



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Unidad de Integración Curricular
previo a la obtención del título de
Ingeniería en Alimentos.

Título de la Unidad de Integración Curricular:

“INDUCCIÓN DE *Rhizobium japonicum* EN LA MASA FERMENTATIVA DE DOS VARIEDADES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) NACIONAL Y TRINITARIO COMO ESTRATEGIA PARA LA DISMINUCIÓN DE CADMIO”.

Autor:

Luis Humberto Vásquez Cortez

Tutor de la Unidad de Integración Curricular:

Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc.

Mocache - Los Ríos – Ecuador

2021



DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Luis Humberto Vásquez Cortez**, declaro que la investigación es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en el documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

f. _____

Luis Humberto Vásquez Cortez

C.I: 0929037265



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. Jaime Fabian Vera Chang M.Sc.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Luis Humberto Vásquez Cortez**, realizó el proyecto de investigación de grado “**INDUCCIÓN DE *Rhizobium japonicum* EN LA MASA FERMENTATIVA DE DOS VARIEDADES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) NACIONAL Y TRINITARIO COMO ESTRATEGIA PARA LA DISMINUCIÓN DE CADMIO**”, previo a la obtención del título de ingeniería en Alimentos, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. Jaime Fabián Chang M.Sc.
TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTGACIÓN



CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Dando cumplimiento al Reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y a las normativas y directrices establecidas por el SENESCYT, el suscrito Ing. Jaime Fabian Vera Chang M.Sc., en calidad de Director del Proyecto de Investigación “**INDUCCIÓN DE *Rhizobium japonicum* EN LA MASA FERMENTATIVA DE DOS VARIEDADES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) NACIONAL Y TRINITARIO COMO ESTRATEGIA PARA LA DISMINUCIÓN DE CADMIO**”, realizado por el Señor. Estudiante de la Carrera de Ingeniería en Alimentos Vásquez Cortez Luis Humberto, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es del 6%, el mismo que es permitido por el mencionado software y los requerimientos académicos establecidos. **FIGURA 1.** Certificación del porcentaje de confiabilidad (94%) y similitud (6%) de URKUND.



Document Information

Analyzed document	INDUCCIÓN DE Rhizobium japonicum EN LA MASA..... (20-abril-2021) (3).docx (D102467259)
Submitted	4/21/2021 9:33:00 PM
Submitted by	
Submitter email	luis.vasquez2015@uteq.edu.ec
Similarity	6%
Analysis address	javellaneda.uteq@analysis.orkund.com

Atentamente,

Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.S.c
TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

DEDICATORIA

La presente investigación se la dedico sobre todas las cosas a DIOS por sus Bendiciones porque sin el apoyo de él no podría haberlo realizado mi trabajo de titulación, a mi mamita y a mi papá a mi esposa y mis bellos gemelos mis hijos y a mis tías todos en conjunto dándome fuerzas, ánimos y apoyo incondicional para poder alcanzar mi meta y mis motores de vida y a mis ancestros.

Luis Vásquez Cortez

AGRADECIMIENTO

- Agradezco a DIOS todo poderoso por darme sabiduría y darme fuerzas para seguir adelante con las adversidades que en el camino se me han cruzado y por darme dos hijos fantásticos y maravillosos mis retoños Mathias y Mateo siendo mi motor principal y dar sentido a mi vida a la SANTISIMA TRINIDAD (DIOS, JESÚS Y ESPIRITU SANTO) y VIRGEN MARIA Y LOS ANGELES CELESTIALES Y LA SANTA NARCISA DE JESÚS.
- A mi madre amada Mariana de Jesús Cortez Freire por darme la vida por estar siempre hay en todo momento y cuando más la necesitábamos por ser una guerrera y una hermosa y maravillosa madre y ser una excelente abuela aun así en Pandemia sin ella no pudiera haber hecho nada.
- A mi papá Marco Antonio Vásquez Orquera por estar en los malos y buenos momentos cuando más lo necesitábamos a mi hermano Ana Vásquez Pérez.
- A mi esposa Kerly Estefanía Alvarado Vásquez por ser una excelente esposa y madre de mis hijos por compartir conmigo 8 años y estar desde el pre Universitario sentado junto a mí en el aula de clase.
- A mis tías ellas unas lindas y hermosas tías siempre dando su apoyo incondicional.
- A mi tía Martha por cuidarnos desde el cielo y mi tío.
- A mis tíos políticos Carlos Vásquez y Victoria Vásquez agradecido en tiempos más difíciles en pandemia.
- A mi abuelas y abuelos de parte de madre y padre a todos mis ancestros.
- A la abuelita de Kerly La señora Concepción que desde el cielo nos cuida
- A mi suegro Javier Santacruz Castro y suegros.
- A mi madrina de grado Sra. Fanny Gonzales de Montes y a mi padrino de grado Sr. Luis Jairo Aristizabal Salazar estas dos personas han sido unos ángeles en nuestras vidas por su ayuda incondicional y habernos ayudado sin ningún interés eso es grato ante Dios.
- A mi distinguido tutor y guía Ing. Jaime Fabian Vera Chang, por ser quien llevo con dedicación y esmero el proceso de nuestra titulación.
- A una persona en especial a la Ing. Cyntia Yadira Erazo Solorzano y a su esposo el Ing. Diego Armando Tuarez Garcia por estar en los malos momentos y ser unas maravillosas personas y seres humanos muy admirables y de buen corazón siendo unos excelentes amigos.

- Agradezco a cada persona que nos han brindado una mano como es el Ing. Samir Zambrano Montes por una calidad de persona.
- A mi compadre el Ing. Ángel Fernández Escobar por sus enseñanzas y asañas y su ayuda incondicional con su gran frase que jamás me olvidaré “Si necesitéis una mano recuerda yo tengo dos”
- A mi otro compadre Bombero Burgos Valencia Edder Wilmer que me presto su ayuda cuando más lo necesitaba y un excelente amigo y a mi comadre Lcda. María Esparza y esposo.
- A mi gran amiga la Ing. Jenny Alcívar Burgos por una amistad sincera y su madre.
- A una persona en especial la Lcda. Elizabeth Briones
- A la ing. Piedad Yopez por ser una excelente persona y consejera en toda la carrera universitaria.
- Al Dr. Juan Humberto Avellaneda Cevallos por sus enseñanzas y apoyo además por ser un ejemplo de persona y cabalidad de ser humano gracias por sus conocimientos.
- Al Ing. Edgar Pinargote Mendoza por ser excelente ser humano.
- Al Dr. Gary Meza Bone por brindarme sus conocimientos y darme la oportunidad de aprender muchas actividades del campo agropecuario.
- A la Ing. Rossy Rodríguez.
- Al ing. Segovia Freire
- A la Ing. Rosa Cecibel Varas Giler y su querida madre Doña Rady Giler
- Al Dr. Mazón Paredes y hermano por compartir en las prácticas profesionales.
- Al Ing. Geovanny Muñoz por su amistad y enseñanzas
- Al Ing. Vicente Guerrón Troya
- A mi gran amigo el Ing. José Santana Chávez mi mejor amigo de la infancia
- Al Ing. Leonilo Durazo
- Al Ing. Román Soria Velasco
- Y a todos mis maestros en toda mi vida Universitaria que han compartido su conocimiento.
- A los distinguidos integrantes del tribunal quienes dieron apoyo y sugerencias para la mejor redacción y mejoramiento de la presente investigación sin su ayuda no hubiese sido posible al Dr. Juan Humberto Avellaneda y a la Ing. Cynthia Yadira Erazo Solorzano al Ing. Diego Armando Tuarez García.

Luis Vásquez Cortez

RESUMEN

El consumo de chocolate al nivel nacional e internacional tiene un índice muy elevado, para ser exportado debería cumplir con un reglamento 488/2014 de la Unión Europea, el objetivo principal de la investigación fue determinar si con la aplicación de *Rhizobium japonicum* en la fermentación existía una reducción de cadmio en las almendras de cacao y a su vez si mejoraba sus condiciones o aspectos sensoriales con la inducción del microorganismo que se indujo una vez cosechado aplicado al cacao fresco, en diferentes concentraciones 3%(60 ml) y 5%(100 ml), durante el tiempo fermentativo se realizó análisis físicos para conocer su pH, °Brix y temperatura. Las almendras secadas al sol durante 6 días, se les realizó la prueba de corte para conocer su estado de fermentación por cada 100 almendras al azar, se realizó a la pasta de cacao un análisis sensorial donde se evaluó aroma, sabor, acidez, amargor, intensidad, con ayuda de un panel de catación semientrenados que consto de 10 personas con el fin de conocer sensorialmente las variables antes mencionadas dando resultados significativos, además se hizo un análisis de costo por tratamiento para así determinar la rentabilidad en función a la inducción de este microorganismo dando como resultado los testigos T1 y T4 (\$52,02) y demás inducciones T2,T3,T5,T6 con un promedio de (\$53,94) dando como diferencia promedio de 1.92 ctvs. Se fijó conocer cuanto disminuía el cadmio con la aplicación de *Rhizobium japonicum* para lo cual se envió al laboratorio WSS mismos datos que fueron muy aceptables.

Palabras claves: *Rhizobium japonicum*, cacao, análisis, cadmio, sensorial, concentraciones, inducción, tratamientos.

ABSTRACT

Chocolate consumption at national and international level has a very high rate. To be exported must comply with Regulation 488/2014 of the European Union. The main goal of this research was to determine whether with *Rhizobium japonicum* application in fermentation there is a reduction of cadmium in cocoa almonds; and, if their sensory conditions or aspects would improve with the induction of the microorganism that was induced once harvested and applied to fresh cocoa, at different concentrations 3%(60 ml) and 5%(100 ml), during the fermentation time physical analyses were carried out to know its pH, Brix and temperature. Almonds were dried in the sun for 6 days, after this they were tested for fermentation status. For every hundred random almonds a sensory analysis was performed on cocoa paste where aroma, flavor, acidity, bitterness and intensity were evaluated; with the help of a semi-trained tasting panel of ten people, the above-mentioned variables were sensory-known with significant results; in addition, a cost-per-treatment analysis was performed to determine profitability based on the induction of this microorganism resulting in witnesses T1 and T4 (\$52.02) and other inductions T2,T3,T5,T6 with an average of (\$53.94) giving as an average difference of 1.92 ctvs. It was fixed to know how much cadmium decreased with the application of *Rhizobium japonicum* for which the same data was sent to the WSS laboratory with really acceptable results.

Keywords: *Rhizobium japonicum*, cocoa, analysis, cadmium, sensory, concentrations, induction, treatments.

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESION DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iv
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
Introducción.....	1
CAPÍTULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Problema de la investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.1.2. Formulación del problema.....	6
1.1.3. Sistematización del problema.....	6
1.2. Objetivos.....	7
1.2.1. Objetivo General.....	7
1.2.2. Objetivo específico.....	7
1.3. Justificación.....	8
CAPÍTULO II.....	9
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	9
2.1. Marco Conceptual.....	10
2.1.1. (<i>Rhizobium japonicum</i>).....	10
2.1.2. Sensorial.....	10
2.1.3. Masa Fermentativa.....	10
2.1.4. Cadmio.....	10
2.2. Marco Referencial.....	11
2.2.1. Datos ancestrales del cacao.....	11
2.2.2. Cacao en el Ecuador.....	12
2.2.3. Cacao y la economía en el País.....	13
2.2.4. Cacao de tierras ecuatorianas sinónimo de calidad.....	14
2.2.5. Normas de calidad.....	16
2.2.6. Tipos de cacao en el Ecuador.....	19
2.2.6.1. Cacao Nacional.....	19
2.2.6.2. Cacao Forastero.....	20

2.2.6.3.	Cacao Trinitario.....	20
2.2.6.4.	El clon del Cacao CCN51.....	20
2.2.7.	Tipos de enfermedades del cacao.....	21
2.2.8.	Aspectos negativos de la utilización excesiva de agroquímicos.....	22
2.2.9.	Los cuatros factores más importantes que evidencia la aparición de enfermedades en la producción cacaotera.....	22
2.2.9.1.	Genética.....	23
2.2.9.2.	Humedad adecuada y precipitación.....	23
2.2.9.3.	Suelo.....	23
2.2.9.4.	Nutrición.....	24
2.2.9.5.	Semielaborados del cacao.....	24
2.2.10.	Chocolate del Ecuador.....	24
2.2.11.	Taxonomía de la almendra de cacao.....	25
2.2.12.	Cosecha de cacao.....	25
2.2.12.1.	Extracción de las almendras del cacao.....	26
2.2.12.2.	Procesos de postcosecha.....	26
2.2.13.	Fermentación de la almendra de cacao.....	26
2.2.14.	Porcentaje de Fermentación.....	27
2.2.15.	Fase de la fermentación.....	27
2.2.15.1.	Fase anaerobia (se produce en ausencia de oxígeno).....	27
2.2.15.2.	Fase oxidativa de los polifenoles.....	28
2.2.15.3.	Fase aeróbica (Se produce con oxígeno).....	28
2.2.16.	El tiempo de fermentación.....	29
2.2.17.	Método para una óptima fermentación.....	29
2.2.18.	Tipos de fermentación.....	30
2.2.18.1.	Cajas de madera.....	30
2.2.18.2.	Sacos.....	30
2.2.18.3.	Montones.....	30
2.2.18.4.	Barcaza con movilidad.....	31
2.2.19.	Secado.....	31
2.2.19.1.	Secados naturales.....	32
2.2.19.2.	Secado artificial.....	32
2.2.20.	Calidad de la almendra por prueba de corte.....	32
2.2.21.	La fermentación y sus cambios fisiológicos a la almendra de cacao.....	33
2.2.21.1.	Habas marrones o café.....	33
2.2.21.2.	Habas de color marrón.....	33
2.2.21.3.	Habas Violetas.....	33

2.2.21.4. Habas Pizarras.....	34
2.2.22. Descascarillado previamente tueste.....	34
2.2.23. Trituración y refinación previo a la obtención del licor de cacao.....	36
2.2.24. Propiedades sensoriales.....	36
2.2.24.1. Estudio de la pasta de cacao para medir sus propiedades organolépticas.....	36
2.2.25. Pasta de cacao.....	37
2.2.26. Degustación de la pasta de cacao.....	37
2.2.26.1. Aroma.....	37
2.2.26.2. Sabor.....	38
2.2.27. Actividad enzimática que presenta el haba del cacao.....	38
2.2.28. Microorganismos asociados a la fermentación del haba de cacao.....	39
2.2.28.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	39
2.2.28.2. <i>Rhizobium</i> y <i>Bradyrhizobium</i>	39
2.2.29. Metales pesados en el suelo.....	40
2.2.29.1. Cadmio.....	41
2.2.29.2. Reglamento del cadmio para el cacao.....	41
2.3. Investigaciones relacionadas con la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> y disminución de cadmio en cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	43
CAPÍTULO III	45
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	45
3.1. Localización.....	46
3.1.1. Propiedades Meteorológicas del lugar de estudio.....	46
3.2. Tipo de investigación.....	46
3.3. Métodos de investigación.....	47
3.4. Fuentes de recopilación de Información.....	47
3.5. Diseño de la investigación.....	47
3.5.1. Esquema de ANDEVA.....	48
3.5.2. Características del diseño experimental.....	48
3.5.1. Arreglo de tratamientos.....	49
3.5.2. Modelo matemático.....	49
3.6. Instrumento de investigación.....	50
3.6.1. Variables a estudiar.....	50
3.6.1.2. Fermentar.....	50
3.6.1.3. Inducción de <i>Rhizobium japonicum</i>	51
3.6.1.4. Dosis de aplicación.....	51
3.6.1.5. Hacer remociones.....	51

3.6.1.6. Temperaturas optimas de fermentación.....	52
3.6.1.7. Determinación de pH.....	52
3.6.1.8. Grados Brix.....	52
3.6.1.9. Secado.....	52
3.6.1.10. Porcentaje de fermentación de la almendra de cacao.....	53
3.6.1.11. Índice de semilla.....	53
3.6.1.12. Prueba de testa y cotiledón.....	54
3.6.1.13. Prueba de Corte.....	54
3.6.1.14. Pasos previos para la obtención de la pasta de cacao con pureza del 100%.	54
3.6.1.15. Análisis Sensorial.....	55
3.6.1.16. Metales Pesados.....	57
3.6.1.17. Cadmio.....	57
3.6.1.18. Análisis económico.....	57
3.7. Tratamientos de datos.....	58
3.8. Recursos humanos y materiales.....	58
3.8.1. Materiales y equipos.....	58
3.8.1.1 Materiales y equipos del campo.....	58
3.8.1.2. Materiales de Laboratorio.....	59
CAPÍTULO IV.....	60
RESULTADOS Y DISCUSION.....	60
4.1. Efecto de las variedades de cacao sobre las variables físico - químicas, sensoriales y contenido de cadmio en almendras de cacao.....	61
4.1.1. Variables físico - químicas.....	61
4.1.1.1. Temperatura.....	61
4.1.1.2. pH.....	62
4.1.1.3. Grados Brix.....	62
4.1.1.4. Variables de prueba de corte.....	63
4.2. Efecto de inducción con <i>Rhizobium Japonicum</i> sobre las variables físico químicas, sensoriales y contenido de cadmio en almendras de cacao.....	65
4.2.1. Variables físico químicas.....	65
4.2.1.1. Temperatura.....	65
4.2.1.2. pH.....	66
4.2.1.3. Grados Brix.....	67
4.2.1.4. Variables de prueba de corte.....	67
4.2.2. Variables sensoriales.....	68

4.3. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre las variables físico químicas, sensoriales y contenido de cadmio en almendras de cacao.....	69
4.3.1. Variables físico químicas.....	69
4.3.1.1. Temperatura.....	69
4.3.1.2. pH.....	70
4.3.1.3. Grados Brix.....	71
4.3.1.4. Variables de prueba de corte.....	73
4.3.2. Variables sensoriales.....	74
4.4.3. Concentraciones de cadmio.....	75
CAPÍTULO V.....	79
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN.....	79
5.1. Conclusiones:.....	80
5.2. Recomendaciones:.....	81
CAPÍTULO VI.....	82
BIBLIOGRAFIA.....	82
CAPÍTULO VI.....	98
ANEXOS.....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción y su orden taxonómico del cacao.....	11
Tabla 2. Clasificación de los granos beneficiados y la calidad requerida según la normativa....	18
Tabla 3. Productos semielaborados exportados a partir de cacao.....	24
Tabla 4. Comparación de almendra fermentada y no fermentada.....	29
Tabla 5. Clasificación de sabores percibirles en la pasta de cacao.....	38
Tabla 6. <i>Condiciones meteorológicas del lugar de recepción.</i>	46
Tabla 7. Estructura ANDEVA.....	48
Tabla 8. Factores y niveles en estudio.....	48
Tabla 9. Arreglo de tratamientos.....	49
Tabla 10. Efecto de la variedad sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.....	61
Tabla 11. Efecto de la variedad sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.....	62
Tabla 12. Efecto de la variedad sobre los °Brix del cacao en su proceso fermentativo.	62
Tabla 13. Efecto de la variedad sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.....	63
Tabla 14. Efecto de la variedad sobre las variables sensoriales del cacao luego de su proceso fermentativo.....	64
Tabla 15. Efecto de la inducción con <i>Rhizobium Japonicum</i> sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.....	65

Tabla 16. Efecto de la inducción con <i>Rhizobium Japonicum</i> sobre la pH del cacao en su proceso fermentativo.	66
Tabla 17. Efecto de la inducción con <i>Rhizobium Japonicum</i> sobre la °Brix del cacao en su proceso fermentativo.	67
Tabla 18. Efecto de la inducción con <i>Rhizobium japonicum</i> sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.	68
Tabla 19. Efecto de la inducción con <i>Rhizobium Japonicum</i> sobre las variables sensoriales del cacao luego de su proceso fermentativo.....	68
Tabla 20. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.	70
Tabla 21. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre el pH del cacao en su proceso fermentativo.....	71
Tabla 22. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre los °Brix del cacao en su proceso fermentativo.	72
Tabla 23. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre las variables de prueba de corte cacao en su proceso fermentativo.	73
Tabla 24. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre las variables sensoriales cacao en su proceso fermentativo.....	74
Tabla 25. Interacción de las variedades de cacao por la inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> sobre las concentraciones de cadmio en cacao.....	76
Tabla 26. Análisis de los costos que se generaron durante la investigación experimental.....	77

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Estructura del haba de cacao.....	25
--	----

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Modelo matemático que se aplicará, de este respectivo esquema.	49
Ecuación 2. Índice de semilla.....	54
Ecuación 3. Prueba de testa y cotiledón.....	54

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> en la masa fermentativa de dos variedades de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Nacional y Trinitario como estrategia para la disminución de cadmio”.
Autor:	Luis Humberto Vásquez Cortez
Palabras claves:	<i>Rhizobium japonicum</i> , cacao, análisis, cadmio, sensorial, concentraciones, inducción, tratamientos.
Fecha de publicación:	
Editorial:	Quevedo, UTEQ, 2021
Resumen:	<p>El consumo de chocolate al nivel nacional e internacional tiene un índice muy elevado, para ser exportado debería cumplir con un reglamento 488/2014 de la Unión Europea, el objetivo principal de la investigación fue determinar si con la aplicación de <i>Rhizobium japonicum</i> en la fermentación existía una reducción de cadmio en las almendras de cacao y a su vez si mejoraba sus condiciones o aspectos sensoriales con la inducción del microorganismo que se indujo una vez cosechado aplicado al cacao fresco, en diferentes concentraciones 3%(60 ml) y 5%(100 ml), durante el tiempo fermentativo se realizó análisis físicos para conocer su pH, °Brix y temperatura. Las almendras secadas al sol durante 6 días, se les realizó la prueba de corte para conocer su estado de fermentación por cada 100 almendras al azar, se realizó a la pasta de cacao un análisis sensorial donde se evaluó aroma, sabor, acidez, amargor, intensidad, con ayuda de un panel de catación semientrenados que consto de 10 personas con el fin de conocer sensorialmente las variables antes mencionadas dando resultados significativos, además se hizo un análisis de costo por tratamiento para así determinar la rentabilidad en función a la inducción de este microorganismo dando como resultado los testigos T1 y T4 (\$52,02) y demás inducciones T2,T3,T5,T6 con un promedio de (\$53,94) dando como</p>

diferencia promedio de 1.92 ctvs. Se fijó conocer cuanto disminuía el cadmio con la aplicación de *Rhizobium japonicum* para lo cual se envió al laboratorio WSS mismos datos que fueron muy aceptables.

Palabras claves: *Rhizobium japonicum*, cacao, análisis, cadmio, sensorial, concentraciones, inducción, tratamientos.

Chocolate consumption at national and international level has a very high rate. To be exported must comply with Regulation 488/2014 of the European Union. The main goal of this research was to determine whether with *Rhizobium japonicum* application in fermentation there is a reduction of cadmium in cocoa almonds; and, if their sensory conditions or aspects would improve with the induction of the microorganism that was induced once harvested and applied to fresh cocoa, at different concentrations 3%(60 ml) and 5%(100 ml), during the fermentation time physical analyses were carried out to know its pH, Brix and temperature. Almonds were dried in the sun for 6 days, after this they were tested for fermentation status. For every hundred random almonds a sensory analysis was performed on cocoa paste where aroma, flavor, acidity, bitterness and intensity were evaluated; with the help of a semi-trained tasting panel of ten people, the above-mentioned variables were sensory-known with significant results; in addition, a cost-per-treatment analysis was performed to determine profitability based on the induction of this microorganism resulting in witnesses T1 and T4 (\$52.02) and other inductions T2,T3,T5,T6 with an average of (\$53.94) giving as an average difference of 1.92 ctvs. It was fixed to know how much cadmium decreased with the application of *Rhizobium japonicum* for which the same data was sent to the WSS laboratory with really acceptable results.

