



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

CARRERA DE AGRÍCOLA

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO INGENIERO AGRÍCOLA**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EFFECTO DE LA ENZIMA TRANSELIMINASA SOBRE LA
CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL GRANO DE CACAO**

AUTORES:

**MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA
RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA**

TUTORA:

ING. SOFÍA VELÁSQUEZ CEDEÑO, MG.

CALCETA, JULIO DE 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA con cédula de ciudadanía 1314121102 y **RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA** con cédula de ciudadanía 1315414456, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA ENZIMA TRANSELIMINASA SOBRE LA CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL GRANO DE CACAO** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los conocimientos, Creatividad e Innovación.



MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA

CC: 1314121102



RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA

CC: 1315414456

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA con cédula de ciudadanía 1314121102 y **RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA** con cédula de ciudadanía 1315414456, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA ENZIMA TRANSELIMINASA SOBRE LA CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL GRANO DE CACAO**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría



MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA

CC: 1314121102



RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA

CC: 1315414456

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. SOFIA VELÁSQUEZ CEDEÑO, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFEECTO DE LA ENZIMA TRANSELIMINASA SOBRE LA CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL GRANO DE CACAO**, que ha sido desarrollado por **MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA** y **RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA**, previo la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo con el **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. SOFÍA VELÁSQUEZ CEDEÑO

CC: 1309938163

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA ENZIMA TRANSELIMINASA SOBRE LA CALIDAD FÍSICA Y SENSORIAL DEL GRANO DE CACAO**, que ha sido desarrollado por **MAIRA PAOLA LÓPEZ SAAVEDRA** y **RODOLFO EUDALDO MORALES CARRANZA**, previa la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. GONZALO CONSTANTE TUBAY, MG

CC: 1304579988

PRESIDENTE TRIBUNAL

ING. LUIS PÁRRAGA MUÑOZ, MG

CC: 1303530552

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

ING. FREDDY MESÍAS GALLO, MG

CC: 1202028492

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por permitirnos estar en estas circunstancias de la vida y disfrutar del apoyo fundamental de nuestros familiares que de una u otra forma han aportado un granito de arena en este proceso de formación como profesionales.

Agradecer a la Universidad que nos dio la bienvenida a un nuevo mundo como tal, los conocimientos que los profesores nos han aportado, al inicio de este proceso no pensábamos que esto fuera posible de conseguir, pero con esfuerzo, sacrificio y dedicación estamos a pasos de conseguir un gran logro en nuestras vidas.

Un agradecimiento muy especial a nuestros padres que siempre estuvieron en las circunstancias difíciles y nos apoyaron en cada momento, esto va para ellos y por ellos. Solo toca quedar infinitamente agradecidos con Dios por darnos unos padres tan comprensibles.

DEDICATORIA

Dedicamos esta meta a nuestros padres que se esforzaron por ponernos en estas circunstancias, pues sin ellos esto no fuera capaz de conseguir, siempre nos forjaron a ser personas capaces de que querer es poder. Muchos logros se los debemos a ellos porque nos formaron con reglas, valores y algunas libertades que nos ayudarán en el caminar de nuestras vidas.

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	4
1.1.1. Objetivo General.....	4
1.1.2. Objetivos Específico	4
HIPÓTESIS.....	4
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. CACAO NACIONAL.....	5
2.2. CACAO CCN 51.....	5
2.3. OLORES Y SABORES DEL CACAO.....	5
2.3.1. CALIDAD FÍSICA DEL GRANO.....	6
2.3.2. CALIDAD SENSORIAL.....	6
2.4. ANTECEDENTES DE FERMENTACIÓN DE CACAO CON ENZIMAS	7
2.4.1. FERMENTACIÓN	8
2.4.2. MÉTODOS DE FERMENTACIÓN	8
2.5. ENZIMAS.....	10
2.5.1. ENZIMA TRANSELIMINASA	10
2.5.2. ENZIMAS EN LA AGRICULTURA.....	11
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	12
3.1. UBICACIÓN	12
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO.....	12

3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS	12
3.4. FACTORES Y NIVELES DE ESTUDIO	12
3.5. TRATAMIENTOS	13
3.6. MATERIAL EXPERIMENTAL.....	14
3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.7.1. ESQUEMA DE ANÁLISIS DE VARIANZA (ADEVA).....	15
3.7.2. ANÁLISIS REGULAR	15
3.8. VARIABLES RESPUESTA	15
3.8.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	15
3.8.2. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES	16
3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO	17
<input type="checkbox"/> Recolección de mazorcas	17
<input type="checkbox"/> Aplicación de los tratamientos.....	17
<input type="checkbox"/> Fermentación	17
<input type="checkbox"/> Secado	17
<input type="checkbox"/> Análisis de la calidad física de las almendras	17
<input type="checkbox"/> Evaluación sensorial	19
3.10. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	20
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1. ESTABLECIMIENTO DE LA DOSIS ÓPTIMA DE ENZIMA TRANSELIMINASA EN FUNCIÓN DE LA CALIDAD FINAL DEL GRANO.....	21
4.1.1. CALIDAD FÍSICA.....	21
4.2. DETERMINACIÓN LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y SENSORIALES DE LOS GRANOS DE CACAO USANDO LA ENZIMA TRANSELIMINASA EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	31
4.2.1. CALIDAD SENSORIAL.....	31
4.2.1. PERFILES SENSORIALES	36
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
5.1. CONCLUSIONES	45
5.2. RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	50

RESUMEN

El cacao es uno de los cultivos con mayor explotación agrícola, por su gran importancia económica tiene una gran demanda a nivel mundial. Las enzimas son obtenidas por el proceso de fermentación en condiciones controladas. En el proceso de fermentación del cacao, se favorece el desarrollo de bacterias lácticas que les permiten hidrolizar las pectinas, ocasionando una disminución de la viscosidad de la pulpa de mucílago y favorece la entrada de aire. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la enzima transeliminasa en el mejoramiento de la calidad física y sensorial del cacao, para el cual se utilizó un diseño de bloques completos al azar (DBCA), con 9 tratamientos y 3 repeticiones, con un total de 27 unidades experimentales, se realizó el análisis de varianza (ADEVA). Se evaluó el efecto de las combinaciones y niveles de dosis de enzima transeliminasa, tiempo en reposo, días de fermentación y variedad de cacao, siguiendo la metodología del diseño ortogonal $L_9(3)^4$ de Taguchi. Se realizó los análisis de los resultados en el programa INFOSTAT. La aplicación de 60 ml de la enzima transeliminaza en 30 kg de cacao complejo nacional fue la que mostró las mejores características físicas y sensoriales.

Palabras claves: CCN-51, complejo nacional, fermentación enzimática y característica física y sensorial.

ABSTRACT

Cocoa is one of the crops with the greatest agricultural exploitation due to its great economic importance and is in great demand worldwide. The fermentation process under controlled conditions obtains the enzymes. In the cocoa fermentation process, the development of lactic bacteria is favored, which allows them to hydrolyze the pectins, causing a decrease in the viscosity of the mucilage pulp and favoring the entry of air. The objective of this research is to evaluate the effect of the enzyme transeliminase in the improvement of the physical and sensory quality of cocoa, for which a completely randomized design was used, with nine treatments and three repetitions, with a total of 27 experimental units, the analysis of variance (ADEVA) will be carried out. The effect of transeliminase enzyme dose levels and combinations will be evaluated, resting time, fermentation days and cocoa variety, following the orthogonal design methodology L9 (3)4 de Taguchi. The analysis of the results was carried out in the INFOSTAT program. The application of 60 ml of the transeliminase enzyme in 30 kg of national complex cocoa showed the best physical and sensory characteristics.

Keywords: CCN-51, national complex, enzymatic fermentation and physical and sensory characteristics.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) en la actualidad simboliza un tesoro agrícola de gran importancia económica para el Ecuador, el cual está en el top 3 de las exportaciones, lo más relevante es que en este territorio se produce un cacao con características sensoriales no muy comunes con otros y esto hace que sea de gran calidad para el mundo, pero por el mal manejo post-cosecha esta calidad se ha visto afectada y de tal manera baja el potencial del grano. (Rivera et al., 2012, pp 7 - 8)

En Ecuador según las cifras agroproductivas del 2021 tiene una producción total de 302.094 toneladas, en una superficie plantada de 326.962 Hectáreas, teniendo un rendimiento de 0,56 toneladas por hectárea en el cultivo de cacao.

Manabí es muy rica en las prácticas de cosecha y postcosecha, también en la producción de cacao. Según Rivera et al. (2012, p 8) “los tipos de fermentación más usuales, entre los productores de la zona norte y central de Manabí son, las cajas de madera, saco de yute, tinas plásticas y montón, estando expuestas a las condiciones agroclimáticas de la zona que afectan la fermentación en la postcosecha del cacao”. Las Organizaciones Agroindustriales tienen inconvenientes de calidad en los productos que llegan al mercado: cacao CCN-51 y de la variedad nacional, esto se da por la igualdad en el grado de fermentación ya que muchos agricultores no cuentan con los conocimientos ni estándares para el proceso y por eso los manejos se realiza de forma tradicional. (Teneda, 2016, pp 18-19)

El cultivo de cacao en Manabí de acuerdo con las cifras agroproductivas en el 2021 consta con una superficie plantada de 124.140 hectáreas, en las cuales tienen una producción de 44.825 toneladas y así teniendo un rendimiento 0,42 toneladas por hectáreas.

Hace más de diez años se han ejecutado importantes investigaciones, con la finalidad de conseguir clones de cacao que alcancen y superen en producción al CCN-51, ya que los agricultores lo cultivan por sus grandes números en producción, pero en las

industrias no es muy requerida esta variedad ya que no es muy aromático. La alta acidez y amargura del CCN-51 es lo que la diferencia del cacao nacional que es una variedad muy requerida por su aroma a frutales. (Navia y Pazmiño, 2012, pp 3)

La falta de investigación sobre las características químicas, físicas y organolépticas que tienen algunas variedades de cacao, así también, como no saber los beneficios de realizar un buen proceso postcosecha (fermentación y secado), da como resultado la dificultad de llegar a la calidad de excelencia final del grano de cacao, porque son escasos los conocimientos que tienen los productores sobre las cualidades química, físicas y sensoriales del mismo y esto limita la búsqueda de un buen proceso postcosecha para una mejor calidad en la producción. (Olarte y Rincón, 2019, pp 11-12)

Una de las problemáticas más importantes en el cultivo de cacao en el Ecuador, es la manera en cómo se maneja la post-cosecha en el proceso de la fermentación, ya que en su gran mayoría se hace de manera incorrecta, esto repercute en los sabores finales del cacao porque pierde su sabor natural. La propiedad sensorial a la cual se debe el gran precio del grano de cacao es a la esencia a chocolate, la cual son derivados por cerca de unos 400 compuestos volátiles, los cuales se desarrollan en el momento de la fermentación, de tal manera que cuando no se hace una fermentación correcta la almendra no va a tener una gran calidad sensorial. (Urina y Llerena, 2017, pp 2)

El que representa la más alta productividad es el clon CCN-51, lo cual hace que sea muy requerido para cultivar en nuestras zonas, el mismo clon tiene desventajas, según Pallares et al. (2016, pp 9) “el alto contenido de mucilago el cual va del 10 al 20%, conlleva a más días de procesado, los cuales van de 5 a 7 días de fermentación hasta que las almendras estén listas para su debido proceso industrial”.

Según Pallares et al. (2016, pp 7-8) “la fermentación juega un papel decisivo sobre la calidad porque es donde se desarrollan las principales sustancias precursoras de sabor y aroma del chocolate, teniendo en cuenta el contenido de mucilago del cacao CCN-51, el cual es una de las variedades que más se está sembrando en los últimos

años a nivel nacional debido a su alta producción y resistencia a enfermedades, con este antecedente, se plantea la pregunta de investigación ¿Cuál será la dosis óptima para que la enzima transeliminasa mejore la calidad física y sensorial del cacao en el proceso de fermentación?”.

