



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
AGROINDUSTRIA**

MODALIDAD:

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**TÉCNICAS DE FERMENTACIÓN DEL CACAO CCN-51 Y
NACIONAL USANDO LA ENZIMA PECTIN TRANS ELIMINASA
COMO PRECURSOR SENSORIAL DE LA ALMENDRA Y LICOR DE
CACAO**

AUTORA:

MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ

TUTOR:

ING. LUIS ALBERTO DUICELA GUAMBI, Mg. Sc.

CALCETA, ENERO DE 2021

DERECHOS DE AUTORÍA

MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido en el artículo 46 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.



MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Mg. Sc. LUIS ALBERTO DUICELA GUAMBI, certifica haber tutelado el trabajo de titulación **TÉCNICAS DE FERMENTACIÓN DEL CACAO CCN-51 Y NACIONAL USANDO LA ENZIMA PECTIN TRANS ELIMINASA COMO PRECURSOR SENSORIAL DE LA ALMENDRA Y LICOR DE CACAO**, que ha sido desarrollado por **MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ**, previo la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al Reglamento de unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



M.Sc. LUIS ALBERTO DUICELA GUAMBI

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **TÉCNICAS DE FERMENTACIÓN DEL CACAO CCN-51 Y NACIONAL USANDO LA ENZIMA PECTIN TRANS ELIMINASA COMO PRECURSOR SENSORIAL DE LA ALMENDRA Y LICOR DE CACAO**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al Reglamento de la unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



FRANCISCO DEMERA LUCAS, Mg
MIEMBRO



NELSON MENDOZA GANCHOZO, Mg
MIEMBRO



ROSANNA LOOR CUSME, Mg
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

Este trabajo es el resultado del esfuerzo realizado en conjunto por personas incomparables, que han sabido brindarme su apoyo y fortaleza aun en los momentos difíciles.

No hay trabajo que no tenga su recompensa y no existe esfuerzo que no rinda su fruto. Es por esto, que siguiendo el ejemplo de esas personas invaluable he llegado a cumplir una de mis metas, difícil, pero satisfactoria. Le extiendo mis más profundos agradecimientos al Ser que me ha dado todo y mucho más, mi amado Dios, a mis adorados padres, mi familia, mis amigas y a la persona que se ha convertido en mi fortaleza y ayuda, mi amado esposo.

Muy especialmente dedico mi gratitud a aquellos que han sabido ser maestros y que me han acompañado en este camino laborioso que he recorrido, a mi tutor el Ing. Luis Duicela Guambi, quien han sabido guiarme con paciencia para la culminación de este trabajo.

A todos ellos, muchas gracias.

MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ

DEDICATORIA

Este logro está dedicado muy especialmente al dador de la vida, a mi amado Dios, por darme la fortaleza y permitirme llegar hasta aquí, y porque sé también que me permitirá llegar mucho más allá de lo que yo puedo imaginar.

A mis padres Erick Lucero y Rosi Alvarez por darme el mejor ejemplo de perseverancia, cariño y de lucha, por mostrarme que todo es posible si se hace con amor y dedicación, para mí los mejores padres.

A la persona que ha sabido ganarse mi amor y ahora es una parte indispensable de mi vida, a mi esposo Josué Cantos, gracias amor por tu ayuda, paciencia y fortaleza. A mis hermanos Daniela y Erick Lucero, a toda mi familia, los adoro y gracias por compartir conmigo su cariño y colaborar para la culminación de este trabajo.

De manera muy especial se lo dedico a mi tía Sara Alvarez, un ejemplo de mujer y de profesional, en mis momentos de desánimo siempre ha tenido las palabras precisas para ayudarme a levantar y me ha hecho ver que puedo conseguir lo que me proponga.

MARIELA GISSELA LUCERO ALVAREZ

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO DE TABLAS.....	ix
CONTENIDO DE FIGURAS.....	x
CONTENIDO DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. CACAO EN ECUADOR.....	5
2.1.1. VARIEDAD CCN-51	5
2.1.2. VARIEDAD NACIONAL	6
2.2. BENEFICIO DE LAS ALMENDRAS DE CACAO.....	7
2.2.1. FERMENTACIÓN.....	8
2.2.2. CALIDAD DEL CACAO	11
2.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO	14
2.4. ENZIMAS EN LA FERMENTACIÓN DE CACAO	16
2.4.1. ENZIMAS PÉCTICAS.....	16
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	18
3.1. UBICACIÓN	18
3.2. DURACIÓN.....	18
3.3. FACTORES Y NIVELES EN ESTUDIO.....	19

3.4.	TRATAMIENTOS	19
3.5.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
3.6.	UNIDAD EXPERIMENTAL.....	21
3.7.	MANEJO DEL EXPERIMENTO	21
3.8.	VARIABLES A MEDIR Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN	25
3.8.1.	VARIABLES DEPENDIENTES:.....	25
3.8.2.	ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS ALMENDRAS	25
3.8.3.	ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL LICOR DE CACAO.....	26
3.8.4.	ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	27
3.9.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	28
3.9.1.	ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	28
3.9.2.	SEPARACIÓN DE MEDIAS.....	28
3.9.3.	CORRELACIONES MOMENTO PRODUCTO DE PEARSON.....	28
3.9.4.	ANÁLISIS REGULAR, SEGÚN LOS MÉTODOS TAGUCHI	29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		30
4.1.	VARIABLES FÍSICAS Y QUÍMICAS EN ALMENDRAS DE CACAO	30
4.1.1.	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	30
4.1.2.	ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBAS DE TUKEY	31
4.1.3.	ANÁLISIS DE CORRELACIONES.....	32
4.2.	ANÁLISIS REGULAR (MÉTODOS TAGUCHI).....	33
4.2.1.	PESO DE 100 ALMENDRAS.....	33
4.2.2.	PORCENTAJE DE TESTA	35
4.2.3.	PORCENTAJE DE ALMENDRAS FERMENTADAS.....	38
4.2.4.	PH DE ALMENDRAS	41
4.2.5.	ACIDEZ TITULABLE	44
4.3.	ANÁLISIS SENSORIAL.....	47
4.3.1.	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	47
4.3.2.	ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBAS DE TUKEY	48
4.3.3.	ANÁLISIS DE CORRELACIONES.....	49
4.3.4.	SABOR A CACAO	50
4.3.5.	ACIDEZ	51
4.3.6.	AMARGOR.....	53

4.3.7. OLORES INDESEABLES	54
4.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS.....	55
4.4.1. POLIFENOLES TOTALES.....	56
4.4.2. TEOBROMINA Y CAFÉÍNA.....	56
4.4.3. COMPUESTOS VOLÁTILES.....	57
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	58
5.1. CONCLUSIONES	58
5.2. RECOMENDACIONES	60
BIBLIOGRAFÍA.....	61
ANEXOS.....	67

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1 Requisitos físicos y calidad para los granos de cacao.....	11
Tabla 2 Composición química del grano de cacao fermentado y seco	14
Tabla 3 Niveles en los factores en estudio	19
Tabla 4 Tratamientos en estudio con su respectiva codificación	20
Tabla 5 Esquema de ADEVA BA	21
Tabla 6 Métodos de ensayo de análisis de composición química	28
Tabla 7 Promedios de las variables físicas y químicas en función de los tratamientos en estudio	31
Tabla 8 Cuadrados medios y significación estadística de las variables en estudio.....	32
Tabla 9 Matriz de correlaciones lineales entre variables físicas y químicas en almendras de cacao.....	33
Tabla 10 Rangos de Tukey para la variable peso de 100 almendras	34
Tabla 11 Rangos de Tukey para la variable porcentaje de testa	37
Tabla 12 Rangos de Tukey para la variable almendras fermentadas	40
Tabla 13 Rangos de Tukey para la variable pH de almendras	43
Tabla 14 Rangos de Tukey para la variable acidez titulable.....	45
Tabla 15 Promedios de los puntajes de las características sensoriales (1-5).....	48
Tabla 16 Cuadrados medios y significación estadística de las variables sabor a cacao (SAB), acidez (ACI), amargor (AMA) y olores indeseables (OIND)	49
Tabla 17 Matriz de correlaciones lineales entre variables sensoriales	49

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1 Flujo del proceso experimental sin aplicación de tratamientos	22
Figura 2 Flujo del proceso experimental con la aplicación de tratamientos	23
Figura 3 Flujo del proceso experimental con la aplicación de tratamientos	23
Figura 4 Extracción del licor de cacao.....	24
Figura 5 Peso de 100 almendras en función de factores y niveles en estudio.....	35
Figura 6 Porcentaje de testa en función de factores y niveles en estudio	38
Figura 7 Porcentaje de almendras fermentadas en función de factores y niveles en estudio	41
Figura 8 pH de almendras en función de factores y niveles en estudio	44
Figura 9 Acidez titulable en función de factores y niveles en estudio	46
Figura 10 Calificación sensorial: Sabor a cacao.....	50
Figura 11 Análisis de tendencia para la variable sabor a cacao	51
Figura 12 Análisis de tendencia para la variable acidez	52
Figura 13 Análisis de tendencia de la variable amargor	54
Figura 14 Análisis de tendencia de la variable olores indeseables	55

CONTENIDO DE ANEXOS

Anexo 1 Recolección y desgrane de mazorcas.....	68
Anexo 2 Beneficio convencional de los testigos	68
Anexo 3 Beneficio de las almendras con la aplicación de los tratamientos	69
Anexo 4 Tostado de almendras	70
Anexo 5 Pesado y adecuación de muestras para análisis.....	70
Anexo 6 Análisis físico-químicos	71
Anexo 7 Extracción y evaluación sensorial del licor de cacao	72
Anexo 8 Reportes de análisis de laboratorio	73
Anexo 9 Promedios para variable peso de 100 almendras (g)	75
Anexo 10 Promedios para variable porcentaje de testa	75
Anexo 11 Promedios para variable almendras fermentadas (%).....	76

Anexo 12 Promedios para variable pH de almendras.....	76
Anexo 13 Promedios para variable acidez titulable (%).....	77
Anexo 14 Respuesta esperada para variable peso de 100 almendras (g).....	77
Anexo 15 Respuesta esperada para variable porcentaje de testa.....	77
Anexo 16 Respuesta esperada para variable almendras fermentadas (%)	78
Anexo 17 Respuesta esperada para variable pH de almendras	78
Anexo 18 Respuesta esperada para variable acidez titulable (%)	78

RESUMEN

El estudio se desarrolló en las fincas “Cantos” y “Tierra Narvanda”, de enero a abril/2020, en Buena Fé, Los Ríos, cuyo objetivo fue “Establecer el efecto de la enzima Pectin trans eliminasa sobre las características físicas de almendras y atributos sensoriales del licor de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional”. El diseño fue DCA de 8 tratamientos poscosecha + 2 testigos (beneficio convencional) y 3 repeticiones, adaptados al diseño ortogonal $L_8(2)^7$ (métodos Taguchi). Se evaluaron las variedades CCN-51 y Nacional, así como, dos niveles para los factores: prebeneficio, dosis de enzima, tiempos de fermentación, lavado, reposo poslavado y secado. Los resultados evidenciaron que el beneficio inmediato del cacao comparado con el beneficio después de 72 horas de la cosecha mostró un efecto favorable en el peso de las almendras (diferencia de 6.1 %), confianza del 99 % ($p > 0.01$). La variedad CCN-51 mostró mayor índice de semilla, con 1.77 g y el cacao Nacional tuvo 1.42 g. El cacao Nacional, beneficiado a 72 horas, con dosis 1 mL/5 kg, fermentación por 30 minutos, escurrido, lavado completo, reposo poslavado y secado en tendal, permitió tener una media de almendras bien fermentadas (%) = 82.40 ± 0.70 % > resto de tratamientos ($p < 0.05$). En la evaluación sensorial se constató diferencias significativas en sabor a cacao ($p < 0.05$) usando producto enzimático 2 mL/5 kg, escurrido, lavado y reposo poslavado. El contenido de polifenoles, teobromina y cafeína en el tratamiento 7 fue de 69.75 mgÁc Gálico/g, 1.97 % y 0.41 %, mientras que en el 4 de 78.21 mgÁc Gálico/g 1.75 % y 0.22 %. Los dos tratamientos presentan, principalmente, Oxometil acetato en sus compuestos volátiles.

Palabras clave: Pectinasas, poscosecha, fermentación de granos.

ABSTRACT

The study was carried out at the “Cantos” and “Tierra Narvanda” farms, from January to April / 2020, in Buena Fé, Los Ríos, whose objective was to “Establish the effect of the enzyme Pectin trans eliminase on the physical characteristics of almonds and sensory attributes of the cocoa liquor of the CCN-51 and Nacional varieties”. The design was DCA of 8 postharvest treatments + 2 controls (conventional benefit) and 3 repetitions, adapted to the L8 (2) 7 orthogonal design (Taguchi methods). The CCN-51 and Nacional varieties were evaluated, as well as two levels for the factors: pre-benefit, enzyme dose, fermentation times, washing, post-washing rest and drying. The results showed that the immediate benefit of cocoa compared to the benefit after 72 hours of harvest showed a favorable effect on the weight of the almonds (difference of 6.1%), confidence of 99% ($p > 0.01$). The CCN-51 variety showed a higher seed index, with 1.77 g and the Nacional cocoa had 1.42 g. The Nacional cocoa, benefited at 72 hours, with a dose of 1 mL / 5 kg, fermentation for 30 minutes, drained, complete washing, post-wash rest and drying in a clothesline, allowed to have an average of well-fermented almonds (%) = $82.40 \pm 0.70\%$ > rest of treatments ($p < 0.05$). In the sensory evaluation, significant differences were found in cocoa flavor ($p < 0.05$) using enzymatic product 2 mL / 5 kg, drained, washed and post-washed. The content of polyphenols, theobromine and caffeine in treatment 7 was 69.75 mgAc Gallic / g, 1.97% and 0.41%, while in treatment 4 it was 78.21 mgAc Gallic / g 1.75% and 0.22%. The two treatments mainly present Oxomethyl acetate in its volatile compounds.

Key words: Pectinases, postharvest, grain fermentation.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

De acuerdo a reportes de la Organización Internacional del Cacao (ICCO, 2014) la tendencia en cuanto a producción y consumo del cacao ha venido creciendo a un ritmo promedio del 2.5 % anual, esto a pesar de las fluctuaciones en la producción y por ende en los precios. Ecuador es el cuarto exportador mundial de cacao en grano, con un área cultivada de 560.387 hectáreas y lidera la producción de la variedad de cacao fino de aroma con una participación del 63 % a nivel mundial (Corporación Financiera Nacional {CFN}, 2018).

La Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (ANECACAO, 2015), dio a conocer en su informe que se ha identificado que cerca del 75 % de la producción de cacao ecuatoriano pertenece a cacao fino de aroma; producto tradicional y emblemático del país por sus fragancias y sabores frutales; y un 25 % a otras variedades, especialmente CCN-51 que se distingue por su capacidad productiva, y resistente a las enfermedades como *moniliasis* y escoba de bruja.

La variedad CCN-51, no logra cubrir los requerimientos de la demanda en cuanto a sus características sensoriales; que es afectada por diversos factores como la variabilidad genética, según Ortiz, Graziani y Rovedas (2009), a esto se le añade la posición geográfica y factores climáticos.

El Comercio (2018), indica que entre 2005 y 2013 se habría quintuplicado el volumen producido de cacao CCN-51; pasando de 20 mil a 100 mil TM anuales, lo que no ocurre con el cacao nacional. El proceso de beneficio de cacao involucra un proceso de fermentación diferenciado, proceso en el que intervienen hongos y bacterias que por acción enzimática degradan el mucílago.

En la actualidad, el sector cacaotero ecuatoriano se enfrenta a problemas de calidad en los productos que comercializa, debido a la heterogeneidad en el grado de fermentación por no aplicar procesos estandarizados. Además, que se realiza la

mezcla de variedades CCN-51 y cacao fino de aroma, opina Zapata (2017); lo que es una desventaja para la producción de semielaborados y elaborados del cacao.

Sin embargo, una de las causas más importantes de esta poca competitividad, es el manejo poscosecha de los granos de cacao, específicamente en la operación de fermentación, que se realiza con el objetivo de desarrollar los precursores del sabor como aminoácidos libres, péptidos y azúcares reductores que contribuyen a una agradable impresión sensorial (Teneda, 2016). En esta operación, la pulpa que envuelve las semillas, forma compuestos como el etanol y ácido acético producto del metabolismo de microorganismos (Navia y Pazmiño, 2012).

Teneda (2016) expresa, que se producen también compuestos polifenólicos, que originan el sabor astringente y se difunden hacia las células adyacentes, mezclándose con enzimas que provocan reacciones hidrolíticas; provocando el color violeta de la almendra, que indica errores en el proceso de fermentación.

En este sentido, durante mucho tiempo se han aplicado un sin número de técnicas con el propósito de mejorar la calidad del producto, relacionadas a operaciones de cosecha de los frutos, fermentación, secado, limpieza y selección, clasificación, empaque y almacenamiento de los granos (Cubillos, Merizalde, y Correa, 2008). Pero todavía no se ha logrado mejorar completamente la calidad de ciertas variedades de cacao.

Por lo expuesto anteriormente se plantea la siguiente pregunta: ¿Existe al menos una técnica de fermentación de los granos de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional que mejore las características físicas y sensoriales?

1.2. JUSTIFICACIÓN

En el panorama mundial la representación del cacao fino de aroma se redujo desde cerca de la mitad de la producción mundial hasta casi el 5 % en los inicios de este siglo, al igual que su calidad. De esta forma la creciente demanda global de chocolate y las ventajas de la variedad CCN-51, han llevado a que un creciente

número de grandes fabricantes la estén adoptando en sus procesos productivos de chocolates, generando el interés por la investigación de nuevas tecnologías para los procesos poscosecha (Escuela Superior Politécnica del Litoral {ESPOL}, 2016).

La aplicación de enzimas, es parte de la biotecnología, éstas son proteínas que forman parte de las células de todos los seres vivos. Debido a que son capaces de acelerar la velocidad de reacciones químicas es que se les considera catalizadores biológicos y son esenciales para que la célula esté metabólicamente activa (Peña y Quirasco, 2010).

Según Romero (2010), la pectin trans eliminasa es una enzima pectolítica muy concentrada, diseñada especialmente para la eliminación del mucílago muy aplicada en la fermentación del café. Esta enzima se produce a partir del microorganismo *Aspergillus*, es un producto líquido de color ámbar y olor aromático.

En este ámbito, esta investigación pretende mejorar las condiciones de la operación de fermentación, con la adición de enzimas, ya que las semillas de cacao tienen la característica de ser higroscópicas, lo cual le permite absorber sustancias a su alrededor (Sánchez, 2007).

Por lo tanto, se procura que, al mejorar las características sensoriales del licor de cacao, y de las almendras fermentadas con la adición de la enzima pectin trans eliminasa; se contribuya a la agroindustria local fortaleciendo el posicionamiento de elaborados a partir de cacao CCN-51 y Nacional, como una alternativa para el pequeño y mediano productor.

Características comprobables, que les permita comercializar productos capaces de competir, por su calidad, en el mercado nacional y mundial, ya que solo el 15 % de los granos de cacao producidos en Ecuador se procesan a nivel local (Vasallos, 2016). Lo que se articula con el objetivo 5 del Plan Nacional de desarrollo, el cual cita que se debe impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistributiva y solidaria (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo {SENPLADES}, 2017).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Establecer el efecto de la enzima pectin trans eliminasa sobre las características físicas de las almendras fermentadas y sensoriales del licor de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las características físicas de las almendras fermentadas de cacao de las variedades CCN 51 y Nacional.
- Evaluar el impacto sensorial en el licor de cacao de las variedades CCN 51 y Nacional en función de los tratamientos usados en la fermentación.
- Valorar la composición química de las almendras fermentadas de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional con las mejores características físicas y sensoriales.

