098764218	0,507524669	-0,329046041	0,485610157
PC-2	-0,288550407	0,052039743	0,097739071	-0,011572884	0,180234477	-0,043273576	0,380406141	-0,268924117	0,204833299	-0,086998016	0,243343517
PC-3	-0,031662177	-0,163754806	-0,251373887	0,514708817	-0,132256046	-0,087017968	-0,017434305	0,170820385	-0,200428963	-0,132524848	-0,159935057
PC-4	-0,215134829	-0,063553676	0,298750222	0,098598324	-0,00683851	-0,047095887	0,397991419	0,046245836	-0,128476679	-0,244222552	0,267205864
PC-5	-0,256609976	-0,700413585	0,077933379	-0,020424828	0,210677013	0,454774618	-0,290222347	-0,052271802	0,00295852	0,016669581	-0,048377484
PC-6	0,196669295	0,595219731	0,377581269	-0,002347262	0,032045178	0,072102025	0,079904482	-0,05183965	-0,028522017	-0,175924852	0,155044511
PC-7	0,134883851	0,00994307	0,195258647	-0,013501464	0,144779921	0,182896405	-0,297257662	-0,178633094	-0,283772498	-0,010443942	-0,017160548
	P3	K3	Na3	Ca3	Mg3	Cu3	Fe3	Zn3	Mn3	Cd3	Pb3
PC-1	0,459829956	0,149984539	-0,146214694	0,400706202	-0,128769711	0,294522762	-0,265913695	-0,073584385	0,594991624	-0,311754435	-0,166230947
PC-2	-0,264340997	-0,125882491	0,176845223	-0,263551593	-0,127908915	-0,415430188	0,029275293	0,017397912	0,2988455	0,088695124	-0,255035251
PC-3	-0,073429942	-0,042464864	0,149747863	0,266255975	-0,054521412	-0,032212324	0,340841025	-0,02779555	-0,006240583	-0,310269207	0,050419755
PC-4	0,064531036	-0,240051419	-0,212036386	-0,822386324	-0,155934989	0,076418258	-0,074805655	-0,070089839	-0,145879328	-0,231286913	-0,115438744
PC-5	-0,141254768	-0,751626015	0,084433496	0,127905309	0,29593125	0,025484782	0,182964996	-0,213272706	-0,190141097	-0,04675965	-0,462468266
PC-6	-0,341187835	-0,576225042	-0,266726941	0,062124018	-0,479622126	-0,241880253	-0,062766314	0,09477599	-0,056006424	-0,069543451	0,23687236
PC-7	0,052258387	-0,02106934	-0,335743099	-0,046521969	0,006244206	0,161330566	-0,134997025	-0,123301424	-0,162441403	-0,06257277	-0,217162803

Anexo XIX, Datos numéricos del gráfico de Influencia en los ACPs, según lo mostrado en la Figura 8,