JUSTIFICACIÓN

En Ecuador uno de sus productos estrellas de exportación es el cacao, que es muy codiciado a nivel mundial por sus grandes características organolépticas como es el aroma y su color muy requeridos para la preparación de chocolate finos, revestimientos y coberturas, esto va a ser gracias al buen manejo post-cosecha, el cual es sometido el cacao, tales como la fermentación y secado. (Bermúdez y Mendoza, 2016, pp 1)

La enzima en estudio según Peñuela et al. (2011, pp 8), “actúa como aceleradora o reguladora de los procesos y reacciones químicas por lo que son indispensables para el metabolismo de los seres vivos”. El mismo autor menciona que estas enzimas son utilizadas para la degradación de mucilago en café. Es por eso que en este proyecto de investigación se busca que esta ayude en el proceso de fermentación y que por lo consiguiente saber que si existe efecto en cuento a la calidad física y calidad sensorial de los granos de cacao en la variedad CCN-51 y cacao nacional.

Este proyecto se ajusta a lo propuesto por la ONU en su agenda “Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible” en su objetivo 2: “Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible”, en su meta 2.3: “De aquí a 2030, duplicar la productividad agrícola y los ingresos de los productores de alimentos en pequeña escala, en particular las mujeres, los pueblos indígenas, los agricultores familiares, los ganaderos y los pescadores, entre otras cosas mediante un acceso seguro y equitativo a las tierras, a otros recursos e insumos de producción y a los conocimientos, los servicios financieros, los mercados y las oportunidades para añadir valor y obtener empleos no agrícolas”.

OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la enzima transeliminasa en el mejoramiento de la calidad física y sensorial del cacao.

1.1.2. Objetivos Específico

- Establecer la dosis óptima de enzima transeliminasa en función de la calidad final del grano.
- Determinar las propiedades físicas y sensoriales de los granos de cacao usando la enzima transeliminasa en el proceso de fermentación.

HIPÓTESIS

La aplicación de la enzima transeliminasa en el proceso de fermentación mejorará la calidad física y sensorial del cacao.

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. CACAO NACIONAL

Esta variedad es el único grupo natural de cacao que se siembra en el occidente del Ecuador. Su origen es de la región amazónica. Los atributos que tiene su almendra lo relacionan más al tipo Criollo que al Forastero, pero se ha probado mediante análisis genéticos que esta es una variedad endémica de Ecuador y se caracteriza por tener unas tonalidades aromáticas muy desarrolladas como frutas, flores y nueces. (Jachero, 2018, pp 22)

2.2. CACAO CCN 51

Según Díaz y Pinargote (2012, pp 11-12) consideran que el “CCN51 se caracteriza por ser un cultivo precoz pues inicia su producción a los 24 meses de edad, no necesita de polinización cruzada para su adecuado fructificación tal como la mayoría de los clones y es tolerante a 12 la “Escoba de Bruja”, enfermedad que ataca a la mayoría de variedades de cacao destruyendo su producción. Entre las características de este clon podemos citar su excelente índice de mazorca, excelente índice de semillas, adaptabilidad ya que es un clon cosmopolita que se adapta a casi todas las zonas tropicales. Alto porcentaje de manteca (54%), lo que lo hace cotizado por las industrias”.

2.3. OLORES Y SABORES DEL CACAO

Muchas investigaciones han demostrado que los sabores y aromas específicos del cacao, son formados por enzimas que se provoca durante la postcosecha de las almendras, en las cuales unas continuaciones de microorganismos benefician al desarrollo para la composición de aroma y sabor, también se destaca que los aminoácidos y azúcares reductores fueron los precursores del aroma y sabor del cacao. (Alaba, 2016, pp 5)

2.3.1. CALIDAD FÍSICA DEL GRANO

Según Olarte y Rincón (2019, pp 27) plantea que “los aspectos de calidad más relevantes en la evaluación de la calidad del cacao son físicas, químicas y sensoriales, donde encontramos: tamaño, grosor, peso, contenido de grasa, contenido de ceniza, contenido de proteína y cualidades sensoriales como el sabor y el aroma que pueden llegar a determinar la calidad de los granos de cacao”.

Sánchez (2007, pp 8 - 9), determina que el grado de fermentación se clasifica dentro de las siguientes categorías:

- Las almendras que eran de coloración café o marrón, tienen una fermentación bastante completa, las vacuolas de pigmentación y el embrión se mueren a causa de los ácidos, las mismas almendras son muy abultadas y se dividen con facilidad del cotiledón. El aroma y el sabor del grano son muy favorables para fabricar un gran chocolate gourmet.
- Muestran una fermentación parcial, estas son las almendras de color marrón o violeta, una gran parte de vacuolas no han sido tocadas ya que los ácidos no han penetrado, la testa se encuentra un poco suelta y el cotiledón poco compacto. El sabor es de calidad regular, pero se puede utilizar para hacer chocolate.
- Las almendras violetas, son una fermentación no completada y esto hace que aparezcan ácidos de la pulpa. Su apariencia interior es compacta y no se hinchan, muestran un sabor ácido y astringente.
- Muestran un aspecto compacto de color gris negruzco, estas son las almendras comúnmente llamadas pizarrosas, lo cual muestra ningún efecto de fermentación y esto hace que tengan sabores astringentes y amargos.

2.3.2. CALIDAD SENSORIAL

Un buen producto para saber su calidad se mide por el grado de gustos y lo que los consumidores necesitan, es un grupo de características, químicas, sensoriales y físicas. Con la valoración sensorial el ser humano desarrolla una función inherente al

aceptar o rechazar consciente o inconscientemente los alimentos, con las impresiones experimentadas al observarlos o consumirlos. (Álvarez, 2018, pp 34)

El mismo autor afirma que las pruebas sensoriales o los métodos de análisis sensorial son muy útiles en el manejo de la calidad de los alimentos, por este motivo se solicita que las evaluaciones sensoriales se ejecuten con fundamentos científicos, de tal manera confirmando resultados justos sin objetividad. Esto se logra requiriendo el constante progreso de la correcta planificación, los procedimientos de evaluación sensorial, diseño y una buena obtención de calidad sensorial

2.4. ANTECEDENTES DE FERMENTACIÓN DE CACAO CON ENZIMAS

En el reconocimiento de los elementos que intervienen en la fermentación, sus maneras de trabajar y la disponibilidad de técnicas para manejar su influencia de manera que ayuden favorablemente el desarrollo de la calidad sensorial, los procesos productivos del cacao constituyen a un gran ámbito con demasiadas interrogantes y la gran necesidad de encontrar las respuestas, las cuales deben ser dotadas por la investigación para comprender el fenómeno que sucede. (Teneda, 2016, pp 21 - 22)

Cuando se empieza la fermentación, el mucilago que cubre las almendras frescas de cacao se degradan rápidamente gracias a las enzimas y los microorganismos, en el proceso de la degradación el azúcar de la pulpa se convierte en etanol y este mismo en ácido acético, este se adhiere por dentro de las almendras. Esto contribuye a la muerte del embrión, además se muestra en fenómenos bioquímicos que se utilizan para empezar el desarrollo de los combinados precursores del sabor a cacao y de otras notas sensoriales. (Amores Y Jiménez, 2007, pp 4)

Como bien se conoce que los granos con mucha pulpa pueden alargar los días de fermentación y esto hace que la acidez aumente, entre otras inconsistencias que intervienen en el proceso organoléptico del cacao. En lo que se conoce de la disminución del periodo de fermentación, esto conlleva a la reducción de la acidez, provocando cambios que favorecen al perfil organoléptico y esto hace que el perfil este balanceado. (Rodríguez Y Vallejo, 2016 pp 12)

2.4.1. FERMENTACIÓN

Este proceso del cacao es muy importante en el procesamiento del grano y hay grandes cambios bioquímicos que favorecen o desfavorecen al aroma y sabor lo que establece su calidad química y física. (Rivera et al., 2012, pp 9 - 11)

Navia y Pazmiño (2011) afirma que “dos principales fenómenos ocurren durante ese proceso, la actividad microbiana en la pulpa mucilaginoso, con producción de alcohol y ácidos, liberando calor y complejas reacciones bioquímicas en el interior de los cotiledones, iniciadas por la difusión de productos del metabolismo de la pulpa, producidos por microorganismos”. (pp 55 - 56)

Para tener una buena fermentación y saber los días, depende de muchos factores, como el tipo de cacao con el que se va a trabajar, siendo el criollo con más rápida fermentación, lo siguen los trinitarios y el más lento son los forasteros con la duración de seis a ocho días. (Nogales, 2011, pp 2)

2.4.2. MÉTODOS DE FERMENTACIÓN

Según Peñaherrera (2021, pp 17-18) estos son los principales métodos de fermentación en cacao que se muestran en la tabla continuación:

Tabla 1. Principales métodos de fermentación en cacao.

Métodos de fermentación	Descripción	Dimensión y capacidad
Fermentación en cajas de madera	Consiste en fermentar los granos de cacao fresco en cajas construidas de madera dulce (apámate o saqui-saqui) estas pueden ser colocadas en forma de escalera o bloques (Moreira, 2016).	Se recomienda una altura máxima de 90 cm y el ancho 120 cm con una capacidad de 800 kg para facilidad del obrero. En el fondo de la caja se proveen de agujeros con una separación máxima de 0,5 cm para permitir el escurrimiento del mucilago y aireación (Nogales, 2017).
Fermentación en montón	Consiste en amontonar los granos de cacao frescos en hojas de musáceas o plátano u otro material que las separe del suelo, luego son recubiertas por más hojas o sacos y se deja fermentar, se realiza agujeros en las hojas para el escurrimiento del mucilago y aireación (Erazo, 2019).	Diferentes dimensiones y capacidad (Erazo, 2019).
Fermentation tipo Rohan	Se coloca el cacao a fermentar en bandejas de madera dulce, se apilan máximo 5 bandejas con una base de una bandeja con aserrín que permite el control de la aireación, las bandejas superiores se cubren con sacos de yute o fique (Nogales, 2017).	Dimensiones recomendadas de 120x90x12 cm, con el fondo de tablillas con un ancho menor de 5 cm y no mayor de 10 cm separadas alrededor de 0,5 cm para permitir el escurrimiento del mucilago (Nogales, 2017).
Fermentación en sacos	Consiste en colocar los granos de cacao fresco en sacos de yute, tapándolos con una lona y dejándolos fermentar por 5 o 6 días (Nogales, 2017).	No hay un límite de capacidad y dimensiones (Nogales, 2017).
Fermentación en fermentador tipo barril rotatorio	Se coloca los granos de cacao fresco en un barril de polipropileno montado sobre un marco de acero que le permite la rotación y remover la masa fermentable, en la parte inferior se coloca una bandeja que recoge el exudado y posteriormente la masa fermentada (Fleet & Schwan, 2015).	80 cm de largo y 60 cm de ancho para una capacidad de 150 kg (Fleet & Schwan, 2015).