1.4. HIPÓTESIS

Al menos un factor de la poscosecha influye significativamente sobre las características físicas y sensoriales de las almendras fermentadas y el licor de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CACAO EN ECUADOR

Las variedades de cacao, nacional y CCN-51 predominan en las plantaciones cacaoteras del Ecuador, de las cuales, a la variedad de cacao nacional es reconocido mundialmente por sus características de sabor y aroma, apreciadas en la preparación de chocolates, contrastándose con la variedad CCN-51 la cual no alcanza las características organolépticas del cacao nacional (Díaz y Pinoargote, 2012).

Navia y Pazmiño (2012), dicen que la calidad de los granos de cacao depende de varios factores entre los cuales citan el tipo de cacao, su origen genético, el grado de madurez a cosecha, calidad de fermentación y posterior secado y tostado. En relación a lo anterior el Ecuador, por sus especiales condiciones geográficas y su riqueza en biodiversidad, es el productor por excelencia de cacao nacional fino y de aroma con el tradicional "Sabor Arriba" que ha sido reconocido durante siglos en el mercado internacional (Guevara, 2017).

2.1.1. VARIEDAD CCN-51

Carrión (2012), relata en su informe que, en el año de 1960 Homero Castro logra en su finca "Teobroma", ubicada en Naranjal, seleccionar varios híbridos con las características deseadas, y procedió luego a clonar algunos de ellos a los que los denominó con las siglas CCN-51 cuyo significado es "Colección Castro Naranjal". Los diferentes clones CCN fueron obtenidos del híbrido entre los clones ICS-95 x IMC67 (Imperial College Selection e Iquitos Mixed Cabacillo).

Las mazorcas del CCN-51 son rojizas-moradas cuando están tiernas y de color rojizo anaranjadas cuando maduran. Presentan sabor a cacao de medio a bajo. Su potencial se encuentra en la producción de manteca de cacao (Paredes, 2009).

El CCN-51 tiene un sabor a cacao y un perfil frutal. Sin embargo, con los procesos de fermentación, secado y tostado existe una pérdida importante de sustancias funcionales que disminuyen su potencial (Pallares, Perea y López, 2016).

- **CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO**

Guamán (2007), afirma que el fruto tiene color tamaño y formas variables. Generalmente tiene forma de baya, de 30 cm de largo, y 10 cm de diámetro. Pueden ser lisos o acostillados de forma elíptica y de color rojo, amarillo, morado o café. Los frutos interiormente en 5 celdas. La pulpa es blanca, rosada o café; es de sabor ácido, dulce y aromático. El número de semillas por baya oscila entre los 20 a 40 y pueden ser planas o redondeadas.

Otras características:

- Índice de semilla: 1.4 g
- Índice de mazorca 13: mazorcas/kg de cacao seco
- Porcentaje de grasa 55 %
- Porcentaje de cáscara 15 %
- Porcentaje de proteína 14 %

2.1.2. VARIEDAD NACIONAL

En Ecuador no existe una variedad nacional genéticamente pura del cacao, lo que se encuentra es una mezcla de híbridos naturales que se agrupan en una población conocida con el nombre de complejo “Nacional x Trinitario”, comúnmente denominado simplemente Nacional (Reynel, Loor y Tezara, 2016).

Según Zapata, Tamayo y Rojano (2013), el cacao Nacional pertenece a los denominados “Forasteros Amazónicos”, de la cual se obtiene el cacao “Arriba” que, por su aroma floral, es reconocido mundialmente por sus parámetros bioquímicos, que comprenden entre los más relevantes el contenido de agua, lípidos, compuestos fenólicos, proteínas y purinas, almidón y otros carbohidratos.

El cacao fino de aroma posee un alto potencial aromático (floral) y bajo contenido de sustancias amargas (taninos), delicadas bondades sensoriales que les permiten distinguirse de otras variedades de cacao o clones obtenidos mediante investigaciones para darle un toque más refinado al producto final chocolate (Bravo y Mingo, 2011).

Soria (s.f) comenta que, la reproducción del cacao puro Nacional y de la variedad Nacional se realiza por reproducción sexual o generativa, por reproducción asexual o vegetativas, utilizando los diferentes métodos de reproducción asexual, como, por ejemplo: Esquejes o estacas de tallo, injertos de púa, yema o aproximación; micro injertos; acodos simples o aéreos; técnicas de micro propagación, y otras.

- **CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO**

Según estudios de INIAP (2009), este fruto posee características semejantes al tipo Forastero Amelonado. Las mazorcas son amelonadas, pero con estrangulaciones en la base y el ápice de la misma, con surcos y lomos poco profundos. El color interno de las almendras es violeta pálido o lila, aunque en algunas ocasiones se observan semillas blancas.

Otras características de acuerdo a (Andrade y Rivera, 2019):

- Índice de semilla: 1.8-1.9 g
- Índice de mazorca: 15-16 mazorcas/kg de cacao seco
- Frutos/ árbol: 18
- Porcentaje de grasa: 50.87 %
- Porcentaje de proteína: 8.08 % (Aráuz, 2015)

2.2. BENEFICIO DE LAS ALMENDRAS DE CACAO

Comprende aquellas operaciones que se aplican al grano después de la cosecha, aunque se suelen incluir, las operaciones de cosecha también, debido a que tienen un gran impacto en la calidad de las almendras o granos. Con esta consideración,

el beneficio comprende las operaciones de cosecha y desgrane, fermentación, secado, selección, clasificación, empaque y almacenamiento, (Cubillos, Merizalde y Correa, 2008).

Según Pallares et al. (2016), de las etapas del beneficio, la fermentación es un requerimiento fundamental para el desarrollo de los precursores del sabor y aroma característicos de chocolate. Aquí se reduce el nivel de amargura y astringencia de los granos de cacao, hecho atribuido a la pérdida de polifenoles, mientras que el secado reduce el contenido de humedad de la almendra.

2.2.1. FERMENTACIÓN

Se subdivide en tres fases, durante la primera fase actúan las levaduras, en la segunda se desarrollan las bacterias lácticas y en la tercera las bacterias acéticas. Los fermentadores se construyen de madera, porque este material garantiza un cacao de buena calidad, con buen olor, sabor, color y apariencia; se diferencian por su forma y su tamaño (Teneda, 2016).

- **PROCESO BIOQUÍMICO DE LA FERMENTACIÓN**

González, Pérez y Palomino (2012), sostienen que, en el primer día, la pulpa adherida se licua y se escurre, con aumentos constantes de la temperatura. Bajo condiciones anaeróbicas, los microorganismos producen ácido acético y etanol que migran lentamente al grano causando el hinchamiento que inhibe la germinación.

Por su parte el ácido acético provoca la muerte del embrión al penetrar en el tejido cotiledonar y a su vez la permeabilidad de las paredes celulares, permitiendo la interdifusión de los componentes del jugo celular. Después de esto las enzimas se ponen en contacto con los polifenoles y proteínas y se inician las reacciones hidrolíticas que dan lugar a cambios en los pigmentos cianidinglucósidos, disminuyendo el contenido de humedad, hasta detener la actividad enzimática. (Erazo, 2019).

Al tercer día, la masa de granos se ha calentado típicamente alrededor de 45°C, manteniéndose a 45 - 50°C hasta que la fermentación se ha completado. Por su parte, los granos con pH más alto (5.5 a 5.8) se consideran no fermentados, de la misma forma González et al. (2012), establecen que aquellos de pH más bajo se encuentran bien fermentados.

- **INDICADORES DE FERMENTACIÓN**

TEMPERATURA: La temperatura tiende a descender lentamente y vuelve a subir cuando se realiza la segunda remoción, llegando a 48 - 50 °C, y disminuye una vez concluido el proceso de fermentación. Por esta acción de la temperatura más la variación de pH el embrión en el interior del grano muere, por efecto de la presencia del ácido acético que se ha difundido a través de la testa (Erazo, 2019).

pH: Es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución, que indica la concentración de iones hidronio [H_3O^+] presente en determinadas disoluciones (<6.5 = ácidas, 6.5 – 7 = neutras, >7.5 = alcalinas) (Vázquez y Rojas, 2016).

El potencial de hidrógeno de los cotiledones durante el primer día de fermentación decrece lentamente hasta 6.3, pero durante el tercer y cuarto día baja rápidamente hasta alcanzar un valor de 4.75 aproximadamente; este indicador sufre pocas variaciones hasta que se termina la fermentación (Sánchez, 2007). De hecho, el autor también menciona que por acción del ácido acético al tercer día el pH baja a 4.8 y se mantiene durante el resto de la fermentación debido a la permeabilidad de la testa, dato confirmado por (Recalde, 2007), quien menciona que después de la fermentación el rango final de pH es de 4.5 a 5.5.

ALCOHOL: Las levaduras transforman los azúcares de la pulpa en alcohol etílico con desprendimiento de anhídrido carbónico. La fermentación alcohólica provoca una elevación de la temperatura al mismo tiempo que una disminución de pH. Algunas levaduras producen enzimas pectolíticas, las cuales rompen las paredes celulares de la pulpa provocando el drenaje de los jugos y la formación de espacios entre las almendras a través de las cuales el aire puede penetrar (Enrríquez, 1985).

ÁCIDOS: De acuerdo al Manual de determinación de acidez total en alimentos, emitido por el Instituto de Salud pública de Chile (2012), la acidez titulable es un indicador que expresa el contenido de ácidos libres en una matriz, se expresa como el porcentaje del ácido predominante en ella, en el caso del cacao es el ácido acético. Esta acidez puede incluir la acidez natural y la desarrollada.

García (2000), expresa que debido al proceso de fermentación, en el mucílago el ácido cítrico se degrada, incrementándose el pH y el ácido acético formado en la fase aerobia migra hacia el cotiledón. En el cotiledón el comportamiento de pH en un principio desciende por la presencia de ácido acético y posteriormente se incrementa debido a las reacciones que ocurren entre ácido acético y diferentes fracciones de proteínas.

2.2.1. SECADO

En esta etapa se reduce la humedad, continúa la fase oxidativa iniciada en la fermentación y se completa la formación de los compuestos del aroma y sabor. El secado natural por exposición al sol es comúnmente usado por los productores de las diversas regiones cacaoteras del país, debido a que es un método simple, económico y que permite el manejo de pequeñas cantidades. Existen también otros métodos que se realizan a través de secadoras mecánicas o a base de leña (Nogales, Graziani y Ortiz, 2006).

- **TEMPERATURAS, VOLTEOS Y AIREACIÓN**

Las temperaturas del cacao según ANECACAO (2013) deberían ser:

- Primeras 4 horas a 45°C (de esta manera se evitaría que los granos que se hincharon por la fermentación se aplanen).
- Primera aireación (30 minutos depende de temperatura externa).
- Secado normal 55°C con una hora de aireación por cada 6 horas de secado.
- En el caso de secado al sol, la masa debería bajar de 5 cm a 15 cm por día de secado.

- Los volteos en ambos casos cada 3 a 4 horas dependiendo de la temperatura.

2.2.2. CALIDAD DEL CACAO

Es uno de los aspectos principales que afecta la comercialización internacional de los productos agrícolas; actualmente las dimensiones que precisan la calidad de un producto establecen un componente importante en cualquier estrategia para crear competitividad en una economía globalizada. De hecho, la calidad y el sabor del cacao no es sólo el resultado del genotipo y el origen geográfico, sino también del manejo poscosecha y tratamientos, como la fermentación, secado y tostación (Peñaherrera, 2017).

• CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS ALMENDRAS DE CACAO

Se basa principalmente en la presentación exterior del grano, que no necesariamente coincide con un buen sabor y aroma a chocolate, relacionan la calidad del grano con la calificación que dan los países compradores y fabricantes de chocolate a las almendras de cacao por su apariencia y grado de fermentación (Párraga, 2015). En la tabla 1 se detallan parte de los requisitos de calidad según la Norma Técnica 176-5 del Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN (2018).

Tabla 1 Requisitos físicos y calidad para los granos de cacao

Requisitos	Cacao fino			Cacao CCN-51		Método de ensayo
	A.S.S.S	A.S.S	A.S.E	C.S.S	C.S.C	
Humedad máximo, %	7	7	7	7	7	NTE INEN-ISO 2291
Peso de 100 granos, g	>130	>120 a 130	100 a 120	>125	110 a 125	a
Granos fermentados mínimo, %	75	65	53	68	55	NTE INEN-ISO 1114
Granos defectuosos máximo, %	0	1	3	1	3	b
Material extraño máximo, %	0	0	0	0	0	b

* El símbolo % (por ciento) representa al número 0,01, que expresa a la fracción másica.

^a masa determinada por medio de una balanza u otro instrumento equivalente.

^b determinado en 500 g de muestra.

NOTA. Se permite la presencia de granza solo en el Cacao A.S.E y en el Cacao C.S.C en un máximo del 1,5 %

Para el mercado del cacao es requisito indispensable que las almendras pesen mínimo 1.2 g de cada una de ellas, al referirse al peso de la almendra o índice de semilla, menciona que este es más alto en la estación seca, debido a que dicho índice está influenciado por el ambiente y la conformación genética de los progenitores. El contenido de testa varía de acuerdo con el genotipo del cacao, desde 6 hasta 16 % y que además guarda una relación inversamente proporcional con su tamaño (Peñaherrera, 2017).

- **PORCENTAJE DE FERMENTACIÓN DE LAS ALMENDRAS**

Se la realiza para saber el grado de fermentación del grano, debido a que un cacao mal fermentado origina un sabor astringente (ácido). Se realiza en forma visual con la ayuda de una cortadora de granos o guillotina, para esto se toma 100 granos escogidos al azar y se los corta transversalmente con el objetivo de determinar el porcentaje de cacao correctamente fermentado. Se busca determinar la presencia de lesiones por mohos y por polillas que provocan un sabor desagradable (Alvarez, Perez, y Lares, 2007).

- **CONTENIDO DE HUMEDAD**

Aguilar (2016), lo define como el peso del agua evaporada y se expresa como el porcentaje del peso húmedo. Al finalizar la fermentación, el grano tiene un contenido de humedad de aproximadamente 55 a 65 %, que debe ser reducido hasta un valor de 6.5 %, para evitar el desarrollo de mohos. Un grano con más de 8 % de humedad, puede ser infestado con microorganismos que deterioran la calidad, especialmente hongos y si tiene menos de 6 % de humedad también se deteriora al volverse quebradizo. Se debe uniformizar la humedad del grano al 7 % para evaluar el peso de las almendras.

- **MATERIA EXTRAÑA**

Según CAOBISCO/ECA/FCC (2015), la presencia de materia extraña también influye en el rendimiento de material comestible, reduciendo así el valor del cacao para el fabricante de chocolate. Puede afectar al sabor y actuar como fuente de

contaminación del producto. La materia extraña se puede dividir en dos tipos, uno de los cuales carece de valor comercial para el fabricante mientras que el otro (conocido como “Residuos de Cacao”) tiene solo un valor reducido. Comercialmente se analiza el porcentaje de materias extrañas y se ajusta el peso del cacao seco.

● CARACTERÍSTICAS SENSORIALES

Los granos fermentados y secos desarrollan precursores químicos que mediante la torrefacción se transforman en el sabor y aroma típico del cacao. La acidez, amargor y astringencia son otros sabores básicos del perfil sensorial del cacao. El perfil puede incluir notas aromáticas complementarias como floral, frutal, nuez, etc., que enriquecen las características sensoriales de los cacaos finos de aroma (Solórzano, Amores y Jiménez, 2015).

Alvis, Pérez y Arrazola (2010), atribuyen el sabor floral al contenido de grasa del cacao donde se encuentran ácidos grasos, principalmente oleicos y esteáricos, esto también podría estar relacionado a la expresión de aromas agradables.

Las notas más astringentes están vinculadas al sabor amargo, según los precursores responsables son las metilxantinas, principalmente la teobromina y la cafeína a un nivel medio de 1.5 % (w/w) en almendras secas, evidencia un sabor muy amargo y astringente en intensidades fuertes, característica natural en la pasta o en los chocolates amargos (Vera, Vallejo y Párraga, 2014).

Solórzano et al. (2015) opinan que el sabor ácido puede deberse a malas prácticas poscosecha, aunque también puede estar relacionado al componente secado (métodos artificiales) cerrándose las paredes de la testa e interrumpiéndose los cambios bioquímicos y enzimáticos dentro de la almendra, por lo tanto, la pasta tendría sabor ácido o amargo.

2.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO

La composición química de los granos de cacao fermentado depende de varios factores entre los que se puede citar: Tipo de cacao, grado de madurez, calidad de la fermentación y el secado y además el subsiguiente procesamiento de los granos (Erazo, 2019).

Tabla 2 Composición química del grano de cacao fermentado y seco

Componente	Porcentaje máximo de cotiledón %	Porcentaje máximo de testa %
Grasa	57.0	5.9
Proteína	15.6	20.0
Almidón	9.0	5.2
Cenizas	4.2	20.7
Agua	3.2	6.6
Fibra cruda	3.2	19.2
Teobromina	1.3	0.9
Cafeína	0.7	0.3

Fuente: Erazo (2019)

- **CONTENIDO DE GRASA**

La manteca de cacao sigue siendo en general la parte más valiosa del grano, y el rendimiento potencial de manteca afecta al precio pagado por una marca o una clase determinada de cacao en grano. El cacao de la cosecha principal en África Occidental suele contener alrededor del 55 – 58 % en el grano descortezado; el cacao en grano de Ghana suele contener un mayor porcentaje de grasa que el de Costa de Marfil o de Nigeria (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015).

- **TEOBROMINA**

Según Quispe (2013), esta sustancia se encuentra en la planta del cacao (*Theobroma cacao*), principalmente en las semillas, las cuales contienen entre 1 a 4 % de ésta. Además, al fermentar, secar las semillas, y luego procesar el extracto, se obtiene el chocolate que contiene aproximadamente 1 – 5 % de teobromina.

- **CAFEÍNA**

Es un alcaloide del grupo de las xantinas, sólido cristalino, blanco y de sabor amargo, que actúa como una droga psicoactiva y estimulante (Calle, 2011). La cafeína se encuentra en una proporción de 0.6 – 0.8 %, principalmente en las semillas (López y Giner, 2013).

La teobromina y la cafeína pertenecen a la familia de las purinas y representan más del 99 % de los alcaloides presentes en el cacao. La concentración final de ambos, está determinada por el genotipo, el grado de maduración de las almendras y el nivel de fermentación (Wakao, 2002).

2.3.1. COMPOSICIÓN VOLÁTIL Y POLIFENÓLICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO

Pallares et al. (2016), indican que el contenido de compuestos volátiles de polifenoles tiene relación directa con la astringencia, acidez, amargura y nota verde en el aroma de la semilla de cacao, mientras que presenta una correlación negativa con el aroma frutal de la misma. En contraparte, un cacao fermentado, seco y tostado tiene buenas características organolépticas.

- **COMPUESTOS VOLÁTILES DEL CACAO**

Se han identificado compuestos volátiles asociados al proceso de beneficio del cacao, como por ejemplo el *3-metil-1butanol*, *2-fenil etanol*, *benzaldehído*, *fenil acetaldehído*, *etilhexanoato*, *etil benzoato*, *etilfenil acetato* y *2-fenil etil acetato*, los cuales resultan deseables porque aportan notas odoríficas muy agradables (chocolate, caramelo, dulce, nuez, miel, frutal, floral). Por el contrario, sustancias volátiles como ácido propanoico, ácido *3-metil butanoico* y *3-metil-1-butanol acetato*, afectan negativamente su percepción de sabor y aroma (Pallares et al. 2016).