	PC-1	PC-2	PC-3	PC-4	PC-5	PC-6	PC-7
M1	0,021443117	3,01245117	3,1822412	3,45399094	3,65860248	4,52198744	7,44663048
M2	0,307613194	1,3770237	1,46470058	1,61920786	2,08281755	7,36548519	8,06363297
M3	0,418218434	2,85720229	2,90431309	5,17093515	5,38111115	5,40504646	7,14117765
M4	2,7585609	2,77628803	2,84246802	3,04821587	6,10280418	6,32708979	7,85832644
M5	1,65516162	1,85787129	2,00440073	2,03041697	2,23583579	3,53913164	4,95099354
M6	0,245017618	0,647855461	4,25510979	6,99691391	9,74970436	10,2920456	10,3099518
M7	0,055988181	1,28584492	1,54446673	1,58148015	1,61591434	3,17632723	3,24473763
M8	1,14813626	2,4470582	7,24930048	7,36362171	7,40398693	8,63040352	8,6621151
M9	2,40046453	3,88060856	4,32382536	4,45949507	4,52000093	4,53483534	4,99135971
M10	3,80143213	4,96052265	5,02982426	5,09798765	5,09853029	5,17993879	5,81554365
M11	0,134131134	0,938643038	4,74263573	4,75830269	5,58469343	5,75695372	6,04990864
M12	3,94292808	4,2295785	4,54391384	7,18483067	7,18677664	7,78730965	9,06034946
M13	0,03723827	3,69162321	3,70373201	3,71374083	3,81535387	3,94922924	4,35688782
M14	1,14541936	2,06368446	2,54107785	3,32556725	6,369349	6,51630306	7,08728456
M15	0,057478733	0,985130131	1,2041862	3,41672397	4,51945591	7,25311804	7,64703178
M16	0,100308135	0,177434325	0,494068295	0,528522074	1,15058208	1,73561454	3,50091481
M17	0,383723795	0,446123868	1,8360585	4,6034627	4,61459446	6,69083691	8,2885313
M18	0,187409818	1,88707209	3,38284326	3,9073267	4,65755844	5,88293314	5,90340853
M19	0,281046093	0,293237388	0,383910149	0,43222177	2,19050622	2,32815647	2,37116575
M20	0,416203231	3,3672471	4,18682861	5,28082657	5,4858799	5,50050879	5,51317692
M21	4,15E-05	0,017221943	0,929761052	4,5275321	8,92893791	10,3796349	11,7573423
M22	3,38743663	3,52176237	3,66271281	6,05395317	9,30245018	9,40691376	13,2711964
M23	3,05235791	3,66460609	7,91807079	8,72560692	9,13024139	10,353446	11,7279644
M24	0,034498282	1,65532446	2,25655651	2,40384412	3,96114635	3,99725699	4,32784986
M25	0,661326468	1,98528886	3,2229476	7,07433367	7,10912085	9,1014061	9,7052021
M26	1,79243112	2,74170995	2,8726275	3,46156359	7,02895498	7,71454716	9,66453362
M27	0,017217528	0,636843801	2,45550489	2,71803665	2,85884857	4,6367445	4,70922756
M28	0,000154646	0,442140043	1,78446221	1,79782653	2,37794399	3,30201793	3,30229378
M29	0,359022617	0,489345968	0,61442399	0,853554964	1,31900966	1,8875773	2,79411745
M30	0,941875339	1,37780023	1,9543829	1,95551431	2,04880166	4,18280411	4,71044016
M31	0,255717307	0,285491318	0,508698225	2,45448327	2,51050496	2,66439533	5,76669884

Anexo XX, Datos numéricos de correlación de cargas de muestras de granos frescos secos, granos fermentados secos y pasta de cacao, para cada componente, según Figura 9,