2.5. ENZIMAS

Las enzimas se especializan en la catálisis de las reacciones químicas que ganan un lugar dentro de la célula y son efectivas como catalizadores, estas tienen la capacidad de incrementar la velocidad de las reacciones químicas de tal manera que no hay otro catalizador artificial conocido que lo pueda igualar, aparte son muy efectivos porque cada uno de ellos provoca la transformación de un tipo de sustancia y no de otras que se encuentran en medio de la reacción. (Castellano y Rache, 2013 pp 105 - 109)

Fontúrbel, (2004) manifiesta “las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre que sea termodinámicamente posible (si bien no pueden hacer que el proceso sea más termodinámicamente favorable). En estas reacciones, las enzimas actúan sobre unas moléculas denominadas sustratos, las cuales se convierten en moléculas diferentes denominadas productos. Casi todos los procesos en las células necesitan enzimas para que ocurran a unas tasas significativas. A las reacciones mediadas por enzimas se las denomina reacciones enzimáticas”. (pp 174 - 176)

2.5.1. ENZIMA TRANSELIMINASA

A causa de que estas enzimas son muy selectivas con sus sustratos y la velocidad aumenta no con muchas reacciones, el tipo de metabolismo que desarrollara cada célula se determinara por el conjunto de enzimas sintetizadas. De tal manera la síntesis dependerá de la regulación de la expresión genética. (Vera, 2007, pp 402 – 408)

Vera (2007) también afirma que se dividen en:

- Químico dinámico: Específico de la reacción (lipasa, zimasa, hidrolasa, etc).
- De grupo: En donde un radical químico, común a la sustancia del grupo, funciona como sitio de reconocimiento específico,
- Unívoca: Cuando la enzima es activa sólo sobre un único sustrato (ureasa).
- Estereoquímica: Conectada a una particular estructura espacial de la molécula.

- Las enzimas participan en todas las reacciones y no se consumen por lo que actúan en forma ilimitada, pudiendo al fin de cada reacción, retomar su acción catalizadora sobre nuevas moléculas.

2.5.2. ENZIMAS EN LA AGRICULTURA

En la agricultura se obtienen mediante el proceso de fermentación en condiciones controladas, para producir estas enzimas se recomienda utilizar cepas de alto rendimiento. Gran porcentaje de estas son extracelulares, de tal manera que la célula las echa al medio, sabiendo esto es necesario la separación de las células y las enzimas por los métodos de filtración o centrifugación. Para conseguir la enzima en forma de polvo, el filtrado que esta tiene se concentra, se seca y se muele. (Puerta, 2010, pp 6 - 9)

Este producto realiza con mucha rapidez la transformación de sustancias orgánicas complejas a otras más simples, esto sin la necesidad de cambiar la temperatura, la presión o la concentración de sistemas. Estas enzimas pueden manejarse sobre una sustancia o sustrato específico, en el cual se consiguen muchos productos, aparte tienen formas y estructuras particulares, estos biocatalizadores son determinadas en el Ph medio y se activan hasta los 100 °C. (Wacher, 2011 pp 68 – 69).

Cuando se fermenta el cacao, se logra que se desarrollen bacterias lácticas, las cuales tienen una enzima que es del tipo “pectinolítico”, el cual permite que se hidrolice las pectinas, a causa de esto se disminuye la viscosidad de la pulpa de mucilago y esto ocasiona que ingrese aire. Con el ambiente aeróbico y menor acidez, esto a causa del ácido cítrico se beneficia el desarrollo de bacterias acéticas. (Willy, 2017, pp.112)

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López de la ciudad de Calceta del cantón Bolívar, provincia de Manabí, ubicada geográficamente en las coordenadas 00°49'23" latitud sur y 80°11'01" latitud oeste, a una altitud de 15 msnm.

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

El trabajo se llevó a cabo entre los meses de abril a octubre del 2021 teniendo una duración de 6 meses.

3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS

El trabajo de investigación se realizó por medio del método de la observación, experimentación, comparación y análisis.

3.4. FACTORES Y NIVELES DE ESTUDIO

Se evaluó el efecto que tuvieron las combinaciones y niveles de dosis de enzima transeliminasa, tiempo en reposo, días de fermentación y variedad de cacao, siguiendo la metodología del diseño ortogonal $L_9(3)^4$ de Taguchi.

Tabla 2. Diseño ortogonal $L_9(3)^4$ según factores a evaluarse.

FACTORES EN ESTUDIO		NIVELES EN ESTUDIO (n)		
NOMBRE	CÓDIGO	1	2	3
Dosis de enzima	A	30 ml X 30 kg. Cacao	60 ml X 30 Kg. Cacao	90 ml X 30 Kg. Cacao
Tiempo en reposo	B	1 hora	2 horas	3 horas
Días de fermentación	C	5 días	6 días	7 días
Variedad de cacao	D	Complejo Nacional	CCN-51	Mezcla complejo Nacional y CCN-51

3.5. TRATAMIENTOS

Los tratamientos son las combinaciones de los niveles de los factores en estudio, que se muestra a continuación:

Tabla 3. Diseño de los tratamientos según los principios matemáticos de la ortogonalidad.

Tratamientos	Factores			
	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

Tabla 4. Tratamientos codificados con sus respectivas combinaciones de factores y niveles.

Tratamiento	Código	Combinaciones
1	A1B1C1D1	30 ml X 30 kg. Cacao - 1 hora - 5 días - Complejo Nacional
2	A1B2C2D2	30 ml X 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51
3	A1B3C3D3	30 ml X 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51
4	A2B1C2D3	60 ml X 30 Kg. Cacao - 1 hora - 6 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51
5	A2B2C3D1	60 ml X 30 Kg. Cacao - 2 horas - 7 días - Complejo Nacional
6	A2B3C1D2	60 ml X 30 Kg. Cacao - 3 horas - 5 días - CCN-51
7	A3B1C3D2	90 ml X 30 Kg. Cacao - 1 hora - 7 días - CCN-51
8	A3B2C1D3	90 ml X 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51
9	A3B3C2D1	90 ml X 30 Kg. Cacao - 3 horas - 6 días - Complejo Nacional

3.6. MATERIAL EXPERIMENTAL

Se utilizó cacao “en baba” proveniente de plantaciones de cacao nacional y CCN-51 del Cantón Bolívar.

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el ensayo se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar con 9 tratamientos y tres repeticiones, con un total de 27 unidades experimentales.

Se realizó el análisis de varianza (ADEVA) donde se incluyeron los 9 tratamientos. A continuación, se muestra el modelo matemático del diseño experimental y el esquema del ADEVA.

El modelo matemático es el que sigue: $Y_{ij} = \mu + T + \beta + e_{ij}$

Donde

Y_{ij} = es la j ésima parcela dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general.

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.

B_j = efecto del j ésimo bloque

E_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

3.7.1. ESQUEMA DE ANÁLISIS DE VARIANZA (ADEVA)

Tabla 5. Análisis de varianza (ADEVA)

Fuente de variación	Grados de libertad
Bloques	$r-1 = 2$
Tratamientos	$t-1 = 8$
Bloques x Tratamientos	$(r-1) (t-1) = 16$
Error	$rt (n-1) = 54$
Total	$trn-1 = 80$

3.7.2. ANÁLISIS REGULAR

El análisis regular, según los métodos Taguchi, corresponde al diseño ortogonal L_9 $(3)^4$, que se aplica a los experimentos de 4 factores por tres niveles cada uno, en tres repeticiones.

3.8. VARIABLES RESPUESTA

3.8.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

- **Fermentación de los granos (%)**

Se tomó en las almendras secas, utilizando la prueba de corte.

- **Peso de 100 almendras (g)**

Se determinó en base al peso de las 100 almendras fermentadas y secas, tomadas al azar, con un contenido de humedad del 7%, expresado en gramos, usando una balanza de precisión.

- **Porcentaje de testa**

Se obtuvo en base al peso de un grupo de 10 almendras fermentadas y secadas, obteniendo su porcentaje dividiendo el peso de la testa para la pesa de las 10 almendras, multiplicado por 100.

- **pH de testa**

Se pesó 20 gramos de testa, a esto se le agregó 100ml de agua destilada, y se procedió a licuarla. Cada muestra se colocó en un vaso de plástico identificado, haciendo 3 lecturas de las cuales se sacó un promedio, utilizando el potenciómetro.

- **pH del cotiledón**

Se consiguió pesando 10 gramos de cotiledón, a esto se le agrego 100ml de agua destilada, y procedió a licuarla. Cada muestra se colocó en un vaso de plástico identificado, haciendo 3 lecturas de las cuales se sacó un promedio, utilizando el potenciómetro.

3.8.2. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES

- **Acidez**

Se consideró aquellas muestras que presentaron un sabor ácido persistente, que se percibió a los lados y en el centro de la lengua.

- **Amargor**

Son muestras que presentaron un sabor fuerte y amargo, se detectaron en la parte posterior de la lengua y la garganta.

- **Astringencia**

Muestras que dejaron una sensación fuerte de sequedad en la boca, se detectaron en toda la boca, lengua, garganta y hasta en los dientes.

- **Dulce**

Aquellas que tuvieron sabor agradable, parecido al agua azucarada.

3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO

- **Recolección de mazorcas**

Se cosecharon las mazorcas de diferentes plantas y luego se seleccionaron las más saludables y en su máximo estado de maduración.

- **Aplicación de los tratamientos**

Luego de cosechadas las almendras de cacao se procedió a la aplicación de los tratamientos como está descrito en la tabla 3.

- **Fermentación**

Después de que se aplicaron los tratamientos y su posterior reposo, los tratamientos destinados a la fermentación se ubicaron en las cajas de madera de 40 cm x 40 cm x 40 cm, se revolvieron periódicamente cada tres días, para su correcta fermentación, se movieron todos los tratamientos de lugar, corriendo un puesto a la derecha cada uno.

- **Secado**

El secado se lo realizó tanto a los tratamientos que no requerían de fermentación, como los que estuvieron fermentando, una vez culminada.





- **Análisis de la calidad física de las almendras**


Para la comprobación de la calidad física de las almendras se empleó la prueba de corte, la cual consiste en seleccionar almendras al azar, a las cuales, según Gutiérrez,

(2007) se les hará un corte longitudinal por la parte central de cada una, con el fin de exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones.

Examinar visualmente las dos mitades de cada grano a la luz diurna o bajo una iluminación artificial (lámpara fluorescente). Contar separadamente los granos defectuosos, es decir aquellos mohosos, pizarrosos, partidos, violetas, vanos, múltiples, germinados, dañados por insectos (tabla 6). (Gutiérrez, 2007)

Tabla 6. Clasificación de las almendras de cacao Iniap (2016).

CLASIFICACIÓN DE ALMENDRAS	CARACTERÍSTICAS
 <p>Almendra bien fermentada</p>	<p>Los cotiledones presentan una coloración marrón o marrón de aspecto quebradizo, con estrías bien abiertas. La testa o cascarilla Se Separa fácilmente del cotiledón.</p>
 <p>Almendra Medianamente Fermentada</p>	<p>Los cotiledones presentan color café oscuro con pigmentaciones de color violeta en los bordes y tienen ligeramente compacto; las estrías son poco abiertas y el cotiledón es menos quebradizo que en las almendras bien fermentadas.</p>
 <p>Almendra violeta</p>	<p>Los cotiledones presentan aspecto compacto o Semi compacto y son de color violeta intenso.</p>
 <p>Almendra pizarra</p>	<p>Los cotiledones son una masa de aspecto muy compacto y tiene un color gris negrusco, opaco. Su sabor es muy desagradable y persistente.</p>

 <p style="text-align: center;">Almendra mohosa</p>	<p>En el interior de los cotiledones se observa una coloración blanquecina y en ocasiones verdosa o amarilla, por la presencia de los filamentos de los hongos.</p>
---	---

Así mismo, se realizaron las pruebas de fermentación de granos, peso de 100 almendras, porcentaje de testa, pH de testa y pH del cotiledón.

- **Evaluación sensorial**

Se realizó con un panel de catadores, utilizando un formato de catación que determinaron los atributos del cacao: acidez, astringencia, amargor y dulce. La escala que se utilizó fue de 0 a 10 puntos para medir el contenido o intensidad del sabor que se encuentre en cada una de ellas, como se muestra en la tabla 5.