- **COMPUESTOS POLIFENÓLICOS DEL CACAO**

Para Chávez (2016), los compuestos fenólicos o polifenoles pertenecen a un amplio grupo de sustancias químicas, considerados no esenciales para la supervivencia de las plantas (metabolitos secundarios). Más de 8.000 compuestos distintos identificados y los principales compuestos fenólicos presentes en las almendras de cacao se localizan en tres grupos, las catequinas o flavan 3-ol que representan el 37 % del total; las antocianinas con cerca del 4 % y las proantocianidinas con el 58 %.

2.4. ENZIMAS EN LA FERMENTACIÓN DE CACAO

Según Teneda (2016), durante la fermentación existe una relación ordenada entre microorganismos y las variaciones de temperatura, pH y humedad, con la formación de alcoholes, ácidos y compuestos polifenólicos, que matan el embrión y disminuyen el sabor amargo. Así los polifenoles, que producen el sabor astringente, pueden difundirse entonces hacia las células adyacentes, donde se encuentran con diversas enzimas que provocan reacciones hidrolíticas gracias a las condiciones anaerobias del haba. Si no se degradan, pasan al grano seco, provocando el color violeta de la almendra, que indica errores en el proceso de fermentación.

2.4.1. ENZIMAS PÉCTICAS

Son un conjunto de enzimas que hidrolizan la pectina. Estas presentan una extensa aplicación en la industria alimentaria principalmente en la obtención y clarificación de jugos de frutas y del vino. La importancia del mercado potencial de estas enzimas ha provocado el desarrollo de sistemas de producción a nivel industrial. El sistema convencional para la producción de pectinasas es el cultivo sumergido, utilizando medios sintéticos y medios a base de substratos naturales con una alta concentración de pectina (Trejo, Oriol y López, 1991).

- **ENZIMA PECTIN TRANS ELIMINASA**

Las enzimas pectinolíticas afectan a las sustancias sobre las cuales actúan, estas pueden ser saponificantes o depolimerizantes, las segundas con actividades específicas que compete al grado de esterificación del sustrato. Dentro de estas se encuentran las que actúan directamente sobre la pectina como es el caso de la pectin trans eliminasa (Villar, 1974).

Romero (2010), expresa que la pectin trans eliminasa es una enzima pectolítica muy concentrada, diseñada especialmente para la eliminación del mucílago.

- **GRANOZYME CAFÉ**

Esta enzima se produce a partir del microorganismo *Aspergillus*, es un producto líquido de color ámbar y olor aromático. Según el mismo autor, disminuye notablemente el tiempo de fermentación, debido a una rápida degradación del mucílago impidiendo la formación de ácidos y componentes de aromas negativos y se logra obtener una alta calidad.

Según GRANOTEC (2017), este producto enzimático ofrece varias ventajas, entre ellas:

1. Disminuye notablemente el tiempo de fermentación, de 15 - 18 horas a 20 - 30 minutos, debido a una rápida degradación del mucílago.
2. Su uso es muy fácil
3. Como no ocurre una fermentación descontrolada, no hay la formación de ácidos y de componentes de aromas negativos.
4. Se obtiene una alta calidad del grano de café
5. Se reduce la cantidad de agua necesaria para el lavado de café, se necesita solo un breve enjuague
6. Las aguas residuales obtenidas son más amigables con el medio ambiente y permiten un fácil tratamiento.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

El desarrollo de la primera fase de esta investigación que comprende la recolección de muestra se efectuó en dos fincas ubicadas en la provincia de Los Ríos cantón Buena Fe, Rcto Cuatro Mangas: Finca agrícola “Cantos” y la finca “Tierra Narvanda”). Su ubicación geográfica es 0°53'55"S 79°29'20"O a una altura de 162 m.s.n.m. (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Buena Fe, 2015).

Para la evaluación sensorial del licor de cacao se contó con 10 panelistas semi entrenados en el laboratorio de Procesamiento de alimentos de, perteneciente al Instituto Superior Tecnológico Ciudad de Valencia, ubicado vía Valencia Km ½ El Pital #1, Quevedo, provincia de Los Ríos.

Los análisis físico-químicos como peso de 100 almendras, porcentaje de testa, prueba de corte, determinación del pH en la testa y el cotiledón, porcentaje de acidez se realizaron en el laboratorio de bromatología de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

La determinación de polifenoles y alcaloides (teobromina y cafeína) se realizó en el laboratorio de calidad integral de cacao de la Estación Experimental Santa Catalina, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicado en el sector Cutuglagua, Cantón Mejía, Pichincha.

3.2. DURACIÓN

La ejecución del trabajo experimental (aplicación de los tratamientos y análisis de laboratorio) tuvo una duración de 6 semanas, la redacción el proyecto de titulación se estima en nueve meses a partir de la aprobación del proyecto de titulación comprendido entre abril y diciembre del 2020.

3.3. FACTORES Y NIVELES EN ESTUDIO

Los factores y niveles en estudios fueron:

Tabla 3 Niveles en los factores en estudio

Factores		Nivel 1	Nivel 2
Variedades de cacao	A	CCN-51	Nacional
Pre beneficio	B	Beneficio inmediato después de la extracción del cacao en baba	Beneficio 72 horas después de la cosecha
Producto enzimático pectin trans eliminasa	C	Dosis: 1 mL / 5 kg cacao en baba	Dosis: 2 mL / 5 kg cacao en baba
Tiempo de fermentación con enzimas	D	30 minutos	60 minutos
Lavado del cacao fermentado	E	Escurrido, sin lavado	Escurrido y lavado completo
Reposo pos-lavado	F	Secado inmediato, sin reposo pos lavado	Reposo por 72 horas antes de iniciar el secado
Secado	G	Directo en el tendal de cemento	Sobre marquesina

Fuente: Lucero (2020)

3.4. TRATAMIENTOS

El diseño experimental, de acuerdo al arreglo ortogonal de los métodos Taguchi, corresponde al diseño L8 (2)⁷. Esto significa un juego de 8 tratamientos para probar 7 factores en 2 niveles cada uno (Tabla 4).

Tabla 4 Tratamientos en estudio con su respectiva codificación

TRATAMIENTOS	VARIETADES DE CACAO	PREBENEFICIO	DOSIS DEL PRODUCTO ENZIMÁTICO	TIEMPO DE FERMENTACIÓN CON ENZIMAS	LAVADO	REPOSO POS-LAVADO	SECADO	CÓDIGO
	A	B	C	D	E	F	G	
1	1	1	1	1	1	1	1	A1B1C1D1E1F1G1
2	1	1	1	2	2	2	2	A1B1C1D2E2F2G2
3	1	2	2	1	1	2	2	A1B2C2D1E1F2G2
4	1	2	2	2	2	1	1	A1B2C2D2E2F1G1
5	2	1	2	1	2	1	2	A2B1C2D1E2F1G2
6	2	1	2	2	1	2	1	A2B1C2D2E1F2G1
7	2	2	1	1	2	2	1	A2B2C1D1E2F2G1
8	2	2	1	2	1	1	2	A2B2C1D2E1F1G2
9	Testigo CCN 51 con beneficio convencional							
10	Testigo Nacional con beneficio convencional							

Fuente: Lucero (2020)

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se usó el diseño de bloques al azar (BA) de 10 tratamientos con tres repeticiones, usando como apoyo el programa SPSS v 22 (versión libre). La separación de medias de los tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) (Tabla 5).

Tabla 5 Esquema de ADEVA BA

Fuente de variación		Grados de libertad
Repeticiones		2
Tratamientos		9
	A1 vs A2	(1)
	B1 vs B2	(1)
	C1 vs C2	(1)
	D1 vs D2	(1)
	E1 vs E2	(1)
	F1 vs F2	(1)
	G1 vs G2	(1)
	Testigo 1 vs Resto	(1)
	Testigo 2 vs Resto	(1)
	Error Experimental	18
Total		29

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

El experimento se constituyó de 10 tratamientos con tres repeticiones, que equivale a 30 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo conformada de 5 kg “cacao en baba”. Esto equivale a un requerimiento total de $5 \times 30 = 150$ kg de cacao en baba.

3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

En la figura 1 se describe el proceso del manejo de los testigos utilizados en el experimento, para ello se cosechó frutos maduros provenientes de las fincas seleccionadas y se procedió a extraer las semillas (Anexo 1). Posteriormente se colocó la cantidad de 5 Kg en la caja de fermentación de dimensiones de 60 cm^3 . Para la variedad CCN-51, el tiempo de fermentación fue de 4 días y el secado de 3 días; mientras que para la variedad Nacional el tiempo de fermentación fue de 3 días y el secado de 3 días (Anexo 2), con sus correspondientes remociones y volteos. Finalmente, las muestras de almendras de cacao fueron tostadas y descascarilladas para su posterior análisis.

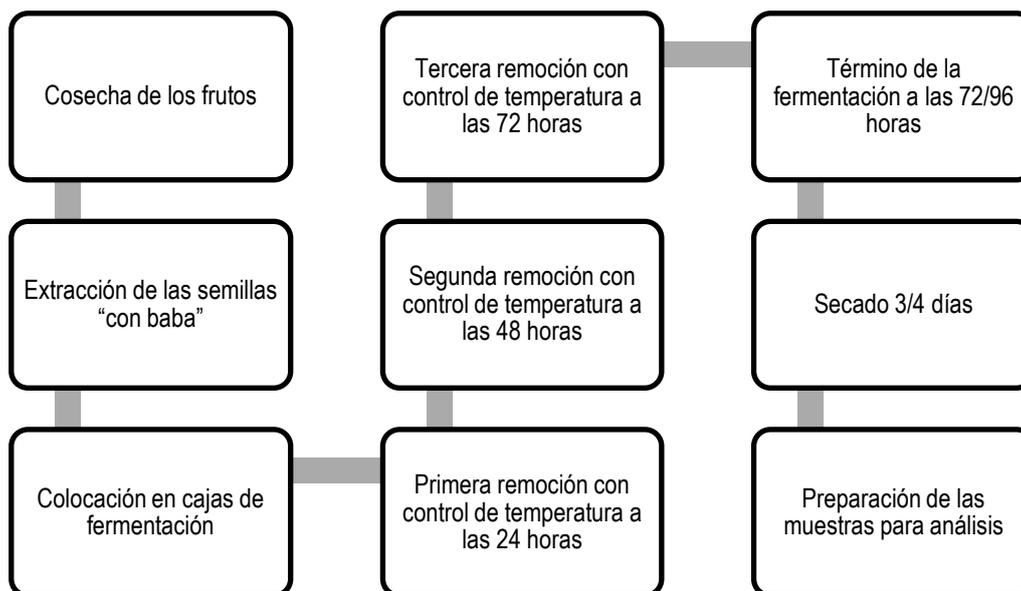


Figura 1 Flujo del proceso experimental sin aplicación de tratamientos

Fuente: Lucero (2020)

En las figuras 2 y 3 se muestran los procesos de aplicación de los tratamientos; la cosecha de las mazorcas de cacao se realizó en su pleno estado de madurez e inmediatamente se extrajo los granos con el mucílago o baba. La fase de fermentación de las almendras de cacao se efectuó colocando las semillas con pulpa en cada una de las cajas adicionándole las dosis de la enzima correspondiente durante el primer día o en su lugar dejándolas en reposo. La masa de cacao fresco recolectado se fermentó en cajas de madera de laurel de 60 cm³ con 5 perforaciones en el fondo, de 1 cm de diámetro para el drenaje del mucílago; el tiempo de fermentación fue de 30 o 60 minutos en concordancia con los tratamientos (Anexo 3).

Finalizado el tiempo de fermentación, se procedió al secado natural en tendales sobre cemento o en marquesina de madera hasta obtener una humedad aproximada del 10 o 12 %. Posteriormente se procedió a extraer el licor de cacao, para lo cual las habas secas fueron tostadas, proceso en el que se eliminó la humedad mínima y también la cascarilla.

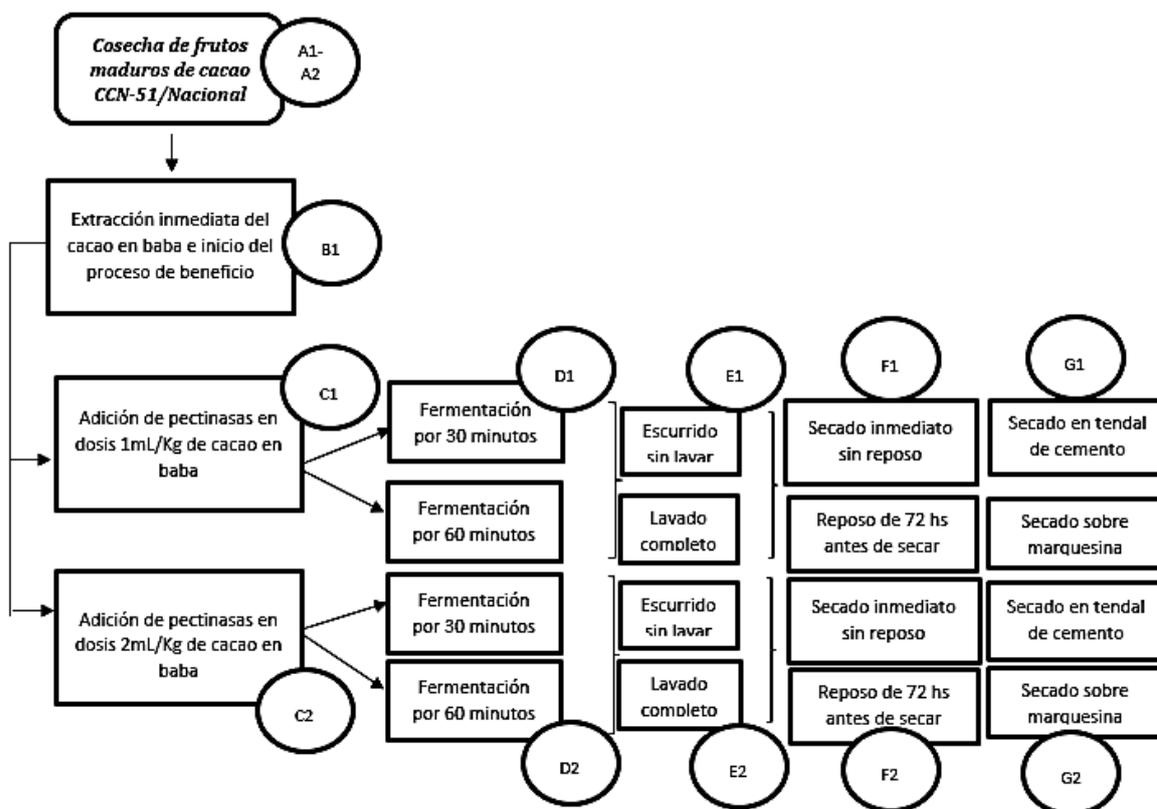


Figura 2 Flujo del proceso experimental con la aplicación de tratamientos
Fuente: Lucero (2020)

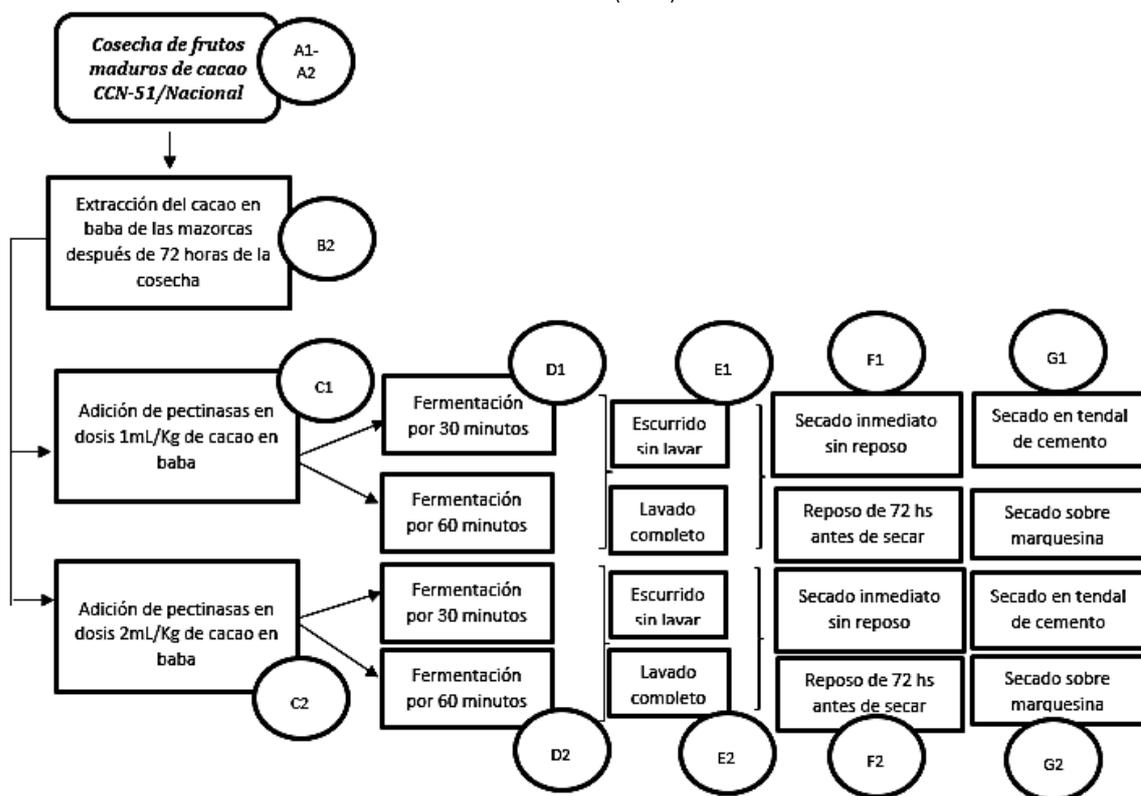


Figura 3 Flujo del proceso experimental con la aplicación de tratamientos
Fuente: Lucero (2020)

En la figura 4 se describe el proceso posterior al beneficio que implica básicamente un adecuado proceso de despulpado e igualmente un excelente secado del grano, se procedió a receptor las almendras de cacao correspondientes a cada tratamiento. Se retiraron las impurezas como piedras, palitos y metales u objetos extraños de manera manual.

El tostado que es uno de los procesos de máxima importancia que define el gusto y aroma, se realizó de manera artesanal en una cocina industrial debido a la poca cantidad de cada muestra (Anexo 4). Después de esta operación, se dejó enfriar al ambiente los granos hasta aproximadamente 30°C a 35°C, para realizar el descascarillado de forma manual.

Se realizó la molienda en un molino semi artesanal; la fricción y compresión hicieron que los granos de cacao se convierten en masa, pasta o licor de cacao, con esto se completó el proceso de adecuación de las muestras para análisis (Anexo 5).

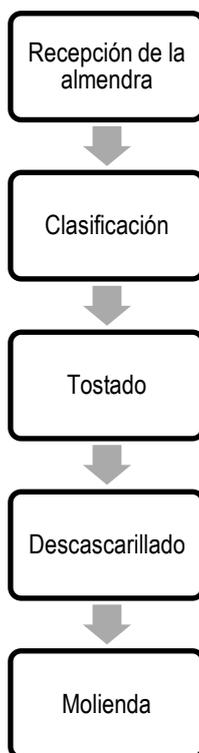


Figura 4 Extracción del licor de cacao
Fuente: Lucero (2020)

3.8. VARIABLES A MEDIR Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN

3.8.1. VARIABLES DEPENDIENTES:

Características físico-químicas del grano y calidad sensorial del licor de cacao.