	Keywords: Rhizobium japonicum, cocoa, analysis, cadmium, sensory, concentrations, induction, treatments.
Descripción:	156 hojas; dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM
URI:	

Introducción

Theobroma cacao L. es una especie nativa de las regiones tropicales y subtropicales de América (América tropical) originario en el siglo XX antes de cristo, existen estudios que su procedencia data hace alrededor de 5500 años, pero se han hallado restos y evidencia química y físicas en las cuencas Amazónicas del Ecuador hallados en Zamora Chinchipe, de la variedad “fino de aroma” muy apreciado y solicitados por las industrias chocolateras internacionales (1).

En el Ecuador actualmente existe una mina de cacao, es símbolo en el mundo agropecuario a nivel Nacional en la historia ancestral ha sido el auge cacaotero, por su calidad a la elaboración de chocolate presentando un realce económico al orden interno de mercado e impugnando plazas en el extranjero, la producción representa el 70% a nivel mundial procedentes del territorio litoral Ecuatoriano y amazónico, por motivo delcual el Ecuador se convierte unos de los mayores productores de cacao fino de aroma del mundo, el cacao es uno de los principales productos desde la antigüedad de exportación ecuatoriana. Según el instituto Nacional de Estadística y censo (INEC), el sector cacaotero representa con el 5% de la población económicamente activa nacional (PEA) y el 15 % de la PEA rural, que conforma una base primordial de la subsistencia familiar costera del país, las estribaciones de las montañas de los andes y la Amazonía ecuatoriana (2).

Tuvo una afectación rotundamente desfavorable y por consiguiente unas de las pérdidas económicas en la agroindustria por el desinterés del cacao ecuatoriano, esto llevó a un efecto negativo, haber perdido el primer puesto a nivel global de exportación, esto sucedió debido a los cambios en el mercado global y consecuencia de la modificación del reglamento, en lo que respecta al contenido de cadmio en los productos alimentarios (3). En la actualidad las exportaciones de cacao fino de aroma especialmente hacia los mercados Europeos se pueden ver amenazados por los indicios de contaminación de metales pesado, esto creo incertidumbre a la población y al consumidor por la consecuencia de éste, ocasionando daños pulmonares críticos acompañado de reblandecimiento óseo que origina esta terrible enfermedad itai-itai que hubo un rebrote en japon por este metal, se estima que su origen de contaminación puede prevenir de forma natural o inducidas por el hombre (4).

De suma relevancia de la industria chocolatera es de exportar a diferentes mercados internacionales, sin ningún inconveniente por las concentraciones de metal, no permitidas por este agente regulador, evitando una devolución o rebote de la producción o el producto exportado, un riesgo de alto impacto de retumbe económico resultado de pérdidas significativas, así mejorando el producto interno y externo del mundo chocolatero. En la actualidad los consumidores exigen productos de alta calidad con excelentes características.

El prensado de las almendras origina tres productos principales los cuales son: el licor de cacao, manteca de cacao, y del residuo, el polvo de cacao, todo este conjunto que componen origina la masa de cacao y este es el pilar importante para la elaboración de diferentes variedades chocolateras tomando en cuenta el consumo del producto en niños mayormente y adolescentes, la investigación se enfoca a la disminución del contenido de Cd presentes en la masa fermentativa (5). Obteniendo minimización para mejorar la calidad mencionada pasta de cacao, para así vuelva a ganar presencia y sostenibilidad, ser reconocida por su chocolate de origen único y sublime.

El proceso a investigar y mitigar los contenidos presentes de cadmio en la almendra de cacao perjudica a la elaboración de chocolate, por lo cual se pretende inducir una bacteria gran negativa *Rhizobium japonicum* que su característica, pertenece al género *bradyrhizobium* de la familia *bradyrhizobiaceae*, es fijadora de nitrógeno atmosférico, a su vez proporcionando “N” fijo que es utilizable por las plantas, donde se aplica distintas dosis de concentraciones de Rhizobium y saber cuál es la mejor dosis a utilizar (6).

La dirección de investigación de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo pretende mitigar este problema de altos contenidos de cadmio en la producción cacaotera, a pesar de las limitaciones por la Pandemia se ha propuesto alternativas sostenibles para nuestros productores e industriales.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

El cacao es una de las materias primas de consumo alimentario más utilizadas para la exportación y elaboración de las industrias chocolateras. Es por ello que se debe restringir el contenido de metales pesados como lo es el cadmio, para lo cual se desea realizar concentraciones en inducción de *Rhizobium japonicum* en la pasta fermentativa en dos variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.): Nacional y Trinitario con el fin de determinar si presenta disminución del contenido de cadmio y así tener una mayor exportación a nivel Mundial. La pepa de oro por sus variables contenidos de cadmio es un reto para los productores porque están frente una vigorosa legislación suscrita por la Unión Europea donde indica el contenido limitante de cadmio que deben tener este producto final la pasta de cacao posteriormente a la industrialización del chocolate menciona que su limitante o igualdad no debe sobrepasar el 0.50 mg/kg de peso fresco, según la Unión Europea está vigente desde el 1 de Enero del 2019, poseer un límite de 0.3 a 0.8 mg/kg de cadmio en el chocolate y 1 mg/kg de plomo (7).

El problema que radica en la producción cacaotera es la gran incidencia de metales pesados en el suelo y como resultado productos con altas concentraciones de cadmio lo cual causa al consumidor daños renales, hepáticos e inclusive cáncer por la acumulación de los metales pesados en el organismo, la principal clave para evitar estos inconvenientes por la ingesta de este alimento, es buscar la solución para tratar de mitigar esta problemática, de tal manera que esta investigación busca por medio de la inducción de *Rhizobium japonicum* en la etapa de la post cosecha para ver su comportamiento y analizar los resultados, (8).

Diagnóstico.

Existe concentraciones de metales pesados en los suelos los cuales son absorbidos por la planta y así llegando al interior donde se concentra con mayor porcentaje en las almendras de cacao, toca resaltar si hay presencia de plomo existe la certeza que se encuentra cadmio, siendo este unos de los primordiales desafíos que se plantea y busca una solución definitiva o parcial en la industria chocolatera, investigar tratamientos para minimizar el contenido de cadmio procedente a la pasta de cacao.

Pronóstico.

Al no evaluar los contenidos de cadmio presentes en el cacao conllevaría a pérdidas de ingresos económicos de la zonas agrícolas e industrias alimentaria y nuestro cacao quedaría como unos de los productos que no tiene excelencia de calidad por eso debemos recalcar que este es un problema fundamental agroalimentario, por ello debemos ver una viabilidad proponiendo mejoras o solución para minimizar contenido de cadmio presente en la masa fermentativa induciendo esta bacteria para así disminuir los porcentajes de este metal pesado siendo favorable y seguro para la distribución y exportación.

Al tener menos porcentajes de presencia de cadmio con sus valores permitidos en las Unión Europea tendría un efecto muy favorable para la industria nacional, mejoraría la calidad de grano y las posibilidades de buscar mercados para exportar inclusive por la disminución de metales pesados automáticamente mejoraría la salud de los consumidores porque se obtendría una molienda óptima y un excelente y excéntrico chocolate gourmet muy natural y benéfico para la salud.

1.1.2. Formulación del problema.

La producción de cacao en el Ecuador es de mayor notabilidad e importancia, colocándose en los primeros lugares de exportación, debido a su calidad sensorial, actualmente existe una problemática que hace inca píce en la producción debido al cadmio por motivo del mismo se plantea la siguiente interrogante: ¿Qué concentración en inducción exógena de *Rhizobium japonicum* en fase anaerobia en la post cosecha fermentativa tendrá un efecto favorable como estrategia de solución para la disminución de cadmio?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿La inducción de la bacteria *Rhizobium japonicum* será eficaz en las propiedades de la almendra y comprobar por análisis si en la masa fermentativa del cacao existe un efecto para la disminución de cadmio?

¿Las concentraciones de *Rhizobium japonicum* influirán en el proceso fermentativo y así mejorar sus características de rendimiento y a la vez reducir el contenido de cadmio?

¿Será posible buscar una metodología en la masa fermentativa que permita potenciar la calidad de la pasta de cacao y comprobar si existe minimización de cadmio?

¿Al inducir *Rhizobium japonicum* en la masa fresca de cacao en las primeras 24 horas será posible acelerar el drenaje del mucilago siendo posible reducir la etapa fermentativa?

¿Sería capaz el microorganismo por osmosis penetrar la pared de la almendra y a su vez se active dentro de la testa?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo General.

Realizar inducción de *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa de dos variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional y Trinitario como estrategia para la disminución de cadmio.

1.2.2. Objetivo específico.

- Comparar el contenido de cadmio con el Reglamento N° 488/2014 de la Unión Europea en los diferentes tratamientos.
- Analizar la calidad física - química de las almendras inducidas con *Rhizobium japonicum* en fase anaeróbica.
- Evaluar sensorialmente la pasta de cacao (*Theobroma cacao* l.) de los tratamientos de estudio.
- Realizar el análisis económico por tratamiento.

1.3. Justificación.

En el Litoral ecuatoriano conjunto con la región amazónica juega un papel importante en la producción de unos de los mejores cacaos fino de aroma del mundo, se caracteriza por su calidad sensorial, siendo un producto demandado por los mercados internacionales que buscan calidad en las almendras que importan, por lo cual es de gran importancia el proceso de post cosecha ya que es en esta etapa que se generan los precursores de aroma, sabor.

Es de suma importancia mencionar que este proyecto buscar minimizar los porcentajes de cadmio presentes en la pasta de cacao, utilizando el microorganismo (*Rhizobium japonicum*), con el fin de regular este problema que es perjudicial tanto para el consumidor y el fabricante evitando pérdidas económicas o sanciones e intoxicaciones.

Los aportes obtenidos en esta investigación ayudarían a la industria chocolatera debido a que se remediaría este gran inconveniente que existe en la exportación, a su vez mejoraría la producción, ayudando a pequeños y medianos agricultores, dando un valor agregado a la producción ecuatoriana.

CAPÍTULO II.
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA
INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual.

2.1.1. (*Rhizobium japonicum*).

Es un microorganismo que corresponde a la familia de *Rizobios* que son bacterias gram-negativas de orden de *proteobacterias alfas*, fijan nitrógeno atmosférico, que inducen en la raíz o en el tallo de las leguminosas, en el mercado actual para los agricultores es de provecho porque se aplica como inoculantes, biofertilizantes sin empobrecer los suelos a los cuales se es aplicado (9).

2.1.2. Sensorial.

El sabor a cacao sostiene la producción mundial de productos de cacao y chocolate, el análisis sensorial es recomendable para verificar si el producto final es aceptable para el consumidor midiendo las propiedades tanto como olor, sabor y aroma, acidez, amargor y astringencia (10).

2.1.3. Masa Fermentativa.

Es la acción de fermentar los granos de cacao de una manera uniforme y permiten desarrollar propiedades organolépticas, atributos característicos del chocolate (11).

2.1.4. Cadmio.

Este metal pesado tóxico de tonalidad blanca levemente azulada presente en la naturaleza, genera contaminación en las aguas tanto externas y acuíferas, freáticas y en la parte de la superficie terrestre, genera intranquilidad por no degradarlo o destruirlo, por métodos externos puede ser disuelto por agentes físicos, químicos, lixiviados (12).

2.2. Marco Referencial.

2.2.1. Datos ancestrales del cacao.

Llamado árbol cacaotero o de cacao considerado unas de las especies más antiguas del mundo y productoras de variedades de alimentos y subproductos del mismo (13).

Tabla 1. Descripción y su orden taxonómico del cacao.

<i>Clasificación Taxonómica descriptiva del cacao.</i>	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Malves</i>
Familia	<i>Sterculiaceae</i>
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>T. Cacao</i>

Fuente: Manual del cultivo de cacao (14).

Originarios de hábitat de las selvas húmedas neotropicales endémicas de América del Sur (15) (14), el nombre científico que fue nombrado por el científico sueco Carl Von Linné razón por la cual lleva su abreviatura “L” después del Binomio (16).

Theobroma cacao L, relatan datos históricos que tuvo un renombre por el imperio Azteca “Chocolats” por ser considerados como un fruto de los dioses y una historia muy antigua de sus primeros hallazgos y empleo para la elaboración de productos de esa era (17).

Sus características organolépticas óptimas tanto su sabor a la vez su aroma únicos y resaltantes, por lo tanto ganó fama e inclusive por ser un estimulante de origen natural posee alcaloides similares a los del café o té y el mismo hace función de dar estímulos a todo el sistema nervioso la teobromina nombrada en la antigüedad como xantosa es responsable de este efecto beneficioso que brindaba e incluso fuerzas a un soldado, eran bebidas que inclusive solo eran para los hombres importantes y emperadores del imperio o personas nobles denotaba elegancia y poder (18) (19).

Existen indicios de esta planta en su domesticación remota a los mayas aproximadamente 2500 años además la bebida que era tendencia en aquella época era xchocalt, posteriormente los aztecas aprendieron de los mayas el cultivo, la cosecha y el uso de cacahuat nombrado así como cacao, este pudo ser tan valiosa que inclusive la almendra se la utilizaba como moneda un valor muy significativo para los indígenas milenarios, un rubro antiguo que se podía comprar o adquirir por medio de ellos otros productos distintos esta usanza permaneció años posteriores de la consumada la conquista española, tanto fue así que se dio la gran necesidad de aumentar y fomentar el cultivo de cacao en mayor escala procedente y originario de América (20).

Las evidencias y hallazgos arqueológicos que dan datos específicos de su origen y domesticación del cacao encontrados en los sepulcros del alto linaje de la cultura Maya donde se corrobora que el cacao fue muy simbólico para ellos siendo el cacao un fruto de mucha importancia e indispensable, estos podían ser objetos previamente analizados que fueron encontrados; símbolos en pinturas, murales, esculturas, vasos funerarios Mayas de la alta realeza noble y jeroglíficos las investigaciones tuvo un conjunto de alto realce antropológico, etnográficos, lingüístico, epigrafía y etnohistoria y los códices Prehispánico de Mesoamérica se pudo verificar restos de cacao y el significado que generaba la bebida y su economía y sin duda la producción del árbol de cacao (21).

2.2.2. Cacao en el Ecuador.

En la actualidad el Ecuador es mencionado a nivel internacional motivo que existen teorías y estudios realizados por la Universidad Técnica estatal de Quevedo conjunto con el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, estación experimental tropical Pichilingue y con contribución el Centro de Cooperación Internacional de Investigación Agronómica para el desarrollo del País de Francia y gracias al apoyo económico para realizar este estudio participó el Departamento de Estado de Estados Unidos Departamento de Agricultura, lo primordial del avance científico en la indagación del ADN de árboles cacaoteros milenarios Nacionales y este fue la pieza importante para determinar el origen y domesticación fue en la alta Amazónica de la zona ecuatorial (Santa Ana-la Florida, de la Provincia de Zamora Chinchipe) y este va conformar una llave principal además inapreciable para

perfeccionar las cualidades para la producción e inéditos árboles de cacao aromáticos de género Nacional (22).

Como otros indicios de convicción altamente científicas se encontraron rastros y partículas que se analizaron en laboratorio y este han estado presentes en las piezas arqueológicas de esta cultura antigua perteneciente al Ecuador (22) (23).

2.2.3. Cacao y la economía en el País.

Ecuador la cuna del cacao y del chocolate según los antecedentes de la Organización Internacional del Cacao, el primigenio productor tanto a nivel local y sin duda global obtuvo el 60% de la demanda Mundial del cacao y solo el 8% es del cacao global es fino de aroma con estos porcentajes podemos darnos cuenta la gran importancia económica que tiene la nación sobre este fruto, el primer Boom del cacao datan desde 1750-1820 del término del siglo XVII este se volvió el producto valioso tanto económico como cultural y patrimonial en la vida el Ecuador la primera incorporación de productos primarios al mercado exterior fue en el lapso desde 1840-1920, en el periodo que entró en el mercado mundial distinguido con su nombre que fue progresismo 1884-1895 (24).

El posterior auge es del 1870 y 1925 mejor renombrado como la pepa de oro que fueron los mejores años de prosperidad y desarrollo y el tercer auge tuvo indicios aproximadamente a mediados de la primera década del siglo XXI y este sigue su curso en estos tiempos, el Ecuador resaltó en el año 2013 distinguido el mejor y de mayor productividad y exportador de cacao de continente Latino Americano ganándole las producciones del País Brasileño esto ocurrió que se produjo 220,000 toneladas métricas en nuestra Nación en ese mismo año, al contrario que la República Federativa de Brasil solo pudo llegar a 194,382 toneladas resultado de este hecho histórico Ecuador denoto el cuarto puesto de exportador mundial del cacao en 2015 (24).

El cacao como unos de los principales productos agropecuarios de orden exportador dando de orden de suma importancia un promedio de estimación anual alrededor del 6% del total exportado de nuestro país gracias al mismo y a la conquista de mercado mundiales hubo incremento del comercio y el mismo garantizó la formación de la organización de una institución bancaria sofisticada (25) (26).

En la actualidad anualmente se exporta 300,000 toneladas de cacao por año, este incremento a escala creciente muy significativa es del 110% durante esta última década, por ende la cadena de valor que ayuda tanto productivamente y económicamente es alrededor de 600,000 familias en todo el país (27), en el año 2016 representó el 80% productores pequeños, las provincias que aportan en la producción nacional corresponde: Guayas, 28%; Los Ríos, 23%; Manabí, 13% (28).

En el mismo año hubo un alza de 66 Compañías centralizadas en el foco de producción de cacao estas están en zonas estratégicas como Guayas, Pichincha y el Oro, brindando a 561 ciudadanos trabajo, en este mismo tiempo hubo otra alza de 32 empresas en la Provincia de Pichincha generó plazas laborales alrededor de 470 personas tanto es la segmentación del mercado que beneficia a muchas familias Ecuatorianas que viven del cultivo del cacao una trayectoria que dio resultado en la actualidad y de esta manera nuestro País se sitúa como el ejemplo más competitivo en Latino América gracias a sus estudios continuos e investigadores que fomentan al mejoramiento de la productividad con los estándares más altos del mercado mundial y tecnológico (29).

Los datos de ICCO, el país del continente de América del Sur tierras Ecuatorianas se cultivan unos de los mejores granos de cacao y están entre los primordiales productores a escala mundial representa con el 7% de la productividad global, el continente Africano región de África occidental que encabeza la mayor demanda del planeta esta se empodera las tres cuartas partes a nivel internacional que corresponde el 73.3% (30).

2.2.4. Cacao de tierras ecuatorianas sinónimo de calidad.

En el mundo de la producción e industrialización teniendo una trayectoria satisfactoria y reconocida por varios países en el mundo de la agricultura e industrialización Alimentaria depende mucho en todo el sentido de la palabra calidad; el concepto más actual es del reconocido Ingeniero especializado en Estadística Taguchi Gen'ichi este define: "Un producto de calidad es aquel que minimiza la pérdidas para la empresa y la sociedad" (31); en su totalidad se necesita aumentar y tener una mayor mejora para

que la materia prima sea óptima y por ende productos industrializados de calidad, omitir pérdidas significativas tanto para la industria y principalmente para el agricultor y la economía agropecuaria y de la agricultura este es el ingreso esencialmente para el Ecuador (32).

INIAP recomienda como obtener calidad en el Cacao depende de varios factores que los que dan; material genético a cultivar que brinda mejoras de alta productividad, resistencia a las enfermedades que carece el cacao y denotando excelentes propiedades sensoriales unas de las mejores de América Latina en calidad organoléptica, el manejo de cultivo postcosecha evitando agroquímicos que contengan mucha cantidad de metales pesados que esto afectaría en la recepción del cacao y por lo tanto el producto final, posteriormente el tostado del cacao en la fábrica (33).

El cacao de calidad tiene una relación estrecha con la cadena agroalimentaria tanto en la trazabilidad de la postcosecha:

Fermentación y secado; este es el más notorio en la mayoría de los agricultores a diferencia del artificial que puede afectar las cualidades de la almendra o quemado olores y aromas que no queremos en las etapas finales el más utilizado, empleado desde siglos, el secado con la luminosidad y temperatura del sol; este genera temperaturas inferiores a 60°C y este manifiesta la notación e incremento brindado notas de sabores y aromas peculiares que nos hace distintos de nuestra región a las demás competencias, es de prioridad este método fermentativo porque así se evita tener una mal deseada y excesiva fermentación que alteraría a la almendra de tal manera como lo define Graziani (34).

Este método fermentativo es primordial porque evita que genere propiedades sensoriales desagradables al comprador y de esta manera el grano sea el esperado para la comercialización y no perder grandes cantidades de cacao útil para la exportación (35).

Es de importancia la calidad juega un papel importante tanto el grado y tiempo de la etapa de acidificación de los cotiledones cuando está produciéndose la fermentación por ende exista un aumento/disminución de las notaciones sensoriales del aroma (36).

Cuando existe un anabolismo una absorción en el cotiledón es porque tuvo una reacción metabólica en la asimilación microbial de la pulpa, que estos son necesarios para producir la muerte del embrión de la almendra durante el proceso de la fermentación y estos ácidos previenen la germinación de la semilla, solubilizar las moléculas de polifenoles previenen la acción perjudicial de ciertos microorganismos que estos tienen un efecto negativo en dar sabores que alteren en el producto final y que no afecte las cualidades primordiales (36).

2.2.5. Normas de calidad.

Estas Normas ayudan a generar productos de calidad para ser acatados por la industria, el control de calidad en el Ecuador que emite certificación de calidad es ANECACAO por no tener un documento de calidad existiría varios inconvenientes por desconfianza en la alteración de mezclas por granos sanos o con defecto, humedad, daños o enfermedades en el mercado internacional son estrictos se necesita un control y de trazabilidad de la cadena de valor (37).

En varios países para la comercialización de cacao y compra del mismo solicitan que el producto sea óptimo y perfecto para evitar contratiempos de alguna índole que altere la economía o venta del mismo sabemos que perder un lote ocasionaría pérdidas muy significativas, la calidad depende de la negociación que sea fermentado, totalmente seco, evitar los granos quemados que alteren sus características organolépticas aroma y sabor, un cacao que no posee ningún tufo o fetidez además olores que no sean netamente del cacao, debe estar libre de inconvenientes de patógenos o de mohos y libre de alimañas (38), evitar que existan quiebres de la almendra que dañen la calidad del cacao debe ser todo homogéneo (39).

Para la Exportación de un cacao de excelente calidad debe pasar por varios filtros los más importantes para que sea aprobados para la comercialización y venta debe aprobar estos aspectos fundamentados por las normas de calidad INEN:

Norma INEN 175 (Pruebas de corte): Todo lote debe sacar una muestra para ver la calidad del grano por medio de la prueba de corte transversal y verificar si existió una adecuada Fermentación o si existe incidencia de sobre fermentado a veces existe lesiones visibles por algún insecto o por hongos se puede corroborar por un análisis visual lo que perjudicaría la presencia de esta la mala aceptación del producto final como es el chocolate por las alteraciones características de los chocolates puede volverse agrio o astringente (40).