Tabla 7. Escala para evaluación sensorial

Valores de la escala	
Cuantitativa	Cualitativa
0	Ausente
1 a 2	Bajo
3 a 5	Medio
6 a 8	Alto
9 a 10	Muy alto, fuerte

3.10. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo de Variable	Conceptualización	Definiciones operacionales	Instrumentos	Medición
Características físicas	Cuantitativa	Los aspectos de calidad más relevantes en la evaluación de la calidad del cacao son físicas, químicas y sensoriales, donde encontramos: tamaño, grosor, peso, contenido de grasa, contenido de ceniza, contenido de proteína y cualidades sensoriales como el sabor y el aroma que pueden llegar a determinar la calidad de los granos de cacao.	Para la comprobación de la calidad física de las almendras se empleó la prueba de corte, la cual consiste en seleccionar almendras al azar, las cuales, según Gutiérrez, (2007) se les hará un corte longitudinal por la parte central de cada una, con el fin de exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones. Así mismo, se realizaron las pruebas de fermentación de granos, peso de 100 almendras, porcentaje de testa, pH de testa y pH del cotiledón.	Balanza Funda pHmetro Navaja	g gramos
Características sensoriales	Cuantitativa	La calidad de un producto se mide por el grado de satisfacción de las necesidades de los consumidores y es un conjunto de características físicas, químicas y sensoriales, la valoración sensorial es una función inherente al ser humano que la desarrolla consciente o inconscientemente al aceptar o a rechazar los alimentos de acuerdo con las sensaciones experimentadas al observarlos o ingerirlos.	Se realizó con un panel de catadores, utilizando un formato de catación que determinaron los atributos del cacao: acidez, astringencia, amargor y dulce.	Molino Tostador Balanza Catadores	Perfil sensorial

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTABLECIMIENTO DE LA DOSIS ÓPTIMA DE ENZIMA TRANSELIMINASA EN FUNCIÓN DE LA CALIDAD FINAL DEL GRANO

4.1.1. CALIDAD FÍSICA

- **Porcentaje de fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza (tabla 9) se encontró diferencias altamente significativas en todas las fuentes de variación derivadas de los factores en estudio. Al categorizar las diferencias de los tratamientos (tabla 8), se establecieron varios rangos. El primer rango lo conforma el tratamiento 3 (30 ml x 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con un promedio de 81,33, mientras que el último rango lo compone el tratamiento 2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51) con un promedio de 48,33 porcentaje de fermentación. Al respecto, Guevara (2017) indica que la aplicación de enzimas en los granos de cacao, permite alcanzar mayores porcentajes de fermentación en el proceso de pos-cosecha.

Tabla 8. Categorización de porcentaje de fermentación.

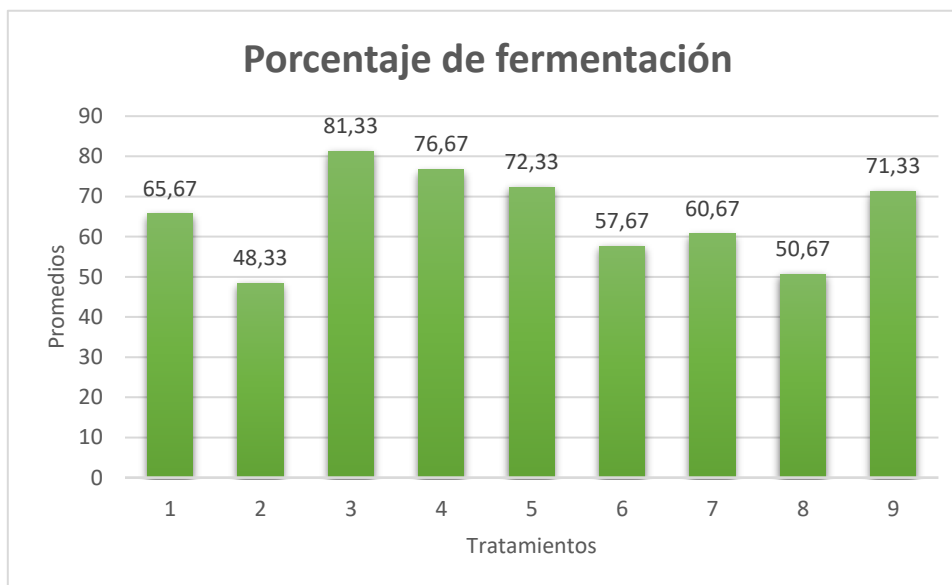
Tratamientos	% de fermentación	
3	81,33	A
4	76,67	A B C
5	72,33	A B C
9	71,33	A B C
1	65,67	A B C D
7	60,67	B C D
6	57,67	C D
8	50,67	D
2	48,33	D

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 9. Análisis de varianza del porcentaje de fermentación.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3170,15	10	317,01	8,67	0,0001
Tratamiento	3158,96	8	394,87	10,80	<0,0001
Repeticiones	11,19	2	5,59	0,15	0,8594
Error	584,81	16	36,55		
Total	3754,96	26			

En la figura 1 se puede apreciar que el porcentaje de fermentación que menor promedio obtuvo fue el T2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51) y el que obtuvo mayor promedio fue el T3 (30 ml x 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51). Esos resultados se ajustan a la norma INEN 176, los porcentajes de fermentación deben estar entre un 70 y 85%, y en este ensayo los tratamientos que encajan en este rango son los T3, T4, T5 y T9.

**Figura 1.** Promedio de porcentaje de fermentación.

- **Índice de semilla**

De acuerdo con el análisis de varianza (tabla 11) se encontró diferencias altamente significativas en todas las fuentes de variación derivadas de los factores en estudio. Al categorizar las diferencias de los tratamientos (tabla 10), se establecieron tres rangos de significación estadística. El primer rango lo encabeza el tratamiento 2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51) con un promedio de 1,65; mientras que al final de la categoría se encuentra el tratamiento 9 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 6 días - Complejo Nacional) con un promedio de 1,20.

Tabla 10. Categorización del índice de semilla.

Tratamientos	Índice de semilla	
2	1,65	A
7	1,62	A
6	1,62	A
8	1,57	A
4	1,43	B
3	1,43	B
1	1,22	C
5	1,22	C
9	1,20	C

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p>0,05$). EE 0,38

Tabla 11. Análisis de varianza del índice de semilla.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,83	10	0,08	76,83	<0,0001
Repeticiones	1, 2E-03	2	5, 8E-04	0,53	0,5963
Tratamiento	0,83	8	0,10	95,91	0,0001
Error	0,02	16	1, 1E-03		
Total	0,85	26			

Se muestra en la figura 2 de índice de semilla que el tratamiento que obtuvo el mayor valor fue el T2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51), mientras que el

valor menor lo conforma el T9 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 6 días - Complejo Nacional). Para sacar el valor de índice de semilla se toma el peso de 100 semillas que, de acuerdo con los estándares de calidad, deberían pesar entre 100 a 120 gramos, para que se pueda considerar cacao fino. Un índice de semillas es un dato cuyo valor es un indicador de calidad por lo que se busca que los valores sean superiores a 1,2. De acuerdo con todos estos estándares en la siguiente figura, todos los tratamientos son igual o mayor a 1,2.

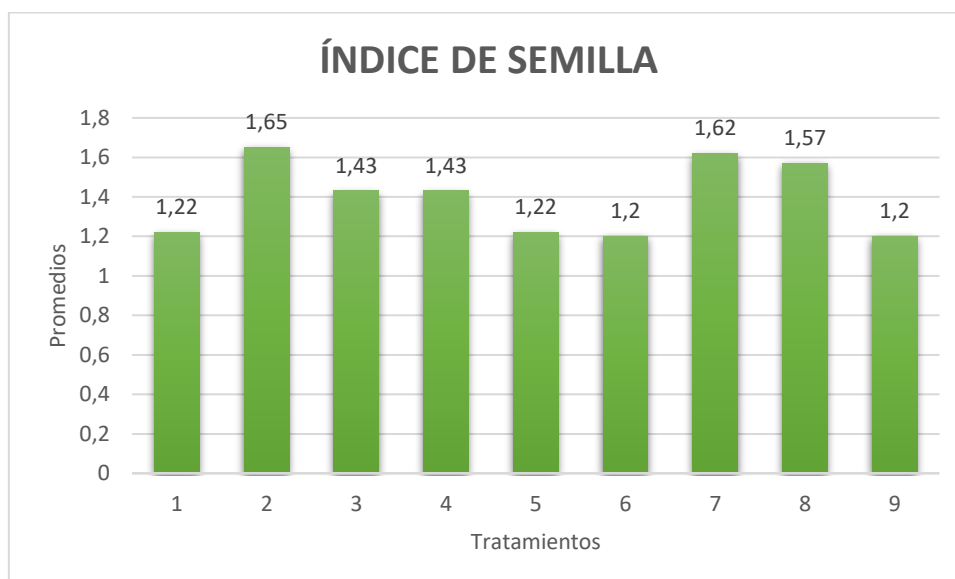


Figura 2. Promedio del índice de semilla.

- **Porcentaje de testa**

En los análisis de varianza (tabla 13) de porcentaje de testa se encontró diferencias altamente significativas en todas las fuentes de variación derivadas de los factores en estudio. Al categorizar las diferencias de los tratamientos (tabla 12), se establecieron tres rangos de significación estadística. El primer rango lo encabeza el tratamiento 1 (30 ml x 30 kg. Cacao - 1 hora - 5 días - Complejo Nacional) con un promedio de 15,82, y al final de la categoría se encuentra el tratamiento 6 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 5 días - CCN-51) con un promedio de 11,61.

Tabla 12. Categorización del porcentaje de testa.

Tratamientos	% testa
1	15,82 A
5	15,32 A
9	15,05 A B
3	14,38 A B
8	14,21 A B C
4	13,53 B C D
7	12,74 C D E
2	12,02 D E
6	11,61 E

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p>0,05$). EE 0,38

Tabla 13. Análisis de varianza del porcentaje de testa.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	55,59	10	5,56	17,56	<0,0001
Tratamiento	52,79	8	6,60	20,85	<0,0001
Repeticiones	2,79	2	1,40	4,42	0,0297
Error	5,06	16	0,32		
Total	60,65	26			

En la figura 3 se observa que el T1 (30 ml x 30 kg. Cacao - 1 hora - 5 días - Complejo Nacional) es el tratamiento cuyo valor es mayor al resto, mientras que T6 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 5 días - CCN-51) es el tratamiento que ocupa el valor menor en la figura de barras. De acuerdo a la norma, el porcentaje de testa debe estar en un mínimo de 10% y un máximo de 15% ya que, si el porcentaje es mayor, significa menor cantidad de material comestible, aunque, al mismo tiempo, si es una cáscara gruesa brindará mayor protección al grano.

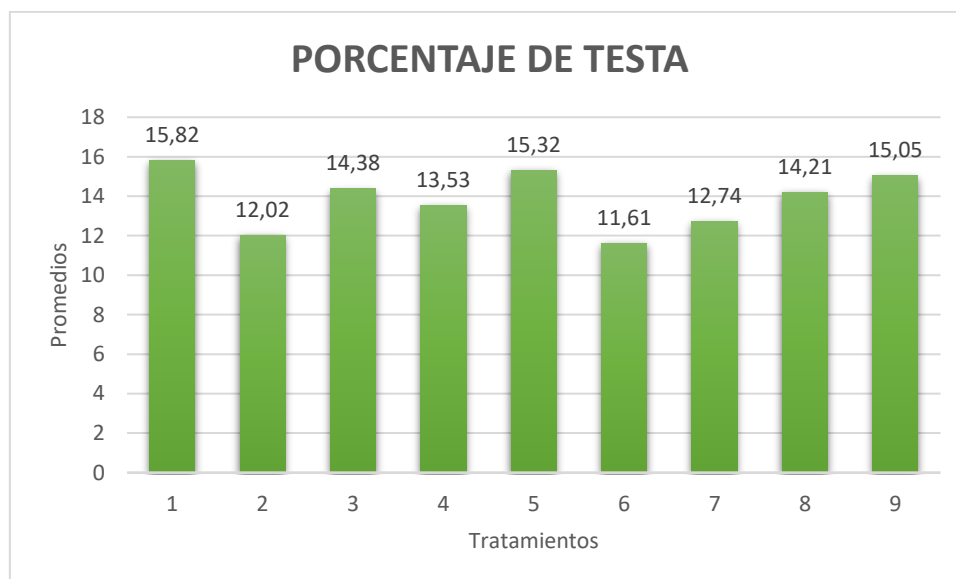


Figura 3. Promedio del porcentaje de testa.