3.8.2. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS ALMENDRAS

Los parámetros físicos que se analizaron fueron los siguientes (Anexo 6):

- **PESO DE 100 ALMENDRAS.** - Se seleccionó 100 almendras fermentadas y secas en condiciones óptimas, sin daños de tipo físico o biológico, se registró su peso en gramos usando una balanza digital, se corrigió ese peso con la humedad determinada en las muestras. Con esta información se estimó el índice de semillas, dividiendo para 100.
- **PORCENTAJE DE TESTA.** - Se determinó el porcentaje de cascarilla que recubre las semillas. Se usó una muestra de 30 almendras fermentadas y secas. La ecuación es la siguiente:

$$\text{Testa (\%)} = \frac{\text{Peso de la testa}}{\text{Peso de 30 almendras}} (100)$$

- **PORCENTAJE DE ALMENDRAS FERMENTADAS.** - Esta prueba se realizó entre los 15 y 30 días después del secado, para evitar el efecto de la oxidación de los granos que ocurre cuando muestran un color marrón. No se incluyen almendras afectadas por la mazorca negra (*Phytophthora sp.*) o Monilliasis (*Moniliophthora sp.*).

Se seleccionó 300 almendras de cacao al azar, se procedió a cortarlas en forma longitudinal y ubicarlas en una tabla de madera dividida en 100 partes, para así

exponerlas al máximo la superficie del cotiledón. Luego se examinó una mitad de cada almendra a la luz del día o luz artificial equivalente.

3.8.3. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL LICOR DE CACAO

Se estudiaron los atributos sensoriales del licor de cacao, con un panel de diez jueces catadores semi entrenados del Instituto Tecnológico Superior Ciudad de Valencia (Carrera de Tecnología en procesamiento de alimentos) (Anexo 7); determinando la intensidad de sabor a cacao, acidez, amargor y en referencia a la presencia de olores indeseables (humo, jamón, moho, plaguicida). Se estableció una escala hedónica de 5 puntos en donde: 1 = nada; 2 = poco, 3 = normal; 4 = mucho y 5 = exagerado. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza en el programa estadístico SPSS.

Para la ejecución de la prueba sensorial y escogimiento de los atributos a medir, se tomó como referencia el Manual para la evaluación sensorial del grano de cacao (Aguilar, 2016), y la Guía de requisitos de calidad de la Industria del chocolate y del cacao de (CAOBISCO/ECA/FCC), 2015).

Las muestras se ofrecieron a los evaluadores en un orden aleatorio porque no deben conocer el origen de la muestra (muestra ciega). Los recipientes se identificaron con códigos numéricos tomado al azar.

- **SABOR A CACAO:** Para evaluar el sabor del cacao en grano, primero se extrajo el licor (estado líquido), a continuación se procedió a su degustación a cargo del panel de cata formado por diez catadores. Posterior a esto, cada evaluador colocó sobre su lengua media cucharada de licor (aproximadamente 3ml), lo distribuyó en toda la boca, apreciando la textura y viscosidad de las muestras; evolución de aromas y sabor. En la descripción de esta operación se incluyen también la evaluación de la intensidad de acidez y amargor.

- **OLORES INDESEABLES:** Al recibir la muestra el evaluador mezcló el licor con la espátula e inhaló fragancias que se desprenden a una distancia de 3 cm del envase.

3.8.4. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Los análisis químicos que se realizaron se indican a continuación:

- **DETERMINACIÓN DEL pH:** El valor del pH de la testa se registró en 30 almendras de cacao. Se trituraron las almendras usando una licuadora de 2.000 RPM y 100 mL de agua destilada con una conductividad aproximada de 0.5 μ S/cm, por un lapso de 2 a 3 minutos. Se homogeneizaron las muestras con el agitador magnético y con el equipo multiparamétrico HANNA HI9280 (INEN, 381: 1985-12) se procedió a realizar la lectura del pH.
- **ACIDEZ TITULABLE:** Se utilizó como referencia el método AOAC (2005) 942.15. Una vez realizado el proceso descrito en el acápite anterior, se procedió a titular el filtrado con una bureta, 25 mL, que contiene hidróxido de sodio, 0.1 N, hasta pH 8.2. Se homogeneizó la muestra titulada con el agitador magnético, y cuando se estabilizó la medida de pH se anotó el volumen gastado.

$$AT = \frac{Vg * N}{m} x 100$$

Donde:

AT = Acidez titulable (meq/100)

Vg: Volumen gastado de hidróxido de sodio (mL).

N: Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

m: Peso de la muestra.

Los siguientes análisis se realizaron en los laboratorios externos mencionados (Anexo 8):

Tabla 6 Métodos de ensayo de análisis de composición química

Análisis	Método	Método de referencia
Polifenoles totales	MO-LSAIA-15	CROS E. Y MARINGO G. (1982/1973)
Teobromina	MO-LSAIA-30	AOAC 980.14.1998
Cafeína	MO-LSAIA-30	AOAC 980.14.1998
Compuestos volátiles		AOSC cg-4-94

Fuente: Lucero (2020)

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico comprendió el uso de distintas técnicas como:

3.9.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Previo a la aplicación del análisis de varianza, se comprobaron los supuestos para usar pruebas paramétricas: Normalidad, Independencia y Homocedasticidad. Se realizó el análisis de varianza paramétrico de Fisher.

3.9.2. SEPARACIÓN DE MEDIAS

Por tratarse de un experimento de ocho factores por dos niveles cada uno, no se requirió de la prueba de Tukey, pues la significación estadística se obtuvo directamente del análisis de varianza.

3.9.3. CORRELACIONES MOMENTO PRODUCTO DE PEARSON

Se realizó el análisis de correlaciones lineales (r) entre las variables físicas y químicas de los granos de cacao, en procura de determinar el grado de asociación estadística y explicar el comportamiento biológico. Se utilizaron correlaciones no lineales.

3.9.4. ANÁLISIS REGULAR, SEGÚN LOS MÉTODOS TAGUCHI

En los diseños ortogonales, se pudo valorar tres respuestas posibles: mayor es mejor, menor es mejor y nominal es mejor. Mayor es mejor se refiere al parámetro indicativo donde se enuncia que al aumentar su valor cuantitativo es más deseable. Menor es mejor se refiere al parámetro donde se enuncia que al disminuir su valor cuantitativo es más deseable. Nominal es mejor indica una característica de desempeño donde se enuncia que se busca un resultado nominal o meta especificada. El análisis regular, luego de la ejecución del experimento y la recolección de datos, se realizó en cuatro pasos:

1. Elaboración de una tabla de respuesta de los niveles/factor en estudio
2. Identificación de la combinación óptima de factores y niveles
3. Representación gráfica del comportamiento de los factores y niveles
4. Predicción de la respuesta máxima

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se detallan los resultados obtenidos mediante los análisis realizados en laboratorio. En una primera parte se expone la estadística descriptiva, análisis de varianza, prueba de Tukey 0.05 y análisis de correlaciones, Momento producto de Pearson, y en una segunda parte se exponen en detalle el análisis regular Taguchi para las variables físico químicas estudiadas.

4.1. VARIABLES FÍSICAS Y QUÍMICAS EN ALMENDRAS DE CACAO

4.1.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

La respuesta deseable para la variable peso de 100 almendras “mayor es mejor” se determinó en los tratamientos 1, 2, 3 y 4 que se asocia a la variedad CCN-51. El menor porcentaje de testa que es deseable en cacao correspondió a los tratamientos 5, 6, 9 (CCN-51) y 10 (Nacional), todos ellos relacionados con la práctica de beneficio inmediato después de la extracción). Los tratamientos 5, 6, 7 y 8 que tienen una mejor respuesta al porcentaje de almendras fermentadas se asocia directamente con la variedad Nacional. El pH y la acidez titulable tuvieron una mejor respuesta en los testigos tratados con métodos convencionales de beneficio, tanto en CCN-51 como en cacao Nacional (Tabla 7).

Tabla 7 Promedios de las variables físicas y químicas en función de los tratamientos en estudio

Tratamientos	Código	Peso de 100 almendras	Humedad	Índice de semilla	Porcentaje de testa	Almendras fermentadas	pH de almendra	Acidez titulable
		P100A	HUME	ISEM	PTES	AFER	pHALM	ACIT
1	A1B1C1D1E1F1G1	193.57	12.50	1.94	10.08	72.00	6.32	0.30
2	A1B1C1D2E2F2G2	176.60	6.17	1.77	10.15	74.78	6.37	0.29
3	A1B2C2D1E1F2G2	169.53	13.07	1.70	10.20	76.83	6.28	0.32
4	A1B2C2D2E2F1G1	170.03	10.30	1.70	10.94	71.83	6.22	0.36
5	A2B1C2D1E2F1G2	139.83	6.63	1.40	9.72	79.42	6.31	0.34
6	A2B1C2D2E1F2G1	148.77	7.33	1.49	9.69	78.40	6.28	0.34
7	A2B2C1D1E2F2G1	137.37	6.50	1.37	11.39	82.40	6.35	0.34
8	A2B2C1D2E1F1G2	141.47	6.67	1.41	10.33	80.94	6.28	0.34
9	Testigo CCN 51 con beneficio convencional	160.60	7.40	1.61	10.04	71.30	5.91	0.39
10	Testigo Nacional con beneficio convencional	152.97	7.57	1.53	9.46	75.95	5.94	0.39
	Promedio	159.07	8.51	1.59	10.20	76.39	6.22	0.34
	Respuesta deseable	Mayor es mejor	Menor es mejor	Mayor es mejor	Menor es mejor	Mayor es mejor	Menor es mejor	Mayor es mejor

Fuente: Lucero (2020)

4.1.2. ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBAS DE TUKEY

La variedad CCN-51 tiene mayor peso de 100 almendras, en el porcentaje de testa resultaron estadísticamente iguales, CCN-51 prevalece en el porcentaje de almendras fermentadas, al igual que en el pH de almendra y acidez titulable. (A1 > A2**). En el pre beneficio inmediato después de la extracción del cacao en baba resultó superior al beneficio 72 horas después de la cosecha. El uso del producto enzimático pectin trans eliminasa en dosis de 1 mL/5 kg de cacao en baba resultó estadísticamente superior al uso de 2 mL/5 kg. El tiempo de fermentación con enzimas por 30 minutos resultó superior a la fermentación por 60 minutos.

El escurrido sin lavado resultó mejor que el escurrido y lavado completo. El secado inmediato, sin reposo poslavado, resultó superior al reposo por 72 horas antes de iniciar el secado. El secado directo en el tendal de cemento resultó superior al secado sobre mesa de madera. El testigo CCN-51 con beneficio convencional resultó estadísticamente superior al cacao Nacional con beneficio convencional (**), en todas las variables con excepción de la prueba de corte y el pH de almendra (NS). Este mismo comportamiento tuvo la comparación de los dos testigos, CCN-51 vs Nacional, en todas las variables (Tabla 8).

Tabla 8 Cuadrados medios y significación estadística de las variables en estudio

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios y significación estadística									
		P100A		PTES		AFER		pHAL		ACIT	
Tratamientos	9	997.53	**	1.03	**	46.55	**	0.08	**	0.00330	**
A1 vs A2	1	1898.47	**	0.005	NS	62.00	**	59.61	**	0.00083	**
B1 vs B2	1	153.86	**	0.976	**	5.13	**	59.17	**	0.00073	**
C1 vs C2	1	41.79	**	0.184	**	1.24	NS	58.97	**	0.00079	**
D1 vs D2	1	1.11	NS	0.007	NS	2.07	NS	59.25	**	0.00016	NS
E1 vs E2	1	82.69	**	0.341	**	0.01	NS	59.74	**	0.00009	NS
F1 vs F2	1	15.06	**	0.011	NS	6.34	**	59.87	**	0.00016	NS
G1 vs G2	1	47.62	**	0.273	**	5.06	**	59.69	**	0.00022	NS
Testigo 1 vs Resto	1	126.16	**	5.40	**	0.05	NS	0.001	NS	0.00100	**
Testigo 1 vs Testigo 2	1	2.53	NS	5.80	**	0.02	NS	0.0006	NS	0.00060	**
Error Experimental	20	0.70		0.02		0.70		0.00064		0.00009	

Fuente: Lucero (2020)

4.1.3. ANÁLISIS DE CORRELACIONES

La correlación entre la prueba de corte y el peso de 100 almendras es negativa y significativa ($r=-0.756^{**}$), el pH de testa y cotiledón se relaciona negativamente con la acidez titulable ($r=-0.824^{**}$). Solo la prueba de corte y el pH de almendras tiene una correlación positiva significativa ($r= 0.432^{*}$).

Tabla 9 Matriz de correlaciones lineales entre variables físicas y químicas en almendras de cacao

Variables	P100A	PTES	AFER	pHAL	ACIT
Peso de 100 almendras (g) (P100A)	1				
Porcentaje de testa (%) (PTES)	-0.0414	1			
Almendras fermentadas (%) (AFER)	-0.756**	0.185	1		
pH de almendra (pHAL)	0.070	0.371*	0.432*	1	
Acidez titulable (%) (ACIT)	-0.451*	-0.133	-0.093	-0.824**	1

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas).

Fuente: Lucero (2020)

4.2. ANÁLISIS REGULAR (MÉTODOS TAGUCHI)

4.2.1. PESO DE 100 ALMENDRAS

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para la variable física peso de 100 almendras, en esta se denota que existe diferencia entre todos los tratamientos y los testigos, los valores reales fueron corregidos con la humedad estandarizada al 7 % con los cuales también se obtuvieron los índices de semilla. El valor más alto lo representa el tratamiento 1 con 193.57 g (variedad CCN-51, beneficio inmediato después de la extracción del cacao en baba, pectin trans eliminasa en dosis de 1 mL/5 kg por 30 minutos, posterior escurrido sin lavado, secado inmediato, sin reposo poslavado y directo en el tendal sobre cemento).

En algunos casos, los datos registrados para esta variable superan los registrados por Párraga (2015), quien obtuvo pesos entre 122.33 y 162.00 g comparando 15 clones de cacao y también expresa que el peso es relativo al porcentaje de fermentación de los granos. El tratamiento 1 de esta investigación se acerca más a los datos obtenidos por Rosero (2017), quien muestra haber obtenido los valores más altos para la variedad CCN-51 (156.42 g) en comparación con otras variedades con 146.67 g y el menos pesado con 129.95 g, por lo que esta característica puede ser atribuida a la genética de la variedad.

Según la Norma Técnica INEN-176 2018-2, se permite un rango en esta variable de 120 a 130 g para cacao fino y de 110 a 125 g para cacao CCN-51, todos los

tratamientos y testigos de ambas variedades superan estos valores. A la vez resalta que el testigo CCN-51 presenta el menor promedio con respecto a los tratamientos de esta variedad, por el contrario el testigo de cacao Nacional presenta la media más alta en relación a los tratamientos correspondientes.

Las almendras de cacao correspondientes al tratamiento 1 que pertenece a la variedad CCN-51, presentan pesos superiores a los tratamientos y testigos de ambas variedades, esto concuerda con varios autores cuando expresan que esta característica se atribuye a la genética. La aplicación del producto enzimático se realizó de inmediatamente después de la extracción, lo que permitió el inicio de la fermentación y todo el proceso bioquímico propiciado por los microorganismos, logrando así la absorción de la enzima, las almendras no fueron enjuagadas, por lo que el producto no fue retirado completamente y pudo continuar actuando en el interior y exterior de la almendra.

Además, presenta una humedad promedio de 12.50 % (Tabla 7), lo que influyó directamente en el peso de los granos y se justifica por el inicio del secado inmediato, debido a la variación de las condiciones de temperatura (no todos los tratamientos empezaron el secado el mismo día).

Tabla 10 Rangos de Tukey para la variable peso de 100 almendras

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.41096

Error: 0.6953 gl: 20

Tratamientos	Media	n	E.E.	Rangos de Tukey ($\alpha=0.05$)
CCN-51 (T1)	193.57	3	0.48	A
CCN-51 (T2)	176.60	3	0.48	B
CCN-51 (T4)	170.03	3	0.48	C
CCN-51 (T3)	169.53	3	0.48	C
9 CCN-51 (Testigo)	160.60	3	0.48	D
10 Nacional (Testigo)	152.97	3	0.48	E
Nacional (T6)	148.77	3	0.48	F
Nacional (T8)	141.47	3	0.48	G
Nacional (T5)	139.83	3	0.48	G H
Nacional (T7)	137.37	3	0.48	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Lucero (2020)

En la figura 5 se muestran las interacciones de los niveles y factores en el análisis regular Taguchi, se observa que de acuerdo a la consigna mayor es mejor; los niveles óptimos para el pronóstico de la respuesta deseable son todos los niveles 1 de los factores estudiados; logrando la siguiente combinación óptima: A1B1C1D1E1F1G1, con la cual se puede obtener el valor igual al del tratamiento 1 que es de 193.57 g (Anexo 14), siendo mayor que la media de medias con 159,65 g (Anexo 9). También resalta que, la mayor diferencia entre niveles se encuentra en el factor A (variedad de cacao); causando el nivel 1 el mayor efecto en esta interacción, en este caso es la variedad de cacao CCN-51.

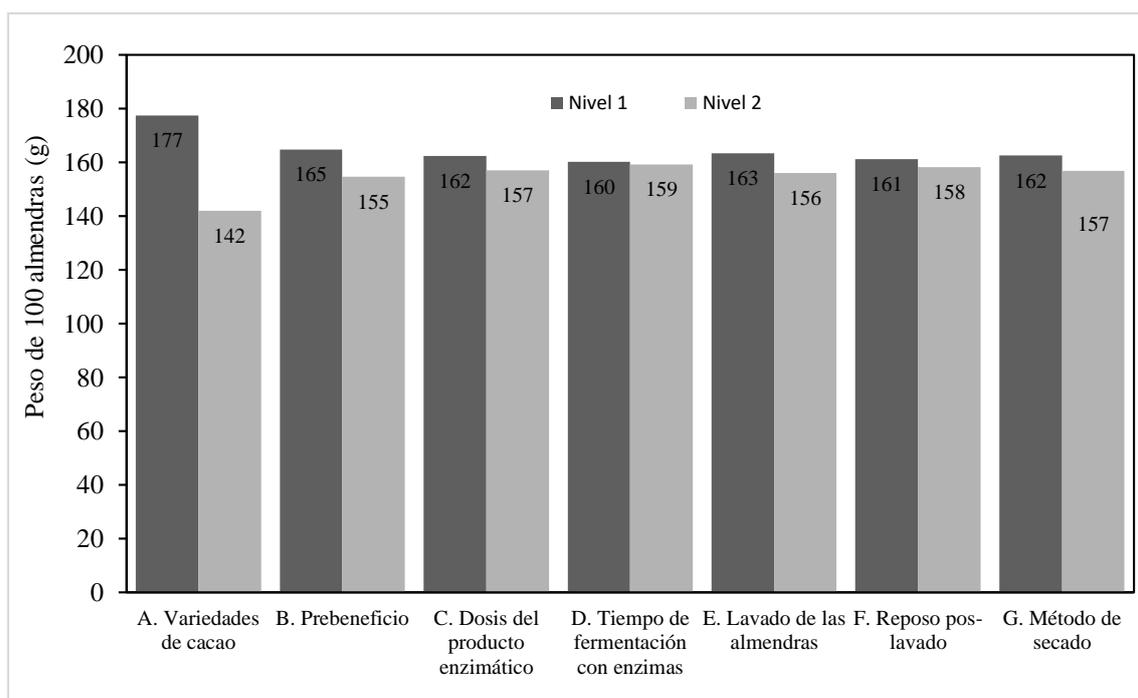


Figura 5 Peso de 100 almendras en función de factores y niveles en estudio
Fuente: Lucero (2020)

4.2.2. PORCENTAJE DE TESTA

En la tabla 11 se exhiben los resultados obtenidos para la variable física porcentaje de testa, en esta se demuestra que existe diferencia estadística entre los tratamientos 4 (Cacao CCN-51, beneficiado 72 horas después de la cosecha, fermentado con 2 mL/5kg de cacao en baba, durante 60 minutos, con escurrido y lavado completo, y puesto a secado inmediato sin reposo poslavado, directamente

en el tendal de cemento) y 7 (Cacao Nacional, beneficiado 72 horas después de la cosecha, fermentado con 1 mL/5kg de cacao en baba, durante 30 minutos, con escurrido y lavado completo, y puesto a en reposo por 72 horas antes del secado en el tendal de cemento).