CP	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	
PC-1	0,982301295	0,992235303	0,983120799	0,97146666	0,98797518	0,983921587	0,991375089	0,982344568	0,96166575	0,979928851	
PC-2	-0,147925079	-0,041417085	-0,075811192	0,188596144	0,090159386	-0,067413434	-0,118086971	-0,039280832	0,267494857	0,094792977	
PC-3	0,096787162	0,080138937	0,100258924	0,09014824	0,102487467	0,10873913	0,00533485	-0,062967397	0,053784512	0,157074362	
PC-4	-0,037147421	-0,011411092	-0,124897912	-0,066532239	-0,042451419	0,101627745	-0,025966346	-0,160481393	-0,009184029	-0,06377127	
PC-5	0,017147321	0,021126904	0,026958253	-0,079967611	-0,021203304	-0,067738496	0,005301283	-0,017243821	-0,008324118	-0,006856379	
PC-6	-0,025487425	-0,080410026	0,004997154	-0,017257834	0,036848139	-0,0231147	0,033901434	-0,048056252	0,006116343	0,00305078	
PC-7	0,029759757	0,011495141	-0,02059572	-0,023305459	-0,034240205	-0,004622553	-0,022413781	-0,018606693	0,009009775	-0,020901324	
	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	
PC-1	0,991383016	0,961486816	0,98202163	0,991314411	0,991332173	0,998160839	0,993139029	0,982148468	0,997680128	0,976818204	
PC-2	0,069393575	0,253489614	0,169429183	-0,011928559	0,050281324	0,009898654	-0,021957129	0,139879793	-0,038377158	-0,210080802	
PC-3	0,069203347	0,069633149	-0,071384862	-0,105953157	-0,083893575	0,015064091	-0,067854196	-0,101907589	0,010853017	-0,019348824	
PC-4	0,072310187	0,054554667	0,030876366	0,047144115	0,057687696	0,031683236	-0,08309038	-0,051982943	0,009458861	-0,00728163	
PC-5	0,036287215	-0,013398241	0,011607426	0,054777626	0,02808593	0,029733956	0,004649893	-0,029805603	0,050439704	0,007555724	
PC-6	-0,006456627	0,017376347	-0,007430338	0,004516775	-0,055671461	0,019125493	-0,035600033	0,038045533	0,009306481	-0,004376058	
PC-7	0,026543107	-0,024819413	0,020355579	-0,02006213	-0,019534286	-0,021742905	0,000893802	0,007523025	-0,005879517	-0,01970993	
	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31
PC-1	0,990100861	0,987014949	0,984422624	0,990596056	0,979326904	0,991810501	0,991446972	0,993139207	0,994129479	0,995295465	0,995630801
PC-2	0,015251745	-0,135543451	-0,13336435	0,083488382	-0,180946529	-0,023394484	0,099618442	0,048078422	0,088838108	-0,020228468	-0,047197893
PC-3	0,080501832	-0,03354878	0,099338211	-0,093809508	-0,06975054	-0,088700637	0,064506553	-0,092154972	-0,006447277	-0,083463006	0,012389258
PC-4	-0,035051536	-0,033872802	0,036982779	-0,004912781	0,036695443	0,051288627	0,026907418	-0,029300688	-0,04400314	5,18E-05	0,061072499
PC-5	0,09131936	-0,047870789	-0,009846084	0,047904968	-0,006987864	-0,063234098	-0,009124447	-0,028842947	-0,024694869	-0,009969693	-0,014898872
PC-6	0,042613607	0,005105704	0,033802707	0,007538503	0,03142814	0,025508219	-0,031879816	0,030148506	0,024247257	-0,038577523	-0,020048102
PC-7	0,031186044	0,051726297	0,006760852	0,01644857	-0,023571121	0,02137081	0,027347216	-0,000182405	-0,016653121	-0,001796774	-0,041584611

Anexo XXI, Datos numéricos de correlación de cargas de muestras para cada componente, en el análisis de macroelementos según Figura 10,

	M4	M5	M8	M9	M10	M12
PC-1	0,961449564	0,983200312	0,977697313	0,94405973	0,970435798	0,94474566
PC-2	-0,25830242	-0,151058972	0,052250762	-0,325406522	-0,18498759	-0,313736618
PC-3	0,038374554	0,093970276	-0,029304845	-0,046490144	0,139642507	-0,033150401
PC-4	-0,066769086	-0,008524434	-0,195283011	0,008039056	-0,03493955	0,084403321
PC-5	0,049174346	-0,008713773	-0,043190323	-0,00365668	-0,049669225	0,00238518
PC-6	-0,016223272	0,031129094	0,018344663	0,006517882	0,005255329	-0,00113903
PC-7	0,011736927	-0,016276538	0,003292572	-0,021330101	0,026328763	0,024053531

	M14	M22	M23	M25	M26	M30
PC-1	0,988945127	0,9866575	0,980334461	0,975604892	0,991903245	0,994349241
PC-2	0,045980834	0,145852566	0,094942488	0,212713644	0,051720098	0,043241251
PC-3	-0,115280725	0,028645637	0,161859944	-0,002287821	-0,08249753	-0,083434634
PC-4	0,048465777	-0,057042275	0,057977453	0,039416976	0,036596924	-0,028630219
PC-5	-0,063566245	0,031221284	-0,006935671	-0,01241166	0,071620576	-0,007972714
PC-6	0,001227979	-0,000343616	-0,014957883	0,023017511	0,012404681	-0,038044676
PC-7	-0,012169941	-0,010488267	-0,008531845	0,025826102	-0,000522051	0,006543146

Anexo XXII, Datos numéricos de correlación de cargas de muestras para cada componente en el análisis de microelementos según Figura 11,