- **pH de Testa**

En los análisis de varianza (tabla 15) de porcentaje de testa, hubo una diferencia altamente significativa en todas las fuentes de variación que provinieron de los factores en estudio. Al diferenciar los tratamientos (tabla 14), se tuvo tres rangos. El primer rango lo encabeza el tratamiento 5 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 7 días - Complejo Nacional) con promedio de 7,07 y el último rango el tratamiento 8 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con un promedio de 5,63. De acuerdo con Erazo (2019) el cual menciona que el pH de la testa, empieza favoreciendo algunos tipos específicos de microorganismos, su valor aumenta lentamente al punto de alcanzar el valor de 4.0; esto es gracia a la perdida de ácido cítrico debido por la aplicación enzimática y al drenaje de los jugos.

Tabla 14. Categorización del pH de testa.

Tratamientos	pH de testa	
5	7,07	A
3	7,04	A
4	6,63	A B
9	6,39	A B C
7	6,31	A B C
2	5,96	B C
1	5,93	B C
6	5,85	B C
8	5,63	C

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 15. Análisis de varianza del pH de testa.

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	7,08	10	0,71	9,26	0,0001
Repeticiones	0,62	2	0,31	4,03	0,0382
Tratamiento	6,47	8	0,81	10,57	<0,0001
Error	1,22	16	0,08		
Total	8,31	26			

En esta figura 4 se puede concluir que el pH de testa que consiguió un promedio mayor fue el T5 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 7 días - Complejo Nacional) y el que consiguió un menor promedio fue el T8 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51).

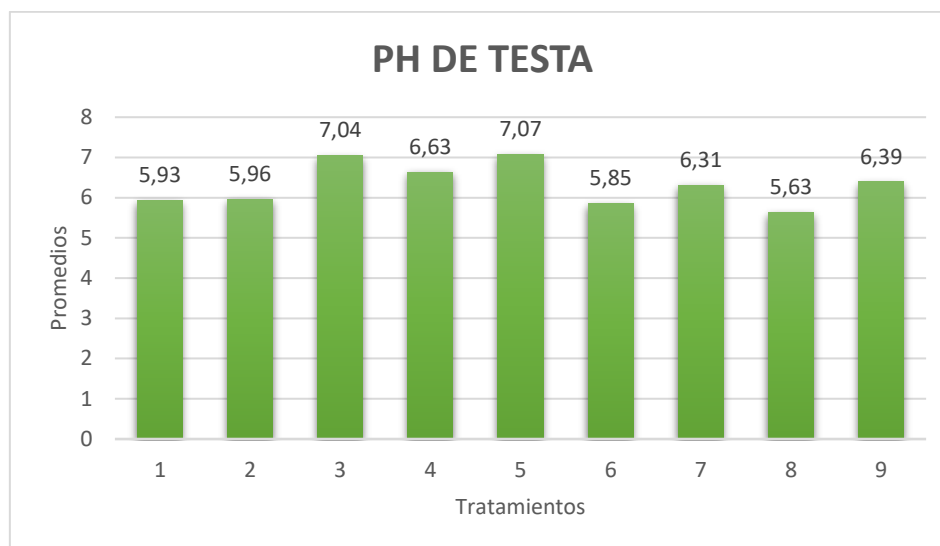


Figura 4. Promedio de pH de testa.

- **pH de Cotiledón**

En este análisis (tabla 17), se encontró una diferencia significativa en todas las fuentes de variación derivadas de los factores en estudio. Al clasificar los tratamientos (tabla 16), hubo tres rangos. El rango mejor posicionado fue el tratamiento 5 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 7 días - Complejo Nacional) con un promedio de 5,50 y el más bajo posicionado fue el 8 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con un promedio de 4,57. Además Alvarado (2021, pp 59) en este proyecto manifiesta que la enzima es permanente y la cual va de la mano con el aumento de Ph en el proceso de fermentación.

Tabla 16. Categorización del pH de cotiledón.

Tratamientos	pH de cotiledón
5	5,50 A
3	5,40 A
4	5,10 A B
9	5,06 A B
6	4,85 B C
7	4,81 B C
2	4,73 B C
1	4,69 B C
8	4,57 C

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 17. Análisis de varianza del pH de cotiledón.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,52	10	0,25	9,77	<0,0001
Repeticiones	0,03	2	0,02	0,64	0,5397
Tratamiento	2,48	8	0,31	12,05	<0,0001
Error	0,41	16	0,03		
Total	2,93	26			

En la figura 5 del pH de cotiledón hay una diferencia de porcentaje no tan marcada, el que mayor promedio consiguió fue el T5 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 7 días - Complejo Nacional) y el promedio más bajo de todos fue el T8 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51).



Figura 5. Promedio de pH de cotiledón.

Esto coinciden con observaciones y resultados obtenidos por (Guevara, 2017) quienes mencionan que, el efecto de la adición de dos tipos de levaduras durante la etapa

fermentativa influyó significativamente en las características bioquímicas de la almendra de cacao, determinándose que la levadura madre adicionada a la masa de granos de cacao previo al proceso de fermentación permitió alcanzar mejores temperaturas e índices de pH, de la misma forma afectó de manera positiva en el grado de fermentación permitiendo alcanzar mayores porcentajes de granos fermentados.

4.2. DETERMINACIÓN LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y SENSORIALES DE LOS GRANOS DE CACAO USANDO LA ENZIMA TRANSELIMINASA EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN

4.2.1. CALIDAD SENSORIAL

- **Acidez**

En los análisis de varianza (tabla 19) arrojados en porcentajes de acidez, se encontró diferencias altamente significativas en todas las fuentes de variación, derivadas de los factores en estudio. Al diferenciar los tratamientos (tabla 18), hubo dos rangos de gran significación estadística. El rango con un porcentaje más elevado fue el tratamiento 8 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con promedio de 3,63 y el ultimo rango con promedio más bajo fue el 9 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 6 días - Complejo Nacional) con 1,67. Además Otárola (2018, pp. 149) indica que la aplicación de enzimas en el proceso de fermentación del cacao beneficia al desarrollo de la acidez en los granos.

Tabla 18. Categorización de la acidez.

Tratamientos	Acidez
8	3,63 A
1	2,77 A B
4	2,47 A B
3	2,27 B
6	2,13 B
7	1,93 B
2	1,93 B
5	1,87 B
9	1,67 B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 19. Análisis de varianza de la acidez.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,74	10	0,87	4,39	0,0044
Tratamiento	8,73	8	1,09	5,48	0,0019
Repeticiones	0,01	2	0,01	0,03	0,9708
Error	3,19	16	0,20		
Total	11,93	26			

- **Amargor**

En el caso del amargor en el análisis de varianza (tabla 21) se reflejó diferencias altamente significativas en todas las fuentes de variación, procedentes de los factores en estudio. Al categorizar los tratamientos (tabla 20) se mostraron dos rangos de diferencia estadística. El rango 3 (30 ml x 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con promedio de 4,53 y el rango más bajo fue el 2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51) con un promedio de 2,33. Sin embargo, Navia y Pazmiño (2012) consideran que “la función de la enzima de degradar péptidos a aminoácidos libres origina mejores características sensoriales, que, al ser potenciadas, incluso ayudan a enmascarar aspectos negativos como el nivel de amargor y acidez”.

Tabla 20. Categorización de amargor.

Tratamientos	Amargor
3	4,53 A
9	3,47 A B
4	3,17 A B
7	3,07 A B
1	2,87 A B
5	2,83 A B
6	2,40 B
8	2,40 B
2	2,33 B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 21. Análisis de varianza de amargor.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11,65	10	1,16	2,42	0,0555
Tratamiento	11,43	8	1,43	2,97	0,0303
Repeticiones	0,21	2	0,11	0,22	0,8029
Error	7,69	16	0,48		
Total	19,34	26			

- **Astringencia**

En los análisis de varianza (tabla 23) de porcentaje de astringencia, hubo diferencias altamente significativas en cada una de las fuentes de variación derivadas de los factores de estudio. Al dividir las diferencias de los tratamientos (tabla 22), hubo dos rangos establecidos de significación estadística. El primer rango lo encabeza el tratamiento 3 (30 ml x 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con promedio de 3,80 y el rango más bajo fue el tratamiento 2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51) con promedio de 2,00. Tales resultados concuerdan con (Navia y Pazmiño, 2012, pp 3) donde mencionan que el sistema de adición enzimática en las semillas de cacao CCN51 en baba durante la fermentación, mostró diferencia significativa en las características sensoriales evaluadas en licor de cacao.

Tabla 22. Categorización de astringencia.

Tratamientos	Astringencia
3	3,80 A
4	3,20 A B
8	3,00 A B
9	2,63 A B
5	2,60 A B
6	2,27 A B
1	2,20 A B
7	2,07 B
2	2,00 B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 23. Análisis de varianza de astringencia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,68	10	0,87	2,79	0,0328
Tratamiento	8,59	8	1,07	3,45	0,0168
Repeticiones	0,10	2	0,05	0,16	0,8550
Error	4,98	16	0,31		
Total	13,67	26			

- **Dulce**

En el análisis de varianza (tabla 25) del dulce, se encontró diferencias altamente significativas en todas las fuentes de variación derivadas de los factores en estudio. Al diferenciar los tratamientos (tabla 24), se establecieron tres rangos de gran significación estadística. El primer rango y con mayor promedio fue el tratamiento 1 (30 ml x 30 kg. Cacao - 1 hora - 5 días - Complejo Nacional) con un promedio de 2,57, y el último rango y con menor promedio fue el tratamiento 3 (30 ml x 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) con un promedio de 0,87. Esto concuerdan con Amores y Jiménez (2007, pp 4) el mismo que menciona que las enzimas actúan en los procesos bioquímicos de las almendras de cacao dando

combinaciones de precursores que da el sabor de cacao y otras características sensoriales.

Tabla 24. Categorización de dulce.

Tratamientos	Dulce
1	2,57 A
8	2,13 A B
6	1,93 A B C
2	1,93 A B C
9	1,73 A B C
7	1,67 A B C
5	1,67 A B C
4	1,07 B C
3	0,87 C

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). EE 0,38

Tabla 25. Análisis de varianza de dulce.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,49	10	0,65	4,42	0,0042
Tratamiento	6,42	8	0,80	5,46	0,0019
Repeticiones	0,07	2	0,04	0,24	0,7857
Error	2,35	16	0,15		
Total	8,84	26			

4.2.1. PERFILES SENSORIALES

El cacao en el tratamiento 1 (30 ml x 30 kg. Cacao - 1 hora - 5 días - Complejo Nacional) se puede observar que el perfil que predomina es el frutal, un buen sabor a cacao, así mismo el perfil floral, amargor, perfiles dulces y acidez. Mientras que los perfiles que no resaltaron los conforman la astringencia y nuez, dejando a este tratamiento como un cacao poco apetecible ya que influye el bajo porcentaje de fermentación que obtuvo este tratamiento que fue de 65,67.



Figura 6. Perfil sensorial del tratamiento 1.

Se observa que en la figura 7 donde se describen los perfiles del tratamiento 2 (30 ml x 30 kg. Cacao – 2 horas – 6 días – CCN-51), se muestra que el frutal y el cacao son los perfiles que más predominan, seguidos del perfil floral, nuez y amargor, ocupando los menores valores los perfiles de astringencia, acidez y dulce. Estos perfiles se dan por el porcentaje de fermentación bajo que obtuvo este tratamiento que fue de 48,33.