El valor más bajo (después de los testigos) lo presenta el tratamiento 6 con 9.69 %, los niveles de este tratamiento son: Variedad Nacional, beneficio inmediato después de la extracción del cacao en baba, pectin trans eliminasa en dosis de 2 mL/5 kg por 60 minutos, posterior escurrido sin lavado, reposo de 72 horas antes del secado sobre tendal en cemento.

Los valores obtenidos para la variable porcentaje de testa se encuentran muy por debajo de los datos descritos por Alvarez et al. (2010), que varían entre 13.95 y 14.05 %, pero concuerdan con los de CAOBISSCO/ECA/FCC (2015) en un rango de 11 a 12 %; infiriendo también que esta característica se debe al tipo de cacao y la variación de las prácticas de poscosecha.

Alvarez et al. (2010), observaron en su investigación que existe una relación inversa del peso de las almendras con el porcentaje de testa, en el tratamiento 6 se evidencia que si bien tiene el menor contenido de testa (después del testigo de la variedad Nacional), presenta un peso de almendras promedio con respecto a los demás tratamientos, por lo que en esta investigación no se evidencia mayor incidencia de la variedad. Sin embargo resalta que a excepción del tratamiento 7, tanto el testigo Nacional como el resto de tratamientos de la misma variedad presentan los menores valores.

La práctica poscosecha que se relaciona entre el tratamiento 6 y el testigo de la variedad Nacional, es el beneficio inmediato después de la extracción, según Cubillos et al. (2008), después de abrir las mazorcas los granos deben fermentarse antes de 24 horas para evitar el ataque de insectos que perjudiquen la calidad del grano. También se ha demostrado que el tostado de los granos por encima de temperaturas de 100° C durante tiempos comprendidos de 20 a 40 minutos produce cierta migración de la manteca a la cáscara generando pérdidas de ésta última al

descartarse la cascarilla o testa por lo que podría aumentar el valor de esta última (Alvarez et al., 2007).

Tabla 11 Rangos de Tukey para la variable porcentaje de testa

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.42322

Error: 0.0214 gl: 20

Tratamientos	Media	n	E.E.	Rangos de Tukey ($\alpha=0.05$)
10 Nacional (Testigo)	9.46	3	0.08	A
Nacional (T6)	9.69	3	0.08	A B
Nacional (T5)	9.72	3	0.08	A B
9 CCN-51 (Testigo)	10.04	2	0.08	B C
CCN-51 (T1)	10.08	3	0.08	B C
CCN-51 (T2)	10.15	3	0.08	C
CCN-51 (T3)	10.20	3	0.08	C
Nacional (T8)	10.33	3	0.08	C
CCN-51 (T4)	10.94	3	0.08	D
Nacional (T7)	11.38	3	0.08	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Lucero (2020)

En la figura 6 se muestran las interacciones de los niveles y factores para la predicción de la respuesta deseable; se observa que de acuerdo la consigna menor es mejor, se logró la siguiente combinación óptima: A2B1C2D2E1F1G2, con la cual se puede obtener 9.18 % de testa (Anexo 15), que es menor que la media de medias con 10.31 % (Anexo 10). A la vez se denota que la mayor diferencia entre niveles se encuentra en el factor B (beneficio previo la extracción); causando el nivel 1 el mayor efecto en esta interacción, en este caso es el beneficio inmediato después de la extracción.

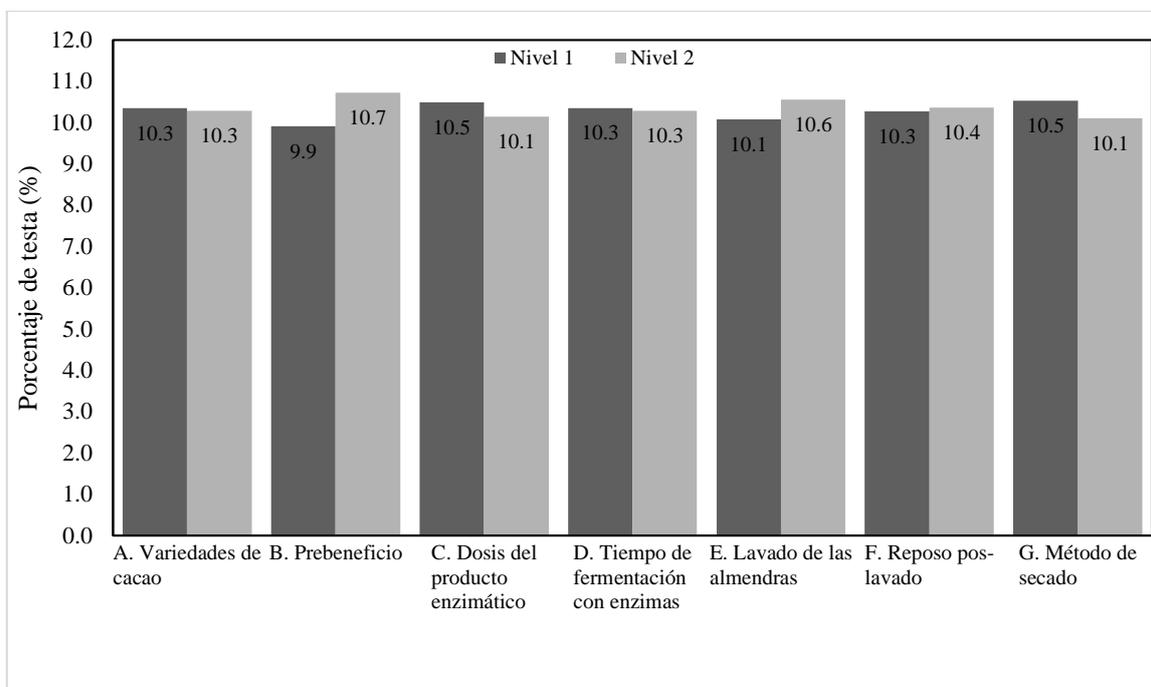


Figura 6 Porcentaje de testa en función de factores y niveles en estudio

Fuente: Lucero (2020)

4.2.3. PORCENTAJE DE ALMENDRAS FERMENTADAS

De acuerdo a los resultados obtenidos que se muestran en la tabla 12, para la variable física porcentaje de almendras fermentadas no existe diferencia significativa entre la mayoría de tratamientos; aun así, el valor más alto es para el tratamiento 7 con 82.40 %, los niveles de este tratamiento son: Variedad Nacional, beneficio 72 horas después de la extracción del cacao en baba, pectin trans eliminasa en dosis de 1 mL/5 kg por 30 minutos, posterior escurrido y lavado completo, reposo por 72 horas poslavado y secado directo en el tendal sobre cemento.

Los datos registrados en los tratamientos 1, 2 y 4 (todos de la variedad CCN-51), más el testigo de la misma variedad se encuentran por debajo del 75 % de granos fermentados de cacao que recomienda Aguilar (2016); mientras que el tratamiento 7 alcanza valores relacionados a los que expresan Alvarez et al. (2010), quienes obtuvieron un grado mayor al 80% de granos fermentados y secos, e indican que

esta variable está relacionada con altas o bajas temperaturas alcanzadas en la fermentación y con la frecuencia de remoción de la masa.

Para esta variable la Norma Técnica INEN-176 2018-2, establece un rango mínimo de 55 a 75 % de granos fermentados para Cacao fino de aroma; de la misma manera, valores que oscilan entre 55 a 68 % para cacao CCN-51. En los datos obtenidos resalta que, según esta norma, todos los tratamientos y testigos de ambas variedades superan los porcentajes mínimos permitidos.

En el comportamiento del tratamiento 7 se denota que al pertenecer a la variedad Nacional obtuvo un mayor número de almendras fermentadas, lo que concuerda con Erazo (2019), quien comparó los grados de fermentación en porcentaje en función de cada tratamiento de la variedad Nacional y CCN-51 consiguiéndose mayor índice de fermentación en el cacao Nacional.

Lo ocurrido con la fermentación de estas almendras se relaciona con el beneficio posterior a 72 horas, en concordancia con Alvarez et al. (2010), quienes proponen que al retardar el beneficio de los frutos de cacao se obtiene un mayor índice de fermentación, es decir un mayor número de granos secos de color pardo. Por otra parte, se destaca que a este tratamiento se le aplicó la dosis de 1 mL/5 kg que actuó durante la fermentación al igual que el tratamiento 8 que le sigue en el rango, por lo que se puede asegurar la incidencia del producto enzimático en esta variable.

Tabla 12 Rangos de Tukey para la variable almendras fermentadas

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.42253

Error: 0.7020 gl: 20

Tratamientos	Media	n	E.E.	Rangos de Tukey ($\alpha=0.05$)
9 CCN-51 (Testigo)	71.30	3	0.48	A
CCN-51 (T4)	71.83	3	0.48	A
CCN-51 (T1)	72.00	3	0.48	A
CCN-51 (T2)	74.78	3	0.48	B
10 Nacional (Testigo)	75.93	3	0.48	B
CCN-51 (T3)	76.83	3	0.48	B C
Nacional (T6)	78.40	3	0.48	C D
Nacional (T5)	79.42	3	0.48	D E
Nacional (T8)	80.94	3	0.48	E F
Nacional (T7)	82.40	3	0.48	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Lucero (2020)

En la figura 7 se muestran las interacciones de los niveles y factores para la predicción de la respuesta deseable, se observa que de acuerdo a la consigna mayor es mejor, se logró la siguiente combinación: A2B2C1D1E2F2G2, con la cual se puede obtener hasta 84.24 % de granos fermentados (Anexo 16), que es mayor que la media de medias con 77.08 % (Anexo 11). También resalta que, la mayor diferencia entre niveles se encuentra en el factor A (variedad de cacao); siendo el nivel 2 el que causa mayor efecto en esta interacción, en este caso es la variedad de cacao Nacional.

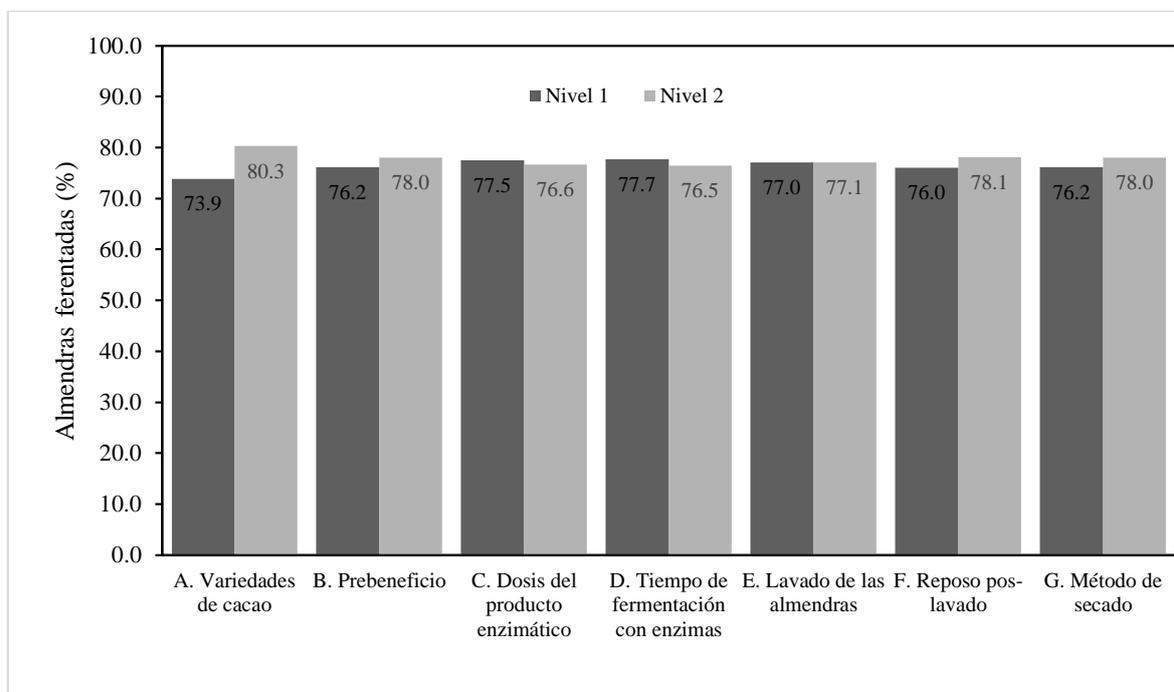


Figura 7 Porcentaje de almendras fermentadas en función de factores y niveles en estudio

Fuente: Lucero (2020)

4.2.4. pH de almendras

En la tabla 13 se muestran los resultados obtenidos para la variable pH de almendras, en esta se denota que no existe diferencia significativa entre tratamientos, pero sí entre los testigos y el resto de tratamientos, aun así, el valor más bajo (después de los testigos) se encuentra en el tratamiento 4 con 6.22; los niveles del tratamiento 4 son: variedad CCN-51, beneficio después 72 horas de la cosecha, pectin trans eliminasa en dosis de 2 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo antes de iniciar el secado en tendal sobre cemento.

Los valores obtenidos en este trabajo para la variable pH en los tratamientos con la aplicación del producto enzimático, superan en todos los casos los registrados por Alvarez et al. (2010), quienes presentan promedios de 5.20 a 5.49 para cacao fermentado en cajones de madera y a la vez se encuentran cercanos a los rangos de los testigos CCN-51 (5.91) y Nacional (5.94).

Los mismos autores explican que un pH menor a 4.5 en los cotiledones, es un indicativo de una sobre fermentación de la masa, lo cual conduce a la formación de ácidos carboxílicos y aminos biogénicas por descarboxilación enzimática de los correspondientes aminoácidos; en el mismo sentido, rangos de pH superiores a 6, son muestra de defectos en el proceso de fermentación.

Cubillos et al. (2008), explica que durante la fermentación se forma alcohol, ácido láctico y ácido acético que permeabilizan la testa disminuyendo el pH, estos compuestos y la temperatura, participan en la muerte del embrión, la misma que es indispensable para que se desencadenen los procesos bioquímicos que tienen lugar dentro del grano.

En los tratamientos, que son aquellos a los cuales se les aplicó las 2 dosis de enzima, se observa la elevación del pH por sobre el rango encontrado en la literatura, esto se debe a que el proceso de fermentación que normalmente dura de 4 a 5 días en el beneficio convencional fue reducido a 30 o 60 minutos dependiendo del nivel, por lo que efectivamente pudieran existir defectos en el proceso, pero que no han alterado el resultado de los tratamientos en la variable almendras fermentadas.

Tabla 13 Rangos de Tukey para la variable pH de almendras

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.07314

Error: 0.0006 gl: 20

Tratamientos	Media	n	E.E.	Rangos de Tukey ($\alpha=0.05$)
9 CCN-51 (Testigo)	5.91	3	0.01	A
10 Nacional (Testigo)	5.94	3	0.01	A
CCN-51 (T4)	6.22	3	0.01	B
Nacional (T6)	6.28	3	0.01	B C
CCN-51 (T3)	6.28	3	0.01	B C
Nacional (T8)	6.28	3	0.01	B C D
Nacional (T5)	6.31	3	0.01	C D E
CCN-51 (T1)	6.32	3	0.01	C D E
Nacional (T7)	6.35	3	0.01	D E
CCN-51 (T2)	6.37	3	0.01	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Lucero (2020)

En la figura 8 se muestran las interacciones de los niveles y factores para la predicción de la respuesta deseable, se observa que de acuerdo a la consigna menor es mejor; se logró la siguiente combinación óptima: A2B1C1D1E2F2G2, con la que se puede obtener un pH de 6.19 (Anexo 17), que es menor a la media de medias con 6.30 (Anexo 12). Aquí también resalta que la mayor diferencia entre niveles se encuentra en el factor C (dosis de la enzima); causando el nivel 2 el mayor efecto en esta interacción, en este caso es la dosis de 2 mL del producto enzimático.

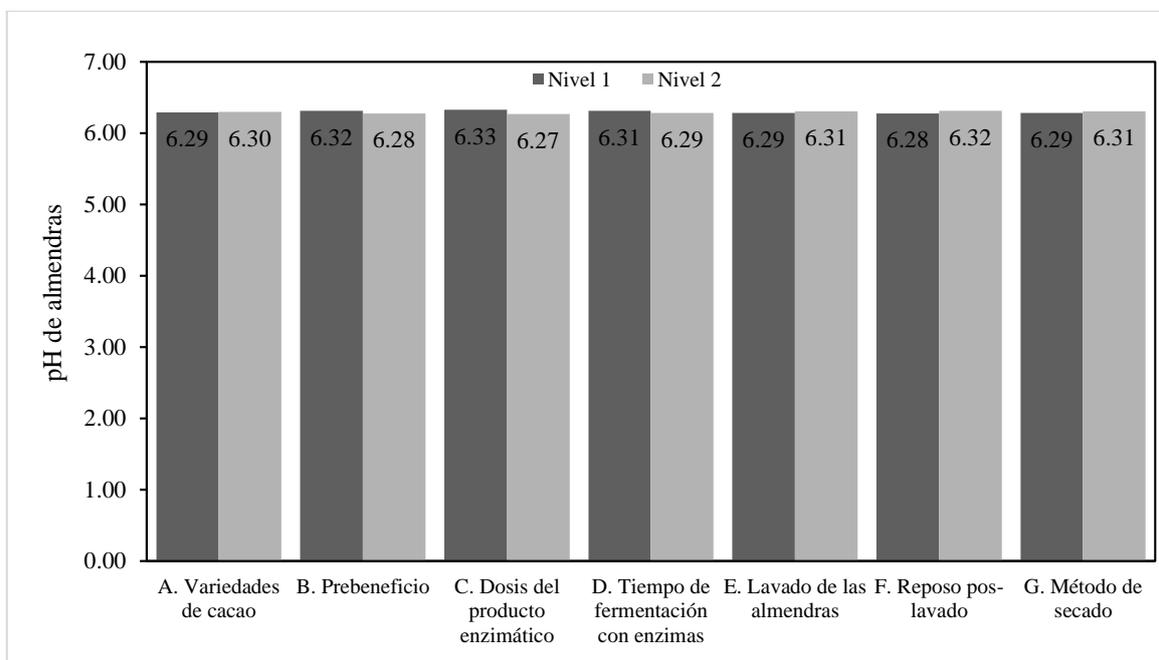


Figura 8 pH de almendras en función de factores y niveles en estudio

Fuente: Lucero (2020)

4.2.5. ACIDEZ TITULABLE

En la tabla 14 se exponen los resultados obtenidos para la variable acidez titulable, aquí se demuestra que no existe diferencia significativa entre tratamientos ni en relación a los testigos con el resto, aun así, el valor más alto (después de los testigos) lo representa el tratamiento 4 con 0.36 %, los niveles de este tratamiento son: Variedad CCN-51, beneficio después 72 horas de la cosecha, pectin trans eliminasa en dosis de 2 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo antes de iniciar el secado en tendal sobre cemento.

Todos los valores obtenidos en los tratamientos y los testigos, para la variable acidez titulable, se encuentran por debajo de los registrados por Alvarez et al. (2010) con promedios de 0.46 y 0.52 % para cacao fermentado en cajones de madera y cestas plásticas respectivamente. En el mismo contexto, Alvarez et al. (2007), identificaron valores mayores de 1.33 % y mencionan que estos granos podrían clasificarse como ligeramente ácidos y con valores de pH intermedio.

El tratamiento 4 presenta un valor ligeramente superior (después de los testigos) al resto de tratamientos, que se relaciona con el pH bajo del mismo tratamiento anteriormente descrito, esto es porque ambas variables son inversamente proporcionales. Los mismos autores explican que, una menor o mayor acidez podría atribuirse a la variabilidad genética, lo que no sucede en esta investigación, debido a que se presentan valores dispersos independientemente de esta condición.

