

Determinación de condiciones ambientales para la conservación de granos de cacao (*Theobroma cacao L*) deshidratado durante el almacenamiento

Determination of environmental conditions for the conservation of dehydrated cocoa beans (*Theobroma cacao L*) during storage

Determinação de condições ambientais para a conservação de grãos de cacau desidratados (*Theobroma cacao L*) durante o armazenamento

Saza Coaji José Nicolás¹ y Jiménez Forero Javier Alexander ²

¹Ingeniero Agroindustrial Universidad de los Llanos y

²Ingeniero de Producción Agroindustrial, Docente Universidad de los Llanos

jjimenez@unillanos.edu.co

Recibido 26 septiembre 2019, Aceptado 12 de marzo 2020

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es uno de los cultivos representativos del departamento del Meta (Colombia), cuyos granos son aprovechados en la industria chocolatera. El almacenamiento es un punto de control ya que en él pueden presentarse fenómenos de deterioro que afectan su calidad. Durante este ocurren variaciones de temperatura y humedad relativa que provocan pérdidas en las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los granos a causa de su capacidad higroscópica, facilitando el crecimiento de hongos. Por tanto, en este trabajo se pretendió determinar condiciones de temperatura y humedad relativa con el fin de buscar prolongar la vida útil de granos de cacao deshidratado durante su periodo de almacenamiento. Para ello se construyeron isotermas de adsorción a temperaturas de 25, 30 y 35 °C para el rango de α_w entre 0.146 y 0.891. Donde se obtuvieron isotermas de tipo II por tener forma de "S" o por ser tipo sigmoidea. Estas se ajustaron a modelos matemáticos comúnmente aplicados en alimentos. El ajuste de los modelos se evaluó con aquel que presentara una raíz del error cuadrado medio (RMSE) más aceptable y un coeficiente de correlación (R^2) cercano a 1. En función de los cuales, se observó que el modelo propuesto por Smith presentó el mejor ajuste de los datos experimentales. Los resultados obtenidos permitieron

proponer que a condiciones de humedad relativa superior al 51.4% e igual y/o inferior al 58.9% y a temperatura de 25°C, se prolongaría la vida útil de los granos de cacao deshidratados manteniendo estándares de calidad durante el proceso de almacenamiento.

Palabras clave: Isotermas de adsorción, humedad relativa, temperatura, cacao clon FEAR-5.

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao L.*) is one of the representative crops of the department of Meta (Colombia), whose grains are used in the chocolate industry. Storage is a point of control since deterioration phenomena can occur that affect its quality. During this period, variations in temperature and relative humidity occur, causing losses in the physicochemical and organoleptic properties of the grains due to their hygroscopic capacity, facilitating the growth of fungi. Therefore, in this work it was tried to determine conditions of temperature and relative humidity in order to seek to prolong the useful life of dehydrated cocoa beans during their storage period. To do this, adsorption isotherms were constructed at temperatures of 25, 30 and 35°C for the range of α_w between 0.146 and 0.891. Where type II isotherms were obtained by having an "S" shape or by being a sigmoid type. These were adjusted to mathematical models commonly applied in food. The fit of the models was evaluated with that which present a more acceptable mean square error root (RMSE) and a correlation coefficient (R^2) close to 1. Based on which, it was observed that the model proposed by Smith presented the best fit of the experimental data. The results obtained allowed us to propose that at conditions of relative humidity greater than 51.4% and equal to or lower than 58.9% and at a temperature of 25°C, the shelf life of dehydrated cocoa beans would be maintained maintaining quality standards during the storage process.

Keywords: Sorption isotherms, water activity, mathematical models, relative humidity, temperature, cocoa FEAR-5 clone.

RESUMO

Cacau (*Theobroma cacao L.*) é uma das culturas representativas do departamento de Meta (Colômbia), cujos grãos são utilizados na indústria de chocolate. O armazenamento é um ponto de controle, pois pode apresentar fenômenos de deterioração que afetam sua qualidade. Durante isso, ocorrem variações de temperatura e umidade relativa, causando perdas nas propriedades físico-químicas e organolépticas dos grãos devido à sua capacidade higroscópica, facilitando o crescimento de fungos. Portanto, este trabalho teve como objetivo determinar as condições de temperatura e umidade relativa, buscando prolongar a vida útil dos grãos de cacau desidratados durante o período de armazenamento. Para isso, foram construídas isotermas de adsorção nas temperaturas de 25, 30 e 35°C para a faixa de α_w entre 0,146 e 0,891. Onde as isotermas do tipo II foram obtidas por ter a forma de “S” ou por ser do tipo sigmóide. Estes foram ajustados a modelos matemáticos comumente aplicados em alimentos. O ajuste dos modelos foi avaliado com o que apresentou o erro quadrático médio (RMSE) mais aceitável e um coeficiente de correlação (R^2) próximo a 1. Com base nisso, observou-se que o modelo proposto por Smith apresentava a melhor ajuste dos dados experimentais. Os resultados obtidos permitiram propor que, em condições de umidade relativa superior a 51,4% e igual e/ou inferior a 58,9% e a uma temperatura de 25°C, a vida útil dos grãos de cacau desidratados seria prolongada, mantendo padrões de qualidade durante o processo de armazenamento.

Palavras-chave: Isotermas de adsorção, umidade relativa, temperatura, clone de cacau FEAR-5.

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es un árbol nativo de Suramérica de las cuencas del Orinoco y Amazonas, el 70.7 % de la producción mundial de cacao se realiza Costa de Marfil, Ghana e Indonesia; el 20 % es producido por Brasil, Nigeria, Camerún y Ecuador, ocupando Colombia el puesto 11 con el 1.2 % de la producción mundial. Colombia tiene una posición geográfica estratégica en su condición de país tropical, beneficiándose con luminosidad permanente y recursos hídricos durante todo el año. Además, se cuenta definido material genético para su utilización de acuerdo a

las diferentes zonas agroecológicas del país (Procolombia, 2015). Actualmente en el país las siembras de cacao se están llevando a cabo con materiales conocidos como clones, que corresponden a la combinación de cacao criollo y trinitario realizado por programas de investigación. Dichos clones son altamente resistentes a enfermedades y poseen gran potencial para la producción de cacao fino y de aroma, siendo estos criterios demandados por las industrias chocolateras para satisfacer finalmente al consumidor final (Escobar y Rojas 2001).

Es importante mantener las características organolépticas (color, aroma, sabor) en el grano de cacao, para lo cual se debe realizar un óptimo proceso de poscosecha (fermentación, secado, limpieza, selección, clasificación, empaque y almacenamiento) (Cubillos *et al.*, 2008), con lo cual se podrá obtener un producto de calidad. Sin embargo, se presentan problemas relevantes en las características físicas y organolépticas de los granos de cacao que llegan a incidir en la calidad del producto final. Tales inconvenientes se originan por causales como malas prácticas agrícolas, diversidad de variedades en un mismo cultivo y al manejo inadecuado de poscosecha y con el tiempo el cacao presenta reacciones de deterioro, tales como oxidación de lípidos, degradación de vitaminas, pigmentos y cambios enzimáticos que en gran medida dependen del contenido de humedad y la actividad de agua del producto (Gálvez *et al.*, 2006). La actividad de agua (α_w) de un producto es uno de los factores más importantes en la conservación de los alimentos. La posibilidad de que se lleven a cabo diferentes tipos de reacciones químicas, bioquímicas y de crecimiento de microorganismos que puedan afectar la estabilidad del alimento, depende de la actividad de agua. Por tanto, es importante el conocimiento de la relación de la actividad de agua y el contenido de humedad de equilibrio (CHE) de los materiales alimenticios para predecir los cambios en sus propiedades físicas, químicas y biológicas que ocurren durante la transformación y almacenamiento. Esta relación entre la α_w y el CHE a una temperatura constante es denominada isoterma de adsorción, que hace referencia a procesos de adsorción (hidratación o rehidratación) o de desorción (deshidratación) (Zhang *et al.*, 1996).

La isoterma de adsorción tiene aplicaciones en el análisis y en el diseño de varios procesos como el secado, el mezclado y el envasado de alimentos. Además, sirve para determinar condiciones óptimas de almacenamiento, predicción de vida útil y selección del material de empaque adecuado. La importancia de la determinación de una isoterma de adsorción radica en situaciones como predecir la estabilidad química y física de los alimentos en función del contenido de humedad, observar su influencia en el ambiente sobre el contenido de agua de un alimento envasado, evaluar el tiempo de deshidratación o de hidratación de un producto, entre otros. Pero para correlacionar el contenido de humedad de equilibrio con la actividad de agua de un alimento, existen varias ecuaciones empíricas y semi-empíricas propuestas donde son usadas para realizar el mejor ajuste de correlación. Teniendo un amplio uso en alimentos al tratar sobre sus propiedades físicas (Moreira *et al.*, 2008).

Cabe mencionar que el almacenamiento de los granos de cacao deshidratado es un punto crítico de control ya que en él pueden ocurrir fenómenos de deterioro que afectan su calidad. Durante éste se presentan variaciones de temperatura y humedad relativa que inducen al grano a absorber humedad (capacidad higroscópica) superando el 7 u 8 %, facilitando la proliferación de hongos y con ello pérdidas en las propiedades fisicoquímicas y organolépticas. Por tanto, el tiempo máximo de almacenamiento es de dos meses aproximadamente. Una vez transcurrido este período, los granos empiezan a deteriorarse y como consecuencia posterior, los agricultores se ven afectados en el precio final de venta a las industrias chocolateras al momento de comercializar su producto (Cubillos *et al.*, 2008).

El proceso de beneficio debe acatar los principios básicos para la conservación de los alimentos y para el caso del cacao, este comprende las operaciones de cosecha, quiebra, fermentación, secado, limpieza y selección, clasificación, empaque y almacenamiento, con la finalidad de obtener un grano de alta calidad. La cosecha se realiza cuando se observa en la mazorca cambios de pigmentación: de verde pasa al amarillo o al rojo y otros similares pasan al amarillo anaranjado. Lo que se considera que el mismo se encuentra en estado óptimo de madurez. En los períodos

“picos” de cosecha, la recolección se debe realizar semanalmente. En cambio, las temporadas de menor producción se realizan cada dos o tres semanas (Murrieta y Palma, 2018).