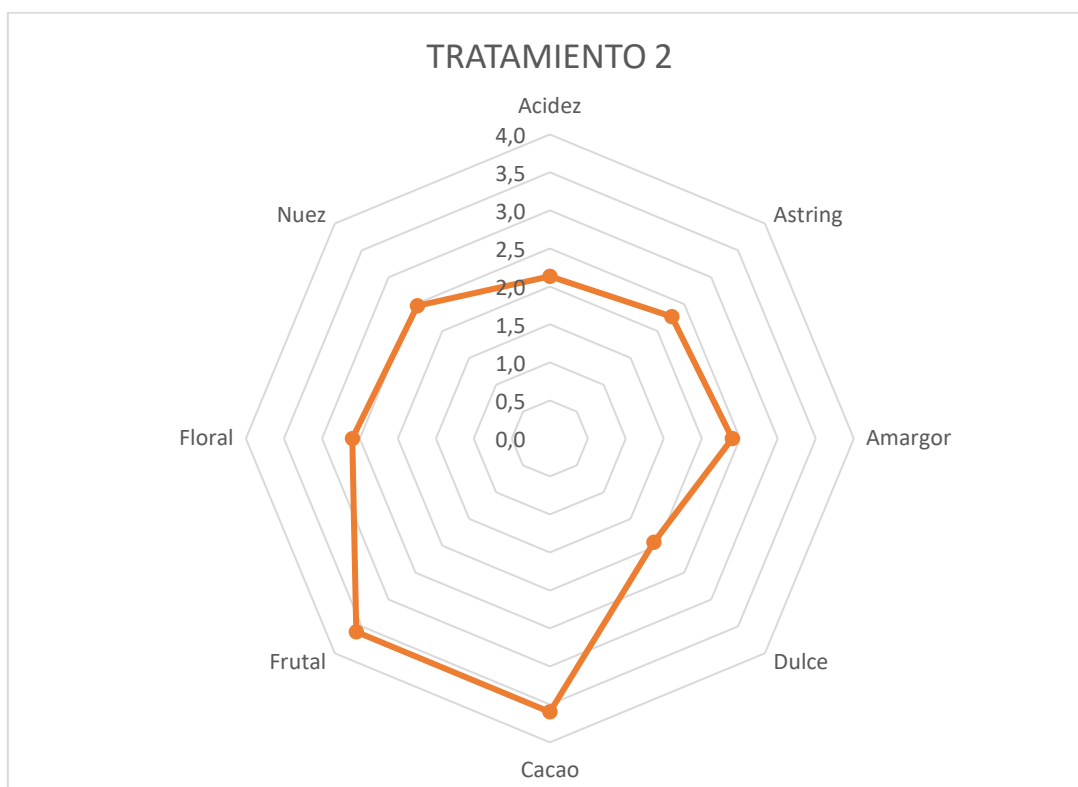


Figura 7. Perfil sensorial del tratamiento 2.

En el tratamiento 3 (30 ml x 30 kg. Cacao - 3 horas - 7 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51) se aprecia que los perfiles que están en un mayor rango son el frutal, cacao y floral, mientras que los que conforman el rango menor con los perfiles de acidez, astringencia, amargor, dulce y nuez, dando como resultado un cacao apetecible y esto se da porque la fermentación está en el porcentaje requerido con un valor de 81,33.

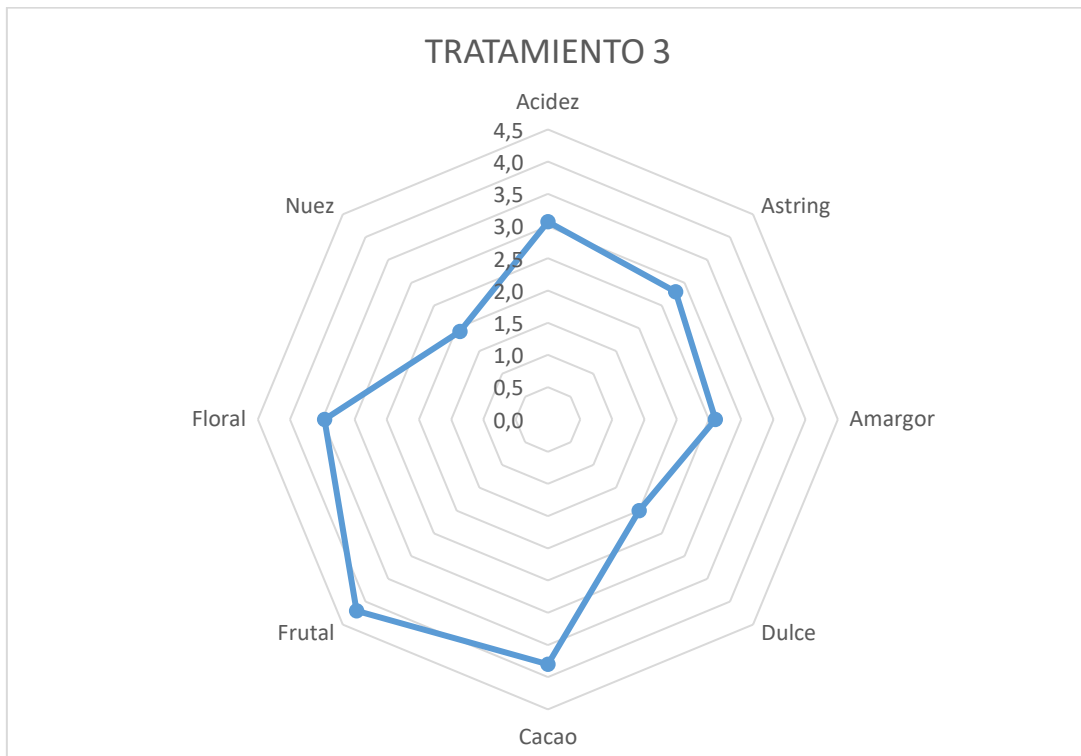


Figura 8. Perfil sensorial del tratamiento 3.

En la figura 9 se muestra el tratamiento 4 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 1 hora - 6 días - Mezcla compleja Nacional y CCN-51), donde se observa como mayor rango a los perfiles de cacao, frutal, floral y amargor, mientras que los perfiles con valores bajos lo conforman la acidez, astringencia, nuez y dulce. Teniendo en cuenta que, para tener perfiles apetecibles, la fermentación es un proceso importante y en este tratamiento el porcentaje de fermentación es de 76,67, este valor está en el rango de una buena fermentación.

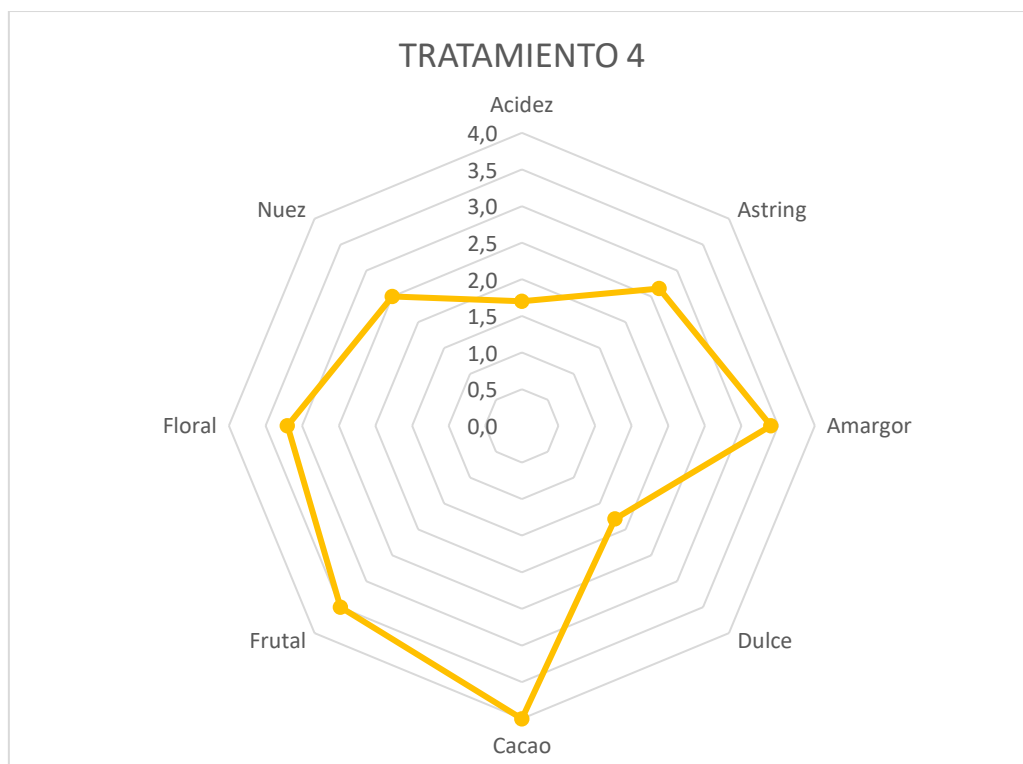


Figura 9. Perfil sensorial del tratamiento 4.

En el tratamiento 5 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 7 días - Complejo Nacional) predominan los perfiles de nuez, frutal y amargo, mientras que los perfiles de acidez, cacao, astringencia, floral y dulce son los que menor valor sensorial obtuvieron. En este tratamiento la fermentación tuvo un porcentaje de 72,33 el cual entra en el rango de una buena fermentación.

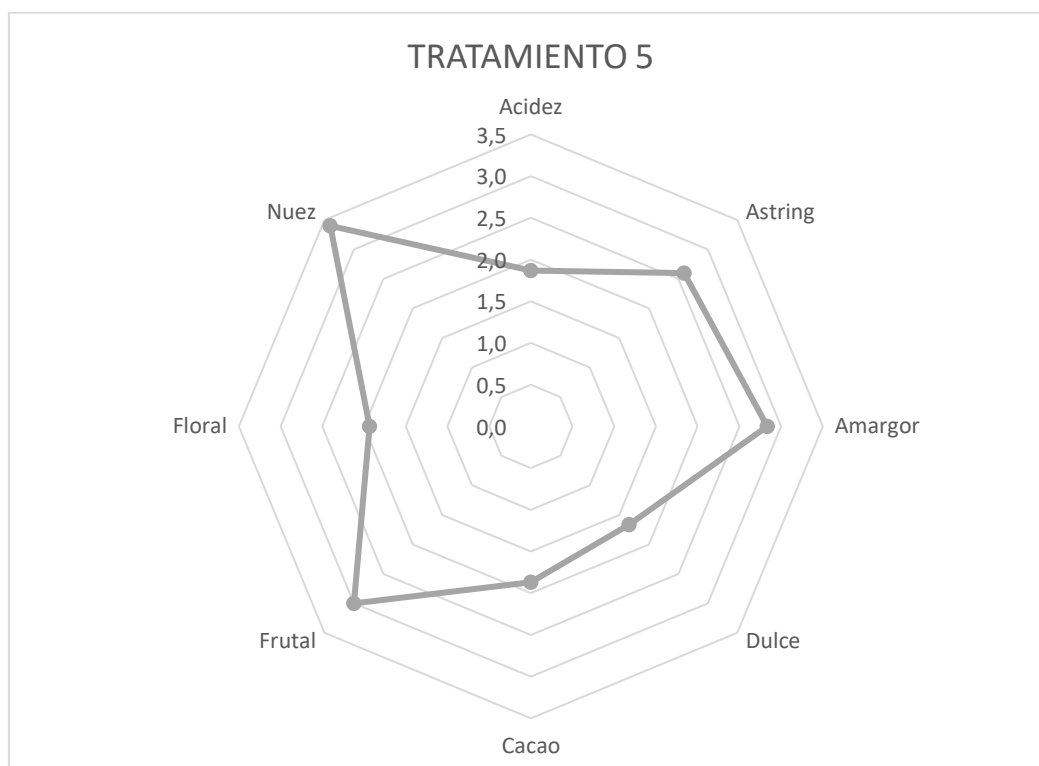


Figura 10. Perfil sensorial del tratamiento 5.