Otro factor que incide en este tratamiento es la dosis de 2 mL/5 kg durante un tiempo de fermentación de 60 minutos, en relación a esto Armijos (2002), señala que los ácidos orgánicos que se forman durante la fermentación producen la muerte del embrión, evitan la germinación, permiten la vacuolización y pérdida celular que ayuda a la distribución de enzimas por el tejido y su mezcla con el sustrato, produciendo así las reacciones de formación de los precursores del aroma a chocolate y proveen al grano de aromas rancios, esto en el beneficio convencional de 4 a 5 días.

Alvarez et al. (2007), proponen también que un efecto prolongado en el tostado produce una disminución de la fracción volátil de los ácidos, con ligeros incrementos en los valores de pH y descenso de la acidez alcanzada durante el beneficio.

Tabla 14 Rangos de Tukey para la variable acidez titulable

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.02671

Error: 0.0001 gl: 20

Tratamientos	Media	n	E.E.	Rangos de Tukey ($\alpha=0.05$)
CCN-51 (T2)	0.29	3	0.01	A
CCN-51 (T1)	0.30	3	0.01	A B
CCN-51 (T3)	0.32	3	0.01	B C
Nacional (T5)	0.34	3	0.01	C D
Nacional (T7)	0.34	3	0.01	C D
Nacional (T8)	0.34	3	0.01	C D
Nacional (T6)	0.34	3	0.01	C D
CCN-51 (T4)	0.36	3	0.01	D
9 CCN-51 (testigo)	0.39	3	0.01	E
10 Nacional (Testigo)	0.39	3	0.01	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Lucero (2020)

En la figura 9 se muestran las interacciones de los niveles y factores para la predicción de la respuesta deseable, se observa que de acuerdo a la consigna mayor es mejor; se logró la siguiente combinación óptima: A2B2C2D2E2F1G1, con la cual se puede obtener valores de 0.38 % (Anexo 18), que es mayor que la media de medias con 0.33 % (Anexo 13). Aquí también se denota que la mayor diferencia entre niveles se encuentra en los factores A (variedad de cacao), B (beneficio previo a la extracción) y C (dosis de la enzima); por acción de los niveles 2 de estos factores, en este caso es la variedad Nacional, el beneficio inmediato y la dosis de 2 mL del producto enzimático.

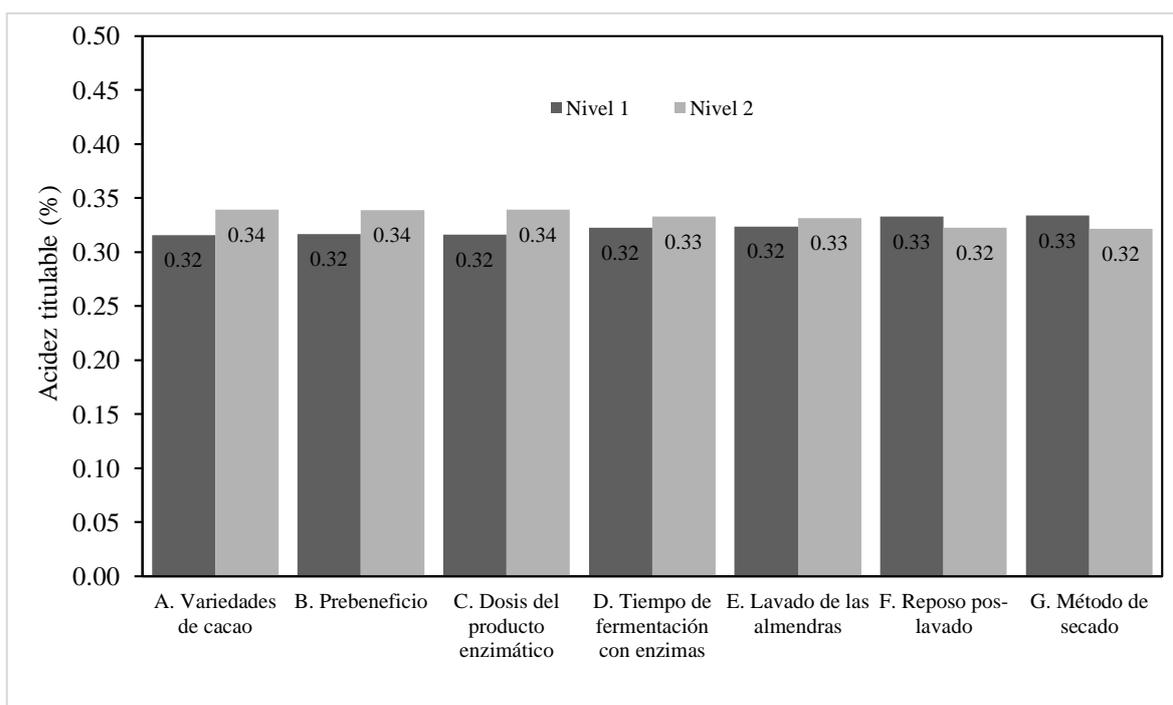


Figura 9 Acidez titulable en función de factores y niveles en estudio
Fuente: Lucero (2020)

4.3. ANÁLISIS SENSORIAL

4.3.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Se muestran los promedios obtenidos en la evaluación sensorial del licor de cacao elaborado con los 8 tratamientos más los testigos (Tabla 15). Los puntajes más altos en los tratamientos para la característica sabor a cacao los representan los tratamientos 4 (variedad CCN-51, beneficio después 72 horas de la cosecha, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo, secado en tendal de cemento) y 5 (variedad Nacional, beneficio inmediato después de la extracción, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 30 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo y secado en marquesina).

Los tratamientos 2 (variedad CCN-51, beneficio inmediato, pectin trans eliminasa en dosis: 1 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido y lavado completo, reposo por 72 horas antes del secado en marquesina) y 6 (variedad Nacional, beneficio inmediato después de la extracción del cacao en baba, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 60 minutos, posterior escurrido sin lavado reposo de 72 horas antes del secado sobre tendal en cemento), son menos intensos en cuanto a acidez, lo que está directamente relacionado a las características de pH de almendras y acidez titulable.

Por otra parte, los tratamientos 1 (variedad CCN-51, beneficio inmediato, pectin trans eliminasa en dosis: 1 mL/5 kg por 30 minutos, escurrido sin lavado, sin reposo antes del secado directo en el tendal) y 3 (variedad CCN-51, beneficio después 72 horas de la cosecha, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 30 minutos, escurrido sin lavado, reposo por 72 horas antes del secado en marquesina) muestran una menor intensidad de amargor, lo que se asocia con los procesos de beneficio. Según los catadores la presencia de olores indeseables es mucho menor en los tratamientos 1, 4 y 5.

Tabla 15 Promedios de los puntajes de las características sensoriales (1-5)

Tratamientos	Sabor a cacao	Acidez	Amargor	Olores indeseables
CCN-51 (T1)	3.2	2.5	1.7	1.4
CCN-51 (T2)	3.1	2.1	2	2.1
CCN-51 (T3)	3.1	2.7	1.7	1.8
CCN-51 (T4)	4.2	2.4	1.8	1.6
Nacional (T5)	4.1	3.1	2.1	1.6
Nacional (T6)	2.2	2.2	1.8	1.8
Nacional (T7)	2.7	2.3	1.9	2.2
Nacional (T8)	2.9	2.3	1.8	2.2
9 CCN-51 (testigo)	3.1	2.7	2.2	1.4
10 Nacional (Testigo)	3.6	1.7	2.1	1.2

Fuente: Lucero (2020)

4.3.2. ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBAS DE TUKEY

El análisis de varianza muestra que existe diferencia entre los tratamientos para la variable intensidad de sabor a cacao (Tabla 16), los tratamientos más representativos son el 4 y 5. Se observa también que para las variables acidez, amargor y olores no deseables no existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Tabla 16 Cuadrados medios y significación estadística de las variables sabor a cacao (SAB), acidez (ACI), amargor (AMA) y olores indeseables (OIND)

Variables	Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	Significación estadística
SABOR	Tratamientos	7	31.688	4.527	2.897	0.010 (*)
	Error experimental	72	112.500	1.563		
	Total	79	144.188			
ACIDEZ	Tratamientos	7	7.200	1.029	0.817	0.576 (NS)
	Error experimental	72	90.600	1.258		
	Total	79	97.800			
AMARGOR	Tratamientos	7	1.400	0.200	0.414	0.891 (NS)
	Error experimental	72	34.800	0.483		
	Total	79	36.200			
OLORES INDESEABLES	Tratamientos	7	6.388	0.913	1.251	0.287 (NS)
	Error experimental	72	52.500	0.729		
	Total	79	58.888			

Fuente: Lucero (2020)

4.3.3. ANÁLISIS DE CORRELACIONES

El sabor y los olores no deseables se relacionan negativamente ($r=-0.221^*$). La correlación entre la acidez y el amargor es positiva y significativa ($r=0.317^{**}$), el amargor tiene una correlación positiva significativa ($r= 0.600^*$) (Tabla 16).

Tabla 17 Matriz de correlaciones lineales entre variables sensoriales

	SAB	ACI	AMA	OIND
SAB	1	0.159	-0.135	-0.221*
ACI		1	0.317**	0.129
AMA			1	0.600**
OIND				1

*. La correlación es significativa en el nivel 0.05 (2 colas).

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

Fuente: Lucero (2020)

4.3.4. SABOR A CACAO

En la figura 10 se exponen los resultados de la frecuencia relativa de la variable sabor a cacao, evidenciando que el 31 % de los catadores da la calificación de 2 puntos (poco) a las muestras, mientras que el 25 % opina que el sabor es muy intenso en todos los tratamientos.

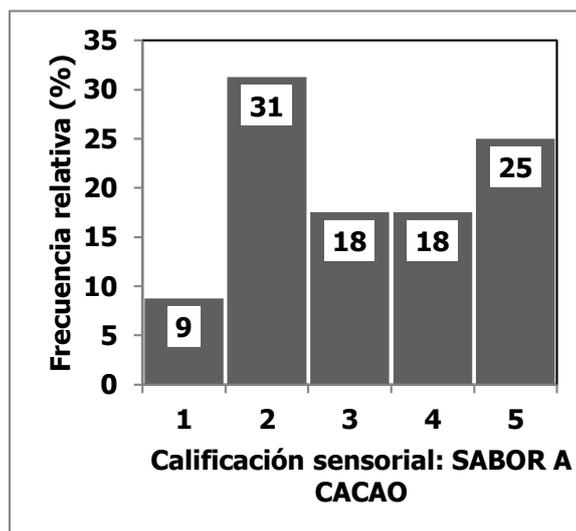


Figura 10 Calificación sensorial: Sabor a cacao
Fuente: Lucero (2020)

El análisis de tendencia de la variable sabor a cacao, muestra que los puntajes se encuentran por sobre 3 para todos los tratamientos (Figura 11); a pesar de esto se diferencian los tratamientos 4 (variedad CCN-51, beneficio después 72 horas de la cosecha, Pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo, secado en tendal de cemento) y 5 (variedad Nacional, beneficio inmediato después de la extracción, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 30 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo y secado en marquesina), los cuales tienen un mayor promedio.

Como se nota en la tabla 15, el testigo de la variedad Nacional con beneficio convencional tiene un promedio superior al resto, seguido de los tratamientos 4 y 5 que pertenecen a las variedades CCN-51 y Nacional respectivamente, compartiendo el mismo nivel en el factor dosis del producto enzimático de 2 mL/5

kg de cacao en baba, además del escurrido y lavado completo del cacao fermentado. El resto de muestras presentan calificaciones más bajas, incluyendo a los tratamientos que son de la variedad Nacional, por lo que se puede deducir que tanto la dosis de enzima, como las operaciones posteriores tienen incidencia en esta variable, sin influencia directa de la variedad.

En relación a lo anterior, Vera et al. (2014), explican que las muestras mejor fermentadas desarrollan no solo una expresión más intensa del sabor a cacao sino también notas sensoriales aromáticas típicas de los cacaos finos o de aroma, cuando estas son partes integrales de su base genética; pero que, las prácticas poscosecha descuidadas o defectuosas anularán el efecto positivo de determinados materiales de siembra sobre el sabor.

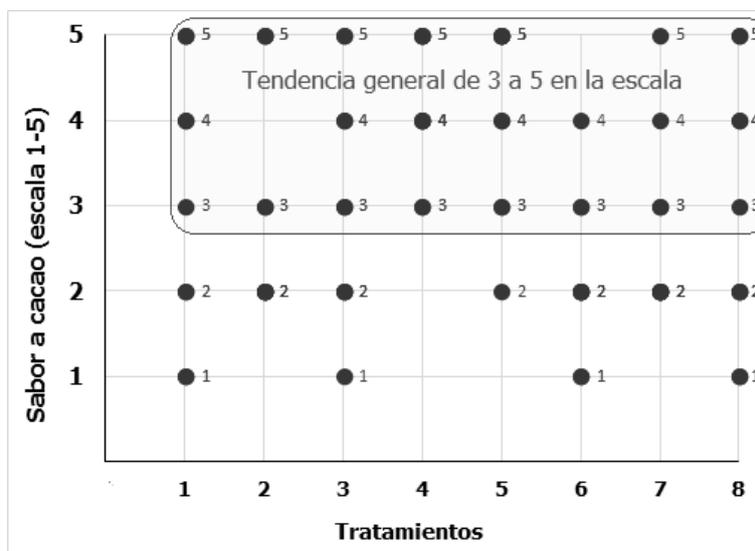


Figura 11 Análisis de tendencia para la variable sabor a cacao
Fuente: Lucero (2020)

4.3.5. ACIDEZ

Según lo que se observa en la figura 12, todos los tratamientos tienen tendencia a presentar valores por encima de 2 para esta característica. El mayor promedio lo presenta el tratamiento 5 (variedad Nacional, beneficio inmediato después de la extracción, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 30 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo y secado en marquesina) y el menor valor el tratamiento

2 (variedad CCN-51, beneficio inmediato, pectin trans eliminasa en dosis: 1 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido y lavado completo, reposo por 72 horas antes del secado en marquesina), con diferencias en cuanto al proceso poscosecha, especialmente en el reposo por 72 horas previo al secado.

Como se observa en la tabla 15, el tratamiento 5 presenta mayor acidez (en cuanto a tratamientos), sin embargo, en referencia a los testigos el menor valor lo representa el de la variedad Nacional. Las relaciones negativas del sabor a cacao con la acidez y astringencia son consecuencia de la mala calidad de la fermentación que estimula la expresión de estos últimos, atenuando la expresión de aromas de interés, en mayor o menor medida según Armijos (2002). En consecuencia, esta variable podría estar condicionada por el tiempo de fermentación aplicado al tratamiento 5 (30 minutos), en contraparte al testigo Nacional (3 días).

El mismo autor expresa que la acidez puede deberse a malas prácticas poscosecha, sin embargo, también está relacionada al componente secado (métodos artificiales) cerrándose las paredes de la testa e interrumpiéndose los cambios bioquímicos y enzimáticos dentro de la almendra, por lo tanto, la pasta tendría sabor ácido o amargo.

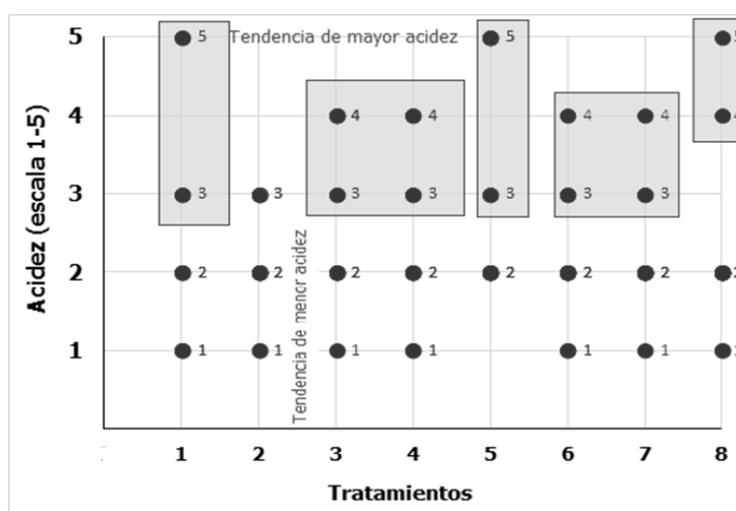


Figura 12 Análisis de tendencia para la variable acidez
Fuente: Lucero (2020)

4.3.6. AMARGOR

Para la variable amargor, los promedios tienden a estar por debajo de 3 en todos los casos (Figura 13), aun así, se denota un pequeño decremento de esta característica en el tratamiento 8 (variedad Nacional, beneficio después de 72 horas de la extracción, pectin trans eliminasa en dosis: 1 mL/5 kg por 60 minutos, escurrido sin lavado y sin reposo previo al secado en marquesina) e incremento de la misma en el tratamiento 5 (variedad Nacional, beneficio inmediato después de la extracción, pectin trans eliminasa en dosis: 2 mL/5 kg por 30 minutos, escurrido y lavado completo, sin reposo y secado en marquesina).

En la tabla 15 se evidencia que el mayor promedio lo presenta el testigo de la variedad CCN-51, sin embargo, con respecto a los tratamientos aparece el tratamiento 5 con un puntaje superior. En este sentido, la expresión sensorial del cacao contiene un fuerte componente genético que puede traducirse en diferencias entre perfiles sensoriales de muestras de distintos orígenes, expresiones que, además, son modificadas por la interacción genotipo-ambiente-poscosecha (Vera et al., 2014). Algo que también resalta de esta información, es que el tratamiento 8 que presenta el menor promedio tuvo una dosis menor de la enzima en un tiempo mayor de fermentación.

Lima, Almeida, Nout, y Zwietering (2011), indican que los precursores responsables del amargor son las metilxantinas, principalmente la teobromina y la cafeína a un nivel medio de 1.5 % (w/w) en almendras secas, que evidencia un sabor muy amargo y astringente, lo que es natural en la pasta o en los chocolates amargos, posiblemente relacionado con problemas durante la poscosecha, acompañado de un bajo sabor a cacao, lo que no ocurre en este caso con el tratamiento 5.

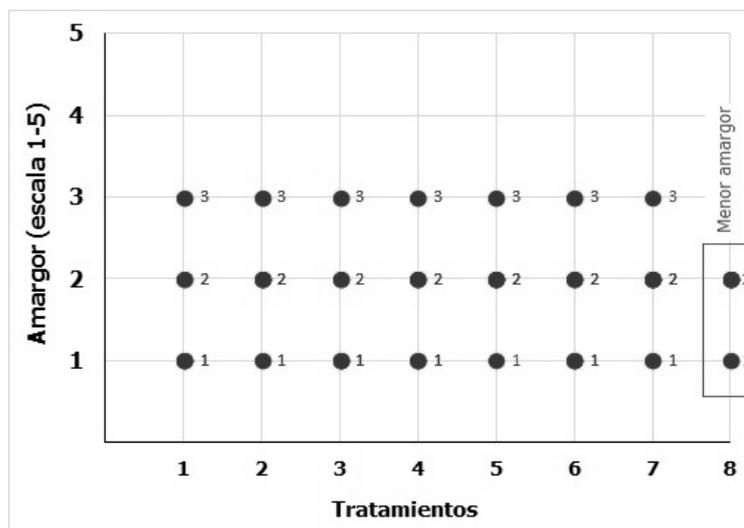


Figura 13 Análisis de tendencia de la variable amargor

Fuente: Lucero (2020)

4.3.7. OLORES INDESEABLES

En figura 14 se observa la tendencia de la variable olores indeseables, los tratamientos 7 (variedad Nacional, beneficio 72 horas después de la extracción del cacao en baba, pectin trans eliminasa en dosis: 1 mL/5 kg por 30 minutos, posterior escurrido y lavado completo, reposo por 72 horas poslavado y secado directo en el tendal de cemento), y 8 (variedad Nacional, beneficio 72 horas después de la extracción del cacao en baba, pectin trans eliminasa en dosis: 1 mL/5 kg por 60 minutos, posterior escurrido sin lavado, sin reposo y secado sobre marquesina), tienen mayores promedios a pesar de no existir diferencias significativas.