Para no obtener resultados desfavorables en cuanto a la calidad de los granos, se recomienda no recolectar frutos verdes o verde amarillentos debido a que sus granos aún están duros y su mucílago no se ha terminado de formar. Lo que ocasionaría una deficiencia en el proceso de fermentación dado a que no se desarrollarían efectivamente cambios en propiedades fisicoquímicas y organolépticas del grano. También, el no dejar sobremadurar las mazorcas ya que propiciaría la germinación de los granos, corriendo el riesgo de que proliferen hongos (fungos) y con ello, la formación de enfermedades. Otro aspecto importante es la quiebra que consiste en partir la mazorca por la mitad, para luego con ayuda de los dedos, retirar los granos dejando únicamente la placenta incrustada a la mazorca. Posteriormente, se eliminan pedazos de corteza, hojas, mezclados con los granos y estos deben fermentarse antes de 24 horas (FCC, 2015).

La fermentación es el proceso que realiza cambios bioquímicos en el interior de los granos de cacao y con ayuda de microorganismos, permite el desarrollo de propiedades organolépticas del grano (sabor y aroma). La fermentación consiste básicamente en juntar los granos durante 5 a 7 días para descomponer el mucílago (pulpa blanca que envuelve a los granos), causar la muerte del embrión e iniciar la formación de los compuestos precursores del sabor a chocolate (Cardona 2016).

Los microorganismos (levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias ácido acéticas), que favorecen el proceso de fermentación, inician en condiciones anaeróbicas (sin presencia de oxígeno) y finalizan en condiciones aeróbicas (en presencia de oxígeno), formando alcohol, ácido láctico y ácido acético que permeabilizan la membrana que cubre los granos y son participes en la muerte del embrión, propician la disolución y difusión de alcaloides (teobromina y cafeína), y pigmentos (antocianinas) que son responsables de la formación del sabor amargo en el producto terminado (Schwan y Wheals, 2004).

Después de la fermentación, los granos de cacao se deben deshidratar para reducir la humedad al 7-8 % y continuar con reacciones bioquímicas faltantes que finalmente producirán los precursores del sabor. Si este porcentaje de humedad llegase a estar por encima de este rango, los granos son susceptibles a enmohecerse (presencia de hongos), causando deterioro en su calidad. De igual forma, el porcentaje de humedad no debe estar por debajo de este rango puesto que granos serían frágiles y quebradizos, lo que ocasionaría rechazo por no cumplir con criterios de calidad. También se puede realizar el secado natural, sobre plataforma de madera, expuestas a la luz del sol durante 3 a 9 días). Se recomienda para el primer día del proceso, voltear los granos a una baja frecuencia y en los días posteriores, aumentarla. La mejor señal de que este proceso ha culminado, es tomar un puñado de granos en horas de la mañana y sentir el crujido al apretarlos. Adicionalmente, en el interior de los granos se observa una estructura arrugada de color pardo (De la Cruz *et al*, 2009).

La temperatura del aire caliente no debe ser mayor a 60°C, de lo contrario, puede provocar la inactividad de las reacciones enzimáticas, siendo tales reacciones una de las piezas claves para el desarrollo de precursores del sabor y aroma del chocolate. Adicionalmente, se van formando granos frágiles y quebradizos. Cuando se utiliza secadores, es importante mantener una temperatura de 55 a 60°C y así mismo, el tiempo de secado requiere entre 30 a 34 horas (Rahman 2009).

Después del secado, se someten los granos de cacao deshidratados a una minuciosa limpieza y selección, utilizando tamices y ventiladores, los granos se separan por calidad siendo los mejores los que pesan más de un gramo. Luego de este proceso los granos, se empacan en sacos de fique o yute que estén en perfecto estado, siendo su peso neto de 62.5 kg o sea 16 sacos equivalen a una tonelada métrica. Para su almacenamiento los sacos con los granos se colocan sobre estibas de madera para evitar contacto con el suelo y las paredes. Cada saco debe brindar información del lote como: el productor, tipo de cacao, proceso de fermentación, secado y empaque, con el objetivo de mantener la trazabilidad en los procesos de

certificación y calidad. El tiempo de almacenamiento es máximo a dos meses antes de que inicie su proceso de deterioro (Tinoco y Ospina 2010).

Para satisfacer las necesidades del comprador, los granos de cacao deshidratados deben cumplir con criterios de calidad, lo que implica un adecuado fermentado y deshidratado (7 a 8 % de humedad), libre de olores y de cuerpos extraños y el peso de cada grano no debe ser inferior a 1 gramo. En Colombia la calidad del grano de cacao se rige por la Norma Técnica Colombiana 1252 del ICONTEC 2003, donde se especifican los criterios de calidad de acuerdo con los estándares internacionales. También se especifican los parámetros físicos y químicos aceptados (humedad, grasa y pH), el índice de grano que permite determinar su peso promedio, el índice de mazorca o número de mazorcas que se necesitan para obtener 1 kg de cacao deshidratado (INCONTEC, 2003).

La actividad de agua (α_w) es la herramienta más usada para relacionar las propiedades de un alimento y el contenido de agua, puesto que este factor influye en cambios enzimáticos, reacciones de oxidación de lípidos, degradación de pigmentos y vitaminas, siendo una propiedad intrínseca que se relaciona con el contenido de humedad a través de las isoterms de adsorción y de sorción. El valor de la actividad de agua refleja la cantidad de agua disponible metabólicamente para que un microorganismo se desarrolle en un alimento (Vega y Lara 2006).

Según Labuza *et al.*, (1976), la actividad acuosa se define como la razón de la presión parcial de vapor del agua (P_w) de un alimento sobre la presión de vapor del agua pura (P_o) a una temperatura dada expresándose entre 0 y 1. Donde el alimento más estable a cambios que ocurren como consecuencia del almacenamiento es aquel con el valor de actividad acuosa más bajo. La definición de α_w (Ecuación 1) tiene su fundamento en el equilibrio asumido entre el alimento y su entorno gas, por el cual sus valores deben ser iguales en ambas fases a temperatura (T) y presión (P).

$$\text{Ecuación 1: } \alpha_w = \frac{P_w}{P^{\circ}_w} = \frac{HRE}{100}$$

Donde:

P_w = presión de vapor del agua en equilibrio con el alimento
 P°_w = presión de vapor de agua pura a la misma temperatura
HRE = humedad relativa en equilibrio

La isoterma de sorción se define como la relación entre la actividad de agua y el contenido de humedad de un material en equilibrio a temperatura constante. La cual se obtiene cuando el proceso de equilibrio inicia a partir de una muestra húmeda o seca, permitiendo equilibrarse con la humedad relativa de la atmósfera que la rodea, y finalmente la muestra gana o pierde humedad. Reflejando así, la forma como el agua se liga al sistema (Sajad y Pradyuman, 2016).

Este trabajo se pretende determinar las condiciones de temperatura y humedad relativa con el fin de buscar prolongar la vida útil de granos de cacao deshidratado durante su periodo de almacenamiento a través de la construcción de las isotermas desorción a diferentes condiciones de almacenamiento mencionadas (temperatura y humedad relativa), para conocer el contenido de humedad de equilibrio del grano rehidratado, determinar su variación de actividad de agua. Esto con el fin de disminuir la velocidad de deterioro y formular alternativas para prolongar la vida útil del grano de cacao deshidratado durante el periodo de almacenamiento, manteniendo estándares de calidad en cualquier época del año y ofrecer al agricultor la oportunidad de acceder a un mejor precio en el mercado nacional e internacional.

METODOLOGÍA

Secuencia Experimental

La secuencia experimental para la determinación de condiciones de temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento de granos de cacao deshidratado mediante la técnica gravimétrica realizada por método estático (Figura 1), siendo las de uso más frecuente cuando se trata de construir la isoterma de un determinado producto (Staudt *et al.*, 2013).

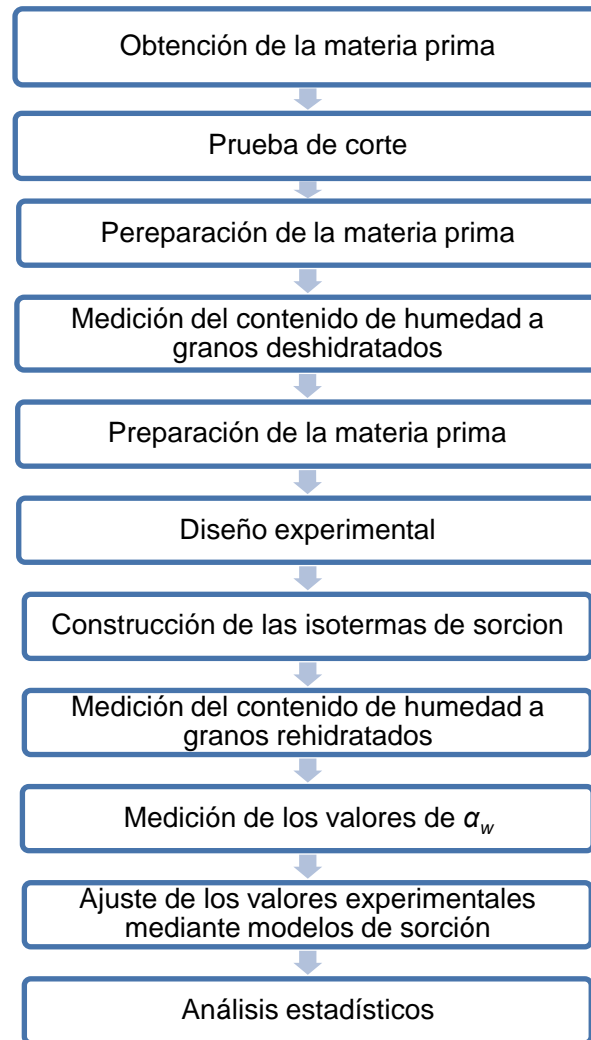


Figura 1. Secuencia experimental según Staudt *et al.*, (2013)

Preparación materia prima utilizada

Este experimento se realizó en el Laboratorio de Bioprocesos del Programa de Ingeniería Agroindustrial situado en la Universidad de los Llanos, vereda Barcelona en Villavicencio-Meta. Se obtuvo 1 kg de granos de cacao fermentados (clon FEAR 5) provenientes de una finca ubicada en el municipio de Guamal-Meta. A este material se le identificaron las características físico-organolépticas de un óptimo grano fermentado: color pardo rojizo (externo), muerte del embrión, hinchazón y olor característico de la fermentación (agradable) (Leon-Roque *et al.*, 2016). Además, se tomó una muestra para realizar la prueba de corte. Con el propósito de verificar

la calidad del grano de cacao fermentado para la ejecución del experimento. Los granos fermentados fueron transportados en cabinas de poliestireno expandido (EPS) refrigeradas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ para evitar actividades biológicas y microbiológicas indeseadas.