Norma INEN 176 (Requisitos): Define todos los pasos y propiedades que debe tener que sean óptimos y debe cumplir el cacao en grano y los diferentes perspectivas que se debe acatar para la clasificación y posteriormente los criterios para comercializarlo (41), la norma indica y decreta que el porcentaje como mínimo de fermentación de la almendra de cacao debe ser relativamente entre 70 a 85% el INEN indica que la humedad en el interior de las habas de cacao debe ser menor del 7%, referente al contenido de habas defectuosas no debe superar el 1% de granos partidos o defectuosos, una almendra de excelente calidad debe estar sin ninguna peculiaridad libre de forma total de agentes externos que afecte su propiedades sensoriales como tales agroquímicos, olores a humos, moho, ácido butírico no debe estar putrefacto entre otros (42).

INEN 176:2018 es una norma que decreta los parámetros que se deben regir en las almendras de cacao y calificarlos por medio de los criterios que sean necesarios para su previa clasificación con el fin de la exportación y la comercialización en las plazas internas, el cacao debe desempeñar varios requisitos que a continuación se especifica (42).

Tabla 2. Clasificación de los granos beneficiados y la calidad requerida según la normativa.

Requisitos	CACAO FINO			CACAO CCN51		MÉTODO DE ENSAYO
	A.S.S.S	A.S.S.	A.S.E.	C.S.S	C.S.C	
Humedad, máx., %+	7	7	7	7	7	INEN-ISO 1114
Peso de 100g Granos fermentados mínimos, %	>130	>120 ^a 13	100 ^a 12	<125	110-125	A
Granos violetas, máx., %	75	65	53	68	55	INEN ISO 1114
Granos pizarrosos, máx., %	15	21	25	18	26	INEN ISO 1114
Granos mohosos, máx., %	9	18	18	12	15	INEN-ISO 1114
Granos Totales (análisis sobre 100g), min	1	2	4	2	5	INEN-ISO 1114
Granos defectuosos, máx., %	100	100	100	100	100	
Material relacionado al cacao, Máx., %	0	1	3	1	3	B
Material extraño, máx.%	1	1	1	1	1	B
	0	0	0	0	0	B

Las siguientes simbologías representa a la numeración científica 0,01 en denominación científica.

^a Toda cantidad másica debe ser tomada con un equipo de peso.

^b Cantidades normales o iguales a 500 g de muestra.

Clasificación de siglas cacao fino de aroma y CCN- 51

A.S.S.S.	Arriba Superior Summer Selecto.
A.S.S.	Arriba Superior Selecto.
A.S.E.	Arriba Superior Selecto.
C.S.S.	Cacao Superior Selecto.
C.S.C.	Cacao Superior Corriente.

fuentes: NORMATIVA ESTANDAR INEN N° 176: 2018 (42).

Norma INEN 177 (Muestreo estadístico): Esta norma rige condiciones y parámetros que deben ser acatados por medio de un muestreo evidenciando la transparencia del proceso de control de calidad (43) (44).

Norma ISO 2451: Define los requisitos, la clasificación y posteriormente el muestreo, los métodos de pruebas, el empaquetado, y la separación de las almendras buenas, prácticas de cuidado de almacenamiento y relacionadas con la misma y la desinfección de las habas (45).

2.2.6. Tipos de cacao en el Ecuador.

Toca mencionar que los tipos de cacao el fino de aroma conocido popularmente como Nacional o Criollo y sus variedades; el cacao CCN-51 y Trinitario y Forastero (46).

2.2.6.1. Cacao Nacional.

Esta es muy valiosa y apetecible en los países extranjeros por su sabor y propiedades sensoriales existe demanda en las plazas más estrictas y exigentes para elaborar chocolates de alta calidad Gourmet por su excelente sabor y óptima calidad, la planta es de tamaño bajo y diferentes a los otros menos robustos, sus hojas en forma de ovalo verde claro y su habas de tonalidad blanquecina, su viabilidad que su fermentación es muy corta, de mucho tiempo atrás este era confundido por el cacao Forastero ya que sus cualidades del árbol y su fruto asemejaba al cacao Forastero gracias a las investigaciones consecutivas e interés del cacao se confirmó que el Nacional es muy cercano al cacao criollo correspondiente a parecidos de la parte de su morfología y código genético (47).

En los países internaciones es catalogado Cacao Fino de Aroma este es reconocido único en el mundo por su aroma y sabor sin igual y en los países internacionales alrededor de 200 años anteriores del 2020 en tierras del Rio Guayas donde fue la concentración para las embarcaciones para la exportación a países internacionales y desde esos tiempos este gano fama y segmentación del mercado donde lo denominaron cacao arriba su tonalidad de la mazorca es verde posteriormente amarilla en su tiempo de madurez (48).

Según Crawford que este cacao es la única variedad que fue cultivada, en los años 1980 denotó vuestro país como el mejor producto a nivel global y alrededor de dentro de los 10 años Ecuador fue el mejor exponente de cacao de todo el mundo (25).

2.2.6.2. Cacao Forastero.

También conocido como Amazónico su almendra es tamaño menor a diferencia a las otras especies de cacao con color violeta oscuro, posee una cascara gruesa y resistente su mala calidad es que poco aromático por su menor calidad de sabor y aroma el sabor no apetecido y poco consistente puede ser el factor por el mucilago amargo que causaría astringencia (49), para corregir y optimizar los defectos de la almendra se necesita un intenso tueste por ende su calidad sensorial a aromas quemados de la gran cantidad de chocolates (14).

2.2.6.3. Cacao Trinitario.

Es el resultado de un híbrido natural un cruce del cacao criollo conjunto con el forastero y este se lo denominó cacao trinitario (50), es un árbol fuerte a plagas, insectos y productor este es el más sembrado en los cultivos de cacao en el continente de América por su adaptación a diferentes entornos ambientales (51), este ocupa alrededor del 10-15% de productividad global existen muchos cultivos trinitario de preferencia en América, (52) en la etapa de maduración posee un aspecto rojo leve algunos son de color anaranjado u otros con frutos verdes o con pigmentaciones, y su almendra que esta entre el color violáceo oscuro tendiendo a palo rosa (14).

2.2.6.4. El clon del Cacao CCN51.

Este clon solicitados anteriormente no era apetecible por su acidez y ser astringente pero actualmente en los mercados chocolateros a nivel mundial aparece catalogado como estrella en las plazas mundiales productoras de almendra de cacao pero no tiene las características frutales, rematicos y florales como el cacao fino de Aroma algunas industrias de chocolate no lo utilizan; sus características a favor son rendidores por la obtenciones de semielaborados y elaborados tiene un óptimo rendimiento y es resistente a enfermedades fúngicas es resistente a la escoba de bruja, tradicionales procede a tener mayor producción a diferencia que el cacao criollo (53).

Con una excelente trazabilidad se puede obtener chocolates de calidad, es uno de los mayores semielaborados de extracción de manteca que se generan por los altos porcentaje contenido de grasas naturales y a la vez es ventajoso para la industrial procesadora de alimentos la ventaja de este clon es auto compatible, además arroja su producción en 2 años (54) (55).

Este lleva su nombre por el creador de este clon de cacao en los años 1960 en Naranjal selecciono algunos híbridos para tener todas las cualidades necesarias y este llamado CCN-51 a nombre de Colección Castro Naranjal su color que lo caracteriza es el rojo (56).

2.2.7. Tipos de enfermedades del cacao.

A lo largo de la historia se ha venido utilizando agroquímicos los cuales ha generado enfermedades que han sido de favorables en las producciones e industrias procesadoras, resultado de estas malas prácticas han causado tierras infértiles de producción cacaotera donde se notó un decrecimiento económico que a su vez causan pérdidas significativas en el sector agropecuario cacaotero (57), es por esta razón que la utilización excesivas de funguicidas y herbicidas e insecticidas que son plaguicidas siendo estos perjudiciales por los altos contenidos de metales pesados como cadmio que a la vez contaminan el ecosistema y las tierras donde se acumula y posteriormente es captado por el árbol de cacao y a la vez afectando directamente a la almendra de cacao, pero este tiene como factor prevenir y cuidar de las enfermedades a la producción cacaotera, consecuencias de este acto la disminución de fertilidad de los suelos adicionalmente el uso de fertilizantes fosfatados para el incremento de la productividad y mejor rendimiento del fruto (58), donde la entrada principal de la economía era el auge cacaotero existieron declives para los agricultores y dueños de las empresas que tenían producciones de cacao donde género en gran tamaños perdidas de cultivos y las responsables fueron la Monilla y Escoba de Bruja (59).

El cacao fino de aroma “Criollo o Nacional” que es de las producciones más sensibles que sería su defecto ya que es receptor de la Moniliasis y Escoba de Bruja, a pesar del

manejo integrado que son adecuados para aplicarlos; no son acogidos por los Agricultores que se dedican en la producción del cacao algo nefasto para la calidad final, la acción de mezclar entre granos del fruto sanos y enfermos produciría una alteración en el lote de producción y posterior un producto final con malas cualidades organolépticas y pérdidas de ganancia (60).

En los territorios quevedeños (Quevedo) aproximadamente el 80% de los frutos enfermos poseyeron sintomatología de Monilla y el restante Escoba de Bruja y Fitoptora con el 20%, la primeros rastros de hongos en el árbol de cacao fue en las tierras de Quevedo Provincia de los Ríos por Rorer en 1915(61) (62).

2.2.8. Aspectos negativos de la utilización excesiva de agroquímicos.

Son causantes de generar acumulación de metales pesados en los suelos y relativamente en la mazorca y en la almendra donde se almacenan estos restos que causan reducir la calidad y pérdida económica se encuentra en ciertas plantas productoras restos de fitoextractoras de plomo, cadmio y cobre una característica negativa de la planta de cacao es su factor de bioacumulación de metales pesados y posteriormente un chocolate de pésima calidad y perjudicial al ser humano razón por la cual algunos países internacional prohíben excesiva cantidad presente de estos metales en la semilla del cacao, es recomendable usar un control biológico este usa organismos vivos para minimizar la inoculación del patógeno (63).

2.2.9. Los cuatros factores más importantes que evidencia la aparición de enfermedades en la producción cacaotera.

La aparición de estas enfermedades que son perjudiciales a la producción y siembra de cacao tiene una estrecha relación puntual en el material seleccionado de la semilla y posteriormente un mal manejo de Buenas Prácticas Agrícolas que no son las adecuadas para la productividad y acompañado del estado geo climático del lugar de siembra (64).

2.2.9.1. Genética.

En la actualidad se han mejorado la calidad de la semilla del cacao para ejercer un lote de cultivos que no sea susceptible a enfermedades o a pérdidas de la mazorca o poco rendimiento del mismo investigadores han mejorado la líneas de cacao usando clones de cacao que ayudan a mejorar resistencia y rentabilidad mejorando sus cualidades (65), se busca en ellos permitir subir el volumen de producción por hectárea tenemos el clon aroma Pichilingue EETT800 y el Fino Pichilingue EETT801 estos mantienen su calidad organoléptica del cacao y potenciar su producción (66), las líneas híbridas son el mejoramiento del material genético, su efecto de mejoramiento de los clones ocasionan una respuesta en su genoma y en su genética haciéndoles fuertes y rentables en producción manteniendo y mejorando sus características de aroma (67).

2.2.9.2. Humedad adecuada y precipitación.

Lo ideal debe oscilar una precipitación por año en los cultivos de cacao debe estar alrededor de 1,500 a 2,500 mm si este rango sobrepasa existirá mayor repercusión de enfermedades criptogámicas a pesar que exista un porcentaje menor de 1,500 este sería perjudicial igualmente para los cultivos porque aparecen ataques de insectos acompañado de una humedad relativa que su rango debe ser superior a 70%, las altas lluvias en invierno produciría en las hojas de las plantas rocío y estas van a ser receptoras de enfermedades y hongos por el estado climatológico como la humedad son un enemigo mortal para el productor (65).

2.2.9.3. Suelo.

Un suelo demasiado húmedo provoca muchos perjuicios ocasionados por incrementos de lluvias y consecuencia de acumulación de agua o charcos posteriormente ausencia de drenaje estos a la vez incrementan el desarrollo de patógenos que genera la muerte de la planta por lo que ocasiona a que la raíz se pudra y cause muerte de la misma debe poseer el suelo excelente pH este es sinónimo de valores altos de nutrientes benéficos para el árbol de cacao (68).

2.2.9.4. Nutrición.

Si la planta posee buena nutrición su efecto va ser que tenga incremento de resistencia y defensa hacer susceptibles a enfermedades además los cultivos tendrá un mejor rendimiento junto a una notable rentabilidad (69).

2.2.9.5. Semielaborados del cacao.

El cacao es un producto que se aprovecha al máximo desde su cascara de la mazorca e inclusive el mucilago además en año 2018 estos tuvieron el 6.33% de abastecimiento exportable de cacao y productos industrializados con \$47'00,000 donde tuvo mayor acogida en los mercado de la Unión Europea y EEUU (70).

Tabla 3. *Productos semielaborados exportados a partir de cacao.*

Semielaborados	Porcentajes (%)
Licor o Pasta	46.94
Polvo	28.34
Manteca	23.36
Torta	1
Nibs	0.36

Fuente: Productos semielaborados exportados según Anecaco (70).

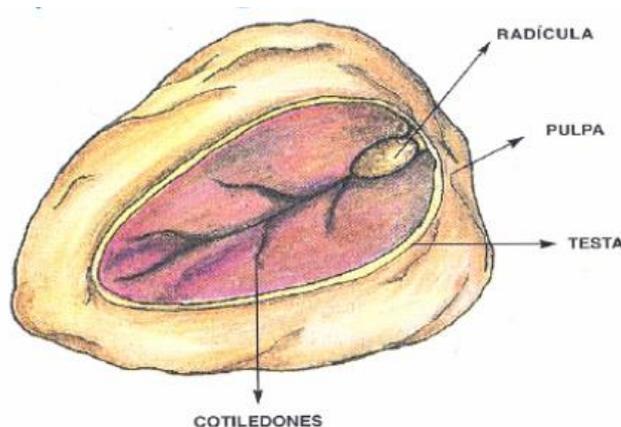
2.2.10. Chocolate del Ecuador.

El chocolate Ecuatoriano cumple todos los estándares Internacionales por el excelente cacao de selección fino de aroma, floral y además por el uso de almendras seleccionadas y cumpliendo todas las normas de calidad y de higiene libre de cualquier desperfecciona tenemos un ejemplo en la industria chocolatera Pacarí que inclusive asido galardonada consecutivamente y además produce chocolate orgánico que consiste en elaborar en temperaturas bajas un procesamiento muy ligero para así conservar los antioxidantes naturales se denota este chocolate porque no son procesador como los chocolates Gourmet y es un emplea en el mundo industrial del cacao, Ecuador es capaz de ser exportador de chocolate en mayor cantidad y liderar mercados por su gran variedades de cacaos únicos en su especie y denotar sus sabores excéntricos (71).

2.2.11. Taxonomía de la almendra de cacao.

La semilla de cacao o habas también como almendra y granos de cacao está constituido por 2 cotiledones, el embrión y la almendra esta recubierta por la cascara es de buen tamaño la semillas con una medición de una almendra posee un color que puede ser purpura de aproximadamente de 2 a 3 cm de longitud y sabor astringente y esta está rodeada y cubierta por el mucilago es altamente fuente de proteína y en materia grasa además de ser un alimento muy nutritivo su productividad aproximadamente 440 semillas por kilogramo (72). Ver almendra de cacao en la ilustración 1.

Ilustración 1 Estructura del haba de cacao.



Fuente: Virtudes y delicias del chocolate. Compañía del chocolates 1999 (73).

2.2.12. Cosecha de cacao.

Su procedimiento a cortar de la planta el fruto es recomendable hacerlo cuidadosamente procediendo a cortar la mazorca por la parte superior e inferior para así aprovechar al máximo y conservar su olor y sin aroma estas son utilizadas los frutos sanos y maduros esta ocurre posterior a 6 meses después de haber sido fecundada la flor la cosecha debe realizarse máximo cada 15 en épocas de invierno y 30 días en tiempos secos la selección dependerá del agricultor por ende si se selecciona semillas inmaduras las sustancias de azúcares que están presentes en la almendra esta no se encontraría en excelentes calidad para posteriormente el proceso químico y bioquímico a lo largo de la fermentación (74).

2.2.12.1. Extracción de las almendras del cacao.

Este procedimiento se procede a retirar la semilla de forma no artesanal y de forma artesanal es el drene de la mazorca su procedimiento es con ayuda de los dedos o con un instrumento para facilitar el labor, deslizando por las cavidades de la vena céntrica del fruto con el fin de prevenir de retirar teniendo en cuenta el mezcle con los granos es recomendable seleccionar las mazorcas que no estén enfermas o presencia de algún parásitos porque menoraran la calidad de las almendras de cacao o que la mazorca este demasiada maduras porque vamos a obtener semillas germinadas y presencias de mohos (75).

2.2.12.2. Procesos de postcosecha.

Estos procesos son de importancia absoluta y estos determinan la excelente calidad del grano brindándole exquisitas propiedades organolépticas y sensoriales para que resalten su aroma, sabor y color de la haba de cacao, un mal manejo de estas afectarían su calidad y un producto final desagradable para el consumidor (76).

2.2.13. Fermentación de la almendra de cacao.

Se procede a la cura, preparación y cocinado conocidas de este modo, es la actividad que las habas seleccionadas frescas y de excelente calidad se procede a la aniquilación de embrión esto ayuda a que exista mejor calidad y desarrolle sus propiedades dando así ese sabor y ese aroma del chocolate a base de almendras de cacao ecuatorianas si no existe una fermentación optima vamos a tener unas almendras de pésima calidad y astringentes, todo productor requiere un grano “hinchado” de tonalidad marrón y con excelentes cualidades (77).

Esta etapa consiste en ubicar las almendras cosechadas de la mazorca en recipientes o a montes apropiados es recomendable recubrirlas para generar que exista las condiciones adecuadas un ambiente semicerrado y este permite un sin número de alteraciones físicos y químicos y bioquímicos en lo que comprenden la almendra en lo que engloba la testa o la cascarilla tanto el mucilago que contiene en su rededor y en la parte interna del cotiledón, el proceso de fermentación puede ser en tendales con hojas de plátano también el uso de costales de yute con el fin de este uso para aumentar los parámetros de temperatura interna y la fermentación sea optima previniendo así la proliferación de microorganismo o hongos que tiene un efecto negativo la presencia de estos y altera la etapa fermentativa (77).

2.2.14. Porcentaje de Fermentación.

El rango y porcentaje considerable y excelente de fermentación debe ser mayor a 60% o igual, existen otro parámetro que indica que el índice de fermentación debe superar el 75% (78); el porcentaje mínimo que se debe requerir en la industria para el beneficio del sabor a cacao debe ser 75%, la relación directa a considerar que el porcentaje de las habas fermentadas a diferencia con la no fermentadas debe ser mayor del 75%, estos granos de cacao bien fermentados es fácil de distinguir, la clase de almendras purpura tiene que tener un color café además de los granos que poseen aun cotiledones blancos tiene que tener un color pardo marrón claro. (79) .

2.2.15. Fase de la fermentación.

2.2.15.1. Fase anaerobia (se produce en ausencia de oxígeno).

Los microorganismos responsables y de carácter anaeróbica son por la activación de las levaduras la que ocasiona variables fenómenos químicos en los cuales los azucres en donde se puede percibir olores muy característicos al vinagre este fenómenos sucede al darle la vuelta al grano que produce este factor de entrada de oxígeno que provoca la oxidación de los azucres y promover bacterias benéficas que ayuda a que la pulpa proceda a transformarse en productos tales como agua, alcohol etílico a ácido

aceitico entre otras sustancias relativas, esta primera etapa se lo realiza después de las 36 a 48 horas del inicio de la fermentación con una temperatura recomendable 45 °C en promedio (77).

2.2.15.2. Fase oxidativa de los polifenoles.

En esta fase por la presencia de otros microorganismos ocurre esta significativa que promueve notables cambios en el pH, esta segunda etapa se la realiza después de 48 a 80 horas del inicio de la fermentación la temperatura depende de los procesos frutales en este caso se los mantiene los grados y bajar los grados en procesos florales (77).

2.2.15.3. Fase aeróbica (Se produce con oxígeno).

Las bacterias y bacilos que estas tienen una resistencia a altas temperaturas y va perjudicar la el cholate y sus propiedades sensoriales alterando su composición organoléptica. Este último volteo que va de 100 a 120 horas posterior del inicio de fermentación la temperatura procede a decrementar a 39° C (77).

Cuando las transformaciones esta terminadas los olores volátiles del vinagre tendrían que estar ausentes posteriormente se procede a la prueba de corte y alguna desconformidad en el proceso fermentativo y corroborar si existió la muerte del cotiledón o defectos como granos quebrados, pizarros o pastosos mal fermentados apenas en estas circunstancia el proceso está cerca de su finalización los microorganismos presentes como tal la *Saccharomyces cerevisiae* iniciaron a prevalecer tener en cuenta a subir más temperaturas puede ocurrir por lo general y se corre un riesgo a perder el lote por la sobre fermentación que va tener un efecto de sabor y olor desagradables como rancios esto ocurre por los carbohidratos de los microorganismos que actúan en las grasas del cacao y esto daña totalmente la calidad de la almendra de cacao (77).

Las características del haba de cacao pasado el proceso de fermentación comparando la de sin fermentar y sus efectos.

Tabla 4. Comparación de almendra fermentada y no fermentada.

Características	Almendras	
	Fermentada	Sin fermentar
Características	Fermentadas	Sin fermentar
Sabor	Ligeramente amarga	Astringente desagradable
Aroma	Apetecible	Desagradable
Forma	Hinchada	Aplanada
Color interno	Café oscuro	Café violeta
Textura	Quebradiza	Firme (Compacta)
Separación de la testa	Fácil	Difícil

Fuente: Manual del cultivo de cacao Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador 1994 (74).

2.2.16. El tiempo de fermentación.

Este tiempo es importante y depende del factor del tipo de cacao las almendras del cacao Nacional debe ser entre tres a cuatros días esto depende de la cantidad del mucilago, estaría alrededor de 120 a 144 horas desde el depósito de las almendras en los recipientes. Es recomendable no mezclar almendras de cacao de varias clases o de otros días de cosechado porque esto afectaría a la fermentación y a no poder completarse y tendríamos un producto de mala calidad es aconsejable la recolección de mazorcas bien organizada es factible en pocos volúmenes y poder fermentar en el mismo día toda la cosecha (80).

2.2.17. Método para una óptima fermentación.

En nuestro medio más conocidos y tradicionales para esta labor los agricultores o productores proceden hacerlos por cajas de madera, sacos de cabuya o montes y marquesinas estos mencionados son aptos para una fermentación teniendo en cuenta de acuerdo el lugar y las condiciones de su alrededor y el volumen a producir (81).

2.2.18. Tipos de fermentación.

2.2.18.1. Cajas de madera.

Habitualmente y es de preferencia la utilización de este método porque este garantiza una absoluta calidad sensorial y sus propiedades organolépticas optimas previamente introduciendo habas de calidad si ningún defecto (65).