En la tabla 15 se expone que el menor promedio lo presentan los testigos de ambas variedades, y de manera general los tratamientos 7 y 8 que corresponden a la variedad Nacional, por lo que pudiera ser que la aplicación del producto enzimático tuviera relación con esta variable debido a la higroscopia del cacao, asociado a que en ambos existió un reposo por 72 horas previo a la fermentación.

El aroma a humo de madera, químico-medicinal (tipo de jarabe para la tos con sabor desagradable), diésel u otro tipo de combustible es un defecto grave y generalmente se debe a contaminación en el transporte, almacén o en el secado artificial, se asemeja el olor a humo de madera, leña o combustible. El aroma a moho se

describe como un sabor a tierra, humedad, guardado, generalmente debido a un proceso de secado deficiente lo que pudo haber ocurrido en el tratamiento 7 debido al reposo por 72 horas poslavado (Aguilar, 2016).

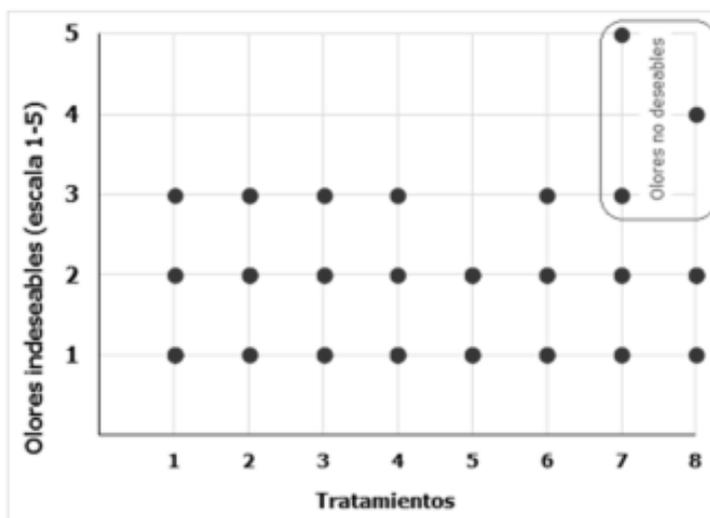


Figura 14 Análisis de tendencia de la variable olores indeseables
Fuente: Lucero (2020)

4.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS

El análisis de la composición química se realizó a los tratamientos 4 y 7 que se describen a continuación:

Tratamiento T4: A1B2C2D2E2F1G1: Cacao CCN-51, beneficiado 72 horas después de la cosecha, fermentado con dosis enzimática de 2 mL/5 kg de cacao en baba, durante 60 minutos, con escurrido y lavado completo y puesto a secado inmediato sin reposo poslavado, directamente en el tendal de cemento, presenta un total de 49 compuestos, siendo el Oxometil acetato la sustancia principal en sus perfiles de compuestos volátiles, seguido del Acetaldehído, encontrándose además alcoholes, ésteres y ácidos entre los más abundantes.

Tratamiento T7: A2B2C1D1E2F2G1: Cacao Nacional, beneficiado 72 horas después de la cosecha, fermentado con dosis de 1 mL/5 kg de cacao en baba, durante 30 minutos, con escurrido y lavado completo, y puesto en reposo por 72

horas antes del secado en el tendal de cemento la composición de polifenoles totales fue de 69.75 mgÁc Gálico/g, los porcentajes de teobromina y cafeína fueron 1.97 % y 0.41 %.

4.4.1. POLIFENOLES TOTALES

El contenido de polifenoles en el tratamiento 4 fue de 78.21 mgÁc Gálico/g y en el tratamiento 7 fue de 69.75 mgÁc Gálico/g, valores que se consideran altos y que según Camino (2014) se debe a un defecto en el proceso fermentativo, esto puede ser debido a que la ubicación de la muestra dentro del cajón no ayudó a dar las condiciones de temperatura y oxígeno para que se desarrollen los procesos metabólicos de los microorganismos.

El mismo autor establece en su investigación resultados que varían entre 33.55 a 62.89 mgÁc Gálico/g en cacao desengrasado con 4 días de fermentación. Estos resultados confirman los estudios obtenidos por Espín (2006), con promedios de 45.50 mgÁc Gálico/g cacao desengrasado.

En este sentido, Wollgast y Anklam (2000), confirman que la variación en el contenido de polifenoles es un parámetro que no se atribuye al origen del cacao sino más bien es influenciado directamente por la fermentación, debido a que los polifenoles sufren procesos de oxidación y disminución por difusión que pudieran no haberse completado porque los tratamientos tuvieron un corto tiempo de fermentación en comparación con un beneficio convencional.

4.4.2. TEOBROMINA Y CAFEÍNA

Los porcentajes de teobromina y cafeína en el tratamiento 4 se encuentran en 1.75 y 0.22 % respectivamente; de la misma forma en el tratamiento 7 fueron de 1.97 y 0.41 %. Con respecto a esta variable, Portillo y Portillo (2012) mencionan que existe una reducción del contenido teobromina durante el proceso de poscosecha en un 20 a 30 % y de la cafeína alrededor del 20 a 50 %; lo que da como resultado una disminución del sabor amargo del chocolate.

Es así que en su trabajo obtuvieron valores que se encuentran entre 0.78 - 0.49 % de teobromina y 0.51 - 0.33 % de cafeína, por lo cual los datos de esta investigación son altos en comparación con los del autor. Esto se debe a que el contenido de teobromina y cafeína de las almendras de cacao disminuyen en función del tiempo de fermentación, lo cual afectó directamente a los tratamientos ya que sus tiempos de fermentación fueron reducidos en relación al beneficio convencional.

En el mismo contexto, Portillo (2008), menciona que otros factores que pueden cambiar la concentración final de estas variables, están determinados por el genotipo, el grado de maduración de las almendras y el nivel de fermentación.

4.4.3. COMPUESTOS VOLÁTILES

Los tratamientos 4 y 7 presentan un total de 49 compuestos, siendo el Oxometil acetato la sustancia principal en sus perfiles de compuestos volátiles, seguido del acetaldehído, encontrándose además alcoholes, ésteres y ácidos entre los más abundantes. El acetato de metilo no aparece normalmente como uno de los compuestos principales del cacao en grano, de acuerdo a la bibliografía revisada, lo que puede deberse a la adición de la enzima pectin trans eliminasa, este compuesto corresponde al grupo de las cetonas que aportan notas odoríficas importantes e incrementan la calidad del cacao.

De acuerdo a Pallares et al. (2016), los descriptores de olor se clasifican en deseables o indeseables, en función de la calidad sensorial y la variedad. También evidencian que, de las etapas asociadas al proceso de beneficio, la fermentación ejerce la mayor influencia en la evolución de compuestos volátiles.

Los mismos autores sugieren que la presencia de *3-metil-1-butanol*, *2-fenil etanol*, *etilfenil acetato*, *2-feniletal acetato*, *benzaldehído* y *fenil acetaldehído* es beneficiosa para el aroma, aportando notas de chocolate, caramelo, dulce, nuez, frutal y floral. Al contrario, cuando se identifican los ácidos *3-metil butanoico* y *propanoico* y cantidades muy elevadas de ácido acético, sus atributos son desmejorados, con notas de olor defectuosas (rancio, picante, agrio y astringente).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se derivan del ensayo son:

- Las variedades CCN-51 y Nacional, fueron estadísticamente diferentes en todas las características físicas del grano ($p < 0.05$). En el caso del licor del cacao hubo diferencia significativa entre tratamientos, en la variable sabor a cacao ($p < 0.05$).
- La variedad CCN-51 mostró mayor índice de semilla ($p > 0.01$), con un peso de 1.77 g mientras que cacao Nacional tuvo 1.42 g (diferencia de 20 %).
- El beneficio inmediato después de la extracción del cacao en baba comparado con el beneficio después de 72 horas de la cosecha mostró un efecto favorable en el peso seco de las almendras (diferencia de 6.1 %). La diferencia de 3.2 % de peso por efecto de la dosis del producto enzimático de 1 mL/5 kg de cacao, fue mayor que al usar 2 mL/5 kg de cacao en baba. El tiempo de fermentación con enzimas tiene un efecto sobre la pérdida de peso de las almendras de cacao ($p < 0.05$). El escurrido sin lavar las almendras luego, de la fermentación, favoreció un mayor peso comparado con el lavado completo.
- El secado inmediato, del cacao fermentado, posibilita tener un mayor peso comparado con el reposo poslavado ($p < 0.05$). El secado en el tendal de cemento posibilitó tener un mayor peso comparado con el secado en marquesina.
- El cacao Nacional, beneficiado a 72 horas, con dosis 1 mL/5 kg, fermentación por 30 minutos, escurrido, lavado completo, reposo poslavado y secado en tendal, permitió tener una media de almendras bien fermentadas (%) = 82.40 ± 0.70 % > resto de tratamientos ($p < 0.05$).

- El cacao Nacional mostró mayor porcentaje de almendras fermentadas ($p < 0.05$) con 80.29 % comparado con la variedad CCN-51 (73.86 %) que representa una diferencia de 6.43 %. El reposo por 72 horas, previo al beneficio, tuvo influencia sobre la fermentación ($p < 0.05$), comparado con el beneficio inmediato (diferencia de 1.85 %).
- El porcentaje de almendras fermentadas, por efecto de la dosis del producto enzimático, usando 1 mL/ 5 kg de cacao fue mayor al uso de 2 mL/5 kg de cacao en baba. El tiempo de fermentación por 30 minutos con enzimas permitió tener mayor porcentaje de almendras fermentadas. El escurrido sin lavar, de las almendras, con respecto del escurrido y lavado completo, favoreció obtener una mayor proporción de grafos fermentados.
- El reposo poslavado del cacao, posibilita tener mayor porcentaje de granos fermentados ($p < 0.05$) con 78.10 %, en comparación al secado inmediato con 76.05%. El secado en marquesina también influye en el porcentaje de almendras fermentadas ($p < 0.05$) con una diferencia de 1.84 % entre sus niveles.
- La “dosis del producto enzimático de 2 mL/5 kg de cacao en baba”, además del “escurrido y lavado completo” del cacao fermentado, tienen un efecto muy favorable sobre el sabor de cacao, en las dos variedades: CCN-51 y Nacional, en los tratamientos 4 y 5 respectivamente.
- El testigo perteneciente al cacao Nacional presentó el mayor puntaje sensorial frente al testigo de la variedad CCN-51, mayor que los tratamientos con aplicación de las enzimas.
- En el tratamiento T7: A2B2C1D1E2F2G1: Cacao Nacional, beneficiado 72 horas después de la cosecha, fermentado con dosis de 1 mL/5 kg de cacao en baba, durante 30 minutos, con escurrido y lavado completo, puesto en reposo por 72 horas antes del secado en el tendal de cemento, la composición de polifenoles totales fue de 69.75 mgÁc gálico/g, los porcentajes de teobromina y cafeína fueron 1.97 % y 0.41 %, respectivamente.

- En el tratamiento T4: A1B2C2D2E2F1G1: Cacao CCN-51, beneficiado 72 horas después de la cosecha, fermentado con dosis de 2 mL/5 kg de cacao en baba, durante 60 minutos, con escurrido y lavado completo, y puesto a secado inmediato sin reposo poslavado, directamente en el tendal de cemento, la composición de polifenoles totales fue de 72.21 mgÁc gálico/g, los porcentajes de teobromina y cafeína fueron 1.75 % y 0.22 %, respectivamente.
- Se identificaron 49 compuestos en los tratamientos 7 y 4, siendo el oxometil acetato la sustancia principal en sus perfiles de compuestos volátiles, seguido del acetaldehído, hallándose, además grupos de alcoholes, ésteres y ácidos.

5.2. RECOMENDACIONES

- Validar los resultados del presente estudio en otras condiciones ambientales y con otros genotipos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, H. (2016). *Manual para la evaluación de calidad del grano de cacao*. 1a.ed.- La Lima, Cortés: FHIA, 22p.:il Honduras.
- Alvarez, C. Perez, E. y Lares, M. (2007). Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas y secas y tostadas cultivadas en la Región de Cuyagua, Estado Arauja. *Revista Scielo vol 59*. Caracas- Venezuela.
- Alvarez, C. Tovar, L. y García, H. (2010). Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) Usando dos tipos de fermentadores. *Revista Científica UDO Agrícola*, 76-87.
- Alvis, A. Pérez, L. y Arrazola, G. (2010). Determinación de las propiedades de textura de tabletas de chocolate mediante técnicas instrumentales. *Información tecnológica*, 22(3), 11-18.
- Andrade, J. y Rivera, J. (2019). Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú. Enfoque: *UTE, revista*. Obtenido de http://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/public/journals/1/html_v10n4/art001.html
- Aráuz, L. (2015). *Certificaciones de comercio justo: la facilidad de su alcance por pequeños productores de cacao fino de aroma del cantón Quevedo de la provincia de Los Ríos y beneficios en su productividad* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica de Guayaquil, Quito.
- Armijos, A. (2002). *Características de acidez como parámetro químico de calidad en muestra de cacao (Theobroma cacao L.) Fino y ordinario de producción Nacional durante las fermentaciones* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Asociación Francesa de Chocolate, Galletas y Confitería (CAOBISCO/ECA/FCC). (2015). *Cocoa Beans: Chocolate and cocoa industry quality requirements*. Obtenido de http://www.cocoaquality.eu/data/Cacao%20en%20Grano%20Requisitos%20de%20Calidad%20de%20la%20Industria%20Apr%202016_es.pdf
- Asociación Nacional de Exportadores de Cacao ANECACAO. (2013). *Camino verde, The Taste of Quality. Balao*. Obtenido de http://www.anecacao.com/uploads/2013/09/Presentacion.Fermentacion.y.Secado.de_.Cacao_.balao_.ecuador.pdf
- Asociación Nacional de Exportadores de Cacao ANECACAO. (2015). Obtenido de <http://www.anecacao.com/index.php/es/quienes-somos/cacao-nacional.html>

- Bravo, N. y Mingo, F. (2011). *Valoración de tres métodos de fermentación y secado para mejorar la calidad y rentabilidad del cacao fino de aroma (Theobroma cacao) en la parroquia Panguintza del cantón Centinela del Condor, provincia de Zamora Chinchipe Loja*. Loja: Universidad Nacional de Loja.
- Calle, S. (2011). *Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales* (Tesis de pregrado). Universidad de Catalunya. Barcelona.
- Camino, C. (2014). *Estudio del contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales en almendras de cacao nacional fino de aroma en zonas del litoral ecuatoriano para comparar su calidad y facilitar su comercialización* (Tesis de pregrado) Universidad Técnica de Ambato. Ambato.
- Carrión, J. (2012). *Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (Theobroma cacao L.) Variedad CCN-51, Jama-Manabí* Tesis de pregrado) Universidad San Francisco de Quito, Quito.
- Chávez, J. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Revista de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 66(3).
- Corporación Financiera Nacional CFN. (2018). *Cultivo de Cacao - Elaboración de chocolate*. Obtenido de <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/2018/04/Ficha-Sectorial-Cacao.pdf>
- Cros, E. y Jeanjean, N. (1998). *Formación del aroma de cacao. Cacao y chocolate. Producción, uso y características*. Paris.
- Cubillos, G. Merizalde, G. y Correa, E. (2008). *Manual de beneficio del cacao. Medellín*.
- Díaz, G. y Pinoargote, M. (2012). *Análisis de las características organolépticas del chocolate a partir de cacao CCN-51 tratado enzimáticamente y tostado a diferentes temperaturas* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil.
- El Comercio. (2018). Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/cacao-ccn-51-paso-de.html>
- Enrriquez, E. (1985). *Curso sobre el cultivo de cacao*. Coedición Centro Agronómico Tropical de Investigaciones y Enseñanzas CATIE. Costa Rica.
- Erazo, C. (2019). *Diseño de un fermentador y secador solar piloto, para dos variedades de cacao (theobroma cacao l), en el cantón El empalme provincia Guayas* (Tesis de pregrado). Universidad Internacional SEK. Quito.
- Escuela Superior Politécnica del Litoral (2016). *Estudios Industriales: Orientación estratégica para la toma de decisiones, industria del cacao*. Guayaquil.

Obtenido de <https://www.espae.espol.edu.ec/wp-content/uploads/2016/12/industriacacao.pdf>

- Espín, S. (2006). *Evaluación de parámetros químicos volátiles y no volátiles asociados a la calidad del cacao: Informe final Ecuador, Componente II, Proyecto CFC/ICCO/INIAP*. Quito.
- Gobierno autónomo Descentralizado del cantón Buena Fe. (2015). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial*.
- González, V. Tejada, R. y Bardales, M. (2016). *Manual para la evaluación de la calidad del grano de cacao*. Honduras: Centro de comunicación agrícola de la FHIA.
- González, Y. Pérez, E. y Palomino, C. (2012). Factores que inciden en la calidad sensorial del chocolate. *Revista Actualización en nutrición*, 13(4).
- GRANOTEC. (2017). *Uso de enzimas en el beneficio del café*. Guayaquil.
- Guamán, C. (2007). *Estudio de factibilidad para el cultivo de "cacao CCN-51" en la parroquia Cristóbal Colon de la ciudad de Santo Domingo de los Colorados y su comercialización*. Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
- Guevara, K. (2017). *Adición de enzimas y levaduras sobre los cambios químicos y organolépticos del cacao (Theobroma cacao L) clon CCN-51* (Tesis de pregrado) Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo.
- Instituto de Salud Pública de Chile. (2012). *Manual de determinación de acidez total en productos de frutas Chile*. Obtenido de https://www.academia.edu/7757120/determinaci%C3%93n_de_acidez_total_en_productos_de_frutas_m%C3%A9todo_potenciom%C3%A9trico_secci%C3%B3n_qu%C3%ADmica_de_alimentos_y_nutrici%C3%B3n
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). (2009). *Manual de cultivo de cacao para la Amazonía ecuatoriana*. Quito. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4786/7/iniapeecam76.pdf>
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). (2013). *Condiciones meteorológicas de la ubicación de la investigación*.
- Jimenez, J. Amores, F. y Solórzano, E. (2014). *Componentes de identidad para reconocer las diferencias del cacao que se produce en varias regiones del Ecuador*. Estación Experimental Tropical Pichilingue, Quevedo.
- Lima, L. Almeida, M. Nout, J. y Zwietering, M. (2011). *Theobroma cacao L. "The Food of the Gods": Quality determinants of commercial cocoa beans, with Particular Reference to the Impact of Fermentation*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 731-761.