Se tomaron cinco granos de la materia prima para realizar en cada uno un corte longitudinal con ayuda de un cuchillo de acero inoxidable previamente limpio y desinfectado con hipoclorito de sodio (2 ppm). Finalmente, por observación directa se buscó en el interior de los granos una coloración pardo rojiza con escurrimiento de líquido color vino tinto (Peláez *et al.*, 2016). La materia prima se secó en horno marca Oven modelo ON-01E con recirculación de aire a $60 \pm 2^\circ\text{C}$ por un tiempo de 34 a 40 horas, hasta alcanzar una humedad de $7.5 \pm 0.5\%$ (Valadez *et al.*, 2017).

Determinación del contenido de humedad

Para determinar el contenido de humedad en el grano deshidratado se empleó el método de A.O.A.C. N° 931.04 (2000). Consiste en colocar una caja Petri (9 cm de diámetro) junto con la tapa durante 2 horas en el horno marca Oven modelo ON-01E con recirculación de aire a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta secarse completamente. Posteriormente, con la ayuda de pinzas será trasladada (tapada) a un recipiente hermético durante 40 minutos (permitiendo enfriarse) y se pesará en la balanza de precisión marca Kern (m1). Luego se pesarán 5 g de granos fermentados (m2) previamente homogeneizados en la caja Petri y junto con la tapa se introducirá en el horno a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por un tiempo de 6 horas. Trascurrido el tiempo, la caja Petri se tapará para ser transferida al recipiente hermético durante 40 minutos permitiendo enfriarse a temperatura ambiente y por último registrar su peso (m3). Las muestras se procesarán por triplicado para la temperatura de secado. El contenido de humedad en la muestra se calcula por diferencia de peso (ecuación 2).

$$\text{Ecuación 2: } \% \text{Humedad} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Siendo:

m1: Masa de la caja Petri tapada (g)

m2: Masa de la caja Petri tapada con la muestra antes del secado (g)

m3: Masa de la caja Petri tapada más la muestra deshidratada (g)

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado para la obtención de los datos experimentales, en el cual se consideran los siguientes factores: actividad de agua a 7 niveles (0.146, 0.383, 0.514, 0.589, 0.771, 0.823 y 0.891) y temperaturas a 3 niveles (25, 30 y 35°C). A los datos obtenidos se les aplicará un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de significancia del 95% empleando el programa estadístico IBM SPSS Statistics 23.

Construcción de las isotermas de sorción

De acuerdo al promedio de temperaturas predominantes durante el almacenamiento de cacao deshidratado, las isotermas de sorción se determinaron a tres temperaturas de trabajo (25, 30 y 35°C). Para ello, se colocaron 2 g de muestra (grano deshidratado) sobre un trípode de acrílico y se introdujeron en recipientes cerrados herméticamente (Figura 2) que contienen soluciones de sal saturadas: Cloruro de Litio (LiCl), Cloruro de Magnesio (MgCl₂), Carbonato de Potasio (K₂CO₃), Nitrato de Magnesio (Mg(NO₃)₂), Cloruro de Sodio (NaCl), Cloruro de Potasio (KCl) y Cloruro de Bario (BaCl₂). Estas fueron preparadas de acuerdo a lo descrito por Spiess, W. y Wolf, W (Tabla 1). Las cuales cubren un rango de actividad acuosa entre 0.146 y 0.891 (Tabla 2) (Rahman, 2008). Posteriormente, los recipientes se llevaron a las temperaturas de trabajo hasta garantizar el equilibrio en el medio. Las muestras se procesaron por triplicado para cada temperatura y para cada solución saturada (Wani y Kumar, 2016). A los recipientes que contienen soluciones de NaCl, KCl y BaCl₂, se les incorporó 5 g de Timol contenida en un recipiente de plástico, con el fin de evitar el crecimiento microbiano dado a que el α_w de estas soluciones es superior a 0.75. Este se ubicó sobre el trípode para que no tuviese contacto directo con la solución salina (Muzaffar y Kumar, 2016).

Se utilizó el método gravimétrico estático para el estudio de sorción de granos de cacao deshidratado. El cual implica el uso de soluciones salinas saturadas para

mantener una humedad relativa en equilibrio a temperatura constante. Para ello, se colocaron aproximadamente 2 g de muestra (grano deshidratado con contenido de humedad de 7 a 8 %) en un recipiente de plástico sobre un trípode de material acrílico (por triplicado).



Figura 2. Construcción de isotermas de adsorción para granos de cacao

Tabla 1. Actividades de agua de soluciones de sal seleccionadas

Sales	Actividad de agua				α_w en Aqualab
	20°C	25°C	30°C	40°C	
Carbonato de Potasio	0.431	0.432	0.432	-	0.514
Cloruro de Bario	-	-	-	-	0.891
Cloruro de Litio	0.113	0.113	0.113	0.112	0.146
Cloruro de Magnesio	0.331	0.328	0.324	0.316	0.383
Cloruro de Potasio	0.851	0.843	0.836	0.823	0.823
Cloruro de Sodio	0.755	0.753	0.751	0.747	0.771
Nitrato de Magnesio	0.544	0.529	0.514	0.484	0.589

Fuente: Rahman, (2008).

Tabla 2. Preparación de soluciones de sal saturadas recomendadas a 25°C

Sal	Nomenclatura	Humedad relativa (%)	Sal (g)	Agua (ml)
Carbonato de Potasio	K_2CO_3	43.80	200	90
Cloruro de Bario	$BaCl_2$	90.26	250	70
Cloruro de Litio	$LiCl$	11.15	150	85
Cloruro de Magnesio	$MgCl_2$	32.73	200	25
Cloruro de Potasio	KCl	84.32	200	80
Cloruro de Sodio	$NaCl$	75.32	200	60
Nitrato de Magnesio	$Mg(NO_3)_2$	52.86	200	30

Fuente: Spiess y Wolf, (1987).

Contenido de humedad en grano rehidratado

El contenido de humedad de la muestra (grano rehidratado) en cada atmósfera se determinó por el método A.O.A.C. N° 931.04 (2000), las muestras se pesaron cada

dos días y fueron retiradas de los recipientes herméticos hasta evidenciar peso constante (Ecuación 3). Se tiene en cuenta el tiempo de pesaje (inferior a un minuto) para evitar cualquier efecto sobre los resultados. A partir de estos datos se determinó el tiempo al cual cada tratamiento en el grano alcanza su equilibrio de saturación de humedad y se realizaron cálculos de peso ganado de la muestra (Ecuación 4).

$$\text{Ecuación 3: } \%CHE = \frac{Pmche - Pms}{Pmche} \times 100$$

Siendo:

Pmche: Peso de la muestra cuando alcanzó el CHE

Pms: Peso de la muestra seca

CHE: Contenido de humedad de equilibrio del grano

$$\text{Ecuación 4: } \textit{Peso ganado} = \textit{Peso final} - \textit{Peso inicial}$$

Siendo:

Peso final: Masa de la muestra rehidratada

Peso inicial: Masa de la muestra deshidratada

Medición de la actividad de agua (α_w)

Se utilizó un equipo modelo Aquablapre para medir la actividad de agua en los granos rehidratados. La variación de la actividad de agua se determinó a diferentes condiciones de humedad relativa y temperatura. Los datos obtenidos junto a los datos de contenido de humedad en equilibrio, permitieron construir las curvas de sorción: % humedad (base seca) vs α_w (Muzaffar y Kumar, 2016).

Ajuste de los valores mediante modelos matemáticos de adsorción

Para determinar el mejor ajuste de los valores experimentales del contenido de humedad en equilibrio (CHE), se emplearon dos modelos matemáticos (Tabla 3), proporcionan buena correlación en la determinación de isothermas de sorción de diferentes productos y en la predicción de la actividad de agua en variados tipos de alimentos. Sus parámetros se calcularon mediante una regresión no lineal de mínimos cuadrados empleando el software R versión 3.6.1 y se seleccionó el modelo matemático que presente la raíz del error cuadrado medio (RMSE) más

aceptable (Ecuación 5) y un coeficiente de correlación lineal (R^2) cercano a 1 Ecuación 6) (Wani, y Kumar, 2016).

Tabla 3. Modelos matemáticos para el ajuste de las isotermas de sorción

$CHE = k_1 - k_2 * \log(1 - a_w)$
k_1 y k_2 : Parámetros del modelo que dependen del producto (Smith)
$CHE = K_1(a_w)^{n_1} + K_2(a_w)^{n_2}$
CHE= Contenido de humedad en equilibrio
n_1 n_2 : Constantes para el modelo
K_2 : Constante relacionada con el calor de adsorción de la multicapa
K_1 : Constante relacionada con el calor de adsorción de la multicapa (Peleg)

Fuente: Labuza,(1984).

$$\text{Ecuación 5: } RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} * \sum_{i=1}^N (Mpi - Mei)^2}$$

$$\text{Ecuación 6: } R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{Y})^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{Y})^2}$$

Siendo:

Me : contenido de humedad de equilibrio experimental.