Posteriormente a la colocación de las habas al interior es recomendable cubrir con hojas de guineo para mantener la temperatura adecuada y por 48 horas se deja reposar antes de la remoción, al momento de hacer las remociones a las almendras nuevamente se le cubre y se los deja por 48 horas posteriormente a retirar la masa al tendal, es recomendable usar maderas blancas para la construcción de estas cajas fermentadoras, por motivo que no generan algún olor o barniz que altere la calidad de la almendra de cacao es recomienda que tenga muchos orificios para el drenaje del mucilago y se drene toda la baba adicional para el excelente drene de fluidos este cajón debe estar 10 centímetros sobre el suelo (65).

2.2.18.2. Sacos.

Es utilizado a nivel de pequeños productores a base de costales de polietileno o cabuya o yute en el interior donde van a estar las almendras se los asegura bien y posteriormente se los coloca en el suelo no tiene mucha presencia de oxígeno ventilación y por ese motivo es muy elevado la humedad interna no es muy aconsejable la utilización de sacos de yute de nylon que presenten orificios muy pequeños y esto no va permitir el drene adecuado por lo tanto van existir almendras con pizarras o violetas mal fermentadas por la poca ventilación y es responsable por la fermentación láctica y Buriticá (65).

2.2.18.3. Montones.

Estos son en las regiones de la costa generalmente por pequeños y medianos agricultores su procedimiento es colocar sobre el terreno hojas de guineo o construidas con productos de origen de las hojas de plantas o vegetales que este ayude que no esté

directamente teniendo contacto con el terreno para evitar hinchados o mal drenaje y pésima fermentación evitando la aparición de mohos o hongos, las almendras se lo colca en forma de rumas deben se protegidas con la hojas guineo o de tipo vegetal o yute para poder controlar la temperatura interna y la fermentación adecuada que no exista escape de calor (65).

Es recomendable utilizar un recubrimiento para que proteja los rumos así evitar el sol directo hacia la producción, posteriormente se los deja 3 días aproximadamente dependiendo el tipo de cacao, pero en este caso regiría para los de genética trinitario o híbridos en el caso del forastero 6 a 8 días (65).

2.2.18.4. Barcaza con movilidad.

Su construcción es a base de caña o madera es doble propósito ayuda a fermentar y a la vez como tendales para sacar la almendra de cacao son unos de los más viejos de utilización tiene un parecido con las marquesinas, pero esta depende de un techo translucido que permite la entrada de la luz solar es utilizado donde la temperatura y el clima cambian bruscamente (65).

2.2.19. Secado.

Esta proceso proporciona las ultimas características del grano de cacao ayuda a reducir la humedad interna de los granos fermentados posterior a la fermentación estos poseen un valor de 55% al 60% de humedad que debe descender a 7% después para fortalecer las condiciones de almacenamiento y tenga una prestigiosa conserva en el mercado en este proceso culmina la acción oxidativa y su transformación de los polifenoles ya presenta su color característico y deseado para el mercado para luego ser industrializado como chocolate, es recomendable tener cuidado en el momento del secado por cualquier sustancia que proceda a generar malos olores para el grano de cacao alterando sus propiedades organolépticas (65).

2.2.19.1. Secados naturales.

Estos son los más utilizados en nuestras regiones utilizando madera o cañas guaduas o el cemento este se obtiene con la luminosidad y el calor del sol es muy amigable económicamente es de preferencia porque es de proceso lento y paulatino y de esta forma las habas generar propiedades bioquímicas internas con esta potencia la excelente propiedad organolépticas y característicos de los mismo (65).

Se utiliza para la remoción de la masa de caca utensilios de madera para que exista un calor y secado homogéneo no es recomendable la utilización de utensilios de metal dañando la apariencia del grano por su rigidez su duración es alrededor de 6 a 7 días con la ayuda del sol para así llegar la temperatura adecuada de humedad para esquivar la proliferación de patógenos (65).

2.2.19.2. Secado artificial.

Se usa algunas variantes del combustible para poder mantener la temperatura y el secado existe sistema eléctrico es más económico que la primera, pero no es recomendable por la quemadura parcial o completa del grano perjudicando la producción de la misma (65).

2.2.20. Calidad de la almendra por prueba de corte.

Esta se realiza para determinar si los granos de cacao están en condiciones óptimas y si existió alguna alteración en este proceso de fermentación para evitar contra tiempo en la industrialización del chocolate estas se denota las propiedades sensoriales finales muy diferente a una almendra mal fermentada produce un sabor astringente y acidez al realizar este proceso por un examen visual conjunto de algunos instrumentos tales como la cortadora de granos es recomendable la selección de una muestra al azar de 100 almendras y se le corta en forma transversal con el fin de verificar la cantidad de almendra fermentada observando que haya cumplido una óptima fermentación además por este método ver imperfecciones y sabores no apetecibles en la pasta del cacao (82).

2.2.21. La fermentación y sus cambios fisiológicos a la almendra de cacao.

Estas se pueden verificar mediante pruebas visuales por medio de la técnica de prueba de corte para clasificar la colorimetría interna de la almendra también como la estrías formadoras por la acción de la fermentación (83).

2.2.21.1. Habas marrones o café.

Esta se caracteriza por tener una acción fermentativa completa y optima, por la presencia de los ácidos causantes de la muerte del embrión procediendo a las aperturas de las vacuolas celulares de pigmentación. Con estas cualidades se procede a elaborar un chocolate de alta calidad gourmet y muy apetecible al paladar (80).

2.2.21.2. Habas de color marrón.

Estas tiene bordes de color violeta han tenido solo una acción de fermentación parcial y unas parte de las vacuolas están intactas porque los ácidos no han accionado completamente, el cotiledón de la almendra está parcialmente compacto, la testa esta mesuradamente suelta sus cualidades organolépticas son aceptables pero para industrializar chocolate per no es óptimo para chocolates Gourmet (80).

2.2.21.3. Habas Violetas.

Sus cotiledones tiene una colorimetría gris o verdoso y aspecto compacto su fermentación no ha sido completa su acidez es demasiada alta y excesiva originario por la pulpa la forma fisiológica de la almendra no presenta hinchazón y la parte interna esta compacta lo que se denomina una almendra con características sensoriales astringentes y acidas desagradables para el consumidor y no se puede elaborar chocolate de calidad (80).

2.2.21.4. Habas Pizarras.

Su característica que sus cotiledones son de tonalidad gris, oscuro negruzco o verdusco no han podido ser fermentadas ni total ni parcialmente por variadas razones en otros casos por provenir de frutos de cacao pintones la parte interna es demasiada compacta producto de lo cual generan características amargas y astringentes de mucha intensidad, los colores que presentan estas habas es perjudicial y es un imperfecto muy negativo para la industria tanto productora y chocolatero (80).

2.2.22. Descascarillado previamente tueste.

El tueste o tostado de las almendras de cacao se lo puede realizar por pailas de barro para tener una homogenización de temperatura, realizarse continuas remociones para un tueste óptimo con el fin de que sea de fácil acceso el desprendimiento de la cascarilla o testa y por ende quede solo el cotiledón expuesto este proceso ayuda a que los precursores que da un importante valor del sabor característica significativa de los olores y aromas característicos y típicos del sabor del chocolate estos ayudan; los azúcares, aminoácidos y otras reacciones que se generan en el proceso fermentativo, además de la aparición de notas organolépticas que es primordial en el producto terminado sabor a nuez, sabor frutal y floral pero todo depende del tipo y materia prima que se haya elaborado el chocolate (84).

Para que exista una reducción del 2.5 de contenido de agua se procede al tostado, eliminación del ácido acético parcialmente y genera la aparición y desarrollo de propiedades aromáticas por el esfuerzo sometido a proceso térmico; es primordial tener un exhaustivo seguimiento que se debe controlar dos variables muy significativas en el proceso del tueste que son la temperatura y el tiempo, a mucho tiempo y altos grados centígrados de tostado es perjudicial en las propiedades y características sensoriales y sus notas aromáticas, denotando olores extraños como ahumados o quemado y esto afecta al obtener un licor de mala calidad teniendo en cuenta que el proceso fermentativo es uno de los más principales para obtener y desarrollar aroma por medio del tostado (85).

Para mantener las propiedades organolépticas típicas del cacao se debe seguir el régimen recomendado de torrefacción de relación tiempo y temperatura que debe ser

de 120 a 150 grados centígrados por 18 a 25 minutos para que exista una pasta de cacao adecuada y optima, estas variables son de suma importancia porque son los principales precursores de aroma y sabores característicos del chocolate, este proceso es recomendado para conservar las propiedades y cualidades organolépticas y el aroma de la pepa de oro este proceso es muy exhaustivo y se debe manejar con cautela y precaución para no alterar las características y por ende que no alteren el aroma y sabor de chocolate la clave está en este proceso porque desarrolla alrededor de 400 aromas aproximadamente, todo depende de la torrefacción para que se pueda producir un chocolate de alta calidad (86) .

En el transcurso del proceso del tueste va ocurrir un cambio en la tono de la haba de cacao esto ocurre por efecto de las reacciones que están sometidas llamado el pardeamiento; esta generaliza varias reacciones entre ellas las oxidaciones, degradación de proteínas la polimerización de los polifenoles y la reacción de Maillard o pardeamiento no enzimático que este produce componentes derivados de las respuestas de azúcares reductores y aminoácidos, aquel fenómeno produce varias interacciones y generando pigmentos llamados melanoidinas que es principal y colabora en la actividad antioxidante (sabores y colores de la almendra después del tueste) tener en cuenta que existe la relación tiempo y temperatura, a diferencia en el sabor y aroma poseen favor en las distintas temperaturas y el tiempo que la almendra de cacao este en el proceso del tueste con el fin de disminuir la carga microbiana de m/o como la salmonella entre otros, de esta manera haciendo más fácil el descascarillado y mejorar su color (87).

El buen manejo de un buen tueste va asegurar la eliminación de ácidos volátiles son unos que producen la consecuencia de producir cambios en las propiedades organolépticas alterando de este modo dan sabores amargos astringentes y ácidos, los grados centígrados y la variabilidad del tiempo además el grado de humedad que tienen interacción en la actividad del tueste tienen una dependiente de la clase de almendra que vamos usar además la variedad de producto final del chocolate o subproductos que se requiere elaborar (87).

2.2.23. Trituración y refinación previo a la obtención del licor de cacao.

La trituración tiene un efecto favorable a la hora de procesar las almendras de cacao por medio de un molino que va ejercer la molienda para obtener una alteración física en las semillas enteras pasar siendo trituradas para la reducción de su tamaño, el refinado va mejorar para que no exista gránulos y este no tenga inconvenientes a la hora de consumir o que afecta o sea hallado por las papilas gustativas es recomendable que sea menor de 40 micras los gránulos (87).

2.2.24. Propiedades sensoriales.

Las propiedades sensoriales se alteran con facilidad por agentes o fenómenos externos afectando de este modo la calidad sensorial porque tiene una característica muy susceptible a impregnarse olores ajenas al aroma de cacao e inclusive teniendo un efecto desagradable si existe una sobre fermentación en el tueste o en la molienda produciendo alteraciones sensoriales como ahumado, quemado tenemos que tener cuidado con agentes químicos que dañaría las propiedades de las almendras de cacao y el chocolate es recomendable que el secado y la fermentación sea de forma natural donde los aromas se desarrollan sus condiciones correctamente sus cualidades características típicas del cacao (10).

2.2.24.1. Estudio de la pasta de cacao para medir sus propiedades organolépticas.

Dicho estudio nos ayuda a conocer las propiedades medibles que posee la pasta de cacao al 100% (sabor, aroma, intensidad, amargor, acidez) determinando la calidad específica de sus propiedades; este proceso se realiza con un panel de cata semi entrenado que sepa distinguir las siguientes variables sensoriales; el objetivo principal de llevar a cabo una catación sensorial de un alimento en este licor de cacao es de determinar las mejoras que puede tener teniendo en cuenta un cacao sin inducción no va tener las mismas propiedades sensoriales que una pasta de cacao inducido este proceso se necesita de los 5 sentidos los cuales conforman haciendo un escaneo visual para determinar la escala de intensidad del producto pasta de cacao, el olfato que va determinar el olor escalar, las papilas gustativas va percibir el aroma que son las que

determinan o perciben amargor, sabor, acidez, aromas, astringencia. los cuales determinan un mercado según la apreciación recibida por las panelitas y esto va definir la calidad y el consumo, donde se va a posesionar en la plaza (88) (10).

2.2.25. Pasta de cacao.

El licor de cacao o mejor conocido como pasta de cacao es el proceso obtenido mediante la alteración de sus propiedades físicas de los granos de cacao, por medio del efecto de la mecánica de las almendras de cacao previamente cumpliendo su fermentación optima y estos secos anteriormente pasados por un filtro de mejoramiento de calidad del proceso tales como limpieza, descarrillado y el tueste estos deben estar totalmente libre de impurezas o agentes externos como químicos u olores extraños; su elaboración de la pasta de cacao debe pasar por una serie de etapas las cuales se detalla a continuación (89) (88).

2.2.26. Degustación de la pasta de cacao.

Al ejercer la catación a un producto alimenticio es calificar y cuantificarlas cualidades sensoriales por medio de una hoja de cata y establecida, el catador debe percibir las características más marcas y fuertes que posee el lico de cacao por medio del gusto, textura, color, aroma, entre otros (88).

2.2.26.1. Aroma.

La percepción del aroma es determinada por el sentido olfativo el cual determina propiedades volátiles que genera algún producto (pasta de cacao) que desprenden las almendras de cacao bien fermentadas las cuales son percibidos mediante los sentidos olfativo y papilas gustativas (88).

Es de suma importancia el control exhaustivo en el momento del proceso de la fermentación por la interacción de los ácidos acéticos y lácticos como consecuencia generando un olor acido fuerte por eso no debe existir una sobre fermentación que sea negativa para el consumidor y alterando la calidad final del producto (88).

2.2.26.2. Sabor.

Las características del sabor que conforman lo astringente, ácido y azucarado tiene efecto por las condiciones fermentativas, la pasta puede medirse por 3 aspectos que son; básicos, específicos y adquiridos (88).

Tabla 5. Clasificación de sabores percibirles en la pasta de cacao.

Clasificación de sabores					
Sabores básicos:	Acidez	Amargor	Astringencia	Dulce	Cacao
Sabores específicos:	Floral	Frutal	Nuez	Frutas secas	Frutas frescas
Sabores ajenos:	Mohosos	Químico	Ahumado	Verde/ manchoso.	Tierra

Fuente: INIAP (88).

2.2.27. Actividad enzimática que presenta el haba del cacao.

En condiciones aptas y en presencias de las enzimas estas pueden disminuir a los azúcares, dado este proceso también influye al ácido el cual es reducido, en este caso hay variación en la tonalidad (desde amarillo oscuro a marrón), es evidente resaltar que durante la fermentación su periodo de actividad es en el primer día como actividad máxima (90).

Debido a que el complejo enzimático tiene por hecho múltiples enzimas las pruebas que se pueden emplear son: actividad en la superficie del filtro, actividad sobre *carboximetil- celulosa* (CMC) y *Beta- glucosidasa* (91).

Atraves de las enzimas oxidasa existen reportes de bacterias presentes las *lactobacillus* tanto para producción y degradación a este otro mecanismo de producción es la descarboxilación oxidativa de aminoácidos que son potenciadores y generadores de capacidad y procesos términos acompañado de la degradación de *strecker* que favorece directamente en la ejecución del tostado de la almendra del cacao (92).

2.2.28. Microorganismos asociados a la fermentación del haba de cacao.

Los patógenos involucrados en la fermentación de la haba de cacao son benéficas ayuda a una fermentación adecuada la primera parte generada por las levaduras por el medio donde se forman y la temperatura adecuada que drena los azúcares del mucilago de la almendra de cacao, posteriormente las bacterias acéticas y bacterias lácticas que participan en este proceso (93).

2.2.28.1. *Saccharomyces cerevisiae*.

Esta bacteria ayuda a brinda una excelente fermentación y permite a desarrollar los respectivos aromas y sabores primordialmente en la formación de propiedades organolépticas sin la ayuda de este no hubiera un extracción del líquido del mucilago que conllevaría a un sabor amargo y de pésima calidad y permitiendo que en el proceso fermentativo se mantenga su temperatura y su actividad además son metabolizadas por estas bacterias que son precursoras de etanol y ácido acético que ayudan a la formación de propiedades tanto físicos como químicos en la haba de cacao y esta a su vez mejora la calidad de la almendra para su comercialización (94).

2.2.28.2. *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*.

Unos de los defectos muy notables en tierras de América Latina son relativamente un pH muy ácido y muy escaso de la presencia de nitrógeno, la aplicación de esta bacteria es para inducir nodulación y fijar el nitrógeno en las leguminosas y estas han sido muy importante a escoger por su excelente aceptación, este se presenta en la capa atmosférica como gas 79% por lo tanto es imposible la absorción y asimilarlo para su aprovechamiento para las plantas o animales por su ubicación pero por la inducción de estas bacterias es posible transformar sus propiedades y sea de asimilación para el ser vivo en este caso la planta (95).

Estos microorganismos o llamados Rizobios inducen en las partes importantes de la leguminosa formando nódulos en las raíces para captar nitrógeno este se minimiza a amonio esta simbiosis entre el 60 a 80 de fijación biológica su prioridad es que la planta leguminosa se nutra sin la utilización de alguno agroquímico que contenga

nitrógeno y por ende evitar que las propiedades del suelo se minimice y exista un defecto desfavorable porque al utilizar estos químicos conllevaría a generar metales pesados y contaminación se aplicado en la industria agropecuaria la utilización de biofertilizantes a base de estas bacterias nitrificantes (95).

Estos en su taxonomía se estima en punto polifásico que intervienen características morfológicas, bioquímica, fisiológicas, genéticas y filogenia, u otras variantes y por estas variantes no se procede a acelerar estudios de tipo genético sin que haya existido identificación de sus propiedades fenotípicas (6), su fenotipo y sus cualidades emite patrones de la aplicación de fuente de “C” y “N” y resistentes a antibióticos entre otras como una de ellas la retención de metales pesados (95).

Para que exista una simbiosis los terrenos deben ser muy rico en nitrógeno o derivados de “N” existen varios factores:

Factor Químicos: concentraciones de cloruros de sodio, metales, temperatura, pH, niveles de aluminio, magnesio en niveles tóxicos y en niveles menos como calcio, magnesio, potasio y molibdeno (96); los factores físicos: tenemos la erosiones, las yerbas, o que el sedimento sea suelos arcillosos, expansivos, profundos o con presencia de grietas (97), factores biológicos: Por algún ataque viral o bacteriológico que inhiben la nodulación (9).

Al utilizar estas bacterias con capacidad nitrogenada como biofertilizantes esto sería una alternativa muy prudente para enriquecer los suelos generarlos en el sector agropecuario productor de cultivos cacaoteros y evitar la contaminación por agroquímicos que conllevaría a la acumulación de sales y de metales pesados que afectaría a la productividad y sus propiedades del suelo y sus nutrientes (98) (99).

2.2.29. Metales pesados en el suelo.

La existencia de cadmio en el suelo es por varias variantes tanto puede ser de forma natural esta se refiere a la meteorización de residuos de la actividad volcánicas restos

de rocas que contengan estos metales, actividad de quemas de bosques o del terreno, erosiones o de forma antropogénica que son principalmente por desperdicios mineros o de la industria tanto de los agroquímicos generados por la producción agropecuaria que posea como ingredientes de *As*, *Pb*, *Cu* y *Cd* (metales pesados) como también por el riego e instalaciones y fertilización y esta va generar que los suelos se contaminen en altos porcentajes de cadmio y este va a generar una bioacumulación de este metal en los árboles o plantas se presentan en la raíces posteriormente contaminar el tejido tanto de las partes del tallo o hojas y afectar completamente las semillas de la planta o árbol (100).

2.2.29.1. Cadmio.

Este no se evidencia la existencia en el ambiente como un metal puro, se encuentra comúnmente en la naturaleza en forma de óxidos complejos sulfuros, carbonatos en el cinc, plomo y menas de cobre (101).

2.2.29.2. Reglamento del cadmio para el cacao.

Este reglamento que es de la unión europea N°488/2014 de la comisión de 12 de mayo del 2014 que menciona los porcentajes máximos de cadmio en los productos alimenticios en el caso para el cacao los límites permisibles de chocolate:

Productos específicos de cacao y chocolate.	
Chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao <30%	0.10 a partir del 1 de enero del 2019
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao <50%, chocolate con leche con un contenido de materia seca total de cacao ≥30%	0.30 a partir del 1 de enero de 2019
Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao ≥50%	0.80 a partir del 1 de enero de 2019
Cacao en polvo vendido al consumidor final o como ingrediente en cacao en polvo edulcorado vendido al consumidor final (Chocolate para beber)	0.60 a partir del 1 de enero de 2019

Fuente: Diario oficial de la Unión Europea (102).

El Ecuador es uno de los principales productores de cacao en el mundo siendo esta una entrada económica muy importante para el país teniendo en cuenta que en la actualidad rigen normas de alta calidad que permiten porcentajes de cacao en el chocolate y así perjudicando el lote de exportación, el cadmio causa daños al consumirlo en exceso en productos intoxicados de este, realmente es perjudicial para el agricultor y productor por lo que la planta de cacao absorbe este metal pesado y lo contamina lo almacena en la almendra Ecuador fue vetado por este mal del cadmio pero gracias a Investigaciones del INIAP se está mejorando la calidad y biorreductores para minimizar el contenido de cadmio presente en la habas de cacao (100).

2.3. Investigaciones relacionadas con la inducción de *Rhizobium japonicum* y disminución de cadmio en cacao (*Theobroma cacao* L.).

Cuadrado et al. (2009) (9). Su motivo de investigación es ver la acción de varias cepas de *Rhizobium* que en total fueron 52 cepas aisladas del frijol caupi *V* teniendo de importancia su base morfológica y resistencia de metales o elementos traza, se verifico que estas bacterias que son catalogadas como bionoculantes y el desarrollo de estas leguminosas es en ambientes hostiles y estas se emplea un inoculante de las cepas, existe la evidencia en estudios. según el autor nos menciona que la investigación tomó en consideración la tolerancia a estrés salino, metales, es de mucha importancia ejecutar en prácticas en medios de campo para ver su comportamiento y si los nódulos de la planta se desarrollan a mayor tamaño en la raíz.

Cedeño et al. (2016) (103). Su objetivo fue medir y analizar el efecto para promover el desarrollo y aumento de producción en tres variedades de soja tales ICA-P34; INIAP-308; INIAP-307 con la adición de *Bradyrhizobium japonicum*, *Pseudomonas varonil R4* y *Pseudomonas fluorescens CHA0* comenta que el desarrollo de nódulos es evidente y a su vez se incrementa la raíz principal y números de nódulos inoculados en la soja con *Bradyrhizobium* existió un incremento en LR de 5.3 y 9 cm en las variedades estudiadas de este vegetal y se comprobó los cambios tantos morfológicos y fisiológicos en los tejidos de la semillas por efecto de la síntesis de estas bacterias, se corroboró que al adicionar esta Bacteria *Bradyrhizobium japonicum* su desarrollo fue temprano entre los 35, 45, 42 días mientras las otros vegetales no inoculados fue más tardío 42, 48, 51 días.