En la figura 11 se muestra los perfiles del tratamiento 6 (60 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 5 días - CCN-51), en el cual tuvo mayor rango los perfiles frutal y cacao, mientras que los perfiles con menor rango están entre la acidez, astringencia, amargor, dulce, nuez y floral. Teniendo en cuenta que una buena fermentación influye en los perfiles sensoriales, en este tratamiento el porcentaje de fermentación fue bajo con un valor de 57,67 y esto hace que se tenga un cacao poco apetecible.

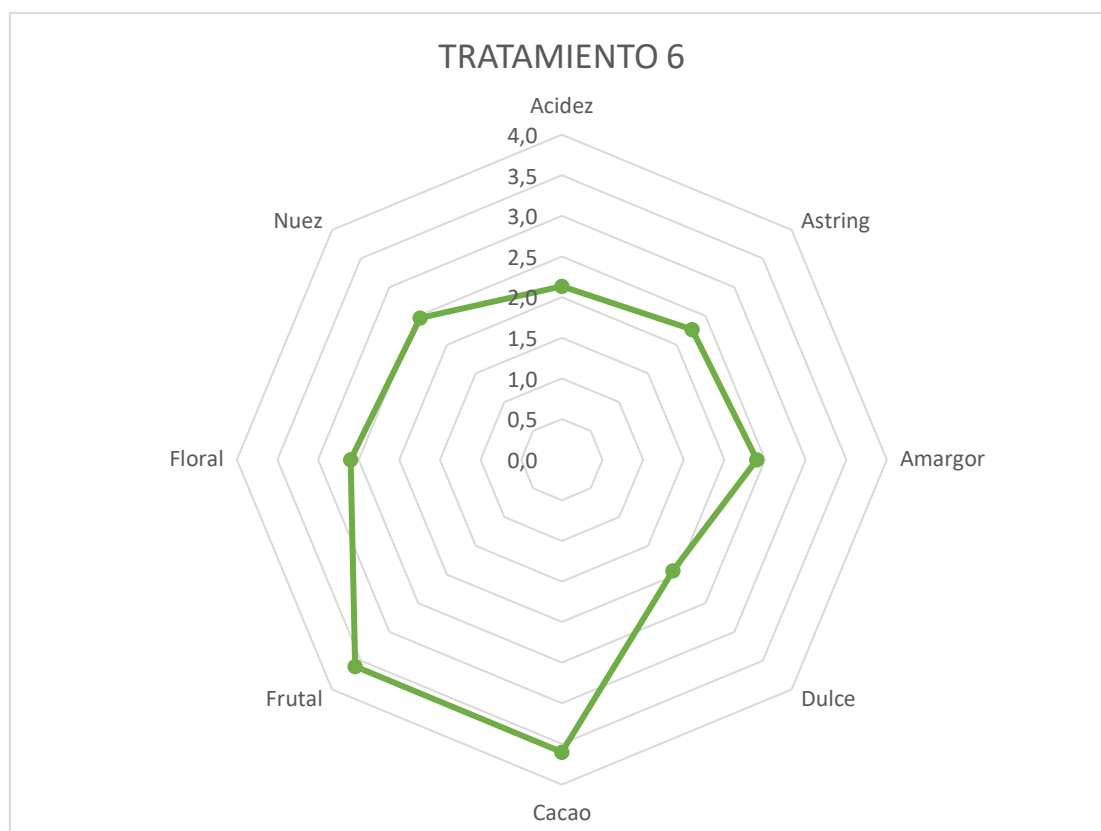


Figura 11. Perfil sensorial del tratamiento 6.

El tratamiento 7 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 1 hora - 7 días - CCN-51), muestra perfiles con sabor a cacao, frutal y amargor, mientras que tienes valores bajos en cuanto a la acidez, astringencia, nuez, dulce y floral, quedando como un cacao con una baja fermentación, en este caso el tratamiento 7 tuvo un porcentaje de fermentación de 60,67.

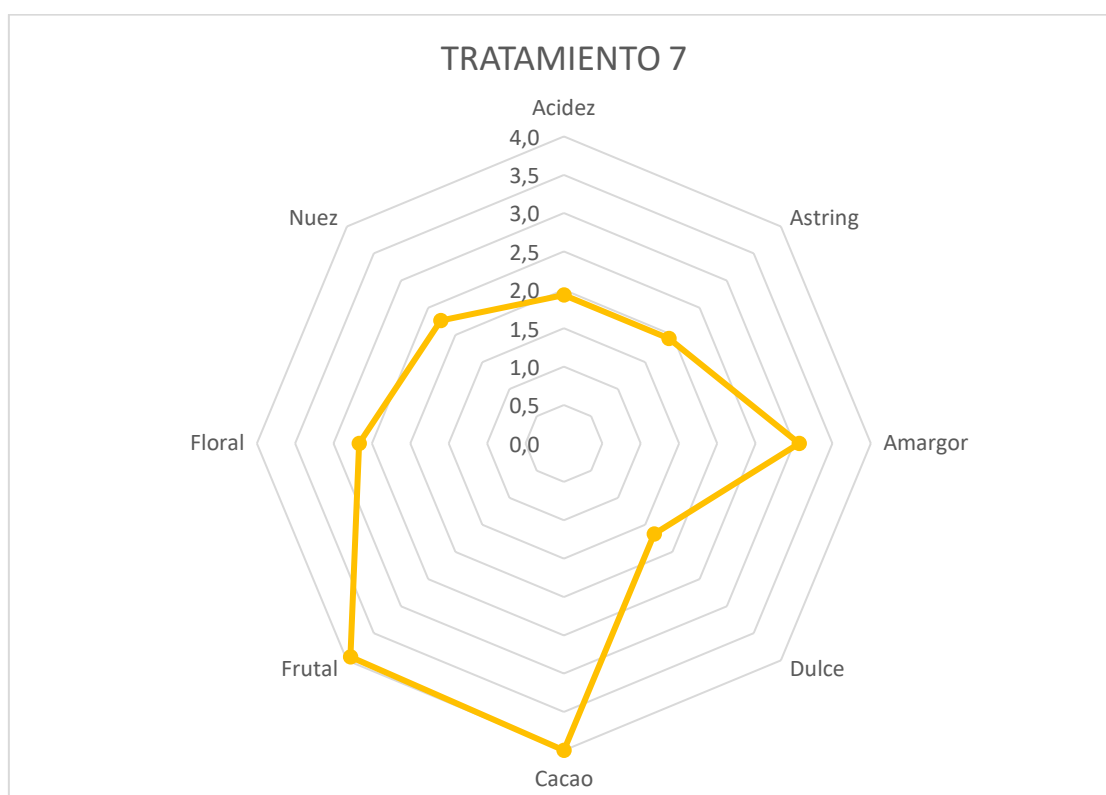


Figura 12. Perfil sensorial del tratamiento 7.

La figura 13 describe los perfiles del tratamiento 8 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 2 horas - 5 días - Mezcla complejo Nacional y CCN-51), con rangos altos de sabores como cacao, frutal y acidez, así mismo muestra rangos bajos de perfiles de nuez, dulce, amargor, astringencia, y floral, dejándolo, así como un cacao poco apetecible por los niveles bajos de fermentación, en el cual este obtuvo un porcentaje de 50,67.

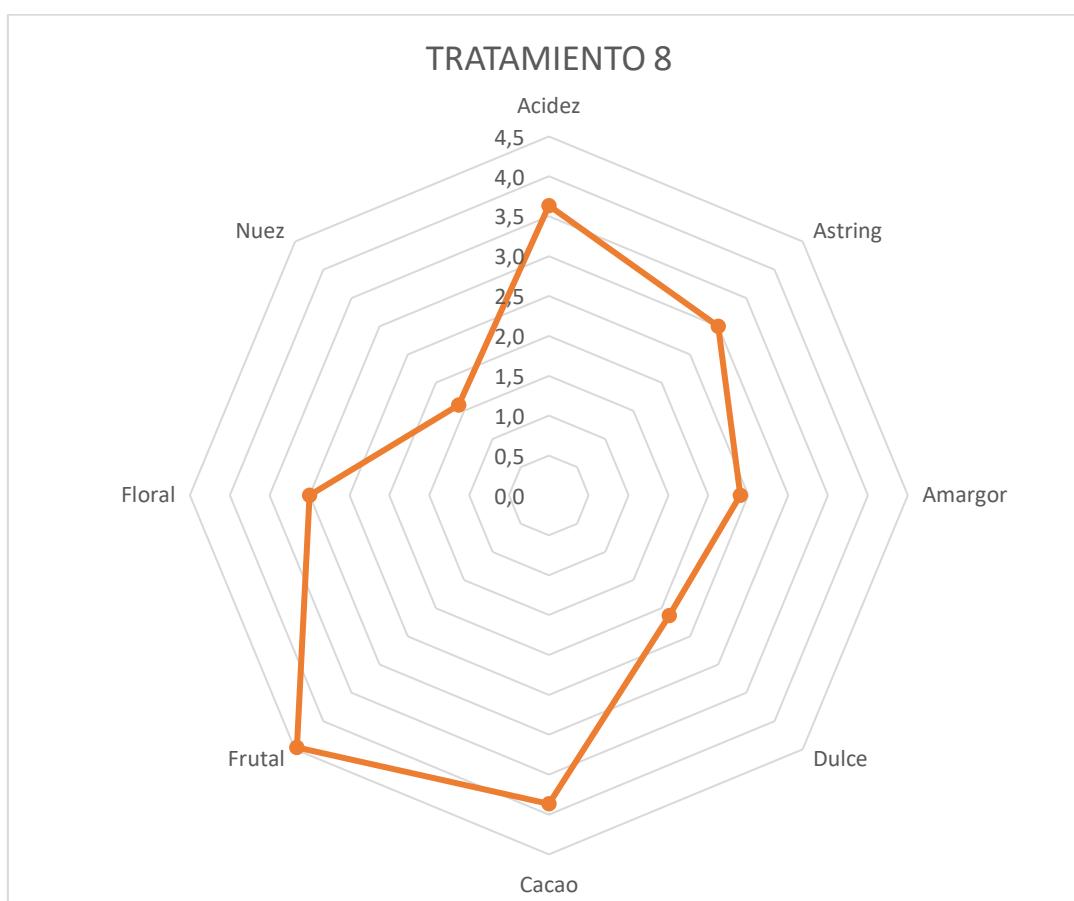


Figura 13. Perfil sensorial del tratamiento 8.

En el tratamiento 9 (90 ml x 30 Kg. Cacao - 3 horas - 6 días - Complejo Nacional) podemos observar perfiles altos en cacao, amargor y frutal, así también perfiles bajos de acidez, dulce, astringencia, nuez y floral. En este tratamiento podemos notar que es un cacao con buenos perfiles ya que el porcentaje de fermentación tuvo un valor de 71,33 y este porcentaje está en el rango de un cacao bien fermentado.