Mp : contenido de humedad obtenido del modelo predictivo.

N = número de datos experimentales.

\hat{y}_i = contenido de humedad de equilibrio experimental.

y_i = contenido de humedad de equilibrio experimental.

\bar{Y} = Promedio del CHE obtenido del modelo predictivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de la materia prima

A los granos de cacao fermentado (clon FEAR 5), se observó hinchazón, coloración pardo rojizo y muerte del embrión, además, se percibió un olor agradable característico de la fermentación. Posteriormente, se tomó una muestra de cinco granos para realizar la prueba de corte a cada uno, evidenciando en la estructura interna una coloración pardo rojiza con escurrimiento de líquido color vino tinto.

Di Mattia *et al.*, (2013) manifiestan que el proceso de fermentación en granos de cacao representa un paso clave para el desarrollo del aroma y sabor del chocolate.

Provocando la disminución de la solubilidad de polifenoles, reduciendo el amargor y la astringencia, dando lugar al color típico de los granos bien fermentados. Según Ramos, (2013) la fermentación es una acción combinada y balanceada de ácidos, alcoholes, humedad, pH y temperatura, conducente a la disminución del sabor amargo y la pérdida de teobromina. La fermentación facilita el proceso de secado y la separación de la testa o cáscara de los cotiledones.

Un óptimo grano de cacao fermentado presentará características como: aroma agradable, sabor ligeramente amargo, color marrón achocolatado en su cáscara y toma un aspecto inflado o hinchado debido a la humedad adquirida y se puede separar el cotiledón de la cáscara con suma facilidad. No obstante, cuando los granos no han sido correctamente fermentados presentan características como sabor amargo o astringente (muy pronunciado), aroma desagradable, el color de la testa es blanco, los granos no se hinchan y la cáscara se encuentra muy adherida al cotiledón (Parra, 2013).

Amoa-Awua, (2016) resalta que la prueba de corte es un procedimiento simple y de uso frecuente, basado en los cambios de color registrados durante la fermentación. Que consiste en cortar los granos a lo largo por la mitad y examinar su color interno utilizando una puntuación basada en granos morados y marrones. Sin embargo, este método no es totalmente cuantitativo y la evaluación del color es muy subjetiva. Cabe señalar que este procedimiento se realizó en tres distintas ocasiones para construir las isotermas de sorción a diferentes temperaturas (25, 30 y 35°C), tras observaciones a las superficies externas e internas de las muestras tomadas y a discusiones encontradas en estudios de varios autores mencionados, se concluye que la materia prima fue adecuadamente fermentada y en calidad era ideal para la ejecución del experimento.

Análisis de la humedad

Tras realizar la medición del contenido de humedad en granos deshidratados, se obtuvieron porcentajes entre 7 u 8 % de humedad, siendo este el rango permisible y un criterio de aceptación de calidad aceptable (Tabla 4). Una vez alcanzada la

humedad requerida en la muestra (granos de cacao deshidratados) para continuar con la construcción del montaje para las isotermas de sorción, se observaron cambios en las propiedades organolépticas y físicas en la muestra, siendo estos cambios notorios el color (granos de color pardo rojizo a color marrón), y el olor (se percibía el olor a chocolate).

Tabla 4. Porcentaje de humedad inicial para la construcción de isotermas de sorción por tres repeticiones (R) para cada temperatura.

Muestras para 25 °C	Muestras para 30 °C	Muestras para 35 °C
R1= 7,653	R 1= 7,228	R1= 7,287 %
R2= 7,564	R2= 7,500	R2= 7,441 %
R3= 7,362 %	R3= 7,347	R3= 7,742 %

Prabhakaranr, (2010) afirma que los granos después de la fermentación se deben secar para reducir su contenido de humedad en 60%, quedando, entre 6 y 8% y de esta manera prevenir la infestación de moho durante el almacenamiento, permitiendo también que algunos de los cambios químicos que ocurrieron durante la fermentación continúen y mejoren el desarrollo del sabor. Además Afoakwa, (2010) reporta que el proceso de secado inicia las principales reacciones de oxidación del polifenol catalizadas por la polifenol oxidasa, dando lugar a nuevos componentes de sabor y pérdida de integridad de la membrana, lo que induce la formación de color marrón. Esto ayuda a reducir la amargura, la astringencia y también el desarrollo del color marrón en los granos de cacao.

Para determinar si las variables siguieron una distribución normal, se ejecutó la prueba de test de normalidad (Tabla 5), estos valores de significancia fueron inferiores a 0.05 para todos los casos; por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa para cada una de las variables de medición establecidas.

La aplicación de la prueba de test de normalidad muestra adicionalmente dos gráficos: Histogramas y Normal Probability Plot. La curva normal demuestra que las no siguen una distribución normal. Cada valor observado se le empareja con su valor esperado, procedente éste último de una distribución normal. Si la muestra es extraída de una población normal, ambos valores se encontrarán en la misma línea

recta. Por tanto, si el gráfico muestra una relación cercana a una línea recta, entonces se “sugiere” que los datos proceden de una distribución normal.

Tabla 5. Resultados de pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso grano de cacao (g)	0,057	336	0,010	0,954	336	0,000
Ganancia de peso grano de cacao (g)	0,107	336	0,000	0,925	336	0,000
Contenido de Humedad de equilibrio del grano de cacao (%)	0,098	336	0,000	0,950	336	0,000
Actividad de agua	0,126	336	0,000	0,948	336	0,000

Si sig. (p-valor) > 0.05: se acepta la hipótesis nula (la variable sigue distribución normal).

Si sig. (p-valor) < 0.05: se rechaza la hipótesis nula (la variable no sigue distribución normal).

a. Corrección de significación de Lilliefors

El ajuste a la recta no se encuentra en la misma línea recta, por lo que se manifiesta que los datos para cada uno de los casos no siguen una distribución normal. Sin embargo, las interpretaciones de ambas gráficas resultan congruentes con la obtenida de los contrastes de Kolmogorov Smirnov Lilliefors y Shapiro Wilks. Adicionalmente, se realizó el análisis exploratorio de datos para estudiar con mayor precisión la forma y las características de la distribución de las variables de medición (CHE, peso de grano, peso ganado y α_w), donde se obtuvieron diferencias significativas en los valores del promedio y la mediana en cada una de las variables de medición. Por lo que se sugiere que las variables no siguen una distribución normal dado a que uno de los comportamientos de seguir es que los valores del promedio, mediana y media sean significativamente iguales. Por tanto, el promedio no representa a las variables de medición, caso contrario a la mediana, pues al notar que las variables a medir no tienen una distribución normal, este parámetro, si representa estas variables. Por lo anterior, no se realiza análisis de varianza, sino pruebas no paramétricas.

La prueba de Kruskal-Wallis permite decidir si puede aceptarse la hipótesis de que k muestras independientes proceden de la misma población o de poblaciones

idénticas con la misma mediana. Los resultados al realizar la prueba Kruskal-Wallis, muestran significancias inferiores a 0.05 para tres de las variables de medición lo cual permitió determinar que los tratamientos (soluciones salinas) influyeron significativamente en el CHE, peso ganado y α_w del grano.

Adicionalmente, se observó en la Tabla 6, que la variable de agrupación “número de grano” arrojó un valor de significancia de 0.837 (superior a 0.05), lo que indica que el número de granos no influyó en la variación del peso del grano. Motivo por el cual concluye que los granos son iguales.

Tabla 6. Prueba de Kruskal-Wallis a variables de medición establecidas

Peso del grano (g)		Peso ganado del grano (g)	
Chi-cuadrado	102.764	Chi-cuadrado	0.355
Gl	6	gl	2
Sig. asintótica	0.000	Sig. asintótica	0.837
a. Prueba de Kruskal-Wallis		a. Prueba de Kruskal-Wallis	
b. Variable de agrupación: Sal utilizada		b. Variable de agrupación: Número del grano	
CHE del grano (%)		Actividad de agua α_w	
N	399	N	399
Mediana	0.0081800	Mediana	0.64800
Chi-cuadrado	179.069 ^b	Chi-cuadrado	202.077 ^b
Gl	6	gl	6
Sig. asintótica	0.000	Sig. asintótica	0.000
a. Variable de agrupación: Sal utilizada		a. Variable de agrupación: Sal utilizada	
b. 0 casillas (0.0%) han esperado frecuencias menores que 5. La frecuencia mínima de casilla esperada es 28.4		b. 0 casillas (0.0%) han esperado frecuencias menores que 5. La frecuencia mínima de casilla esperada es 28.3	

Como la prueba de Kruskal-Wallis no permite identificar cuáles tratamientos influyen significativamente en estas variables, entonces para conocer cuáles de los siete tratamientos influyeron en las variables de medición, se realizaron comparaciones pareadas con la prueba de Mann Whitney y así poder determinar las temperaturas que influenciaron significativamente en el CHE, peso ganado y α_w del grano para cada tratamiento (Tablas 7, 8 y 9).