La aplicación de este microorganismo mejoraría la producción por los procesos de simbiosis entre la soja y su mejoramiento representa un aumento de 48% con la aplicación de la bacteria fijador nitrificante *Bradyrhizobium japonicum*, de esta forma se minimizaría la necesidad de la aplicación de fertilizantes minerales edáficos exógenos que afectaría notablemente en los suelos y en la planta.

Mite et al. (2019) (100) . Recopilación de estudios, a base de la afectación del cadmio y la contaminación de las almendras de cacao por medio de los metales pesados, externa o interna ya que esa bioacumulación de cd es transportada desde la raíces, pasa por el tronco y posteriormente llegar a la frutas por medio del floema contaminando la mazorca, cascaras de la almendra y los granos de cacao, los cuales son empleados principalmente en la elaboración de chocolate, comenta que existe varios factores que afectan a esta absorción por la calidad de suelos o por contaminación ecotoxicologica del cadmio por productos de agroquímicos para la fertilización o para pesticidas que ocasionaría contaminación en los cultivos.

Menciona que se puede conseguir una biorremediación con la utilización de organismos vivos para eliminar o neutralizar porcentajes significativos en los cultivos o plantaciones, ayudando a reducir el cadmio que está presente en el árbol, a su vez menciona que sería factible el mejoramiento de tratamiento de la post cosecha en la almendra de cacao mitigando el cadmio contenido en las almendras en la etapa de fermentación. También menciona que las empresas privadas están empleando la microbiología y nanotecnología y han podido minimizar el 20 al 25% de concentraciones de metales pesados.

Todos estos avances de investigaciones ayudan a mejorar la calidad del cacao ecuatoriano, de esta manera los productores e industrias chocolateras podrán tener un realce económico pudiendo ingresar a mercados internacionales nuestros productos según la norma de la Unión Europea.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La investigación se generó en la Finca Experimental “La Represa” forma parte de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo localizado en el recinto Faighta en el km 7.5 vía Quevedo San Carlos, Provincia de Los Ríos. Su situación Geográfica es 1° 03'18" de latitud Sur y 79° 25' 24" de longitud Oeste, ubicada en una demarcación catalogada como bosque tropical húmedo aproximadamente a la altura de 90 msnm este lugar fue de provisión de las mazorcas de cacao, pertenecientes a los previos de la misma Universidad (104).

3.1.1. Propiedades Meteorológicas del lugar de estudio

Tabla 6. Condiciones meteorológicas del lugar de recepción.

Datos meteorológicos	Valores medios
Temperatura, grados Celsius:	23.4
Porcentaje de Humedad relativa media:	87
Heliofanía, hora luz/mes	67.4
Precipitación, mm/mensual	140.8
Topografía del terreno	Plana
Textura del suelo	Franco-arcilloso
pH	5.7 (ligeramente ácido)

Fuente: Información Anual Meteorológica de la Finca Experimental la “La Represa” (67).

3.2. Tipo de investigación.

El expuesto estudio que se efectuó tubo un aspecto que se catalogó de tipo experimental, Exploratoria, Descriptiva y Explicativa y que es relacionada con el tipo de investigación: desarrollo de mejoramiento de calidad en la producción de fermentación de cacao para suscitar la aplicación e inducción de *Rhizobium japonicum* para aprovechar al máximo la almendra materia principal para la elaboración de pasta de cacao. La presente investigación contribuye a las áreas Agro-Alimentaria, agroindustria y producción alimentaria; Desarrollo de conocimiento e innovación en la Industria alimentaria proporcionando la disminución de cadmio presentes en la almendra de cacao, materia prima principal de exportación del País de la Republica del Ecuador.

3.3. Métodos de investigación.

Método Exploratoria: Trata de que el investigador se familiarice con el tema propuesto de estudio ya que este método se utiliza con el fin de conocer próximas investigaciones en este caso explorar los porcentajes de inducción de *Rhizobium japonicum* en la fermentación de cacao (105).

Método Descriptivo: Nos ayuda a buscar y especificar las propiedades y sus características de estudio y objeto a analizar de algún suceso o problema que se indujo a supeditar a un análisis, vamos a describir el proceso y la reacción durante la etapa de post cosecha del cacao si en la posible disminución de cadmio (105).

Método Explicativo: Permite contestar por los procesos de las situaciones y explicando lo que sucede en el fenómeno explicando las razones o por qué sucede acorde a los resultados de origen experimental que tiene enlace de las variables investigadas, explicando el procedimiento en la aplicación y los resultados obtenidos (105).

3.4. Fuentes de recopilación de Información.

La investigación planteada se sustentó de bases tanto de fuentes Primarias, un estudio de trabajo que se ocasionó en observaciones directamente asociadas con el campo de estudio, que engloba la recopilación de los datos de las variables; y con la ayuda de fuentes secundarias que se encuentran especificadas tales como revistas científicas, libros, artículos científicos tanto de orden Nacional como Internacional.

3.5. Diseño de la investigación.

En la presente investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar Bifactorial (DCA) con un modelo bifactorial con 3 repeticiones, como primer factor de inducción *Rhizobium japonicum* (0, 3, 5% por cada dos kilos de masa fermentativa o 0. 60 y 100 mL de producto líquido, respectivamente) como segundo factor variedades de cacao (Nacional y Trinitario), para determinar diferencia entre medias se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey al ($p \leq 0.05$) si existe diferencia o igualdad en los tratamientos.

3.5.1. Esquema de ANDEVA

Tabla 7. Estructura ANDEVA

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Tratamientos	$j*v-1$	5
Factor de <i>Rhizobium japonicum</i>	$(j-1)$	2
Factor Variedad	$(v-1)$	1
Int $j*v$	$(j-1) (v-1)$	2
Error Experimental	$(j*v) (r-1)$	12
Total	$j*v*n-1$	17

Elaborado por: Autor.

Se procedió a utilizar para el cálculo de análisis de datos el ANOVA análisis de varianza y las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) se trabajó con un software Estadístico SAS.

3.5.2. Características del diseño experimental.

Para la determinación de los niveles del *Rhizobium japonicum* se tomó en cuenta la medida por cada dos kilos de masa fermentativa o 0. 60 y 100 mL de producto líquido, respectivamente) como segundo factor variedades de cacao (Nacional y Trinitario) (106); se determinó en estudio exploratorio ya que no existe algún parámetro específico o recomendado y en ningún reglamento legislativo, determinando los porcentajes según las medidas de nuestras celdas se determinó que es de 3% y el 5% para en la aplicación de los tratamientos de la masa fermentativa fresca de cacao.

Tabla 8. Factores y niveles en estudio.

FACTOR VARIEDAD		FACTOR <i>Rhizobium japonicum</i>	
	V ₀ (Nacional)		j0 0 %
Niveles		Niveles	j1 3 %
	V ₁ (Trinitario)		j2 5%

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

3.5.1. Arreglo de tratamientos.

Tabla 9. Arreglo de tratamientos.

N°	Código	Descripción
1	v _{0j0}	Cacao Nacional sin <i>Rhizobium japonicum</i> (testigo)
2	v _{0j1}	Cacao Nacional con inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> (3 %)
3	v _{0j2}	Cacao Nacional con inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> (5%)
4	v _{1j0}	Cacao Trinitario sin de <i>Rhizobium japonicum</i> (testigo)
5	v _{1j1}	Cacao Trinitario con inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> (3%)
6	v _{1j2}	Cacao Trinitario con inducción de <i>Rhizobium japonicum</i> (5%)

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

3.5.2. Modelo matemático.

Ecuación 1. Modelo matemático que se aplicará, de este respectivo esquema.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{ijk}$$

μ = Es el efecto de la media.

α_i = Es un efecto de nivel “i-ésimo” del factor A.

β_j = Es un efecto del nivel “jota-ésimo” del factor B.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Es un efecto debido a la interacción del “i-ésimo” nivel del factor A con el “jota-ésimo” nivel del factor B.

E_{ijk} = Es un efecto aleatorio (107).

3.6. Instrumento de investigación.

3.6.1. Variables a estudiar.

3.6.1.1. Proceso de post cosecha.

Cosecha de la materia prima:

- En el momento de la cosecha o recolección de las mazorcas se tuvo en cuenta que dichas mazorcas estén en buen estado evitando coleccionar mazorcas con monilla.
- Para nuestra investigación se cosecho cacao nacional y trinitario CCN51.
- Se recolecto alrededor de 30 mazorcas para alcanzar la cantidad requerida para cada tratamiento.

Despulpado:

- Una vez apiladas las mazorcas se realiza el despulpado o desprendimiento del grano.
- Se realizo un corte trasversal a la mazorca para extraer el grano.
- Una vez cortada se coloca la materia prima(cacao) en recipientes separados para cada cacao sin mezclar variedades.
- Las cuales se tomó 2 kg para colocar en la caja micro - fermentadora.

3.6.1.2. Fermentar.

Sé procedió a realizar la fermentación en cajas micro - fermentadoras cuya capacidad de 24 espacios, de los cuales 18 separaciones corresponden a la presente investigación. Cada separación puede contener 2kg de almendras de cacao, teniendo un total de 36kg de masa fresca total, el tiempo que se empleo fue durante 4 días, dándole el mismo tiempo para ambas variedades de cacao Nacional y Trinitario, durante los días de fermentación se pudo observar las diferentes variaciones y reacciones que sufren las almendras durante el proceso antes mencionado, para este proceso se determinó evaluar las diferentes variables: Temperatura; pH, Grados Brix.

3.6.1.3. Inducción de *Rhizobium japonicum*.

Se indujo *Rhizobium japonicum*, a la masa fresca dependiendo del croquis experimental con las dosis requeridas para cada tratamiento y repeticiones fueron 3%(60ml) y 5%(100ml) su aplicación permite acelerar el drenaje del mucilago y a su vez determinar su efecto en la disminución de cadmio presente en la masa fermentativa fresca de cacao y así mejorar la calidad, productividad previo a su industrialización y exportación, determinando si el concentrado de microorganismo podrá penetrar la pared de la almendra en este caso las testa.

3.6.1.4. Dosis de aplicación.

Se utilizó por cada dos kilos de masa fermentativa o 0. 60 y 100 mL de producto líquido, respectivamente) como segundo factor variedades de cacao (Nacional y Trinitario) de *Rhizobium japonicum* de los cuales de distribuyo aplicaciones al 0%, 3%, 5% para el 3% se aplicó 60 ml, para el 5% se empleó 100 ml, teniendo en cuenta que la investigación se conformó por 6 tratamientos y 3 repeticiones cada una con dosis dosificadas según el porcentaje de aplicación en base al croquis de campo. en cada celda puede ingresar 2000 gramos de masa fresca de cacao (106).

3.6.1.5. Hacer remociones.

Se realizó remociones adecuadas para que exista una fermentación optima utilizando micro fermentador de maderas blancas (guayacán) con las siguientes dimensiones 125*75*10 cm con capacidad de 48 kg de cacao fresco aproximadamente, para obtener un producto homogéneo manteniendo su temperatura y sus propiedades organolépticas; la primera remoción se la realizó a partir de las 48 horas después de la inducción para que exista la activación del microorganismo y se efectuó en la masa fermentativa, continuamente se realizó las remociones cada 24 horas.

3.6.1.6. Temperaturas óptimas de fermentación.

De manera constante se procedió a realizar la toma de temperaturas diariamente durante los 4 días seguidos con la finalidad de tener un registro de las tomas a partir de las 24 horas de fermentación hasta la 96 hora de fermentación, lo ideal es que se eleve la temperatura progresivamente pudiendo así alcanzar una temperatura no superior a los 50°C ya que se empezaría alterar las propiedades de las almendras de cacao tanto físicas como biológicas.

3.6.1.7. Determinación de pH.

Para la determinación del pH se utilizó 10 gramos de almendras las cuales fueron trituradas y luego se diluyó en 100 ml de agua destilada tibia (40°C) en vaso de vidrio. Este proceso se repitió para todos los tratamientos y repeticiones durante 4 días, de esta manera se obtuvo los datos con ayuda de un pH-metro de la marca pH-meter de rango 0.00-14.00.

3.6.1.8. Grados Brix.

Para la medición de los grados brix se tomó 10 gramos de almendras de cacao al azar las cuales se maceraron en 100 ml de agua destilada tibia, posteriormente con la ayuda del instrumento brixómetro de la marca ATAGO modelo N-1 α (Brix 0-32%), Made in Japan, se colocó en el prisma principal 3 gotas de la mezcla obtenida, posteriormente se bajó la cubierta del prisma y se dejó por 60 segundos para leer la lectura y registrarla se buscó un lugar expuesta a la luz para su mejor observación por el lente ocular del refractómetro. Este proceso fue determinado durante todos los días fermentativos.

3.6.1.9. Secado.

Una vez que transcurrió el tiempo de fermentado se procedió a realizar el secado de las almendras de cacao.

- Después de la fermentación se realizó el secado, el cual se fue al sol de forma cuidadosamente sin que se mezclen el uno con el otro teniendo en cuenta que los tratamientos tenían diferentes inducciones, se tendió en una superficie de madera en una terraza con el fin de evitar contaminación por cualquier agente.
- Se realizó remociones constantemente para que el secado sea uniforme cuyo proceso se llevó 6 días de secado al sol hasta conseguir que la humedad de los granos alcance entre un 6 a 8% de humedad no superior porque a mayor humedad es posible que haya proliferación de microorganismos, crecimiento de hongos que afectan al almacenamiento.

Almacenamiento:

- Los granos se tomaron por separados en diferentes bolsas de papel, con su identificación para evitar confundir los tratamientos. hay que recalcar que el almacenamiento mejora la calidad de los granos.

3.6.1.10. Porcentaje de fermentación de la almendra de cacao.

Se evaluó la calidad de la almendra por medio de la prueba de corte para ver si existió una fermentación adecuada; la variable se llevó a cabo por medio de una evaluación de prueba de corte que se escogió al azar 100 almendras, con el seguimiento del proceso de la norma INEN 175, aquellas almendras fueron colocadas encima de un fondo blanco, a referencia de sus características se clasificaron de la posterior manera: bien fermentadas, medianamente fermentadas, violetas, pizarras; la fermentación total se la estimó por porcentajes.

3.6.1.11. Índice de semilla.

En esta variable se procedió a escoger al azar 100 almendras de cacao fermentadas y secas las cuales fueron pesadas en gramos en una balanza analítica de precisión y por siguiente promediadas. Se utilizo la siguiente formula que se aplicó:

Ecuación 2. Índice de semilla.

$$IS = \frac{\text{Peso en gramos de 100 almendras de cacao fermentadas y secas}}{100}$$

3.6.1.12. Prueba de testa y cotiledón.

La prueba de testa, se pudo obtener por medio de peso de una cantidad considerada de almendras de cacao que fueros 30 gramos de cacao fermentadas y secas y de esta manera poder obtener el porcentaje mediante la aplicación de la siguiente formula:

Ecuación 3. Prueba de testa y cotiledón.

$$\% \text{ de testa} = \frac{(\text{Peso de la testa})}{\text{Peso de 30 gramos de cacao}} * 100$$

3.6.1.13. Prueba de Corte.

Se procedió a la selección de 100 habas de cacao al azar, se pesó y con ayuda de estilete de hizo cortes transversales en las habas secas de cacao para evaluar por medio de un test visual si existió una fermentación optima o algún defecto de la misma, según la normativa INEN 176:2008.

3.6.1.14. Pasos previos para la obtención de la pasta de cacao con pureza del 100%.

- **Primero:** Se procedió a clasificar la materia prima (cacao) eliminando cualquier cuerpo extraño ajeno a las almendras de cacao.
- **Segundo:** Continuamente se tostaron las almendras en una vasija de barro a una temperatura media 120°C para evitar que se quemem, por un tiempo de 18 a 25min ayudando a desprender cualquier agente, humedad que contengan las almendras.

- **Tercero:** Posteriormente se realizó el descascarillado manual separando la testa del cotiledón, se almacenaron en fundas de papel.
- **Cuarto:** Para este paso se procedió a la molienda con la ayuda de un molino manual tradicional, con el objetivo de reducir el grosor del cotiledón a un tamaño que facilite el proceso del refinado.
- **Quinto:** Seguidamente el refinado va mejorar la calidad final para que no exista gránulos y este no tenga inconvenientes a la hora de consumir o que afecta o sea hallado por las papilas gustativas es recomendable que sea menor de 40 micras los gránulos.
- **Sexto:** En este paso con ayuda de una conchadora de capacidad de 5kg se introdujo la muestra de cacao poco a poco con el fin de que la conchadora valla atrapando toda la materia prima que queda en la pared de la conchadora a su vez que se valla diluyendo este proceso se mantuvo durante 6 horas por cada tratamiento.
- **Séptimo:** A continuación, se esperó que la pasta de cacao se atempere es decir reduzca la temperatura para pasar a los moldes donde reposaran hasta tener consistencia.
- **Octavo:** Se procedió a envolver la pasta de cacao en papel aluminio para su almacenamiento en refrigeración a temperatura de 4°C, las envolturas se guardaron en funda con su respectiva codificación además de evitar alguna contaminación cruzada.

3.6.1.15. Análisis Sensorial.

Para realizar la evaluación sensorial de la pasta de cacao se tomó 20g de cada muestra, se llevó a baño maría hasta tener una pasta líquida. con ayuda de un equipo constituido por 10 jueces semientrenados previamente, cada evaluador se encargó de verificar si existe un efecto de mejoramiento en las propiedades organolépticas de precursores de sabor y aroma (108).

Pasos para la evaluación organoléptica.

- Después de tener la pasta de cacao envuelta y almacenada se procede a colocar en recipientes calentado la muestra en baño maría para derretir a una temperatura de aproximadamente a 45 grados Celsius para la degustación a lo panalistas.
- Posteriormente se colocó la pasta derretida en vasos de muestra de material plástico colocando uniformemente la pasta para llevar a cabo la catación, a cada panalistas se le dio 6 muestras acompañado de paletas y servilleta, se les indica que debe colocarse para la degustación lo que cabe en la paleta la muestra en las papilas gustativas alrededor de 15 a 20 segundos para la aparición de los sabores y aromas. se le debe indicar que lo percibido debe anotarse los atributos encontrados en la hoja destinada para la catación.
- Este proceso se debe continuar por cada muestra de manera individual es aconsejable repetirse la gustación de 2 a 3 veces por muestra o dependiendo de gustador; es recomendable para la siguiente antes de catar debe enjuagar la boca con agua.
- Debe existir un tiempo de descanso para proseguir considerar entre 1 a 2 entre muestras.
- La muestra que haya quedado debe desecharse no debe ser nuevamente almacenada.

Atributos:

- Principales sabores: acidez, amargor, astringencia, cacao.
- Generalidades: aroma, sabor, intensidad.
- Defecto: quemado, mohoso, sustancias químicas.
- Específicos: floral, frutal, dulzor, nuez.

3.6.1.16. Metales Pesados.

Los análisis de cadmio se los realizó en El laboratorio WSS WORLD SURVEY SERVICES ECUADOR ubicado en la ciudad de Guayaquil Av. de las Américas 1608 y Av. Plaza Dañin provincia del Guayas los porcentajes de metales pesados cadmio comparando los porcentajes permitidos por la Unión Europea, posterior al proceso de fermentación adicionando *Rhizobium japonicum* en la masa fresca.

3.6.1.17. Cadmio.

Se analizó los valores de cadmio presente en la masa fermentativa fresca después de la inducción de *Rhizobium japonicum* para determinar y valorizar si existe una disminución de dicho metal y si están dentro de los valores promedios permitidos por la Unión Europea. El análisis de cadmio se lee por el equipo de adsorción atómica por horno de grafito, para lo cual se pesa 1 gramo de muestra, se realizó la trituración de los granos de cacao secos por digestión húmeda utilizando ácido nítrico por medio de microondas, seguido de este paso se filtra la muestra saliente y se procede a leer en el equipo horno de grafito (109) (110).

3.6.1.18. Análisis económico.

Se realizó un análisis económico por tratamiento que tendrá efecto en la almendra de cacao que se va a manejar con niveles de inducción de *Rhizobium Japonicum*, niveles por tratamiento, se efectuó un análisis económico por tratamiento utilizando los de más significancia, para determinar cuál de esos tratamientos es el que generó el costo más bajo y en función de aquello nos dará mejor resultado en función de la calidad del producto.

$$CP = MP + MOD$$

$$CC = MOD + CIF$$

$$CPROD = MP + MOD + CIF$$

CP= Costos primos.

MP= Materia prima directa.

MOD= Mano de obra directa.

CC= Costos de conversión.

CIF= Costos indirectos de fabricación.

CPROD= Costos de producción.

3.7. Tratamientos de datos.

Se tabuló por el cálculo de análisis del cuadro de ANDEVA análisis de varianza y las medias comparativas de los tratamientos estudiadas se procedió a utilizar la prueba de Tuckey ($p \leq 0.05$) fue realizado con el software Estadístico SAS.

3.8. Recursos humanos y materiales.

En la presente investigación se contó con la ayuda de recursos humanos los cuales son de vital importancia para llevar a cabo la investigación:

- Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc. Director del Proyecto de Investigación.
- Estudiante y autor de la investigación Luis Humberto Vásquez Cortez.

3.8.1. Materiales y equipos.

3.8.1.1 Materiales y equipos del campo

- Caja de madera
- Cacao
- *Rhizobium Japonicum*
- Machetes
- Sacos
- Tachos.
- pesa (con gancho colgante)
- agua destilada

3.8.1.2. Materiales de Laboratorio.

- Vaso de vidrio
- chuchillo para prueba de corte
- Estilete
- Balanzas analíticas
- Guantes
- Gafas
- Brixómetro
- Calculadora
- Gramera
- pH - metro
- Termómetro

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Efecto de las variedades de cacao sobre las variables físico - químicas, sensoriales y contenido de cadmio en almendras de cacao.

4.1.1. Variables físico - químicas.

4.1.1.1. Temperatura.

En la tabla 10, se muestran los promedios que reportan el efecto que tuvo las variedades de cacao sobre la temperatura de fermentación, estos demuestran que no existió diferencias estadísticas ($P>0.05$), lo que nos indica que, tanto el cacao nacional como el trinitario, demuestran un mismo comportamiento en los cuatro eventos de registro de esta variable.

Tabla 10. *Efecto de la variedad sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.*

Variedades	Temperatura (día 1)	Temperatura (día 2)	Temperatura (día 3)	Temperatura (día 4)
Nacional	28.22a	36.89a	39.10a	39.77a
Trinitario	28.00a	36.78a	39.12a	41.38a
EEM	0.3333	0.1665	0.0331	5.416
P<0.05	0.5893	0.4930	0.9136	0.3947

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.1.1.2. pH

En el mismo sentido, se observó que la variable pH en el proceso de fermentación, no se vio afectada ($P>0.05$) por efecto de la variable de cacao empleado en los últimos momentos de su evaluación, excepto en el primer momento del proceso de fermentación (día 1) donde el mayor valor ($P<0.05$) lo demostró la variedad denominada nacional (Tabla 11).

Tabla 11. *Efecto de la variedad sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.*

Variedades	pH (día 1)	pH (día 2)	pH (día 3)	pH (día 4)
Nacional	3.63a	4.79a	4.97a	4.92a
Trinitario	3.44b	4.79a	4.79a	4.80a
EEM	0.28	<0.00000	0.266	0.1833
P<0.05	0.0035	1.000	0.1008	0.2039

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.1.1.3. Grados Brix.