	M4	M5	M8	M9	M10	M12
PC-1	-0,968289018	-0,990728855	-0,970742941	-0,968696594	-0,984816492	-0,979781032
PC-2	-0,21337226	-0,056087129	-0,144121364	0,107034139	-0,090986833	-0,041652434
PC-3	0,060827877	0,07658983	0,11265149	0,213815987	0,094182447	0,109113745
PC-4	-0,062098764	-0,071081162	0,105526306	-0,022543458	0,027994569	-0,028911114
PC-5	0,020313822	0,029380621	-0,006300872	0,002730594	-0,05449304	0,151989371
PC-6	-0,057001032	0,053435605	-0,091571152	-0,016831078	0,031363908	0,037561406
PC-7	0,072953396	-0,000168638	-0,010822283	-0,024695033	-0,089638799	0,020618739

	M14	M22	M23	M25	M26	M30
PC-1	-0,919671655	-0,964473426	-0,959559917	-0,900250554	-0,932958424	-0,949308217
PC-2	-0,305859894	0,243413657	0,232199281	-0,327318609	-0,026572563	0,275538236
PC-3	-0,023259698	0,019251596	-0,072430603	-0,243661404	-0,313237727	-0,131169766
PC-4	-0,159506619	0,078865506	-0,033390176	0,138641894	-0,114650279	0,004061116
PC-5	-0,154816538	-0,027549287	-0,126310378	0,003097014	0,058216997	0,039757203
PC-6	0,087328158	0,002628784	-0,041906413	0,046756543	-0,102622449	0,047359936
PC-7	0,03094689	0,047964558	0,026646348	0,017292043	-0,05655494	-0,010168218

Anexo XXIII, Datos numéricos de correlación de cargas del cadmio para cada componente, según se muestra en la Figura 12,

CP	Cd1	Cd2	Cd3
PC-1	0,999961436	0,720231295	0,694240332
PC-2	-0,00877906	0,615269482	0,597739697
PC-3	2,00E-05	-0,320484489	0,400920719

Anexo XXIV, Datos numéricos de correlación de cargas del plomo para cada componente, según se muestra en la Figura 13,

CP	Pb1	Pb2	Pb3
PC-1	0,999498844	0,15169923	0,067493722
PC-2	0,007992077	0,300968379	-0,973996639
PC-3	0,030629238	-0,941491067	-0,216275603

Anexo XXV, Datos numéricos del gráfico de puntajes del ACP, PC1 (94%) y PC2 (2%), que explican la relación entre las variables de capacidad antioxidante, polifenoles y antocianinas, Figura 14,

	PC-1	PC-2	PC-3	PC-4	PC-5	PC-6	PC-7
PPT 1	742,459839	-16,7181969	30,8795624	-7,18549728	2,19128227	-7,31072521	-2,29260635
ANT 1	764,644836	-17,314106	32,6064987	-8,37124252	0,178068161	-6,78240013	0,165233612
ABTS 1	-1679,38867	-164,221939	116,734306	-14,493187	-51,7129669	9,77070045	-0,078540802
DPPH 1	-1631,6626	-58,0779037	18,4247818	14,8756714	69,9127655	-20,7656422	0,010379791
PPT 2	752,427185	-16,6200256	31,224062	-8,05147934	0,812683105	-6,93464947	0,830734253
ANT 2	764,720459	-17,3379993	32,6221237	-8,36634064	0,157535553	-6,77780533	0,203659058
ABTS 2	-384,771942	-73,8007813	-218,781708	-98,9537506	-13,8727455	-6,24970722	-0,025894165
DPPH 2	170,786392	-20,5174637	-28,6365356	18,5392704	25,3442574	66,6260376	-0,005002171
PPT 3	752,346497	-15,9367914	31,84828	-7,31455612	1,7011013	-7,07291317	1,06127548
ANT 3	764,752136	-17,3167591	32,622139	-8,37208939	0,166046143	-6,78640938	0,198871613
ABTS 3	-805,523193	387,934387	25,4888783	-36,4956055	-10,6313152	2,3251524	-0,054475784
DPPH 3	-210,791275	29,9275818	-105,032417	164,18895	-24,246603	-10,0417147	-0,013587952