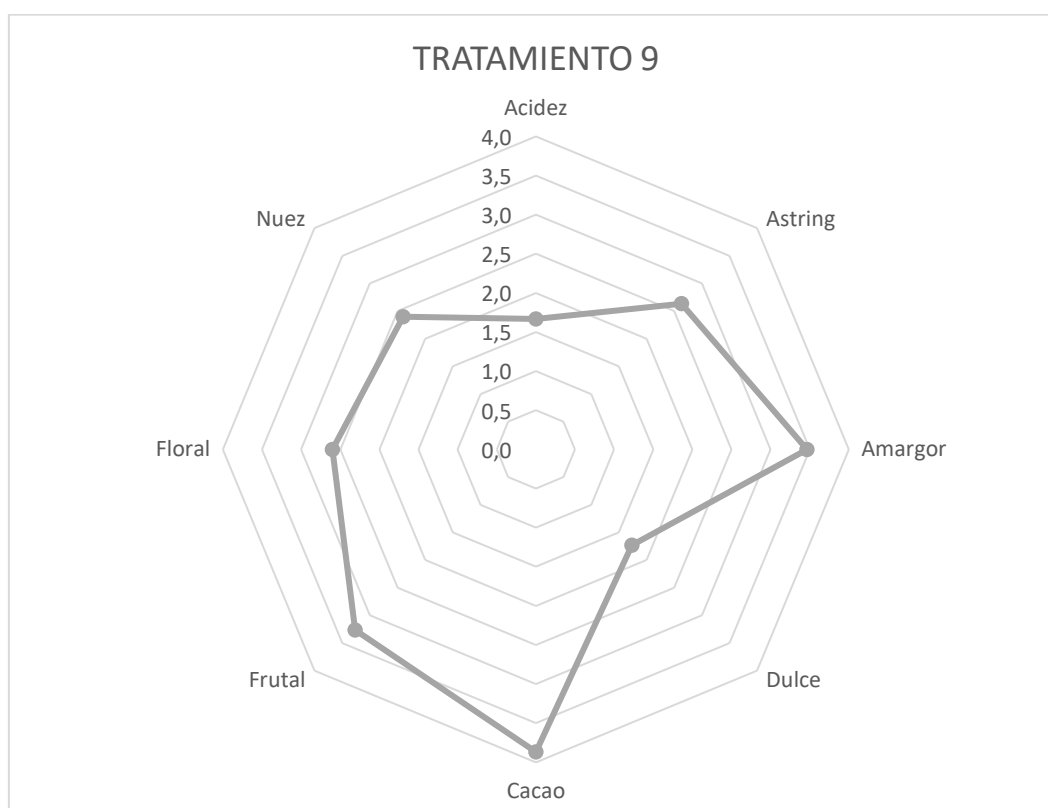


Figura 14. Perfil sensorial del tratamiento 9.

Erazo (2019, pp 9) afirma que los procesos de fermentación constituyen dos fenómenos importantes no independientes, que son los siguientes: “la fermentación microbiana que contribuye a la eliminación de la pulpa mucilaginosa presente en los granos y las reacciones bioquímicas internas en los cotiledones que conducen a la modificación de la composición química de los granos y en particular a la formación de los precursores del aroma”.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La dosis óptima de enzima transeliminasa en función de la calidad final del grano es de 60 ml, la cual incidió en el proceso de fermentación, tanto en la calidad física como en la calidad sensorial.
- Las propiedades físicas que influyeron en este proceso fue el porcentaje de fermentación y los sensoriales se evidenciaron sabores apetecibles como frutal, floral y amargo, en función a la aplicación de la enzima transeliminasa.

5.2. RECOMENDACIONES

- De acuerdo con el ensayo realizado, se recomienda utilizar la enzima transeliminaza en el proceso de fermentación del grano de cacao, ya que mejora la calidad final del grano, sea de la variedad CCN-51 como de cacao complejo nacional.

BIBLIOGRAFÍA

- Alaba, M. (2016). Efecto tiempo - temperatura de tostado del cacao fino de aroma, en sus características fisicoquímicas y organolépticas (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí Manuel Félix López. Calceta, Ecuador.
- Alvarado, K. (2021). Fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.) Con adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y enzima (papaína) en la disminución de metales pesados. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Estatal De Quevedo. Mocache, Ecuador.
- Álvarez, M. (2018). Estandarización de la fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) fino de aroma (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazonas. Chachapoyas, Perú.
- Amores, F. y Jiménez, B. (2007). Comportamiento del perfil organoléptico de los cacaos ccn-51g y nacional en respuesta a la introducción del pre secado de las almendras en el protocolo de fermentación. Consultado el 3 de enero del 2021. Recuperado en: <File:///C:/Users/USUARIO-016/Downloads/C%20CCN-51.pdf>.
- Bermúdez, K. y Mendoza, C. (2016). Post-cosecha y secado del grano del cacao nacional fino y de aroma para la determinación de perfiles físicos, bromatológicos y organolépticos (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí Manuel Félix López. Calceta – Manabí.
- Castellano, J y Rache, L. (2013). Microorganismos, enzimas, plásmidos y genes involucrados en la degradación de plaguicidas n-metilcarbamatos. *Internacional de Contaminación Ambiental*. 29 ed. p 105-119.
- Díaz, S. y Pinargote, M. (2012). Análisis de las Características Organolépticas del Chocolate a partir de Cacao CCN51 Tratado Enzimáticamente y Tostado a Diferentes Temperaturas (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Guayaquil, Ecuador.

- Erazo, C. (2019). Diseño de un fermentador y secado solar piloto, para dos variedades de cacao (*Theobroma cacao*, L), en el Cantón El Empalme Provincia Guayas. Ciencias Naturales y Ambientales. Universidad Internacional SEK. Recuperado en:
<https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/3361/1/FERMENTACION%20DE%20CACAO.pdf>
- Fontúrbel, F. (2004). Uso de algunos parámetros indicadores microbiológicos y bioquímicos para la evaluación de la contaminación por hidrocarburos y la biodegradación de los mismos, en la zona del lago Titikaka (San Pedro de Tiquina, Bolivia). *Ecología aplicada*. p 172-179.
- Guevara, V. (2017). Adición de enzimas y levaduras sobre los cambios químicos y organolépticos del cacao (*Theobroma cacao*) clon CCN-51. Universidad Estatal de Quevedo. Título de Proyecto de Investigación Quevedo – Los Ríos. Recuperado en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2283/1/T-UTEQ-0046.pdf>
- Jachero, R. (2018). Optimización del proceso de tostado de *Theobroma cacao* l. Variedad ccn-51 utilizado en la elaboración de chocolate amargo (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Navia, A; Pazmiño, N. (2012). Mejoramiento de las características sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de enzimas durante el proceso de fermentación (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.
- Nogales, J. (2011). Métodos de fermentación. Venezuela. Recuperado el 19 de diciembre del 2020. Disponible en:
<http://poscosechacacao.blogspot.com/2017/08/metodos-de-fermentacion.html>
- Olarte, D. y Rincón, J. (2019). Evaluación fisicoquímica y sensorial de cacao en grano variedad clonal FTA-4 producido en el departamento de Arauca,

- beneficiado mediante dos métodos de fermentación y secado (Tesis de Pregrado). Universidad De Los Llanos. Villavicencio, Colombia
- Otárola, A. (2018). Efecto de la enzima pectolítica y levadura (*saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y calidad del cacao var. Criollo (*theobroma cacao*). (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima Perú.
- Pallares, A., Estupiñan, M., Perea, J., y López, L. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *ION*. 2 ed. p 7-21.
- Peñaherrera, N. (2021). Estudio de métodos de fermentación y secado del cacao. (Tesis Pregrado). Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Peñuela, A., Pabón, J., y Oliveros, C. (2011). Enzimas: una alternativa para remover rápida y eficazmente el mucilago de café. *Cenicafé. Avances técnicos Cenicafé*. Primera edición. P 8.
- Puerta, G. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el benéfico del café. *Cenicafé Colombia*. 402 ed. p 1-12.
- Rivera, R., Mecías, F., Guzmán, A., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, A., y Nivelá, P. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao L.*) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología*. 5 ed. p 7-12.
- Rodríguez, W., y Vallejo, C. (2016). Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*. Vol. 5. 169-181.
- 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. Los Ríos, Ecuador.

Teneda, W. (2016). Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao (*Theobroma cacao L.*) Variedad Nacional y Variedad CCN51. Revista. Universidad Internacional de Andalucía. Recuperado en: file:///C:/Users/Usuario/AppData/Local/Temp/2016_978-84-7993-319-7-1.pdf

Urina, K. y Llerena, Z. (2017). Uso de Cultivos Iniciadores (Starter) en la Fermentación de Cacao Tipo Nacional Clon 103 y CCN51 en la Estación Pichilingue ubicada en Quevedo -Provincia de los Ríos (Tesis de Pregrado). Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador.

Vera, L. (2007). Enzimas, que son y para qué sirven. *Rev Acad,Cienc.Exacta.Fis.Nat. España*. 101 ed. p 399-417.

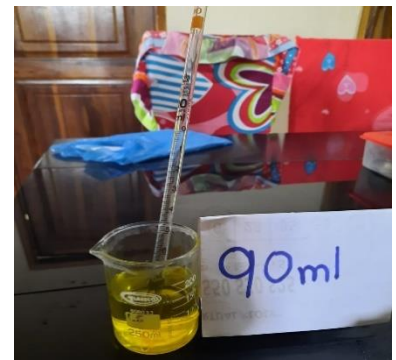
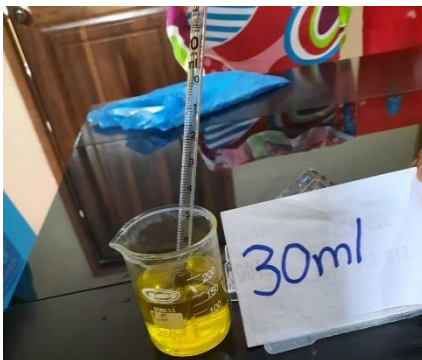
Wacher, M. (2011). Microorganismo y chocolate. *Digital Universitaria*. 12 ed. México. p 67-79.

Willy, M. (2017). Evaluación del uso de enzimas lignolíticas para la degradación de colorantes industriales (título de pregrado). Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo, Ecuador. p 112.

ANEXOS



Anexo 1. Recolección de mazorcas.



Anexo 2. Dosis de la enzima transeliminasa.



Anexo 3. Remoción de los tratamientos.



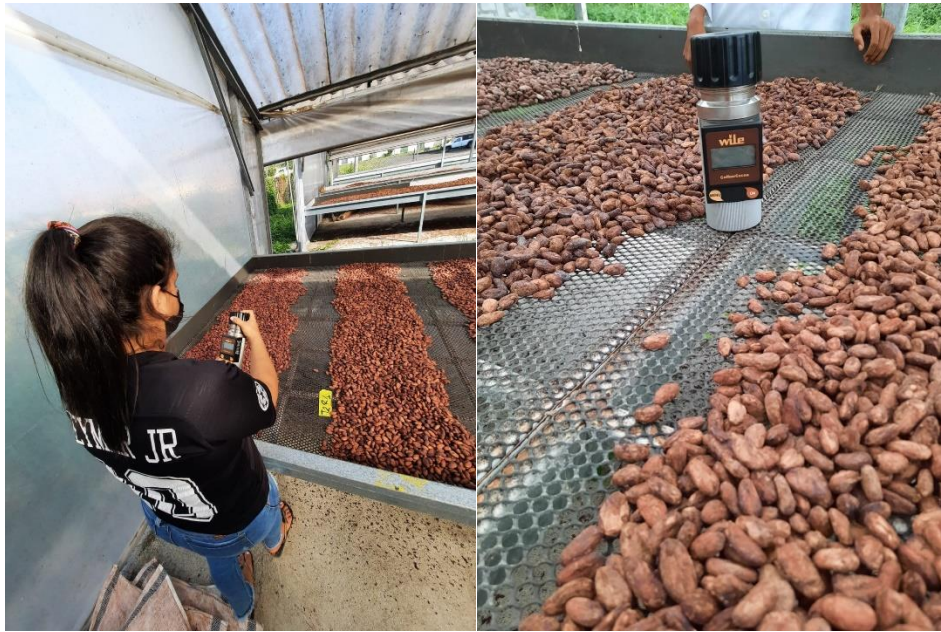
Anexo 4. Días de fermentación en las cajas de madera.



Anexo 5. Horas de remociones.



Anexo 6. Proceso de secado del cacao.



Anexo 7. Toma de porcentaje de humedad.



Anexo 8. Ph de testa y de cotiledón.



Anexo 9. Fabricación del licor de cacao.



Anexo 10. Porción de licor de cacao para cada catador.