En lo que se refiere a la cuantificación de los °Brix, que indican el porcentaje de sólidos solubles en base a la solución total, se puede mencionar que, la variedad de cacao tuvo un efecto característico, observándose diferencias en el proceso de estudio y cuantificación, con un mayor valor ($P<0.05$) para la variedad de cacao nacional (Tabla 12).

Tabla 12. *Efecto de la variedad sobre los °Brix del cacao en su proceso fermentativo.*

Variedades	°Brix (día 1)	°Brix (día 2)	°Brix (día 3)	°Brix (día 4)
Nacional	13.14a	12.71a	11.34a	9.57a
Trinitario	12.84b	11.91b	11.01b	8.02b
EEM	0.458	1.196	0.518	2.326
P<0.05	<0.001	<0.001	0.0019	<0.0001

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.1.1.4. Variables de prueba de corte.

Respecto a las variables de prueba de corte, entre las que se evaluaron el porcentaje de testa, cotiledón, índice de semilla, elementos fermentados, los de presentación de almendras violetas y pizarras; se puede indicar que no existió diferencias estadísticas ($P > 0.05$) por efecto de la variedad de cacao. En todos los casos, estas variables presentaron resultados similares, aunque, los comportamientos numéricos de las variables fueron ligeramente superiores en la variedad de cacao nacional, excepto para la variable fermentados, en la cual la variedad de cacao trinitario, presentó un mejor comportamiento numérico, aunque no estadístico (Tabla 13).

Tabla 13. Efecto de la variedad sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.

Variedades	%Testa	%Cotiledón	Índice de Semilla	Fermentados	Violetas	Pizarra
Nacional	14.06a	84.30a	1.54a	62.22a	30.88a	1.77a
Trinitario	14.04a	83.33a	1.46a	74.78a	32.55a	1.66a
EEM	0.031	0.031	12.33	2.33	2.50	0.16
P<0.05	0.9882	0.9882	0.0888	0.5369	0.4882	0.7121

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.1.2. Variables sensoriales.

De la misma manera, al evaluar las variables sensoriales, los resultados de la presente investigación demostraron que excepto sobre variable cacao e intensidad, que presentaron diferencias ($P < 0.05$), las otras estudias (Tabla 14) no demostraron cambios en su comportamiento por efecto de las variedades de cacao estudiadas. En el caso de la variable sabor cacao, fue mucho más profundo y determinante para la variedad nacional, mientras que esta, presentó una menor intensidad.

Tabla 14. *Efecto de la variedad sobre las variables sensoriales del cacao luego de su proceso fermentativo*

Variedades	Aroma	Acidez	Amargor	Cacao	Nuez	Frutos secos	Floral	Especias	Otros	Intensidad
Nacional	3.70	0.83	4.00	3.93a	2.53	2.50	2.63	0.23	0.83	3.20b
Trinitario	3.70	0.53	3.87	3.50b	2.16	2.43	2.37	0.23	0.47	4.33a
EEM	<0.0001	0.8215	0.3651	1.1867	1.004	0.1826	0.7303	<0.0000	1.0041	3.1037
P<0.05	1.0000	0.103	0.5286	0.044	0.2081	0.8334	0.4874	1.00000	0.1219	0.0005

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.2. Efecto de inducción con *Rhizobium Japonicum* sobre las variables físico químicas, sensoriales y contenido de cadmio en almendras de cacao.

4.2.1. Variables físico químicas.

4.2.1.1. Temperatura.

En el Tabla 15, se observa el efecto de la inducción con *Rhizobium Japonicum* sobre la temperatura del cacao en su proceso de fermentación; evidenciándose que al inicio y al final del estudio (día 1 y 4 de fermentación, respectivamente) no existió diferencias estadísticas ($P>0.05$) en los valores de la temperatura, sin embargo, en las estimaciones intermedias (día 2 y 3 de fermentación, respectivamente), la adición del mayor valor del inductor microbiológico de la fermentación (*Rhizobium Japonicum*), provocó que exista valores mayores significativos ($P<0.05$) de temperatura.

Tabla 15. Efecto de la inducción con *Rhizobium Japonicum* sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.

Rhizobium Japonicum	Temperatura (día 1)	Temperatura (día 2)	Temperatura (día 3)	Temperatura (día 4)
0%	28.17a	36.00b	38.78b	40.00a
3%	28.17a	36.50b	38.90b	41.67a
5%	28.00a	38.00a	39.65a	42.05a
EEM	0.1360	1.471	0.6651	5.606
P<0.05	0.9264	<0.0001	0.0083	0.3504

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.2.1.2. pH.

En lo que toca, referente al efecto de la inducción con *Rhizobium japonicum* sobre el pH del cacao en su proceso de fermentación, podemos decir que no hay una consecuencia lineal generalizada de los valores (excepto en el día 1, lineal decreciente); sin embargo, si se presentó diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en los días 1 y 3, pero no, en los días 2 y 4 ($P < 0.05$), respectivamente. Lo anterior, nos indica que para esta investigación la inducción con *Rhizobium japonicum* no es consistente y menos se correlaciona con la disminución o incremento del pH.

Tabla 16. Efecto de la inducción con *Rhizobium Japonicum* sobre la pH del cacao en su proceso fermentativo.

<i>Rhizobium Japonicum</i>	pH (día 1)	pH (día 2)	pH (día 3)	pH (día 4)
0%	3.67a	5.00a	5.02a	4.85a
3%	3.61a	4.62a	4.58b	4.83a
5%	3.33b	4.75a	5.03a	4.90a
EEM	0.254	0.275	0.360	0.0489
P<0.05	0.0004	0.0747	0.0047	0.8263

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.2.1.3. Grados Brix.

En cuando a porcentaje de sólidos solubles en base a la solución total (cuantificación de °Brix), podemos decir que la inducción con *Rhizobium japonicum*, provocó datos variables en términos de la linealidad de los valores en respuesta de la adición incremental (0, 3 y 5%) de inductor; sin embargo, si se presentaron cambios en las respuestas estadísticas ($P < 0.05$). Estos datos también demuestran que a mayor edad de evaluación (día 4), los valores de °Brix disminuyen como mecanismos de los procesos fermentativos, tanto, como se evidencia por efecto de la inducción con el microorganismo (Tabla 17).

Tabla 17. Efecto de la inducción con Rhizobium Japonicum sobre la °Brix del cacao en su proceso fermentativo.

<i>Rhizobium japonicum</i>	°Brix1	°Brix2	°Brix3	°Brix4
0%	12.94c	12.43a	11.22ab	9.09a
3%	12.99b	12.26b	11.38a	9.03a
5%	13.03a	12.26b	10.96b	8.27b
EEM	0.055	0.1367	0.297	0.6506
P<0.05	<0.001	<0.001	0.0071	0.0006

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.2.1.4. Variables de prueba de corte.

En el caso de, las variables porcentaje de testa, cotiledón, índice de semilla, se presentaron resultados estadísticos ($P > 0.05$) similares, sin evidenciarse un patrón de comportamientos numéricos lineal como respuesta a la inducción con *Rhizobium japonicum*, excepto para la variable fermentados (incrementa), presentación de almendras violetas (disminuye) y pizarras (disminuye), y que se demuestran en el cuadro 9; cabe recalcar que, se evidenció un valor positivo ($P < 0.05$) del procedo de inducción para estas últimas variables.

Tabla 18. Efecto de la inducción con *Rhizobium japonicum* sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.

Rhizobium japonicum	% Testa	%Cotiledón	Índice de Semilla	Fermentados	Violetas	Pizarra
0%	13.33a	86.66a	1.51a	58.83b	38.83a	2.33a
3%	14.46a	85.52a	1.57a	67.50a	30.33b	2.166a
5%	14.33a	85.66a	1.51a	73.33a	26.00b	0.66b
EEM	0.87	0.87	6.27	10.31	9.23	1.29
P<0.05	0.7731	0.7731	0.3000	0.0014	0.0023	0.0010

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.2.2. Variables sensoriales.

En lo que se refiere a, las variables sensoriales, los resultados de la presente investigación no demostraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$), excepto la variable otros (sabores y olores indeterminados), que manifestó la presencia de diferencias ($P < 0.05$) (Tabla 19) sin un criterio de crecimiento de decrecimiento lineal.

Tabla 19. Efecto de la inducción con *Rhizobium Japonicum* sobre las variables sensoriales del cacao luego de su proceso fermentativo.

Rhizobium Japonicum	Aroma	Acidez	Amargor	Cacao	Nuez	Frutos secos	Floral	Espicias	Otros	Intensidad
0%	3.75a	0.80a	3.95a	3.65a	2.40a	2.40a	2.85a	0.15a	0.25b	4.00a
3%	3.55a	0.60a	3.65a	3.65a	2.35a	2.60a	2.25a	0.25a	1.00a	3.80a
5%	3.80a	0.65a	4.20a	3.85a	2.30a	2.40a	2.40a	0.30a	0.70ab	3.50a
EEM	0.3415	0.2687	0.711	0.2981	0.129	0.2981	0.8062	0.1971	0.9747	0.6496
P<0.05	0.7045	0.6454	0.1113	0.6716	0.9606	0.8369	0.4150	0.6045	0.0376	0.4088

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.3. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum* sobre las variables físico químicas, sensoriales y contenido de cadmio en almendras de cacao.

4.3.1. Variables físico químicas.

4.3.1.1. Temperatura.

En el Tabla 20, se presentan los valores de la variable temperatura como respuesta a la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum*, observándose que en los primeros días (1, 2 y 3) del proceso fermentativo, no existió diferencias estadísticas ($P > 0.05$), sin embargo, en el día 4, si se observó una interacción entre los factores estudiados, además que fue claro el incremento del valor esta variable para el tratamiento constituido por la variable de cacao nacional con la inducción de 5% del producto que contenía al microorganismo (*Rhizobium japonicum*).

Independientemente del método que se haya aplicado en la fermentación del cacao según Cardona (111) menciona que al tapar la caja fermentativa ayuda a incrementar la temperatura con el fin de que este tenga una interacción favorable por la aparición de la proliferación y actividad biológica de los microorganismos y mejorando las propiedades químicas y bioquímicas y teniendo mejor catabolismos oxidativos de sustancias orgánicas, recomienda que se debe cubrir las almendras frescas con hojas de plátano que tienen contenidos de glucosa y nutrientes y ayuda a mejorar la fermentación y la calidad de los granos de cacao asegurar el calentamiento de temperatura de manera homogénea ayuda a la purificación del aire al fermentador .

Afirma Arévalo et al (112) que al temperatura se debe a la actividad de la etapa fermentativa donde existe alteraciones en las propiedades menciona que se lo llama como tercera fase en ella participan microorganismo benéficos como bacterias acéticas que al modificar el etanol que están elaboran las levaduras (ayudando a tener una fermentación optima) en ácido acético al tener una elevación adecuada de temperatura va existir la presencia de Bacillus (bacterias) estas contribuyen al sabor por lo que produce ácidos orgánicos y saborizantes como el butanodiol al tener optimas temperaturas se obtiene una excelente fermentación y actividad microbiana.

Tabla 20. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum* sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.

Variedades	<i>Rhizobium japonicum</i>	Temperatura (día 1)	Temperatura (día 2)	Temperatura (día 3)	Temperatura (día 4)
Nacional	0%	28.00	36.00	38.90	41.16b
	3%	28.33	36.67	38.67	41.70b
	5%	27.67	38.00	39.73	42.76a
Trinitario	0%	28.33	36.00	38.67	41.16b
	3%	28.00	36.33	39.13	41.63b
	5%	28.33	38.00	39.57	41.33b
EEM		0.2545	0.0961	0.1931	0.4044
P<0.05		0.5171	0.6186	0.3250	0.0009

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.3.1.2. pH.

En el Tabla 21, se presentan los valores de la variable pH como respuesta a la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum*, observándose que en el segundo día del proceso fermentativo, no existió diferencias estadísticas ($P > 0.05$), sin embargo, en los días 1, 3 y 4, si se observó una interacción entre los factores estudiados ($P < 0.05$), aunque sin un patrón claro que permita deducir que la interacción respondió en función al nivel incremental del microorganismo estudiado.

Álvarez (82) ratifica que el pH son parámetros a considerar y expresado en la calidad del cacao y producto final por tener una excelente fermentación utilizados por la fabricas de producción de chocolate resalta que al aumento excesivo de ácido acético este tiene un efecto desfavorable a la fermentación alterando sus propiedades y sus adversos sobre el flavour al tener un alto contenido de pH en los cotiledones es un indicativo que existe una mala fermentación catalogada como sobre fermentación de las almendras de cacao en el proceso fermentativo esto tiene efecto por la aparición de ácidos carboxílicos y amina biogénicas que pertenecen a los aminoácidos.

Según Vega (113) que una fermentación noble debe tener un rango de pH entre 5.0-6.1 el pH optimo según Armijos (114) debe ser de 5.1 a 5.7 para que exista una fermentación adecuada pero al contrario si el pH es menor a 5.0 se manifiesta la aparición de ácidos no

volátiles que no son deseables estos aromas para el chocolate siendo este muy desapacible esto sucede cuando existe fermentación incompletas según la investigación y lo que se ha evidenciado que al utilizar este microorganismo ayuda al mejoramiento del pH para que exista una fermentación favorable.

Cuando los niveles de pH están inferiores de lo habitual el cacao es por debajo de la buena calidad Castañeda et al (115) hallaron que las almendras de cacao que poseen un pH inferior al 4.5 generan baja potencialidad de precursores aromáticos. indica Zambrano et al (116) que el pH está en un rango de 5.5-5.8 se puede estimar que tiene la probabilidad de estar fermentado pero si el rango este de 4.7 a 5.2 se puede valorar que habido una adecuada fermentación.

Tabla 21. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum* sobre el pH del cacao en su proceso fermentativo.

Variedades	Rhizobium Japonicum	pH (día 1)	pH2 (día 2)	pH3 (día 3)	pH4 (día 4)
Nacional	0%	3.83a	4.83	4.80ab	5.10ab
	3%	3.73ab	4.63	4.77ab	5.03ab
	5%	3.33c	4.90	4.80ab	5.63b
Trinitario	0%	3.50bc	5.17	5.23b	4.60b
	3%	3.50bc	4.60	5.40a	4.63b
	5%	3.33c	4.60	5.27a	5.17a
EEM		0.085	0.1589	0.235	0.2849
P<0.05		0.059	0.1573	0.0080	0.0010

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.3.1.3. Grados Brix.

En los días 1, 2 y 4 del proceso fermentativo, los valores experimentales de la variable °Brix demostraron una interacción entre los factores estudiados ($P < 0.05$), aunque sin un patrón lineal claro que permita deducir que la interacción de los factores fue directamente proporcional al incremento del nivel de microorganismo empleado (Tabla 22), sin embargo, en el tercer día del proceso fermentativo, no existió diferencias estadísticas ($P > 0.05$).

Santana (117) menciona que al transcurrir el tiempo la cantidad de mucilago se va disminuyendo, este efecto ocurre por la actividad microbiana que cumplen la función que exista el incremento de temperaturas.

Los grados Brix para poder determinar los sólidos solubles como menciona en la fruta debe tener un dulzor aceptable para el producto final, sea para un licor o un néctar y no alterar sus propiedades organolépticas menciona Quizphi (118) en este caso existe la evidencia que al inducir el microorganismo existe el descenso de los °Brix, por ende que exista un chocolate amargo de buena calidad, factor principal es en el momento de la fermentación para cumplir con las propiedades requeridas como es la pasta de cacao datos que no están representados o iguales a dicha investigación existe la tendencia de la disminución de los °Brix según García et al (119) que la aparición y aumento de levaduras es por causa de los contenidos de azúcares totales en los cotiledón del grano del cacao los brix que sean considerablemente superiores favorecen la acción metabólica de las levaduras con la finalidad de obtener una excelente fermentación de las almendras de cacao al tener unos adecuados valores tendrá el efecto de tener disposición de azúcares para la proliferación de levaduras y estas pasan hacer etanol.

Tabla 22. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum* sobre los °Brix del cacao en su proceso fermentativo.

Variedades	<i>Rhizobium japonicum</i>	°Brix (día 1)	°Brix2 (día 2)	°Brix3 (día 3)	°Brix4 (día 4)
	0%	13.12b	12.84a	11.40	10.03a
Nacional	3%	13.14ab	12.79a	11.62	10.10a
	5%	13.17a	12.50b	11.05	8.58b
	0%	12.78d	12.01c	11.04	8.16b
Trinitario	3%	12.85c	11.72d	11.13	7.96b
	5%	12.88c	12.01c	10.87	7.95b
EEM		0.0135	0.1451	0.0803	0.4001
P<0.05		0.0154	<0.001	0.3573	0.0019

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.3.1.4. Variables de prueba de corte.

Con base en los resultados de las variables, porcentaje de testa, cotiledón, índice de semilla y pizarras, se puede indicar que no se presentaron resultados que difieran estadísticamente ($P>0.05$) por efecto de la interacción de los factores variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum*, caso contrario a lo observado ($P<0.05$), con las variables fermentados y presentación de almendras violetas. De igual manera, se puede indicar que no existe un patrón de comportamiento numérico lineal como respuesta a la inducción con *Rhizobium japonicum* (Tabla 23).

Es de relevancia según Lima (108) que la prueba de corte es de gran importancia ya que realizando dicho análisis de corte se logra evidenciar diferentes factores evaluativos mismos que son: granos fermentados, violetas, pizarros, hongos entre otros presentes en las almendras de cacao, además de ser un análisis observatorio demostrando la calidad de la fermentación que se generó en el tiempo transcurrido en dicho proceso, por lo cual los resultados que se obtuvieron son aceptables y comparables con la norma INEN 176 los requisitos adecuados para la calidad del cacao y evidenciando por examen visual según la norma 175 en el ensayo de corte.

Tabla 23. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum* sobre las variables de prueba de corte cacao en su proceso fermentativo.

Variedades	Rhizobium Japonicum	%Testa	%Cotiledón	Índice de semilla	Fermentados	Violetas	Pizarras
Nacional	0%	13.11	86.89	1.56	63.00bc	34.33ab	2.66
	3%	13.44	86.55	1.58	71.00ab	27.00ab	2.00
	5%	15.55	84.44	1.49	68.00abc	31.33abc	0.66
Trinitario	0%	13.55	86.44	1.52	54.66c	43.33a	2.00
	3%	15.50	84.49	1.44	64.00bc	33.66abc	2.33
	5%	13.11	86.89	1.42	78.66a	20.66c	0.66
EEM		1.14	1.14	2.58	5.30	5.37	0.25
P<0.05		0.4375	0.4375	0.6470	0.0137	0.0093	0.3966

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.3.2. Variables sensoriales.

Para este grupo de variables, se puede indicar que, los resultados no demuestran diferencias estadísticas ($P < 0.05$), excepto para las variables otros e intensidad, que demostraron cambios en su comportamiento estadístico ($P < 0.05$), por efecto de la interacción entre los factores estudiados (Tabla 24), cabe reiterar que no se evidenció un criterio de crecimiento lineal de los valores de respuesta por efecto de la adición creciente del microorganismo estudiado.

Portillo (120) menciona que la parte fundamental para que se generen propiedades sensoriales es el proceso de fermentación donde se desarrolla los precursor del aroma y sabor final del producto terminado, tiene que ver con las propiedades químicas está a la vez están estrechamente relacionadas con la calidad sensorial estas a la vez son por causa de los fenómenos térmicos por consecuencia de la fermentación, el método de fermentar las almendras de cacao tiene una vinculación con las características sensorial recalca Quevedo (121) que es importante para el sabor y aroma las cajas fermentadoras cubiertas con hojas de plátano ayuda que exista la fermentación de microorganismos benéficos que cumplen la función de eliminar el mucilago que están cubiertas en la almendra de cacao por lo tanto si existe remociones optimas permiten a la eliminación del embrión que muera y no exista presencia de sabor amargo, disminuyendo la perdida de teobromina potenciando el sabor y aroma a chocolate que la investigación realizada presentan datos semejantes entre las variables evaluadas para el análisis sensorial.

Tabla 24. Efecto de la interacción variedades de cacao por la inducción de *Rhizobium japonicum* sobre las variables sensoriales cacao en su proceso fermentativo.

Variedades	Rhizobium Japonicum	Aroma	Acidez	Amargor	Cacao	Nuez	Frutos secos	Floral	Espicias	Otros	Intensidad
Nacional	0%	3.80	1.00	4.30	4	2.1	2.2	2.7	0.1	0.1	3.2
	3%	3.60	0.60	3.50	3.9	2.2	2.8	1.8	0.3	1.6	2.8
	5%	3.70	0.90	4.20	3.9	2.2	2.5	2.6	0.3	0.8	3.6
Trinitario	0%	3.70	0.60	3.60	3.3	2.7	2.6	3	0.2	0.4	4.8
	3%	3.50	0.60	3.80	3.4	2.5	2.4	2.7	0.2	0.4	4.8
	5%	3.90	0.40	4.20	3.8	2.4	2.3	2.2	0.3	0.6	3.4
EEM		0.9448	0.242	0.468	0.2768	0.19	0.3800	0.5939	0.0912	0.6972	1.0697
P<0.05		0.8601	0.4946	0.1471	0.5001	0.8405	0.5630	0.3855	0.8050	0.0349	0.0108

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.4.3. Concentraciones de cadmio.

Basado en los resultados experimentales sobre la concentración de Cadmio, en la almendra de cacao, luego de su proceso de fermentación, se puede decir que luego del análisis descriptivo de estos, tanto en la variedad de cacao nacional como del trinitario, la inducción con *Rhizobium japonicum* tuvo efectos positivos en la reducción de la concentración de este elemento químico contaminante (Tabla 25).

En relación a lo anterior Pérez García et al (122), indican que el cadmio como un metal pesado es característico por ser un bioacumulado en el cuerpo humano produciendo daños perjudiciales e irreversibles a la salud de las personas por el consumo de alimentos que contenga contenidos de cd causarían problemas internos del organismos siendo un riesgo de cuidado serio ya este sea de exposición ambiental o consumible siendo este catalogado como toxico saber los porcentajes admitirles para tolerar y permisibles, es primordial para evitar cualquier daño o perjuicio al consumidor.

Mientras Covarrubias et al (123) menciona la utilización de bacterias que cumplen el rol de ser benéficas se comportan como biorreguladores al adicionar o inocular en semilla o en alguna planta que se desea disminuir el cadmio, además estos biorreguladores ayudan al crecimiento, fortalecimiento y mejorar la productividad cumple la función de un potenciador de desarrollo permite a la absorción de nutrientes como fertilizantes por la utilización de microorganismos como el *Rhizobium japonicum*, que posee la característica de fijar nitrógeno.

En una investigación de Revoredo (106) menciona que la utilización y aplicación de microorganismos son benéficos y potenciales para la disminución de cadmio en variedades de leguminosas y soja es una alternativa de minimizar costos y de una sencilla aplicación además comenta que al verse afectado los altos contenidos de Cadmio esto perjudica de manera tangente los mercados internaciones, los problemas son serios por los productos y subproductos del cacao por la acumulación dentro de la producción cacaotera y se ha evidenciado que utilizando bacterias posee una eficacia quelante de metales pesados como es el Cadmio.

Ozawa et al (124) en un estudio que confirma la actividad de biorremediador de cadmio con la aplicación de *Bradythizobium japonicum* en la inoculación de leguminosas tiene un efecto favorable teniendo el efecto de mejorar el desarrollo de la planta y produciendo

nódulos en las raíz como un condensador de Cadmio. De igual manera corrobora Cuadrado (9) que estas bacterias (*Rhizobium* y *Bradyrhizobium*) son minimizadores de metales pesados como es el cadmio siendo este como potenciales inóculos y teniendo la habilidad de nodulación.