Tabla 7. Peso ganado del grano por temperatura para cada tratamiento (la significancia fue cero)

Tratamiento	Estadísticos Kruskal-Wallis χ^2	Temperatura °C	N	Mediana Peso ganado del grano
Cloruro de Litio	38.592	25	12	1.851 ^A
		30	24	1.745 ^B
		35	21	1.619 ^C
Cloruro de Magnesio	25.951	25	12	1.750 ^A
		30	24	1.786 ^B
		35	21	1.827 ^B
Carbonato de Potasio	33.760	25	12	1.508 ^A
		30	24	1.819 ^B
		35	21	1.697 ^C
Nitrato de Magnesio	40.428	25	12	1.828 ^A
		30	24	1.916 ^B
		35	21	1.677 ^C
Cloruro de Sodio	48.545	25	12	1.582 ^A
		30	24	1.990 ^B
		35	21	2.285 ^C
Cloruro de Potasio	48.438	25	12	1.598 ^A
		30	24	1.877 ^B
		35	21	1.721 ^C
Cloruro de Bario	16.475	25	12	1.780 ^A
		30	24	2.004 ^B
		35	21	1.900 ^B
General	81.660	25	84	1.675 ^A
		30	168	1.885 ^B
		35	147	1.756 ^C

*Comparación pareada entre temperaturas en el tratamiento prueba de Mann Whitney

*Medianas con letras distintas son estadísticamente diferentes

*El promedio no representa el peso ganado del grano, lo representa la mediana

La prueba de Kruskal-Wallis para el peso ganado del grano por temperatura para cada tratamiento dio una significancia de cero (inferiores a 0.05) para todos los casos, lo cual determinó que, en los tratamientos de las sales, la temperatura influyó decididamente en el peso ganado del grano la temperatura (Tabla 8). Adicionalmente, en el peso ganado del grano por temperatura para cada tratamiento, se clasificaron en tres grupos (A, B y C) las temperaturas que influenciaron significativamente en el peso ganado del grano para cada tratamiento. Esta clasificación por grupos, se estableció dado a que se encontraron temperaturas

con igual y diferente influencia en el peso ganado del grano para cada tratamiento, (Tabla 8).

Tabla 8. CHE del grano por temperatura para cada tratamiento (la significancia fue cero)

Tratamiento	Estadísticos Kruskall-Wallis χ^2	Temperatura °C	N	Mediana Humedad en equilibrio
Cloruro de Litio	11.842	25	12	-0.029 ^A
		30	24	0.018 ^A
		35	21	-0.046 ^B
Cloruro de Magnesio	23.564	25	12	-0.011 ^A
		30	24	-0.030 ^B
		35	21	-0.039 ^C
Carbonato de Potasio	19.881	25	12	-0.006 ^A
		30	24	-0.004 ^A
		35	21	-0.306 ^B
Nitrato de Magnesio	27.285	25	12	0.000 ^A
		30	24	-0.014 ^B
		35	21	-0.027 ^C
Cloruro de sodio	18.445	25	12	0.031 ^A
		30	24	0.008 ^A
		35	21	0.000 ^B
Cloruro de Potasio	27.521	25	12	0.044 ^A
		30	24	0.027 ^B
		35	21	0.018 ^C
Cloruro de Bario	20.730	25	12	0.068 ^A
		30	24	0.052 ^B
		35	21	0.053 ^B
General	30.748	25	84	0.031 ^A
		30	168	0.018 ^B
		35	147	-0.004 ^C

*Comparación pareada entre temperaturas en el tratamiento prueba de Mann Whitney

*Medianas con letras distintas son estadísticamente diferentes

*El promedio no representa el CHE del grano, lo representa la mediana

Por tanto, para los casos de los tratamientos de Cloruro de Litio, Carbonato de Potasio, Nitrato de Magnesio, Cloruro de Sodio y Cloruro de Potasio. A 25 (grupo A), 30 (grupo B) y 35°C (grupo C), tuvieron cada una, diferente influencia significativa en el peso del grano en el tratamiento a las demás temperaturas. No obstante, en los tratamientos de Cloruro de Magnesio y Cloruro de Bario, a 30 y

35°C (grupo B) fueron similares en el peso ganado del grano, pero diferente su influencia a la temperatura de 25°C (grupo A).

Tras realizar la prueba Kruskal-Wallis para el CHE del grano por temperatura para cada tratamiento, los valores de significancia fueron inferiores a 0.05 para todos los casos, determinando que, en los tratamientos de las sales, influyó decididamente la temperatura en el CHE del grano (Tabla 9). Adicionalmente, se clasificaron en tres grupos (A, B y C) las temperaturas que influenciaron significativamente en el CHE del grano para cada tratamiento. Esta clasificación por grupos, se estableció dado a que se encontraron temperaturas con igual y diferente influencia para cada tratamiento (Tabla 9).

Por tanto, para los casos de los tratamientos de Cloruro de Magnesio, Nitrato de Magnesio y Cloruro de Potasio. Las temperaturas de 25 (grupo A), 30 (grupo B) y 35°C (grupo C), tuvieron cada una, diferente influencia en el CHE. Los tratamientos de Cloruro de Litio, Carbonato de Potasio y Cloruro de Sodio, a 25 y 30°C (grupo A) fueron semejantes en el CHE del grano, pero se observó diferencia a 35°C (grupo B). En el tratamiento de Cloruro de Bario, a 30 y 35°C (grupo B) tuvieron la misma influencia el CHE del grano pero diferente a 25°C (grupo A).

La prueba Kruskal-Wallis para el α_w del grano por temperatura para cada tratamiento fueron inferiores a 0.05 para los casos de los tratamientos de Cloruro de Litio, Nitrato de Magnesio, Cloruro de Sodio y Cloruro de Bario. Esto determinó que, la temperatura influyera en el α_w del grano. Sin embargo, dado a los valores de significancia obtenidos y siendo superiores a 0.05 en los casos de los tratamientos de Cloruro de Magnesio, Carbonato de Potasio y Cloruro de Potasio. Se determinó que no influyó la temperatura en el α_w del grano. Por tanto, la temperatura no influyó significativamente el α_w del grano para los tratamientos de Cloruro de Litio, Nitrato de Magnesio, Cloruro de Sodio y Cloruro de Bario (Tabla 9)

Para de Cloruro de Litio y Nitrato de Magnesio a 25 y 30°C (grupo A) tuvieron la misma influencia en el α_w del grano, pero fue diferente a 35°C (grupo B). Con Cloruro de Bario, a 30 y 35°C (grupo B) el comportamiento fue similares para el α_w del grano

y diferentes a 25°C (grupo A). Con Cloruro de Sodio a 30 (grupo a A) y 35°C (grupo B) observaron diferencias en el α_w , a 25°C (grupo AB) obtuvo la misma influencia que a 30°C (grupo A), como también a 35°C (grupo B). Finalmente, en los tratamientos con Cloruro de Magnesio, Carbonato de Potasio y Cloruro de Potasio, la temperatura no influyó en el α_w del grano, por tanto, se clasificaron en un mismo grupo las temperaturas de 25, 30 y 35°C (grupo A) para estos tratamientos (Tabla 9).

Tabla 9. Actividad de agua del grano por temperatura para cada tratamiento

Tratamiento	Estadísticos Kruskal-Wallis		Temperatura	N	Mediana Actividad de agua
	χ^2	Significancia			
Cloruro de Litio	20.860	0.000	25	12	0.571 ^A
			30	24	0.553 ^A
			35	21	0.467 ^B
Cloruro de Magnesio	3.391	0.183	25	12	0.599 ^A
			30	24	0.531 ^A
			35	21	0.530 ^A
Carbonato de Potasio	3.461	0.177	25	12	0.664 ^A
			30	24	0.551 ^A
			35	21	0.553 ^A
Nitrato de Magnesio	14.401	0.001	25	12	0.660 ^A
			30	24	0.610 ^A
			35	21	0.559 ^B
Cloruro de sodio	15.718	0.000	25	12	0.726 ^{AB}
			30	24	0.731 ^A
			35	21	0.705 ^B
Cloruro de Potasio	0.851	0.653	25	12	0.771 ^A
			30	24	0.780 ^A
			35	21	0.788 ^A
Cloruro de Bario	9.879	0.007	25	12	0.825 ^A
			30	24	0.856 ^B
			35	21	0.871 ^B
General	6.595	0.037	25	84	0.663 ^{AB}
			30	168	0.700 ^B
			35	147	0.583 ^A

*Comparación pareada entre temperaturas en el tratamiento prueba de Mann Whitney

*Medianas con letras distintas son estadísticamente diferentes

*El promedio no representa el α_w del grano, lo representa la mediana

Se observa que existe correlación significativa entre el peso ganado del grano y el CHE, dado a que el valor fue 0.002 (inferior a 0.05). Además, se trata de una

correlación negativa moderada ($r = -0.403$), siendo este valor negativo y no muy lejano a cero (0). Por tanto, se puede determinar que estas variables están correlacionadas negativamente de manera moderada. Lo que indica que a medida que una de estas variables aumente, disminuirá la otra y viceversa.

Tabla 10. Correlaciones de Pearson de las variables

		Peso ganado del cacao (g)	Humedad de equilibrio del grano	Actividad de agua
Peso ganado del cacao (g)	Correlación de Pearson	1	-0.403**	0.362**
	Sig. (bilateral)		0.002	0.006
Humedad de equilibrio del grano	Correlación de Pearson	-0.403**	1	-0.659**
	Sig. (bilateral)	0.002		0.000
Actividad de agua	Correlación de Pearson	0.362**	-0.659**	1
	Sig. (bilateral)	0.006	0.000	

** La correlación es significativa en el nivel 0.01 (2 colas). N= 57

Por otro lado, se evidencia la correlación significativa entre el peso ganado del grano y el α_w 0.006 que es inferior a 0.05, además, se trata de una correlación positiva baja ($r = 0.362$), siendo este un valor negativo y cercano del valor de cero (0). Por tanto, se puede determinar que estas variables están correlacionadas positivamente de forma baja. Lo que indica que a medida que unas de estas variables son proporcionales; cuando aumenta o disminuya una, la otra también lo hará. Adicionalmente, la existencia de correlación significativa entre el CHE y el α_w , fue de 0.000 (inferior a 0.05). Además, se trata de una correlación negativa alta dado a su valor ($r = -0.659$), siendo este negativo y lejano del valor de cero (0). Por tanto, se puede determinar que estas variables están correlacionadas negativamente de forma alta. Lo que indica que a medida que una de estas variables aumente, disminuirá la otra y viceversa (Tabla 10).