- López, E. y Giner, R. (2013). *Chocolate, café, té y otros estimulantes: bebidas energéticas avant la lettre*. *Revista Española de drogodependencias* 39(1) Valencia- España.
- Navia, A. y Pazmiño, N. (2012). *Mejoramiento de las Características Sensoriales del Cacao CCN-51 a través de la adición de enzimas durante el proceso de fermentación* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil.
- Nogales, J. Graziani, L. y Ortiz, L. (2006). Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. *Revista Agronomía Trop*, 56(1), 5-20.
- Organización Internacional del Cacao ICCO. (2014). *Situación del cacao en el mercado, Costa de Marfil*.
- Ortiz, L. Graziani, L. y Rovedas, G. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Revista Scielo*.
- Pallares, A. Perea, J. y López, L. (2016). Impacto de las condiciones de beneficio sobre los compuestos precursores de aroma en granos de cacao (*Theobroma cacao* L) del clon CCN-51. *Revista Respuestas*, 21(1), 120-133.
- Paredes, A. (2009). *Manual de cultivo de cacao para la Amazonía ecuatoriana*. INIAP, Quito.
- Párraga, C. (2015). *Calidad física y organoléptica de almendras de cacao (Theobroma cacao L.) Mediante métodos de fermentación y estaciones climáticas, Fortaleza del Valle Calceta* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Bolívar.
- Peña, C. y Quirasco, M. (2010). Enzimas en los alimentos. (U. N. México, Ed.) *Revista digital universitaria*, 15(12).
- Peñaherrera, C. (2017). *Diversidad fenotípica de la mazorca y calidad física de la almendra en 13 clones élites de cacao (Theobroma cacao L.) En la finca experimental "La Represa"* (Tesis de pregrado), Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo.
- Portillo, E. (2008). Influencia del Tratamiento Poscosecha sobre el desarrollo del aroma del cacao criollo Venezolano (*Theobroma cacao* L). *Revista UDO Agrícola* 9(2). Maracaibo.
- Portillo, E. y Portillo, A. (2012). Características químicas del cacao criollo . Universidad del Zulia. *Revista Agrollanía*. Zulia.
- Quispe, L. (2013). *Teobromina, cafeína y catequinas, en granos de cacao de Pucacaca y Puingoyacu e influencia del cacao CCN-51 y del beneficio* (Tesis de pregrado). Universidad Agraria de la Selva, Perú.

- 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* (Tesis de Doctor). Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Quito.
- Reynel, V. Loor, O. Bolaños, M. y Tezara, W. (2016). Efectos del tipo de secado en la calidad organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L.) En Esmeraldas, Ecuador. *Revista científica interdisciplinaria Investigación y saberes*, 5(1), 22-38.
- Romero, D. (2010). *Uso de enzimas en el beneficio del café*. Granotec. Guayaquil
- Rosero, A. (2017). *Estudio de las características físico-químicas de seis clones de Theobroma cacao L. (cacao), cultivados en la estación experimental tropical pichilingue con fines de agroindustrialización* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo.
- Sánchez, V. (2007). *Caracterización organoléptica del cacao (Theobroma cacao L.), para la selección de árboles con perfiles de sabor de interés comercial* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo.
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo SENPLADES. (2017). *Plan Nacional de Desarrollo Toda una Vida; Objetivos nacionales de desarrollo*. Quito.
- Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN. (2018). NTE INEN 176-5. *Granos de cacao, requisitos*. Quito. Obtenido de: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_176-5.pdf
- Solórzano, E. Amores, F. y Jiménez, J. (2015). Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Revista Ciencia y tecnología*, 37-47.
- Soria, J. (s.f). *Denominación de origen "Cacao arriba", cacao ecuatoriano, fino y de aroma floral*. Tomado de: Trámite IEPI – N°179180.
- Teneda, W. (2016). Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y variedad CCN51.
- Trejo, M. Oriol, E. y López, A. (1991). *Producción de pectinasas de aspergillus niger por fermentación sólida sobre soporte*. México D.F.
- Vasallos, M. (2016). *Diferenciación y agregado de valor en la cadena ecuatoriana de cacao*. Quito: Instituto de Altos Estudios Nacionales (IAEN).
- Vera, J. Vallejo, C. y Párraga, D. (2014). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) En el Ecuador. *Revista Ciencia y tecnología*, 7(2), 21-34.

- Villar, N. (1974). *Recuperación de las enzimas pectinolíticas presentes en las aguas de desecho de los beneficios del café. Guatemala*. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0089Q.pdf
- Wakao, H. (2002). *Estudio de la variación del contenido de alcaloides en cacao (Theobroma cacao L.) De producción nacional, durante el proceso de beneficio (Tesis de licenciatura)* Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Wollgast, J. y Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 423-447.
- Zapata, A. (2017). *Análisis de la producción de cacao fino de aroma en la provincia de Los Ríos* (Tesis de pregrado) Universidad de Especialidades Espíritu Santo. Facultad de Economía y Ciencias Empresariales. Guayaquil.
- Zapata, S, Tamayo, A y Rojano, A. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 391-404.

ANEXOS

Anexo 1 Recolección y desgrane de mazorcas



Cosecha de cacao Nacional



Cosecha de cacao CCN-51



Acopio de las mazorcas

Anexo 2 Beneficio convencional de los testigos



Fermentación



Secado



Evaluación del peso

Anexo 3 Beneficio de las almendras con la aplicación de los tratamientos



Producto enzimático: Pectin trans
eliminasa



Fermentación



Fermentación



Secado en marquesina



Secado en tendal



Finalización de secado

Anexo 4 Tostado de almendras



Pesado de almendras secas



Operación de tostado



Enfriamiento de almendras

Anexo 5 Pesado y adecuación de muestras para análisis



Pesado de muestras tostadas



Empaque de muestras para envío a laboratorio



Empaque de muestras para análisis físico-químicos

Anexo 6 Análisis físico-químicos



Pesado de muestras en laboratorio



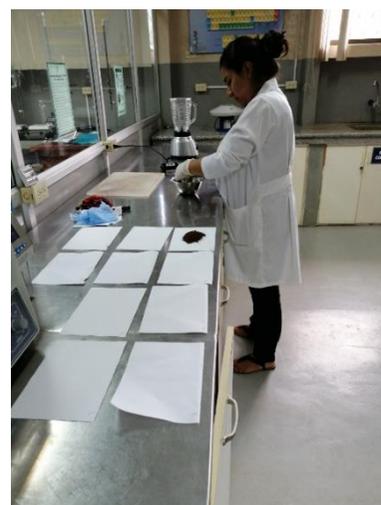
Peso de 100 almendras



Peso de testa



Muestras para prueba de corte



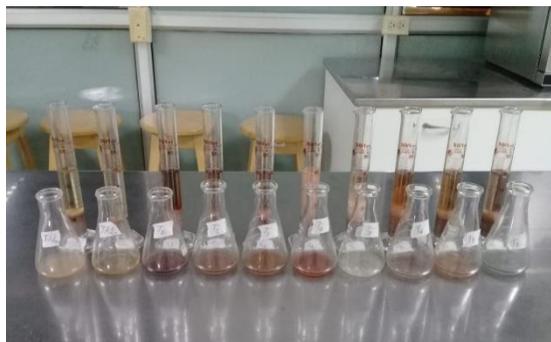
Trituración de almendras



Pesado en balanza analítica



Polvo de cacao



Análisis de acidez



Lectura de pH

Anexo 7 Extracción y evaluación sensorial del licor de cacao



Filtración del licor de cacao



Licor de cacao para ser envasado previa



Evaluación sensorial del licor de cacao

Anexo 8 Reportes de análisis de laboratorio

Reporte de análisis físico de ocho muestras de cacao

Las muestras de almendras de cacao ingresaron al Laboratorio identificadas como T 1; T 2, T 3; T 4; T 5; T 6; T 7; T 8. El análisis se realizó en las almendras enteras y en el cotiledón, basándose en los protocolos desarrollado por INIAP 2016. Los resultados se detallan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Resultado del contenido de Humedad en las almendras y cotiledón de las muestras de cacao

Identificación	Humedad (%)	
	Almendra Entera	Cotiledón
T 1	12,7	5,1
T 2	6,0	5,8
T 3	13,4	5,8
T 4	10,0	5,9
T 5	6,9	6,1
T 6	7,2	5,9
T 7	6,4	5,9
T 8	6,9	5,7

Reporte de análisis de humedad

MC-LSAIA-2201-04

	INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tlfs. 2690691-3007134, Fax 3007134 Casilla postal 17-01-340		
	INFORME DE ENSAYO No: 20-070		

NOMBRE PETICIONARIO: Srta. Mariela Lucero Álvarez
 DIRECCION: Quevedo
 FECHA DE EMISION: 06/08/2020
 FECHA DE ANALISIS: Del 23 de julio al 6 de agosto de 2020

INSTITUCION: Particular
 ATENCION: Srta. Mariela Lucero Álvarez
 FECHA DE RECEPCION.: 23/07/2020
 HORA DE RECEPCION: 10H00
 ANALISIS SOLICITADO: Polifenoles, Capacidad antioxidante

ANÁLISIS	POLIFENOLES	TEOBROMINA	CAFEINA				IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-15	MO-LSAIA-30	MO-LSAIA-30				
METODO REF.	CROS E Y MARIÑO G. (1992/1975)	AOAC 980.14-1998	AOAC 980.14-1998				
UNIDAD	mg/kg Galicorg	%	%				
20-0418	78,21	1,75	0,22				Cacao M1
20-0419	69,75	1,97	0,41				Cacao M2

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente


 Dr. Iván Samaniego, MSc.
 RESPONSABLE TÉCNICO

RESPONSABLES DEL INFORME

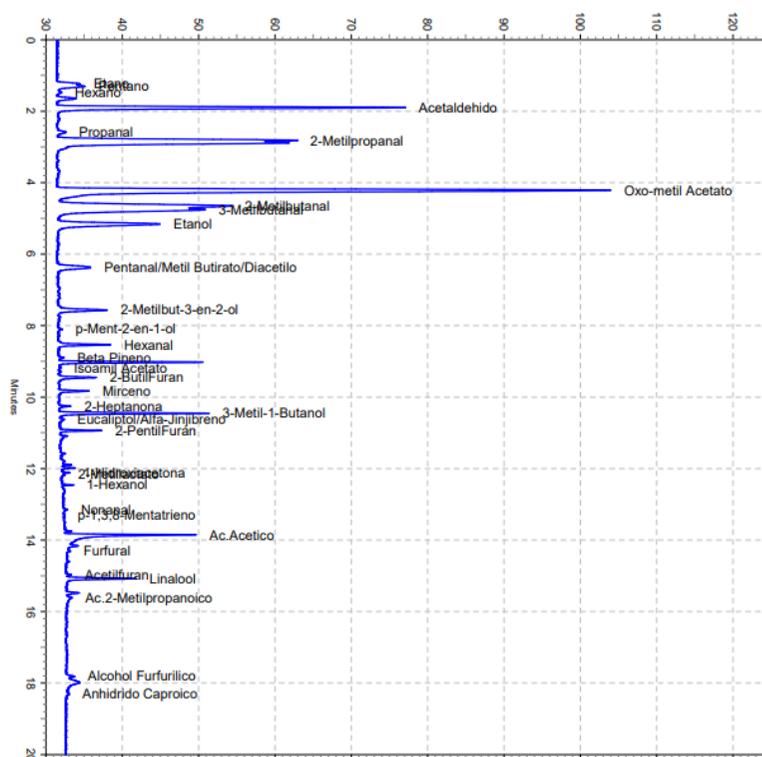



 Ing. Bladimir Ortiz
 RESPONSABLE CALIDAD

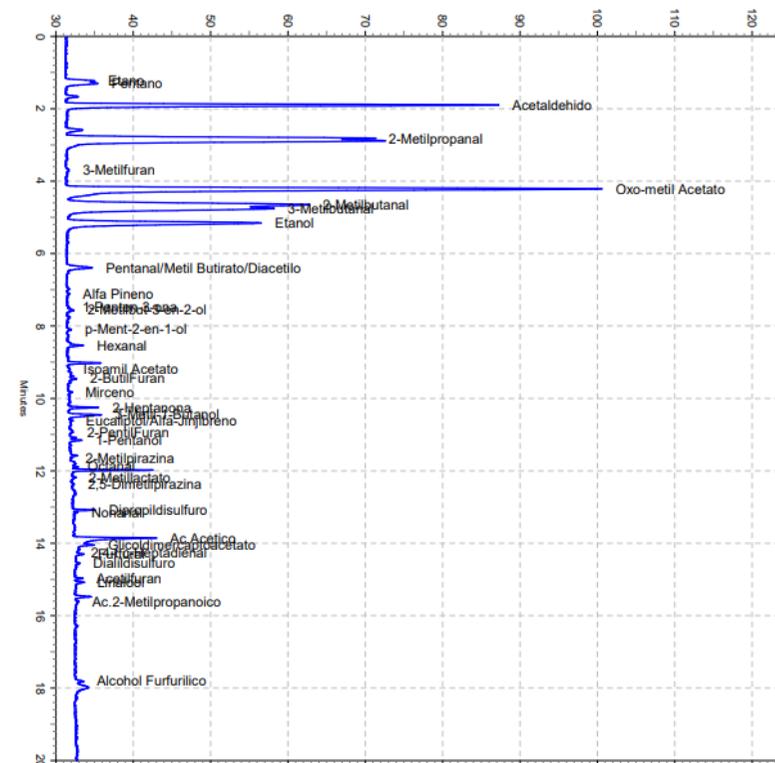
Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
 Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

Reporte de análisis polifenoles totales y
alcaloides



Perfil de compuestos volátiles del tratamiento 4



Perfil de compuestos volátiles del tratamiento 7

Anexo 9 Promedios para variable peso de 100 almendras (g)

Diseño L₈ (2)⁷											
Tratamiento	A	B	C	D	E	F	G	I	II	III	\bar{Y}
1	1	1	1	1	1	1	1	193.00	194.40	193.30	193.57
2	1	1	1	2	2	2	2	176.10	176.80	176.90	176.60
3	1	2	2	1	1	2	2	169.10	170.10	169.40	169.53
4	1	2	2	2	2	1	1	170.20	170.60	169.30	170.03
5	2	1	2	1	2	1	2	139.20	140.50	139.80	139.83
6	2	1	2	2	1	2	1	149.10	149.10	148.10	148.77
7	2	2	1	1	2	2	1	137.00	138.50	136.60	137.37
8	2	2	1	2	1	1	2	140.30	141.80	142.30	141.47
										\bar{Y}	159.65
9 CCN-51 (Testigo)								160.70	159.90	161.20	160.6
10 Nacional (Testigo)								152.50	152.60	153.80	152.97

Anexo 10 Promedios para variable porcentaje de testa

Diseño L₈ (2)⁷											
Tratamiento	A	B	C	D	E	F	G	I	II	III	\bar{Y}
1	1	1	1	1	1	1	1	10.08	10.10	10.06	10.08
2	1	1	1	2	2	2	2	10.17	10.15	10.12	10.15
3	1	2	2	1	1	2	2	10.24	10.20	10.15	10.20
4	1	2	2	2	2	1	1	10.98	10.96	10.89	10.94
5	2	1	2	1	2	1	2	9.61	9.80	9.76	9.72
6	2	1	2	2	1	2	1	9.62	9.65	9.80	9.69
7	2	2	1	1	2	2	1	11.05	11.63	11.50	11.39
8	2	2	1	2	1	1	2	10.24	10.36	10.40	10.33
										\bar{Y}	10.31
9 CCN-51 (Testigo)								10.06	10.00	10.05	10.04
10 Nacional (Testigo)								9.31	9.26	9.80	9.46

Anexo 11 Promedios para variable almendras fermentadas (%)

Diseño L₈ (2)⁷											
Tratamiento	A	B	C	D	E	F	G	I	II	III	\bar{Y}
1	1	1	1	1	1	1	1	72.00	70.60	73.40	72.00
2	1	1	1	2	2	2	2	75.50	75.25	73.60	74.78
3	1	2	2	1	1	2	2	76.50	77.50	76.50	76.83
4	1	2	2	2	2	1	1	71.56	72.33	71.60	71.83
5	2	1	2	1	2	1	2	78.90	79.62	79.75	79.42
6	2	1	2	2	1	2	1	77.54	78.70	78.96	78.40
7	2	2	1	1	2	2	1	81.25	82.75	83.20	82.40
8	2	2	1	2	1	1	2	80.63	81.50	80.69	80.94
										\bar{Y}	77.08
9 CCN-51 (Testigo)								70.63	72.62	70.64	71.30
10 Nacional (Testigo)								75.62	75.98	76.25	75.93

Anexo 12 Promedios para variable pH de almendras

Diseño L₈ (2)⁷											
Tratamiento	A	B	C	D	E	F	G	I	II	III	\bar{Y}
1	1	1	1	1	1	1	1	6.30	6.30	6.35	6.32
2	1	1	1	2	2	2	2	6.37	6.36	6.37	6.37
3	1	2	2	1	1	2	2	6.28	6.25	6.30	6.28
4	1	2	2	2	2	1	1	6.21	6.22	6.22	6.22
5	2	1	2	1	2	1	2	6.34	6.30	6.29	6.31
6	2	1	2	2	1	2	1	6.25	6.32	6.26	6.28
7	2	2	1	1	2	2	1	6.32	6.33	6.40	6.35
8	2	2	1	2	1	1	2	6.29	6.30	6.25	6.28
										\bar{Y}	6.30
9 CCN-51 (Testigo)								5.92	5.91	5.90	5.91
10 Nacional (Testigo)								5.93	5.94	5.94	5.94

Anexo 13 Promedios para variable acidez titulable (%)

Diseño L ₈ (2) ⁷											
Tratamiento	A	B	C	D	E	F	G	I	II	III	\bar{Y}
1	1	1	1	1	1	1	1	0.30	0.30	0.28	0.30
2	1	1	1	2	2	2	2	0.29	0.29	0.30	0.29
3	1	2	2	1	1	2	2	0.31	0.31	0.33	0.32
4	1	2	2	2	2	1	1	0.36	0.36	0.37	0.36
5	2	1	2	1	2	1	2	0.34	0.32	0.36	0.34
6	2	1	2	2	1	2	1	0.35	0.34	0.35	0.34
7	2	2	1	1	2	2	1	0.34	0.33	0.36	0.34
8	2	2	1	2	1	1	2	0.34	0.33	0.35	0.34
										\bar{Y}	0.33
9 CCN-51 (Testigo)								0.39	0.39	0.39	0.39
10 Nacional (Testigo)								0.39	0.39	0.39	0.39

Anexo 14 Respuesta esperada para variable peso de 100 almendras (g)

Niveles	A	B	C	D	E	F	G	Respuesta deseable
1	177.43	164.69	162.25	160.08	163.33	161.23	162.43	
2	141.86	154.60	157.04	159.22	155.96	158.07	156.86	
Diferencia	35.57	10.09	5.20	0.85	7.37	3.15	5.57	
Promedio niveles	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	193.57

Anexo 15 Respuesta esperada para variable porcentaje de testa

Niveles	A	B	C	D	E	F	G	Respuesta deseable
1	10.34	9.91	10.49	10.35	10.08	10.27	10.53	
2	10.29	10.72	10.14	10.28	10.55	10.36	10.10	
Diferencia	0.057	-0.807	0.350	0.070	-0.477	-0.087	0.427	
Promedio niveles	A2	B1	C2	D2	E1	F1	G2	9.18

Anexo 16 Respuesta esperada para variable almendras fermentadas (%)

Niveles	A	B	C	D	E	F	G	Respuesta deseable
1	73.86	76.15	77.53	77.66	77.04	76.05	76.16	
2	80.29	78.00	76.62	76.49	77.11	78.10	78.00	
Diferencia	-6.43	-1.85	0.91	1.18	-0.07	-2.06	-1.84	
Promedio niveles	A2	B2	C1	D1	E2	F2	G2	84.24

Anexo 17 Respuesta esperada para variable pH de almendras

Niveles	A	B	C	D	E	F	G	Respuesta deseable
1	6.29	6.32	6.33	6.31	6.29	6.28	6.29	
2	6.30	6.28	6.27	6.29	6.31	6.32	6.31	
Diferencia	-0.010	0.037	0.058	0.028	-0.023	-0.037	-0.018	
Promedio niveles	A1	B2	C2	D2	E2	F1	G1	6.19

Anexo 18 Respuesta esperada para variable acidez titulable (%)

Niveles	A	B	C	D	E	F	G	Respuesta deseable
1	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	
2	0.34	0.34	0.34	0.33	0.33	0.32	0.32	
Diferencia	-0.024	-0.022	-0.023	-0.010	-0.008	0.010	0.012	
Promedio niveles	A2	B2	C2	D2	E2	F1	G1	0.38