Estudios previos del análisis de Salarza (125) se pudo evidenciar que por la utilización de la aplicación de *Rhizobium japonicum* en el suelo tuvo una disminución teniendo diferencia antes de su aplicación el cadmio se redujo en un 23.08% por lo tanto se evita y se minimiza en la acumulación de cadmio la mazorca de cacao y por ende se evita que penetre altas cantidades en las semillas por lo tanto actúa como un filtro en esta investigación de la inducción de *Rhizobium japonicum* las almendras de cacao están dentro de lo permisible del porcentaje de Cadmio en el testigo según la norma de la Unión Europea teniendo este un impacto en la planta minimizando cadmio y por ende se evidencia que al utilizar este microorganismo en la almendras de cacao fresca disminuyen los contenidos de cadmio. acumulación en la almendra de cacao.

Tabla 25. *Interacción de las variedades de cacao por la inducción de Rhizobium japonicum sobre las concentraciones de cadmio en cacao.*

Variedades	<i>Rhizobium japonicum</i>	mg/ kg
Nacional	0%	0.36
	3%	0.34
	5%	0.35
Trinitario	0%	0.36
	3%	0.30
	5%	0.29

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

4.5. Análisis Económico de la investigación.

Tabla 26. Análisis de los costos que se generaron durante la investigación experimental.

RUBROS	T1	T2	T3	T4	T5	T6
EGRESOS						
COST. VARIABLES						
Materia prima	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66
Mano de obra directa	10	10	10	10	10	10
T.C. VARIABLE	22.66	22.66	22.66	22.66	22.66	22.66
COSTOS INDIRECTOS						
Insumo						
<i>Rhizobium Japonicum</i>	0	1.44	2.4	0	1.44	2.4
Depreciaciones						
Brixometro	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69
pH - metro	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Termómetro	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Caja de madera	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
Costos varios						
Análisis	28	28	28	28	28	28
T.C. INDIRECTOS	29.36	30.80	31.76	29.36	30.80	31.76
COSTO TOTAL X TRATAMIENTO	52.02	53.46	54.42	52.02	53.46	54.42
COSTO DE CADA UNIDAD DE 20 GR DE PASTA DE CACAO	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
45 UNIDADES DE 50 GRAMOS TOTAL, POR TRATAMIENTO	5.85	5.85	5.85	5.85	5.85	5.85
TOTAL, POR TRATAMIENTO	17.55	17.55	17.55	17.55	17.55	17.55

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.

El análisis económicos realizado a los diferentes tratamientos que se plantearon y se desarrollaron en la investigación nos genera los siguientes resultados, el tratamiento T0 testigo Nacional y el tratamiento T4 testigo Trinitario son los que generaron los menores costos de la investigación, mientras que los tratamientos T3 Nacional y T6 Trinitario son los que presenta mayor costo esto se debe a la mayor cantidad de *Rhizobium japonicum* que se empleó en la investigación para dichos tratamientos.

El costo que se genera para la elaboración de la pasta de cacao no hay variación entre los tratamientos ya que se obtuvo por cada kilogramo de muestra de cacao un costo de \$5.85

la producción de 45 barras de pasta de cacao con un peso de 20 gramos generando un costo unitario de 0.13 centavos, esto nos genera un costo por tratamiento de \$17.55 todos los tratamientos tuvieron el mismo valor ya que se procesó la misma cantidad de cacao es decir un kilogramo del cual se obtuvo 900 gramos de pasta de cacao.

CAPÍTULO V
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

5.1. Conclusiones:

- ✓ En función de los resultados obtenidos se concluye que los contenidos de cadmio en la presente investigación cumplen con la norma establecida N° 488/2014 de la Unión Europea para los diferentes tratamientos obteniendo resultados favorables para la disminución del Cadmio en almendra de cacao por la inducción con *Rhizobium Japonicum*.

- ✓ Se observaron efectos no concluyentes de la variable variedad de cacao sobre las variables físico-químicas, de prueba de corte y sensoriales de la almendra de cacao fermentada, toda vez que, no se presentan diferencias estadísticas significativas para todas las variables estudiadas. Es importante mencionar, que no existe normativa específica para los valores de estas variables en función de la variedad de cacao, pudiéndose indicar que, al compararse con los encontrados por otros autores, los presentes resultados guardan mucha relación (temperatura 28.00 hasta 41.38, pH 3.44 hasta 4.92, °Brix 13.14 hasta 8.02) con los de la literatura.

- ✓ Existe efectos no concluyentes de la variable de inducción con *Rhizobium Japonicum* sobre las variables físico-químicas, de prueba de corte y sensoriales de la almendra de cacao fermentada, toda vez que, que no se presentan diferencias estadísticas significativas para todas las variables estudiadas. Similarmente, se pude indicar que no se encuentra en la literatura valores referencia para las variables físico-químicas en función del empleo de un método de inducción microbiológico, sin embargo, al compararse con los encontrados por otros autores, los presentes resultados guardan mucha relación (temperatura 28.00 hasta 42.05, pH 3.33 hasta 4.90, °Brix 12.94 hasta 9,09,) con los de la literatura.

- ✓ Las variedades de cacao nacional y trinitario sin variable de inducción con *Rhizobium Japonicum*, son los que generaron los menores costos de la investigación.

5.2. Recomendaciones:

1. Desarrollar investigaciones con otros métodos químicos o biológicos que permitan disminuir la concentración del cadmio en la almendra del cacao.
2. Para próximas investigaciones donde se contemple realizar estudios sensoriales, se recomienda emplear un panel de evaluadores expertos.
3. Fomentar nuevas investigaciones en base a *Rhizobium japonicum* con concentraciones estandarizadas para diferentes variedades de cacao en diferentes zonas de estudio territorial.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFIA

1. ANECACAO. Actualidad y perspectivas del sector cacaoero en Ecuador. 2014;26. Disponible en: <http://www.anecacao.com/uploads/2014/09/1-El-Ecuador-Actualidad-y-Perspectivas-del-Sector-Cacaoero-ANECACAO-cumbre-mundial-del-cacao-2014.pdf>
2. Espinoza Solis E, Arteaga Estrella Y. Diagnóstico de los procesos de asociatividad y la producción de Cacao en Milagro y sus sectores aledaños. 2015;8(14):105.
3. Gonzales G. Estudio de caso asociación de productores orgánicos de vinctes APOVINCES. 2014;1-10. Disponible en: <http://www.porlatierra.org/docs/b1f292514a3fb5c75b72cce3c825410d.pdf>
4. Ramirez A. Toxicología del cadmio conceptos actuales para evaluar exposicion ambiental u ocupacional con indicadores biologicos. 2002; Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v63_n1/toxicologia.htm
5. Casteñeda ML. Revista Digital Universitaria. 2004;5(2):1-7.
6. Deltha Caloe J. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. *Int J Syst Bacteriol* [Internet]. 1982;32(1):136-9. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/32/1/ijsem-32-1-136.pdf?expires=1607387159&id=id&accname=guest&checksum=142D5996FA6E099814F41CF859D26006>
7. Union E. Reglamento (UE) N°488/2014. *EFSA J*. 2011;9(2):10-4.
8. Mite F, Carrillo M, Durando W. Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas de Ecuador. *Xii Congr Ecuatoriano la Cienc del suelo*. 2010;17-9.
9. Cuadrado B, Rubio G, Santos W. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de fríjol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. *Rev Colomb Ciencias Químico - Farm*. 2009;38(1):78-104.
10. Solórzano Chavez E, Amores Puyutaxi F, Jiménez Barragan J, Nicklin C, Barzola Miranda S. Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.)

Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Cienc y Tecnol.* 2015;8(1):37-47.

11. Homem Amorim G, Quintino Reis A, René Valle R, Andrade Sodré G, Moreira M. Influencia de factores agroambientales sobre la calidad del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) PH-16 en la región cacaotera de Bahia, Brasil. *Ecosistemas y Recur Agropecu.* 2017;4(12):579.
12. Capó MM. Principios de ecotoxicología [Internet]. Madrid - España; 2007. 25-26 p. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=gO9XngEACAAJ&>
13. Hugh Davie J. Chromosome studies in the malvaceae and certain related families. En: Cytological Laboratory, Department of Botany, University of London KC, editor. *Journal of Genetics* [Internet]. 2.^a ed. London; 1933. p. 33-67. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1007/BF01508190>
14. Arevalo Sanchez MÁ, González León D, Maroto Arce S, Tanya DL, Montoya Rodríguez P. Manual del cultivo de cacao [Internet]. Arvelo MA, editor. Segunda edición. San Jose (Costa Rica); 2017. 143 p. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=hZkzAQAAMAAJ&pg=PA5&lpg=PA5&dq=fertilizacion+quimica+del+cafe+y+cacao+jose+lainez&source=bl&ots=Tu9kG_GkP3&sig=1B_Uhg232yfKmOIJuLpGR8hc20o&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi3pt_1jr3RAhWMLSYKHW0QCBgQ6AEIGzAA#v=onepage&q=fertil
15. Motamayor JC, Risterucci AM, Lopez PA, Ortiz CF, Moreno A, Lanaud C. Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. En: *Heredity* N, editor. *Heredity* [Internet]. Miranda: Group All rights reserved 0018-067X/02; 2002. p. 380-6. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800156>
16. Alvargonzález D. El sistema de clasificación de Linneo [Internet]. Oviedo (España); 2019. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/331481473>
17. Arosemena G. El Fruto de los dioses [Internet]. I Y II Edi. Editorial-Graba.-Guayaquil E, editor. Vol. 57, *World Agriculture and the Environment*. Washington,-US.; 1991. Disponible en: <https://www.alasru.org/pdf/Cacao.y.campesinos.pdf>

18. Hurst WJ, Tarka SM, Powis TG, Valdez F, Hester TR. Cacao usage by the earliest maya civilization: Foaming chocolate prepared in spouted vessels made a delectable preclassic drink. 2002;418(6895):289-90. Disponible en: <https://sci-hub.se/10.1038/418289a>
19. Arteaga sacro AA, Villota Bedoya DF. Efecto del consumo agudo de cafeína sobre la fuerza máxima y los niveles de lactato en sangre en jóvenes sedentarios : ensayo clínico aleatorizado. 2016;266-75. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v18n2/v18n2a08.pdf>
20. Ramírez Lepe M. El cacao un cultivo milenario que en México tiene una tendencia a desaparecer. Cienc y Luz [Internet]. 2014;2014. Disponible en: <https://www.uv.mx/cienciauv/files/2014/09/Cacao-00.pdf>
21. Hurst WJ, Tarka SM, Powis TG, Valdez F, Hester TR. Cacao usage by the earliest Maya civilization. 2002;418(6895):289-90.
22. Lanaud C, Loor Solórzano R, Zarrillo S, Valdez F. Origen de la domesticación del cacao y su uso temprano en Ecuador. 2012;(June):1-4. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/235953800%0AOrigen>
23. Zarrillo S, Gaikwad N, Lanaud C, Powis T, Viot C, Lesur I, et al. The use and domestication of Theobroma cacao during the mid-Holocene in the upper Amazon. Nat Ecol Evol [Internet]. 2018;2(12):1879-88. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x>
24. Ortiz Crespo G. Los tres auges del cacao. Agricultura [Internet]. 2014;34-7. Disponible en: <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/eg/article/view/1442/1270>
25. Maiguashca J. La incorporación del cacao ecuatoriano al mercado mundial entre 1840 y 1925, según los informes consulares. Rev ecuatoriana Hist [Internet]. 2014;1(35):67. Disponible en: [http://www.uasb.edu.ec/UserFiles/384/File/Procesos/Procesos 35/07_ESTUDIOS_IncorporacionCacaoMercadoMundial-JMaiguashca.pdf](http://www.uasb.edu.ec/UserFiles/384/File/Procesos/Procesos%2035/07_ESTUDIOS_IncorporacionCacaoMercadoMundial-JMaiguashca.pdf)
26. MAGAP. La política agropecuaria ecuatoriana, el sector agropecuario ecuatoriano: análisis histórico y prospectiva a 2025 [Internet]. Ministerio. La política agropecuaria ecuatoriana, el sector agropecuario ecuatoriano: análisis histórico y prospectiva a 2025. Quito (Ecuador); 2015. 554 p. Disponible en:

<http://www.competencias.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/01PPP2016-POLITICA01.pdf>

27. Nacional CF. Ficha sectorial: Cacao y Chocolate. 2018; Disponible en: [file:///C:/Users/uZer/Desktop/documentos científicos/origenes de cacao/Ficha-Sectorial-Cacao EC Pro Ecuador 2018.pdf](file:///C:/Users/uZer/Desktop/documentos%20cientificos/origenes%20de%20cacao/Ficha-Sectorial-Cacao%20EC%20Pro%20Ecuador%202018.pdf)
28. Pro Ecuador. Alimentos frescos, semielaborados y elaborados [Internet]. 2 de Marzo. 2016. Disponible en: <https://www.proecuador.gob.ec/alimentos-frescos-semielaborados-y-elaborados-2/>
29. Abad A, Acuña C, Naranjo E. El cacao en la costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. *Estud la gestión Rev Int Adm* [Internet]. 2020;7(7):59-83. Disponible en: <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/eg/article/view/1442/1270>
30. Pipitone L. Cocoa supply & demand: what to expect in the coming years? *Cocoa Mark Outlook Conf 2015* [Internet]. 2015;(September):1-16. Disponible en: http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/252-cocoa-market-outlook-conference-september-2015/253-presentations-cocoa-market-outlook-conference-2015.html
31. Hernandez A, García L, De –, Guillon M, Monteoliva E. El método de taguchi aplicado a la calidad de diseño de un banco de extracción de gases de sellos mecánicos. *XXX ENDIO y XXVIII EPIO* [Internet]. 2017;(June). Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/epio/article/view/11986/12697>
32. Ponce J, Vera L, Sachs J, Pérez E, Vernego M, Rodriguez O, et al. *Estrategia nacional de desarrollo humano* [Internet]. 3.^a ed. Quito (Ecuador); 2009. 190 p. Disponible en: https://biblio.flacsoandes.edu.ec/shared/biblio_view.php?bibid=110522&tab=opac
33. Quiroz J. Influencia de la agronomía y cosecha sobre la calidad del cacao. 2012;2-11. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2049/1/iniaplsbt147i.pdf>
34. Fariñas L, Ortiz L, Parra P. Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de cumboto. Mayo [Internet]. 2003;53:133-44. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-

192X2003000200002&lng=es&nrm=iso

35. Pineda R, Chica M, Echeverri L, Ortiz A, Olarte H, Riaño N. Influencia de la fermentación y el secado al sol sobre las características del grano de cacao Tsh 565 E Ics 60. Vitae [Internet]. 2012;19(1):S288-90. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914088.pdf>
36. Chavez ES, Puyutaxi FA, Barragan JJ, Nicklin C, Miranda SB. Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L. Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. Cienc y Tecnol. 2015;8(1):37-47.
37. ANECACAO. Diagnóstico del cacao sabor arriba: sector de ingredientes naturales para la industria alimenticia. Biocomercio Sosten [Internet]. 2005;1-52. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/12503/4/DinamicaDeLaComercializacionDelCacaco.pdf>
38. Quintero L, Diaz Morales K. EL mercado mundial del cacao. 2004;9:47-59. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-03542004000100004&script=sci_arttext&lng=e
39. González Illesccas M, Flores González M, García Carpio T. Dinamica de la producción y comercialización del cacao ecuatoriano [Internet]. 1.^a ed. Vol. 53, Journal of chemical information and modeling. Machala; 2018. 1689-1699 p. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/12503/4/DinamicaDeLaComercializacionDelCacaco.pdf>
40. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana Nte Inen 175. Exp I D E R (2003) [Internet]. 2003;1-2. Disponible en: <http://www.anecacao.com/uploads/standard/ensayosdecortes.pdf>
41. INEN. Granos de cacao. Requisitos NTE INEN 176-5. Norma Técnica Ecuatoriana [Internet]. 2018;5:8. Disponible en: http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_176-5.pdf
42. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176. Febrero [Internet]. 2018;5:2-9. Disponible en: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_176-5.pdf

43. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177 : 95 Cacao en grano – Muestreo. 1995; Disponible en: <http://www.anecacao.com/uploads/standard/ensayosdecortes.pdf>
44. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177 Cacao en grano Muestreo. 1995; Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/177.pdf>
45. ISO. International Standard Iso 2451. Cocoa beans- Specif Qual Requir [Internet]. 2017;3. Disponible en: https://infostore.saiglobal.com/preview/iso/updates2017/wk47/iso_2451-2017_2.pdf?sku=1950374
46. ESPAE. Estudios industriales orientación estratégica para la toma de decisiones. Ind Cacao [Internet]. 2016; Disponible en: <http://www.espae.espol.edu.ec/publicaciones-de-espae/>
47. Enriquez G. Cacao orgánico: Guía para productores ecuatorianos [Internet]. 54.^a ed. INIAP, editor. Quito; 2010. 407 p. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4571>
48. FAO, IICA. Estudio De Caso: Denominacion De Origen «Cacao Arriba». 2007;1-70. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/olq/documents/Santiago/Documentos/Estudios de caso/Cacao_Ecuador.pdf
49. Pinzón Useche J, Ardila Rojas J. Guía técnica para el cultivo del cacao [Internet]. FEDECACAO. Bogotá; 2003. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/3666/1/031.1.pdf>
50. Figueira A, Janick J, Levy M, Goldsbrough P. Reexamining the classification of *Theobroma cacao* L. using molecular markers. *J Am Soc Hortic Sci.* 1994;119(5):1073-82.
51. Ramirez Guillermo M, Lagunes Espinoza L, Ortiz García C, Gutiérrez O, Santamaría R. Variación morfológica de frutos y semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) de plantaciones en Tabasco, México. *Rev Fitotec Mex* [Internet]. 2018;41(2):117-25. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/610/61059020003/61059020003.pdf>

52. Quiroz J. La producción del cacao [Internet]. 1.^a ed. Quito: Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca; 2009. Disponible en: <http://www.gob.mx/siap>
53. Espinosa J, Mite F, Cedeño S, Barriga S, Andino J. Manejo por sitio específico del cacao basado en sistemas de información geográfica. Inpofos [Internet]. 2006;(60):10-4. Disponible en: [http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/24556D23CD98D2B9852579A3006D832E/\\$FILE/Manejo de sitio específico del Cacao....pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/24556D23CD98D2B9852579A3006D832E/$FILE/Manejo%20de%20sitio%20específico%20del%20Cacao....pdf)
54. Codini M, Díaz Veléz F, Ghirardi M, Villavicencio I. Obtención y utilización de la manteca de cacao. 2004;1-5.
55. Montaleza Armijos JF, Quevedo Guerrero JN, García Batista M. Análisis de la diversidad morfológica de cacao (*Theobroma cacao*.L) del jardín clonal de la Universidad Técnica de Machala. J Chem Inf Model. 2020;53(9):1689-99.
56. Anecacao. Revista especializada en cacao. Sabor Arriba [Internet]. 2015;3(Parte II):44. Disponible en: www.anecacao.com
57. Sánchez Cueva M, Jaramillo Aguilar E, Ramírez Morales I. Enfermedades del Cacao. 2015;(January). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/312535758_Enfermedades_en_cacao
58. Singh J, Kyu Lee B. Influence of nano-TiO₂ particles on the bioaccumulation of Cd in soybean plants (*Glycine max*): A possible mechanism for the removal of Cd from the contaminated soil. J Environ Manage [Internet]. 2016;170:88-96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.01.015>
59. Pico J, Calderón D, Fernandez F, Díaz A. Guía del manejo integrado de enfermedades del cultivo de cacao en la Amazonia. INIAP [Internet]. 2012;19. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3752>
60. Prakash K H. Cacao diseases: A global perspective from an industry point of view. Phytopathology [Internet]. 2007;97(12):1658-63. Disponible en: <https://scihub.se/https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1658>
61. Sánchez Mora FD, Garcés Fiallos FR. *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao *Moniliophthora*. Sci Agropecu [Internet].