Isotermas de sorción

Rahman *et al.*, (2008) manifestaron que el método estático es el método más simple y común para medir la actividad de agua en los alimentos. Siendo sus ventajas: la simplicidad, bajo costo, capacidad para manejar muchas muestras simultáneamente y su fácil operación. Ramírez *et al.*, (2014) expresaron que la

técnica gravimétrica por método estático es de uso más frecuente cuando se trataba de construir la isoterma de un determinado producto. En cuanto a la prevención del crecimiento de microorganismos en soluciones saturadas con elevados niveles de α_w , Labuza, (1984) reiteró que para niveles de α_w superiores a 0.70 se pueden colocar pequeños recipientes con tolueno contenido dentro del recipiente o frasco sellado. Sin embargo, Smith, (1971) expresó que se puede utilizar acetato fenilmercúrico (altamente tóxico) o timol (para productos no grasos) dentro de un soporte especial. Adicionalmente, mencionó que las soluciones de sal se deben preparar con agua destilada fría y reposarse durante una semana en estado cerrado (durante este período de tiempo se debe agitar una vez al día).

A las muestras contenidas en diferentes condiciones de humedad relativa y temperatura, se le realizaron pesadas y mediciones de α_w para poder determinar su contenido de humedad en equilibrio y su variación en el α_w . Este procedimiento se realizó cada 48 horas y una vez evidenciado el equilibrio (muestra con peso constante con diferencia máxima de 0.002 g), las muestras fueron retiradas de los recipientes herméticos. Teniendo en cuenta que se realizó un procedimiento experimental por triplicado, se realizó un promedio a los datos para consolidar un único valor (Tabla 11).

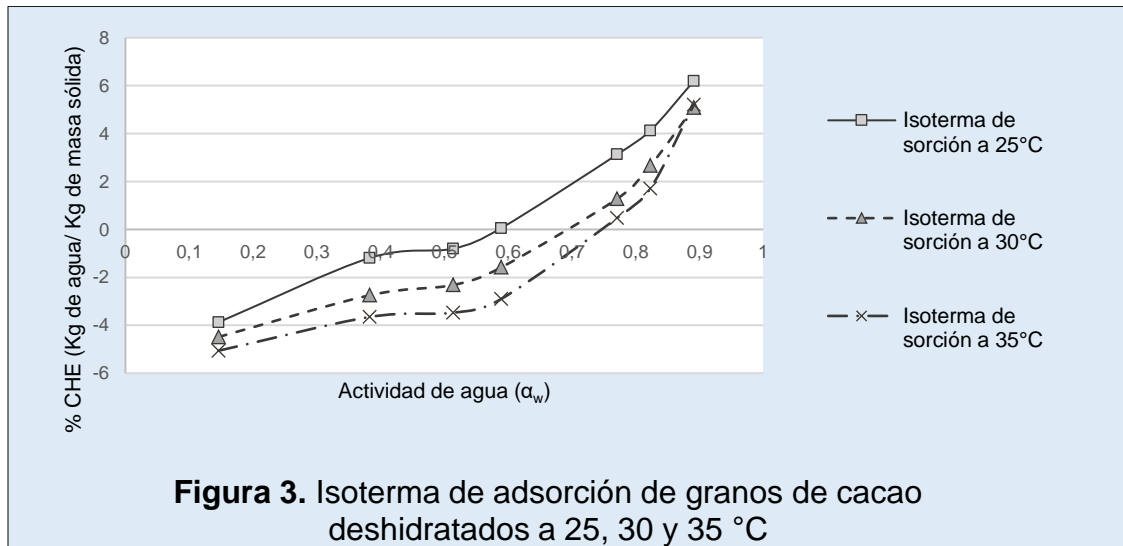
Tabla 11. Datos experimentales de las muestras del estudio de sorción

Actividad de agua (α_w)	25 °C		30 °C		35 °C	
	Peso ganado (g)	%CHE	Peso ganado (g)	%CHE	Peso ganado (g)	%CHE
0.146	-0.071±0.002	-3.873±0.16	-0.075±0.016	-4.488±0.098	-0.078±0.003	-5.060±0.023
0.383	-0.020±0.002	-1.190±0.056	-0.052±0.013	-2.746±0.613	-0.068±0.001	-3.652±0.038
0.514	-0.012±0.004	-0.801±0.271	-0.040±0.001	-2.317±0.152	-0.060±0.001	-3.476±0.048
0.589	0.001±0.001	0.054±0.001	-0.029±0.003	-1.584±0.226	-0.049±0.002	-2.903±0.006
0.771	0.050±0.005	3.130±0.246	0.026±0.007	1.283±0.389	0.010±0.001	0.480±0.034
0.823	0.066±0.004	4.127±0.240	0.051±0.002	2.665±0.165	0.030±0.001	1.712±0.027
0.891	0.115±0.003	6.193±0.076	0.107±0.028	5.087±0.149	0.104±0.009	5.204±0.106

CHE= Contenido de humedad en equilibrio

Finalmente, con estos datos resultantes se construyeron las curvas de sorción a temperaturas de 25, 30 y 35°C para granos de cacao deshidratado (Figura 3) y se

determinó el tiempo al cual las muestras alcanzan su respectivo CHE. Donde las muestras sometidas a diferentes humedades relativas y a temperaturas constantes de 25, 30 y 35°C, tomaron un tiempo total de 768 horas (32 días) aproximadamente en alcanzar el equilibrio (peso constante).



Las muestras que se mantuvieron a 25°C tardaron 144 horas (6 días). En cuanto a las muestras que estuvieron a 30°C demoraron un periodo de 336 horas (14 días) respectivamente. Por último, las muestras sometidas a 35°C tardaron un lapso de 288 horas (12 días) en alcanzar el equilibrio.

En relación al tiempo en que una muestra alcanzó el equilibrio, los autores Khalid y Pradyuman, (2016) realizaron un trabajo de investigación sobre “Isotermas de sorción de humedad y estudio de almacenamiento para la pulpa de tamarindo en polvo secado por pulverización”, donde manifestaron que el período de tiempo que requirió la muestra para que alcanzase el equilibrio (peso constante) fue de aproximadamente 3 a 4 semanas. Por otro lado, Yogender y Kamlesh, (2016) presentaron el estudio denominado utilizando la mezcla de sopa instantánea a base de arroz (muestra), alcanzó el contenido de humedad en equilibrio (CHE) en 10 días. Dado a las declaraciones realizadas por los autores mencionados referentes a isotermas de sorción para alimentos, se determinó que los granos de cacao alcanzaron su contenido de humedad en equilibrio entre 1 a 2 semanas. Lo que indica que esta duración está dentro del intervalo de tiempo en el cual un

determinado producto alimentario alcanza el equilibrio a diferentes condiciones de humedad relativa y temperatura.

Los datos experimentales obtenidos en el estudio de sorción para granos de cacao deshidratados a temperaturas de 25, 30 y 35°C. En ella, se puede observar que son isotermas de tipo II (según los cinco tipos de isotermas establecidas por Van der Waals) por tener forma de “S” o por ser tipo sigmoidea. Debido este comportamiento se insinúa una adsorción física en multicapa. Lo cual significa que la formación de la primera capa ocurre por un rápido ascenso inicial de humedad, siendo esta formación mayor en comparación al restante de las capas. Por tanto, al ir elevando los niveles de actividad de agua se forma la segunda capa de moléculas adsorbidas, seguida una de la otra (Figura 3). Este mismo comportamiento lo reportaron Gálvez *et al.*, (2007) y Ramírez *et al.*, (2014), quienes mencionaron que este tipo de isoterma son frecuentes en verduras y frutas dado a que son productos que adsorben pequeñas cantidades de humedad a niveles bajos de actividad de agua y aumentan considerablemente su adsorción de humedad a altos niveles de actividad de agua.

Cabe recalcar que la actividad de agua (α_w) de un producto se puede medir porque el α_w es igual a la humedad relativa del aire en equilibrio con el producto. Por consiguiente, los valores de los niveles de actividad de agua establecidos en el estudio de sorción hacen referencia a la de humedad relativa a la cual los granos de cacao deshidratado no adsorben ni liberan agua al medio en el que se almacenaban.

Prosiguiendo, para este tipo de isotermas se obtuvieron algunos valores negativos en el contenido de humedad de equilibrio de los granos. Considerando que estos cedieron humedad al medio dado a que este medio contenía menor humedad en comparación a los granos de cacao. Estableciendo que a niveles de actividad de agua entre 0.146 y 0.589 (siendo estos valores de α_w iguales a los porcentajes de humedad relativa entre 14.6 y 58.9%), se desarrolló el fenómeno conocido como desorción para cada una de las temperaturas de trabajo.

Pero a humedades relativas superiores al 58.9 % ($\alpha_w = 0.589$) se evidenció que la humedad de los granos aumentó dado a que el medio en el que se encontraban almacenados contenía mayor humedad en comparación a estos (adsorción). Por tanto, en las isotermas para granos de cacao deshidratado (con 7 a 8% de humedad) se lograron los fenómenos de adsorción y desorción para cada una de las temperaturas de trabajo establecidas. Las muestras tenían más humedad en comparación al medio que los almacenaba. Por tal motivo, las muestras cedieron humedad al medio obteniéndose ciertos valores negativos en el contenido de humedad en equilibrio para este mismo nivel de actividad de agua.