Anexo XXVI, Datos numéricos del gráfico de cargas del ACP, PC1 (94%) y PC2 (2%), que correlaciona las muestras y que explican la afinidad de características entre ellas, en el análisis de capacidad antioxidante, polifenoles y antocianinas, Figura 15,

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	
PC-1	-0,998861492	-0,991007864	-0,993852913	-0,995381474	-0,987481654	-0,987849474	-0,991697311	-0,971993625	-0,958807409	-0,994054735	
PC-2	0,01185827	0,04342952	0,046639826	0,020413082	-0,122402884	-0,042669736	-0,113442369	0,164433628	0,269005477	-0,070388101	
PC-3	-0,043670338	0,121093385	-0,079051346	-0,083622813	-0,051756814	0,096263737	-0,020899104	-0,063524105	0,062313795	0,066428334	
PC-4	-0,011475763	-0,000737227	0,020701557	0,021538721	-0,071168296	-0,08204788	-0,035109308	-0,154981837	-0,053134713	-0,017250739	
PC-5	0,005389566	0,030444153	-0,002227311	0,034520086	0,028022632	0,079522915	0,031782359	0,003670422	0,027278287	-0,045372423	
PC-6	0,008212107	0,020652771	-0,058183957	0,012179706	-0,036841877	0,001263812	-0,031251654	0,011056165	-0,029325048	-0,011550287	
PC-7	-0,038244024	-0,038758025	-0,040049501	-0,03798366	-0,036476348	-0,036280576	-0,036483452	-0,038873911	-0,04065901	-0,038033571	
	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	
PC-1	-0,99360019	-0,992067039	-0,990098	-0,975494564	-0,996807456	-0,949962497	-0,977298081	-0,987436891	-0,91231662	-0,981478274	
PC-2	-0,031960294	0,037046935	-0,115145527	0,189799041	0,068895489	0,287966996	0,154914126	-0,141833931	0,395292759	0,034501508	
PC-3	-0,025889568	-0,097495735	-0,072336763	0,10203398	0,006966749	0,116619281	-0,123614997	-0,018666297	0,007114521	0,00218289	
PC-4	-0,100449659	-0,038317584	-0,016924171	0,031019077	-0,018434737	-0,017055964	-0,05150988	0,014688961	0,101401746	0,176170498	
PC-5	0,008321335	0,017353714	-0,03031075	-0,031688042	-0,033602648	0,00818761	-0,051163614	0,065282986	0,011064202	0,027721286	
PC-6	0,03018073	0,056242451	0,003605736	-0,003071755	0,010669131	-0,02607864	-0,018406553	-0,003819457	0,031142274	-0,060682535	
PC-7	-0,039812669	-0,041408382	-0,039191086	-0,039343447	-0,040393446	-0,037875693	-0,039725497	-0,035788842	-0,037485946	-0,038678523	
	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31
PC-1	-0,987795472	-0,989423513	-0,988528848	-0,989089727	-0,985059381	-0,995666325	-0,976282537	-0,989711404	-0,97083652	-0,981930614	-0,975353777
PC-2	-0,148353562	-0,141570702	-0,137415066	-0,126637921	0,021828493	-0,089247003	-0,188714117	-0,015157091	0,062099922	-0,047867939	0,038041074
PC-3	-0,004877537	-0,017490026	0,059734609	0,072028585	0,153891817	0,018891735	0,100613758	-0,137107	-0,216559663	-0,134658411	-0,162680447
PC-4	0,044912893	0,013032605	0,008840663	-0,005626339	0,070201702	0,007587232	0,029016545	-0,022337126	0,079177298	0,121133648	0,13762027
PC-5	-0,005579164	-0,022059906	-0,016759792	-0,020611333	-0,014721231	-0,015896339	0,004758254	-0,030748151	-0,004924825	0,026347065	0,036787082
PC-6	0,013470454	-0,006097001	-0,000755482	0,004720335	0,018922765	-0,004073927	0,016566118	0,001615138	0,020794157	-0,003974701	0,021902641
PC-7	-0,037683673	-0,037364394	-0,038114194	-0,036737442	-0,037019774	-0,037511982	-0,036184039	-0,039661214	-0,040913619	-0,03804896	-0,037106764