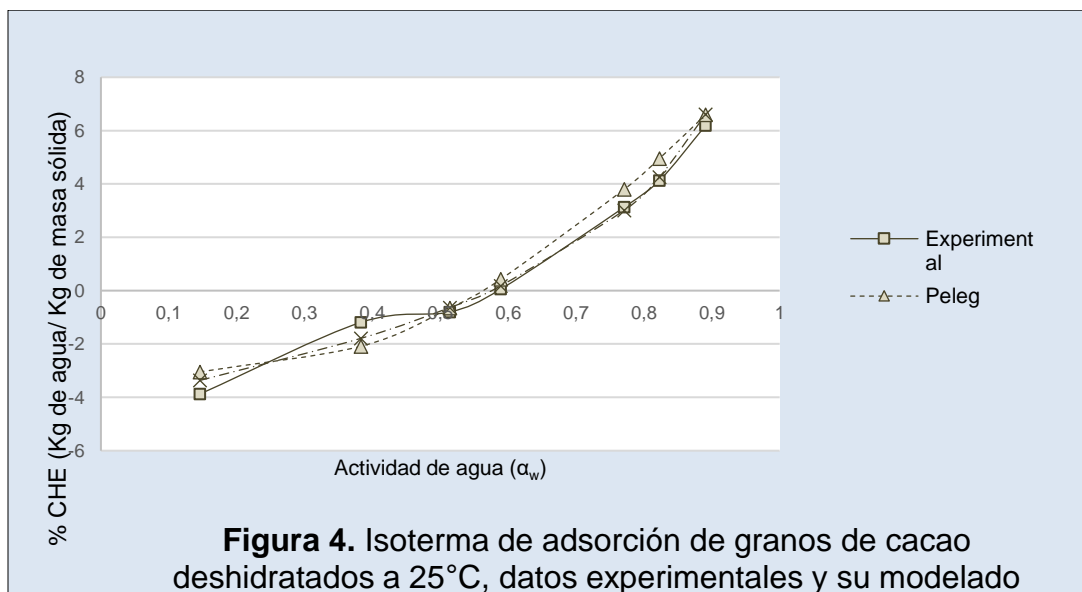
De lo anterior y detallando las isotermas obtenidas, se estableció que a 35°C y a niveles de actividad de agua iguales o inferiores a 0.589 (58.9% de humedad relativa), los granos cedieron más humedad al medio (mayor presencia del fenómeno de desorción) en comparación a los granos almacenados a 25 y 30°C. Pero a esta misma temperatura y a niveles de actividad de agua iguales y/o inferiores a 0.711 (71.1% de humedad relativa), los granos adsorbieron menos humedad del medio (menor presencia del fenómeno de adsorción) en comparación a los granos almacenados a temperaturas de 25 y 30°C. A excepción del nivel de actividad de agua de 0.891 (89.1% de humedad relativa) contraste a la temperatura de 30°C, debido a que a estas condiciones los granos almacenados a 35°C adsorbieron mayor humedad del medio en comparación a los de 30°C.

Continuando en orden descendiente referente al fenómeno de desorción, le siguen los granos que estuvieron almacenados a 30°C con niveles de actividad de agua iguales o inferiores a 0.589 (58.9% de humedad relativa). Pero referente al fenómeno de adsorción que se observó en la isoterma de 30°C y a niveles de actividad de agua superiores al 0.771 (77.1% de humedad relativa), los granos almacenados bajo estas condiciones adsorbieron más humedad del medio en comparación a los granos almacenados a 35°C, pero caso contrario ocurrió a un nivel de actividad de agua de 0.891 (89.1% de humedad relativa).

Finalmente, las condiciones donde los granos cedieron menos humedad al medio en comparación a las condiciones de 30 y 35°C, fueron a temperatura de 25°C y a

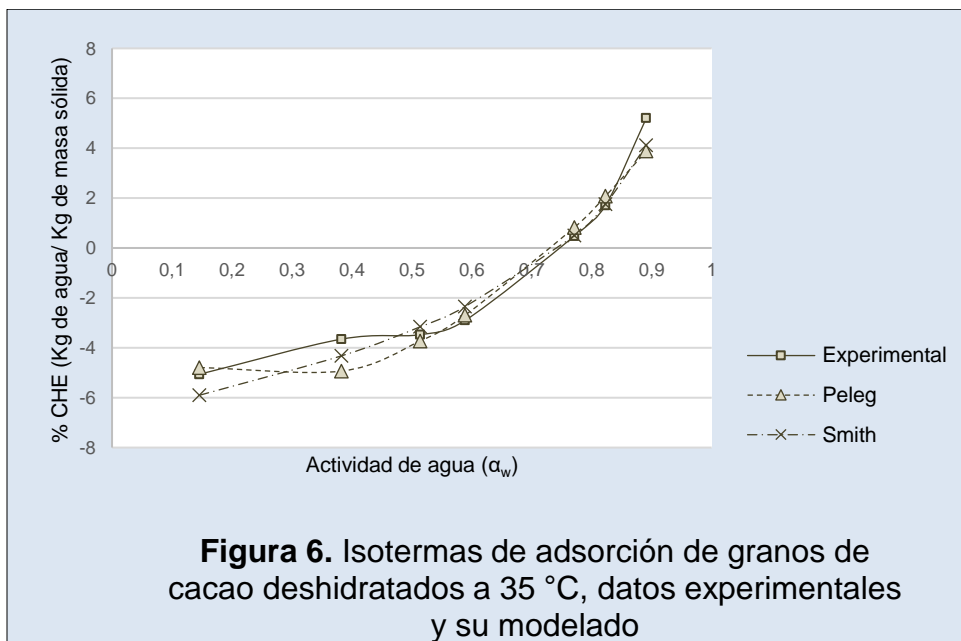
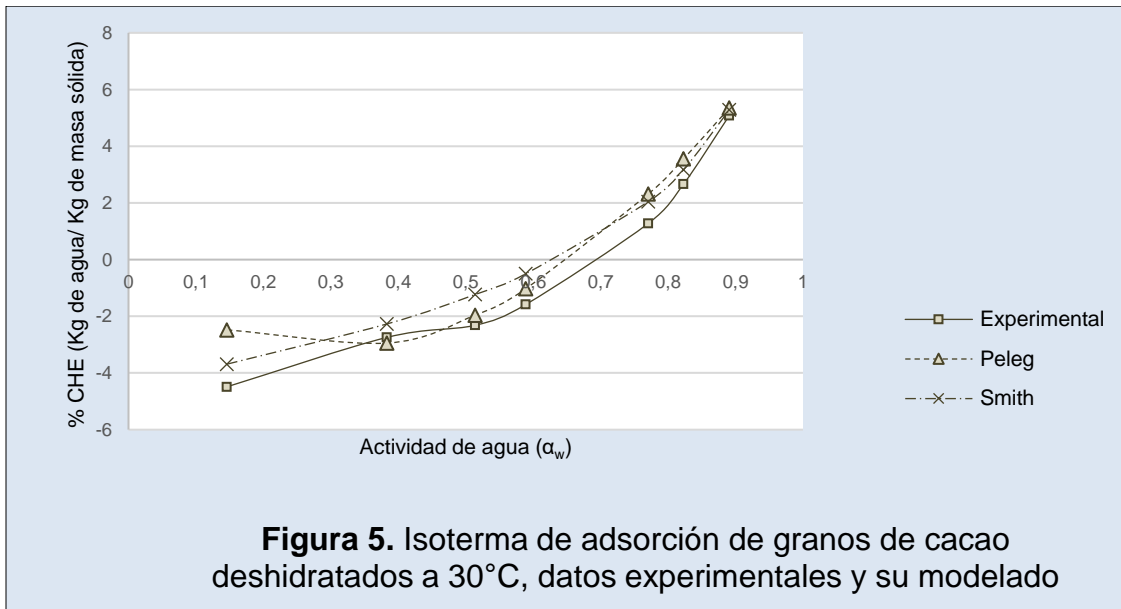
niveles de actividad de agua iguales y/o inferiores a 0.514 (51.4% de humedad relativa). No obstante, a esta misma temperatura, pero a niveles de actividad de agua iguales y/o superiores a 0.589 (58.9% de humedad relativa), los granos adsorbieron mayor cantidad de humedad del medio en comparación a las otras temperaturas de trabajo.

La ecuación utilizada para las tres temperaturas un R^2 en dieron un R entre 0.907 a 0.960, Considerando ser un modelo útil a la hora de modelar isothermas de sorción para granos de cacao deshidratado. No obstante, se presentaron coeficientes de correlación más cercanos a uno (1) fue el modelo predictivo de Smith, (1971). Reportando un R^2 entre 0.941 a 0.988, determinando que es el que mejor se ajusta a los datos experimentales de granos de cacao deshidratados en el rango de temperaturas evaluado. En las Figuras 4, 5 y 6 se presentan las curvas experimentales y modeladas (ajustadas) a 25, 30 y 35°C, respectivamente, utilizando los modelos propuestos, donde se observa de manera gráfica el buen ajuste obtenido con estos modelos.



Pudo observarse que las constantes de los modelos propuestos presentaron cambios sin una tendencia clara con base a las temperaturas de trabajo. Demostrando la imposibilidad de utilizar una ecuación generalizada para describir el comportamiento de adsorción en granos de cacao deshidratado. Considerando

que estas variaciones pudieron deberse a los diferentes supuestos propios de cada modelo. Sin embargo, los modelos empleados han presentado un buen ajuste (R^2) por lo cual cada uno permitió realizar predicciones altamente aproximadas.



CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados se puede afirmar que las ecuaciones de Peleg y Smith, modelaron correctamente los datos experimentales para las temperaturas de

trabajo (25, 30 y 35°C). Sin embargo, el modelo de Smith presentó el mejor ajuste de los datos experimentales de granos de cacao deshidratados en todo el intervalo de contenido de humedad y actividad de agua considerado en este estudio.

Se pudo observar que las isotermas de adsorción de granos de cacao deshidratado tuvieron forma de "S". Considerándose ser tipo II, lo que insinúa una adsorción física en multicapa, un comportamiento característico de frutas y verduras.

No obstante, a niveles de actividad de agua entre 0.146 y 0.589, los granos cedieron humedad al medio. Considerando que el medio en el cual los granos estaban almacenados, contenía menor humedad en comparación a estos. Por tanto, se considera la ocurrencia del fenómeno denominado desorción a estos niveles de actividad de agua para cada una de las temperaturas de trabajo.

Teniendo en cuenta que en las isotermas se presencié el fenómeno de desorción, se puede apreciar, además, que al aumentar el nivel de actividad de agua se tiene como efecto el incremento en el contenido de humedad de equilibrio en los granos a temperatura constante. Considerando la tasa de desorción más alta al inicio del estudio de sorción y conforme, va disminuyendo constantemente. Dando inicio a la tasa de adsorción hasta el punto en llegar a la humedad de equilibrio con respecto a las condiciones del medio en el que se encuentran almacenados los granos.

Con base al comportamiento de las isotermas de granos de cacao deshidratados, se expone que la temperatura influyó de forma inversa sobre el contenido de humedad en equilibrio. Lo cual indica que, a un mismo nivel de actividad de agua, el contenido de humedad en equilibrio en los granos de cacao deshidratado será mayor a una baja temperatura y viceversa.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, se concluye que a condiciones de humedad relativa superior al 51.4% e igual y/o inferior al 58.9% con temperatura a 25°C, se prolongaría la vida útil de los granos de cacao deshidratados manteniendo estándares de calidad durante el proceso de almacenamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Afoakwa, E. 2010. Chocolate science and technology. UK: Wiley Blackwell Publishers. 3-82 p.
2. Amoah-Awua, W. 2016. Methods of cocoa fermentation and drying, Prediction of fermentation index of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) based on color measurement and artificial neural networks. *Talanta*, 16: 31.
3. AMOA-AWUA, W. 2015. Methods of cocoa fermentation and drying, in R.F. Schwan and G.H. Fleet, *Cocoa and Coffee Fermentations*, First ed., CRC Press - Taylor & Francis Group, NY, USA. Pag. 71-116 p.
4. Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.). Official methods of analysis. 931.04. 18th Edition. Gaithersburg, Maryland. USA. 2000.
5. Cardona L. 2016. Influencia del proceso de fermentación sobre las características de calidad del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis para Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, 99 p. Disponible en: http://bdigital.unal.edu.co/57686/1/43987710_2017.pdf
6. Cortés, F. 2006. Modelamiento del proceso de adsorción y desorción de metanol en un lecho de carbón activado para la aplicación en sistemas de refrigeración solar por adsorción intermitente. Tesis en Maestría de Ingeniería Química, Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Minas, 103 p. Disponible en: https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2017771226849_2006.pdf?sequence=1
7. Cubillos, G, Merizalde G y Correa E. 2008. Manual de beneficio del cacao, Medellín, Colombia 2008. 1-29 p. Disponible en: https://www.chocolates.com.co/wp-content/uploads/2018/05/manual_beneficio_cacao.pdf
8. De la Cruz J, Vargas M, Del Angel Coronel O. 2009. Cacao: Operaciones Poscosecha, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 78 p. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-au995s.pdf>
9. Di Mattia C, Martuscelli M, Sacchetti G, Scheirlinck I, Beheydt B, Mastrocola D, Pittia P. 2013. Effect of fermentation and drying on procyanidins, antiradical activity and reducing properties of cocoa beans. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 3420-3432.
10. Escobar, J., Rojas, M. 2001. Acuerdo sectorial de competitividad de la cadena del cacao y su agroindustria: Colección de documentos IICA serie Competitividad. 1-40 p.
11. Federation of Cocoa Commerce (FCC). 2015. Cacao en grano: Requisitos de calidad de la industria del chocolate y del cacao. 110 p. Disponible en: http://cocoaquality.eu/data/Cacao%20en%20Grano%20Requisitos%20de%20Calidad%20de%20la%20Industria%20Apr%202016_es.pdf
12. Gálvez et al. 2006. Isotermas de adsorción en harina de maíz (*Zea mays* L.) *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26: 821-827.
13. Hansen, C, Del Olmo M, Burri C 1999. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77: 273-281
14. Khalid, M., Pradyuman, K. 2016. Moisture sorption isotherms and storage study of spray dried tamarind pulp. *Powder Technology*, 291: 322-327.
15. Labuza, T. 1984. Moisture Sorptions: Practical Aspects of Isotherm Measurement and use. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. 4.
16. Labuza T, Acott K, Tatini S, Lee R, Flink J, McCall W. 1976. Water activity determination: A collaborative study of different methods. *Journal of Food Science*, 41: 910-917. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1976.tb00751.41.4.x>
17. León-Roque N, Abderrahim M, Nuñez-Alejos L, Arribas S, Condezo-Hoyos L, LEÓN, N. et al. 2016. Prediction of fermentation index of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) based on color measurement and artificial neural networks. *Talanta*, 161: 31-39. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27769412>
18. Moreira R, Torres R, Chenio F, Vallejo M. 2008. Thermodynamic analysis of experimental sorption isotherms of loquat and quince fruits. *J. Foods Eng.*, 88: 514-521. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/222921300_Thermodynamic_analysis_of_experimental_sorption_isotherms_of_loquat_and_quince_fruits
19. Murrieta E, Palma H. 2018. Manual de buenas prácticas de cosecha postcosecha de cacao a nivel de productor. USAID- Alianza cacao 43 p. Disponible en: https://issuu.com/comunicacionesalianzaccacaoperu/docs/manual_poscosecha_cacao
20. Muzaffar K, Kumar P. 2016. Moisture sorption isotherms and storage study of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technology*, 29: 322-327. Disponible en: <https://kundoc.com/pdf-moisture-sorption-isotherms-and-storage-study-of-spray-dried-tamarind-pulp-powder.html>
21. Norma Técnica Colombiana (ICONTEC). NTC 1252. 2003. Cacao en grano, 2003. 12 p. Disponible en: <https://pdfslide.net/documents/ntc-1252-cacao-en-grano.html>
22. Parra, P. 2013. Secado artificial de cacao. Estado de arte. Primer Congreso Salesiano de Ciencia, Tecnología e Innovación para la Sociedad. 211-238.
23. Peláez P., Contreras D, Guerra S. 2016. Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria*, 7: 111-119. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/305368597_Changes_in_physical_and_chemical_characteristics_of_fermented_cocoa_Theobroma_cacao_beans_with_manual_and_semi-mechanized_transfer_between_fermentation_boxes
24. Prabhakaran N. 2010. Cocoa (*Theobroma cacao* L.). In *The agronomy and economy of important tree crops of the developing world*, pp. 131-180. Elsevier Inc. (Chapter 5).
25. Procolombia. 2015. El cacao colombiano: Oportunidades y retos en el mercado internacional. Bogotá D.C., septiembre 2015, pp 1-31.
26. Rahman, S. (ed.) 2009. Food Properties Handbook. Second Edition. USA. 1088 p.
27. Rahman, S. y Sablino, S. Water Activity Measurement Methods of Foods. En: *Food Properties Handbook*. Second Edition: M. Shafiq Rahman. 2008. 1-27 p.
28. Ramírez M, Cruz M, Vizcarra M, Anaya, I. 2014. Determinación de las isotermas de sorción y las propiedades termodinámicas de harina de maíz nixtamalizada. *Rev. Mex. Ing. Quím* [online]. 13 (1): 165-178.
29. Ramos, G. 2004. La fermentación, el secado y almacenamiento del cacao. Taller Internacional de Calidad Integral de Cacao. Memorias INIAP. Quedo, Ecuador.
30. Ramos, G. 2013. La fermentación, el secado y almacenamiento del cacao. Taller Internacional de Calidad Integral de Cacao. Memorias INIAP. Quedo, Ecuador, citado por Parra, P. Secado artificial de cacao. Estado de arte. Primer Congreso Salesiano de Ciencia, Tecnología e Innovación para la Sociedad. 214 p.
31. Sajad A, Pradyuman, K. 2016. Moisture sorption isotherms and evaluation of quality changes in extruded snacks during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 74: 448-455.
32. Sandoval, A, Barreiro, J. 2002. Water sorption isotherms of non-fermented cocoa beans (*Theobroma cacao*). *Journal of Food Engineering*, 51: 119-123.
33. Sandoval, A, Barreiro, J. 2002. Sorption characteristics of fermented cocoa powder (*Theobroma cacao*). *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, 25: 49-54.
34. Smith, P. 1971. The determination of equilibrium relative humidity or water activity in foods - A Literature Review. The British Food Manufacturing Industries Research Association, England.
35. Spiess, W., Wolf, W. 1987. The results of the COST 90 project on water activity. *Physical Properties of Food*, pp 65-91.
36. Staudt P, Kechinskil C, Tessaro C, Soares R, Cardozo N. 2013. A new method for predicting sorption isotherms at different temperatures using the BET model. *Journal of Food Engineering*, 114: 139-145. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412003500>
37. Schwan, R., Wheals, A. 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (4): 205-221.
38. Tinoco H, Ospina D. 2010. Análisis del proceso de deshidratación de cacao para la disminución del tiempo de secado. *Revista EIA*, 13: 53-63. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/eia/n13/n13a05.pdf>
39. Vega A, Lara, Lemus M. 2006. Isotermas de adsorción en harina de maíz (*Zea mays* L.) *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26: 821-827. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3959/395940080017.pdf>
40. Valadez L, Plazola C, Hernández M, Hernández D, Villarreal F, Necochea H, A Ortiz A, Ceballos G. 2017. Effects of microwaves, hot air and freeze-drying on the phenolic compounds, antioxidant capacity, enzyme activity and microstructure of cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4: 378-386. Disponible en: <https://jpn.elsevierpure.com/es/publications/effects-of-microwaves-hot-air-and-freeze-drying-on-the-phenolic-c>
41. Villamizar, F., Hernández, J. 2011. Determinación de parámetros y simulación matemática del proceso de secado del cacao (*Theobroma cacao*). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. 1-12 p.
42. Wani, S., Kumar, P. 2016. Moisture sorption isotherms and evaluation of quality changes in extruded snacks during storage. *LWT Food Science and Technology*, 74: 448-455. Disponible en: https://www.academia.edu/31656076/Moisture_sorption_isotherms_and_evaluation_of_quality_changes_in_extruded_snacks_during_storage
43. Yogender, S., Kamlesh, P. 2015. Sorption isotherms modeling approach of rice-based instant soup mix stored under controlled temperature and humidity. *Cogent Food & Agriculture*. 1: 1-11.
44. Zhang, X.; Xie L, De-Xiang G, Wei Z, Ren- L, Pen L. 1996. Desorption Isotherms of Some Vegetables. *J. Scie Food Agric.*, 70 (3): 303-306.