- 2012;3(2012):249-58. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633703006.pdf>
62. Enríquez G. La moniliasis del cacao. 1980;(72):1-98. Disponible en:
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AV-1235.pdf>
63. Casteblanco JA. Heavy metals remediation with potential application in cocoa cultivation. 2018;27(1):21-35. Disponible en:
<https://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/27.2018.02>
64. IICA. Agricultura y variabilidad climática. Lo que debemos saber del clima [Internet]. 2015;1. Disponible en:
<http://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2601/BVE17038689e.pdf;jsessionid=14FB85567C1A5495745FF85E13CA4105?sequence=1>
65. Suárez YJ, Hernández FA. Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L) en Colombia, con énfasis en monilla (*Moniliophthora roreri*) [Internet]. Director. 2010. 1-90 p. Disponible en: Colombia
66. Llor Solórzano R, Sotomayor I, Jiménez J, Tarqui O, Rodríguez G, Casanova T, et al. INIAP-EETP-800 e INIAP-EETP-801 nuevos clones de cacao fino y de aroma con alto rendimiento. INIAP, Estac Exp Trop Pichilingue, Programa Nac Cacao y Café [Internet]. 2018;(052). Disponible en:
<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5240/1/INIAPBEETPP436.pdf>
67. Vera Chang J, Goya Baquerizo A. Comportamiento agronómico, calidad física y sensorial de 21 líneas híbridas de cacao (*Theobroma cacao* L.). Rev las Agrociencias [Internet]. 2015;(15):26. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/325985827_GUIA_PARA_EL_MEJORA_MIENTO_DE_CACAO_NACIONAL
68. Rosas Patiño G, Puentes Páramo YJ, Menjivar Flores JC. Relación entre el pH y la disponibilidad de nutrientes para cacao en un entisol de la Amazonia colombiana. Corpoica ciencia y Tecnol Agropecu. 2017;18(3):529-41.
69. Fernández Lizarazo JC, Bohorquez Santana W, Rodríguez Villate A. Dinámica nutricional de cacao bajo diferentes tratamientos de fertilización con N, P y K en vivero. Rev Colomb Ciencias Hortícolas [Internet]. 2016;10(2):367-80. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v10n2/v10n2a17.pdf>

70. ANECACAO. Sector exportador de cacao. 2019; Disponible en: <http://www.anecacao.com/uploads/estadistica/cacao-ecuador-2019-4.pdf>
71. Lupton NC, Sánchez A, Kerpel A. Chocolate Pacari: Preservando la biodiversidad, viviendo sin remordimientos. Emerald Emerg Mark Case Stud [Internet]. 2019;9(4):1-38. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/337957901_Chocolate_Pacari_Preservando_la_biodiversidad_viviendo_sin_remordimientos
72. Suquilanda Valdivieso MB. Producción orgánica de cultivos andinos. 2009;126:199. Disponible en: http://www.mountainpartnership.org/fileadmin/user_upload/mountain_partnership/docs/1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf
73. Londoño Vélez S. Virtudes y delicias del chocolate. 1999;180.
74. Suárez Capello C, Morerira Duque M, Vera Barahona J. Manual del cultivo de cacao [Internet]. 25.^a ed. Quevedo, EC: INIAP EETP, editor. Quevedo; 1994. 135 p. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/1621>
75. López Navarrete M, Hernández Gómez E. El proceso de fermentación del CACAO. 2018;4:319-30. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/572/441>
76. Ayestas E, Vega Jarquín C, Torres P, Lanzas J, Orozco L, Astorga C. Puntos críticos del manejo poscosecha de cacao en Waslala, Nicaragua. La Calera [Internet]. 2016;14(22):5-12. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303908888_Puntos
77. Teneda Llerena WF. Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). Var Nac y Var CCN51. 2016;140.
78. Gutiérrez Seijas M. Efecto de la frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en cajón cuadrado sobre la temperatura y el índice de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). Rev Científica UDO Agrícola [Internet]. 2012;12(4):914-8. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg12104>
79. Almeida A, García Ri, Fajardo C, Peralta U. Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú. Enfoque UTE

- [Internet]. 2019;10(4):1-12. Disponible en: <https://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/view/462/575>
80. Vera Chang JF, Torres Navarrete YG, Vallejo Torres CA. Guía para el mejoramiento de la calidad del cacao nacional. 2016;1(June). Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/325985827>
81. INIAP. Manejo técnico del cultivo de cacao en Manabí [Internet]. 75.^a ed. Portoviejo: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias; 2010. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4875/1/iniappom75.pdf>
82. Álvarez C, Tovar L, García H, Morillo F, Sánchez P, Girón C, et al. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. 2010;10(1):76-87.
83. Rivera Fernández RD, Barrera Álvarez AE, Guzmán Cedeño ÁM, Medina Quinteros HN, Casanova Ferrín LM, Peña Galeas MM, et al. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional. Cienc y Tecnol [Internet]. 2012;5(1):7-12. Disponible en: https://uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_calidad_fisica_quimica_cacao.pdf
84. Vega Pineda F, Rodríguez Campoa J, Escalona Buendía H, Cervantes Lugo E. Optimización del proceso de tostado de *Theobroma cacao* var. Criollo en función del perfil cromatográfico. 2016;181-6. Disponible en: [https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/417/1/Optimizaci3n del proceso de tostado.pdf](https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/417/1/Optimizaci3n_del_proceso_de_tostado.pdf)
85. Álvarez Córdova E. Guía técnica para la elaboración de chocolate. 2020;1. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/623.pdf>
86. Aldave Palacios GJ. Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en los caracteres sensoriales y en las propiedades químicas de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedente de Uchiza, San Martín – Perú para la obtención de NIBS [Internet]. Vol. 121, UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS; 2016. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/5009/Aldave_pj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

87. Calderón R, Chaurán Y, Mendoza N, Vega C, Rojas J, Manganiello L. Operating parameters more appropriate in the process of roasted cocoa almonds. Rev Ing UC [Internet]. 2016;23. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/707/70745478009.pdf>
88. Vallejo Torres CA, Loayza Flores GL, Morales Rodríguez W, Vera Chang J. Perfil sensorial de genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la parroquia Valle Hermoso-Ecuador. Rev Espamciencia [Internet]. 2018;9(2):103-13. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2224-54212014000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=en
89. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria de pasta (masa, licor) de cacao INEN 623. 1988;2-7. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/623.pdf>
90. Molina C, Espín N. Obtención de extractos enzimáticos con actividad ligninolítica y celulolítica a partir del crecimiento del hongo *lentinus edodes* en aserrín tropical. Epn [Internet]. 2014;33(2):1-7. Disponible en: http://www.revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/120
91. Jaen A, Alvarez N, Angulo S, Moreno M. Actividad enzimática del complejo celulolítico producido por *Trichoderma reesei*. Centro de Investigaciones Energéticas, medioambientales y tecnológicas. 1986. 1-42 p.
92. Mejía Reyéz JD, Coronel Niño R, Gálvez López D, Rosas Quijano R, Vásquez Ovando A. Efecto de la fermentación y del tostado sobre el contenido de aminas biogénicas en semillas de cacao. 2018;3(12):958-79. Disponible en: <https://www.jonnpr.com/PDF/2778.pdf>
93. Wachter Rodarte M. Microorganismos y chocolate. Rev Digit Univ [Internet]. 2011;12:1-9. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art42/art42.pdf>
94. Otárola Gamarra A, Sandoval Ricci A. “Efecto de la enzima Pectolítica y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y calidad del cacao var. Criollo (*Theobroma cacao*)” [Internet]. Universidad Nacional Ferderico Villarreal; 2018. Disponible en:

http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/2554/ERAZO_GONZALES_NILO_ELIO.pdf?sequence=1&isAllowed=

95. Bécquer CJ, Galdo Y, Mirabal A, Quintana M, Puentes A. Rizobios aislados de leguminosas forrajeras de un ecosistema ganadero árido de Holguín, Cuba. Tolerancia a estrés abiótico y producción de catalasa (Fase II). Cuba J Agric Sci [Internet]. 2017;51(1):117-27. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/cjas/v51n1/cjas13117.pdf>
96. Villanueva EE, Quintana A. Aislamiento y selección de bacterias nativas de rizobios fijadores de nitrógeno, a partir de nódulos radiculares de *Phaseolus vulgaris*. Rebiol. 2012;32(1):24-30.
97. Wright SF, Wright RJ, Sworobuk JE, Boyer DG. Effect of acid soil chemical properties on nodulation and competition of rhizobium trifolii. Commun Soil Sci Plant Anal [Internet]. 1988;19(3):311-25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/00103628809367941%0APublished>
98. Posada Borrero A. Contribucion a la inoculacion bacteriana de semillas de soya. 1952;2(1). Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/viewFile/49162/50239
99. Marcondes JA, Carrareto Alves L, Mello Varani A. The family Bradyrhizobiaceae. 2014;(January 2014):135-54.
100. Meter A, Atkinson R, Labiberte B. Cadmio en el cacao de America Latina y el Caribe. J Chem Inf Model [Internet]. 2019;53(9):1689-99. Disponible en: https://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1505/Cadmio_en_el_cacao_de_America_Latina_y_el_Caribe.pdf
101. Londoño Franco LF, Londoño Muñoz PT, Muñoz Garcia FG. Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. Biotecnología en el Sect Agropecu y Agroindustrial [Internet]. 2016;14(2):145. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v14n2/v14n2a17.pdf>
102. Unión E. Reflamiento (UE) N° 488/2014. EFSA J. 2014;9(2):10-4.
103. Cedeño Saavedra DA, Canchignia Martínez HF, Cruz Rosero N, Guerra

- Cuenca FF, Gaibor Fernández R, Cedeño Moreira ÁV. Rizobacterias que promueven el desarrollo e incremento en productividad de *Glycine max* L. *Cienc y Tecnol.* 2016;10(1):7.
104. Álvarez Coello L, Vera Chang J, Vallejo Torres C, Tuarez Garcia D. Aprovechamiento de almendras de jackfruit adicionando manteca de cinco clones experimentales de cacao extraída a partir de mazorcas infectadas con moniliasis para la obtención de crema de chocolate blanco. 2020;(May):61-8. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/342302007>
105. Vera Chang JF, Castaño OR, Torres Navarrete Y. Fundamento de metodología de la investigación científica [Internet]. 1.^a ed. Compás G, editor. Ecología. Guayaquil; 2018. Disponible en: <http://142.93.18.15:8080/jspui/bitstream/123456789/274/3/libro.pdf>
106. Revoredo Marquina AG. Efecto del tratamiento con 3 cepas de estreptomicetos en la acumulación de cadmio en plantas de *Theobroma cacao* L. [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018. Disponible en: http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/1475%0Ahttp://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/1475/Efecto_RevoredoMarquina_Andrea.pdf?sequence=1&isAllowed=y
107. Vera Barahona J, Vera Chang JF. Resumen de principios de diseños experimentales [Internet]. Compás G, editor. Guayaquil; 2018. 102 p. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3764/1/1.pdf>
108. Aguilar H. Manual para la evaluación de la calidad del grano de cacao. 2016;12-4.
109. Zambrano Muñoz DM. “Estudio del contenido en cadmio de cacao (*Theobroma cacao* L) ecuatoriano y su incidencia en el consumo humano” [Internet]. Universidad de Cordoba; 2018. Disponible en: https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/20041/tfm_denisse_margoth_zambrano_muñoz.pdf?sequence=1&isAllowed=y
110. Araujo Abad LS. Verificación del método analítico de espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito para la cuantificación de cadmio en almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) [Internet]. Tesis. Universidad Politécnica Salesiana;

2016. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
111. Velásquez Cardona LM, Rodríguez Sandoval E, Chamarro Cadena EM. Diagnóstico de las prácticas de beneficio del cacao en el departamento de Arauca. *Rev Lasallista Investig.* 2016;13(1):94-104.
112. Arvelo Sánchez MÁ, González León D, Maroto Arce S, Delgado López TD, Montoya Rodríguez P. Manual técnico del cultivo de cacao prácticas latinoamericanas. 1.^a ed. Agricultura II de C para la A, editor. Costa Rica; 2017. 1-143 p.
113. Vega Vite JU. Evaluación de las características del licor de cacao ccn-51 (*Theobroma cacao* L.) considerando diferentes aspectos de manejo en poscosecha. Vol. 1. Universidad de las fuerzas armadas; 2018.
114. Armijos Paredes AI. Características de acidez como parámetros químico de calidad en muestra de cacao (*Theobroma cacao* L.) fino y Ordinario de producción nacional durante la fermentación. [Internet]. Vol. 12, INIAP. Universidad Católica del Ecuador; 2002. Disponible en: <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>
115. Castañeda Sedano J, Rodríguez Campos J, Cervantes Lugo E. Análisis del perfil de compuestos volátiles de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) Durante el proceso de fermentación y secado por componentes principales. 2016;8. Disponible en: [https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/414/1/Análisis del perfil de compuestos volátiles.pdf](https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/414/1/Análisis%20del%20perfil%20de%20compuestos%20volátiles.pdf)
116. Zambrano A, Gómez Á, Ramos G, Romero C, Lacruz C, Rivas E. Caracterización de parámetros físicos de calidad en almendras de cacao Criollo, Trinitario y Forastero durante el proceso de secado. *Agron Trop* [Internet]. 2010;60(4):389-96. Disponible en: [https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/414/1/Análisis del perfil de compuestos volátiles.pdf](https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/414/1/Análisis%20del%20perfil%20de%20compuestos%20volátiles.pdf)
117. Santana P, Vera J, Vallejo C, Álvarez A. Mucílago de cacao, nacional y trinitario para la obtención de una bebida hidratante. *Repos Digit UTEQ* [Internet]. 2020;(April 2020):1-128. Disponible en:

<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2262/1/T-UTEQ-0033.pdf>

118. Quizhpi Nieves EX. Caracterización del mucilago de cacao CCN 51 mediante espectrofotometría uv-visible y absorción atómica [Internet]. Vol. 53, Journal of chemical information and modeling. 2016. Disponible en: Universidad de Cuenca
119. García Escobar HM, Martínez Ramírez RN. Determinación del perfil de sabor de doce cacaos autóctonos (*Theobroma cacao* L.) Producidos en siete fincas cacaoteras de El Salvador. *Angew Chemie Int Ed* [Internet]. 1967;6(11):951-2. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/16512/1/13191670.pdf>
120. Portillo E, Labarca M, Grazziani L, Cros E, SEEMAT S, Davrieux F, et al. Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela Aroma. *Rev Cient UDO Agric*. 2009;9(2):458-68.
121. Quevedo Guerrero NJ. Calidad físico química y sensorial de granos y licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) Usando cinco métodos de fermentación. 2018;
122. Pérez Garcia PE, Azcona Cruz MI. Los efectos del cadmio en la salud. *Rev Espec Médico Quirúrgicas* [Internet]. 2012;17(3):199-205. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/473/47324564010.pdf>
123. Covarrubias S, García Berumen JA, Peña Cabrielas JJ. El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Acta Univ* [Internet]. 2015;25(NE-3):40-5. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/473/47324564010.pdf>
124. Ozawa T, Ijiri K. Inhibitory effect of cadmium on competitive nodulation ability of *Bradyrhizobium japonicum*. 2015 [citado 4 de diciembre de 2020];49:27-33. Disponible en: <http://ci.nii.ac.jp/naid/120005550374/en/>
125. Salazar Pacheco MB. “Aplicación de siete bioles sobre el desarrollo agronómico en cacao (*theobroma cacao* l.) De origen sexual y asexual en etapa productiva en la finca experimental La Represa” [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2020. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5372/1/T-UTEQ-0267.pdf>

CAPÍTULO VI

ANEXOS

Anexo 1. El diseño de experimentos de las diferentes variables Temperatura, pH, Brix, fermentación, prueba de testa, índice de semilla, prueba sensorial.

Variable dependiente: INDICE DE SEMILLA

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	620.897778	124.179556	1.40	0.2922
Error	12	1064.626667	88.718889		
Total correcto	17	1685.524444			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	INDICE DE SEMILLA Media
0.368371	6.260830	9.419070	150.4444

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	304.2222222	304.2222222	3.43	0.0888
Rhizobium	2	236.5377778	118.2688889	1.33	0.3000
Variedad*Rhizobium	2	80.1377778	40.0688889	0.45	0.6470

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	304.2222222	304.2222222	3.43	0.0888
Rhizobium	2	236.5377778	118.2688889	1.33	0.3000
Variedad*Rhizobium	2	80.1377778	40.0688889	0.45	0.6470

Variable dependiente: PORCENTAJE DE TESTA

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	20.3114944	4.0622989	0.46	0.7988
Error	12	106.0344667	8.8362056		
Total correcto	17	126.3459611			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PorTESTA Media
0.160761	21.16131	2.972576	14.04722

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00200556	0.00200556	0.00	0.9882
Rhizobium	2	4.64694444	2.32347222	0.26	0.7731
Variedad*Rhizobium	2	15.66254444	7.83127222	0.89	0.4375

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00200556	0.00200556	0.00	0.9882
Rhizobium	2	4.64694444	2.32347222	0.26	0.7731
Variedad*Rhizobium	2	15.66254444	7.83127222	0.89	0.4375

Variable dependiente: PORCENTAJE DE COTILEDON

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	20.3114944	4.0622989	0.46	0.7988
Error	12	106.0344667	8.8362056		
Total correcto	17	126.3459611			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PorCOTILEDON Media
0.160761	3.458382	2.972576	85.95278

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00200556	0.00200556	0.00	0.9882
Rhizobium	2	4.64694444	2.32347222	0.26	0.7731
Variedad*Rhizobium	2	15.66254444	7.83127222	0.89	0.4375

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00200556	0.00200556	0.00	0.9882
Rhizobium	2	4.64694444	2.32347222	0.26	0.7731
Variedad*Rhizobium	2	15.66254444	7.83127222	0.89	0.4375

Variable dependiente: FERMENTADAS

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	987.111111	197.422222	7.33	0.0023
Error	12	323.333333	26.944444		
Total correcto	17	1310.444444			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Fermentadas Media
0.753264	7.799204	5.190804	66.55556

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	10.888889	10.888889	0.40	0.5369
Rhizobium	2	638.777778	319.388889	11.85	0.0014
Variedad*Rhizobium	2	337.444444	168.722222	6.26	0.0137

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	10.888889	10.888889	0.40	0.5369
Rhizobium	2	638.777778	319.388889	11.85	0.0014
Variedad*Rhizobium	2	337.444444	168.722222	6.26	0.0137

Variable dependiente: VIOLETA

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	870.277778	174.055556	7.12	0.0026
Error	12	293.333333	24.444444		
Total correcto	17	1163.611111			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Violeta Media
0.747911	15.58571	4.944132	31.72222

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	12.5000000	12.5000000	0.51	0.4882
Rhizobium	2	511.4444444	255.7222222	10.46	0.0023
Variedad*Rhizobium	2	346.3333333	173.1666667	7.08	0.0093

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	12.5000000	12.5000000	0.51	0.4882
Rhizobium	2	511.4444444	255.7222222	10.46	0.0023
Variedad*Rhizobium	2	346.3333333	173.1666667	7.08	0.0093

Variable dependiente: PIZARRA

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	10.94444444	2.18888889	5.63	0.0067
Error	12	4.66666667	0.38888889		
Total correcto	17	15.61111111			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Pizarra Media
0.701068	36.20959	0.623610	1.722222

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.05555556	0.05555556	0.14	0.7121
Rhizobium	2	10.11111111	5.05555556	13.00	0.0010
Variedad*Rhizobium	2	0.77777778	0.38888889	1.00	0.3966

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.05555556	0.05555556	0.14	0.7121
Rhizobium	2	10.11111111	5.05555556	13.00	0.0010
Variedad*Rhizobium	2	0.77777778	0.38888889	1.00	0.3966

Variable dependiente: pH1

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.63611111	0.12722222	10.41	0.0005
Error	12	0.14666667	0.01222222		
Total correcto	17	0.78277778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	pH1 Media
0.812633	3.123979	0.110554	3.538889

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.16055556	0.16055556	13.14	0.0035
Rhizobium	2	0.38777778	0.19388889	15.86	0.0004
Variedad*Rhizobium	2	0.08777778	0.04388889	3.59	0.0599

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.16055556	0.16055556	13.14	0.0035
Rhizobium	2	0.38777778	0.19388889	15.86	0.0004
Variedad*Rhizobium	2	0.08777778	0.04388889	3.59	0.0599

Variable dependiente: pH2

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.75777778	0.15155556	2.17	0.1267
Error	12	0.84000000	0.07000000		
Total correcto	17	1.59777778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	pH2 Media
0.474270	5.524771	0.264575	4.788889

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Rhizobium	2	0.45444444	0.22722222	3.25	0.0747
Variedad*Rhizobium	2	0.30333333	0.15166667	2.17	0.1573

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Rhizobium	2	0.45444444	0.22722222	3.25	0.0747
Variedad*Rhizobium	2	0.30333333	0.15166667	2.17	0.1573

Variable dependiente: pH3

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	1.59111111	0.31822222	7.07	0.0027
Error	12	0.54000000	0.04500000		
Total correcto	17	2.13111111			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	pH3 Media
0.746611	4.348948	0.212132	4.877778

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.14222222	0.14222222	3.16	0.1008
Rhizobium	2	0.78111111	0.39055556	8.68	0.0047
Variedad*Rhizobium	2	0.66777778	0.33388889	7.42	0.0080

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.14222222	0.14222222	3.16	0.1008
Rhizobium	2	0.78111111	0.39055556	8.68	0.0047
Variedad*Rhizobium	2	0.66777778	0.33388889	7.42	0.0080

Variable dependiente: pH4

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	1.05611111	0.21122222	5.67	0.0065
Error	12	0.44666667	0.03722222		
Total correcto	17	1.50277778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	pH4 Media
0.702773	3.968858	0.192931	4.861111

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.06722222	0.06722222	1.81	0.2039
Rhizobium	2	0.01444444	0.00722222	0.19	0.8262
Variedad*Rhizobium	2	0.97444444	0.48722222	13.09	0.0010

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.06722222	0.06722222	1.81	0.2039
Rhizobium	2	0.01444444	0.00722222	0.19	0.8262
Variedad*Rhizobium	2	0.97444444	0.48722222	13.09	0.0010

Variable dependiente: Brix1

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.44089444	0.08817889	480.98	<.0001
Error	12	0.00220000	0.00018333		
Total correcto	17	0.44309444			

R-cuadrado	CoefVar	Raiz MSE	Brix1 Media
0.995035	0.104239	0.013540	12.98944

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.42013889	0.42013889	2291.67	<.0001
Rhizobium	2	0.01854444	0.00927222	50.58	<.0001
Variedad*Rhizobium	2	0.00221111	0.00110556	6.03	0.0154

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.42013889	0.42013889	2291.67	<.0001
Rhizobium	2	0.01854444	0.00927222	50.58	<.0001
Variedad*Rhizobium	2	0.00221111	0.00110556	6.03	0.0154

Variable dependiente: Brix2

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	3.22906667	0.64581333	442.00	<.0001
Error	12	0.01753333	0.00146111		
Total correcto	17	3.24660000			

R-cuadrado	CoefVar	Raiz MSE	Brix2 Media
0.994599	0.310432	0.038224	12.31333

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.86402222	2.86402222	1960.17	<.0001
Rhizobium	2	0.11223333	0.05611667	38.41	<.0001
Variedad*Rhizobium	2	0.25281111	0.12640556	86.51	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.86402222	2.86402222	1960.17	<.0001
Rhizobium	2	0.11223333	0.05611667	38.41	<.0001
Variedad*Rhizobium	2	0.25281111	0.12640556	86.51	<.0001

Variable dependiente: Brix3

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	1.14502778	0.22900556	6.63	0.0035
Error	12	0.41420000	0.03451667		
Total correcto	17	1.55922778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Brix3 Media
0.734356	1.660869	0.185787	11.18611

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.53733889	0.53733889	15.57	0.0019
Rhizobium	2	0.53017778	0.26508889	7.68	0.0071
Variedad*Rhizobium	2	0.07751111	0.03875556	1.12	0.3573

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.53733889	0.53733889	15.57	0.0019
Rhizobium	2	0.53017778	0.26508889	7.68	0.0071
Variedad*Rhizobium	2	0.07751111	0.03875556	1.12	0.3573

Variable dependiente: Brix4

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	15.28800000	3.05760000	35.20	<.0001
Error	12	1.04240000	0.08686667		
Total correcto	17	16.33040000			

R-cuadrado	CoefVar	Raiz MSE	Brix4 Media
0.936168	3.350491	0.294732	8.796667

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	10.82675556	10.82675556	124.64	<.0001
Rhizobium	2	2.54013333	1.27006667	14.62	0.0006
Variedad*Rhizobium	2	1.92111111	0.96055556	11.06	0.0019

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	10.82675556	10.82675556	124.64	<.0001
Rhizobium	2	2.54013333	1.27006667	14.62	0.0006
Variedad*Rhizobium	2	1.92111111	0.96055556	11.06	0.0019

Variable dependiente:Temp1

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	1.11111111	0.22222222	0.31	0.8990
Error	12	8.66666667	0.72222222		
Total correcto	17	9.77777778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Temp1 Media
0.113636	3.023134	0.849837	28.11111

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.22222222	0.22222222	0.31	0.5893
Rhizobium	2	0.11111111	0.05555556	0.08	0.9264
Variedad*Rhizobium	2	0.77777778	0.38888889	0.54	0.5971

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.22222222	0.22222222	0.31	0.5893
Rhizobium	2	0.11111111	0.05555556	0.08	0.9264
Variedad*Rhizobium	2	0.77777778	0.38888889	0.54	0.5971

Variable dependiente:Temp2

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	13.16666667	2.63333333	23.70	<.0001
Error	12	1.33333333	0.11111111		
Total correcto	17	14.50000000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Temp2 Media
0.908046	0.904977	0.333333	36.83333

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.05555556	0.05555556	0.50	0.4930
Rhizobium	2	13.00000000	6.50000000	58.50	<.0001
Variedad*Rhizobium	2	0.11111111	0.05555556	0.50	0.6186

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.05555556	0.05555556	0.50	0.4930
Rhizobium	2	13.00000000	6.50000000	58.50	<.0001
Variedad*Rhizobium	2	0.11111111	0.05555556	0.50	0.6186

Variable dependiente:Temp3

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	3.10444444	0.62088889	3.43	0.0373
Error	12	2.17333333	0.18111111		
Total correcto	17	5.27777778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Temp3 Media
0.588211	1.088109	0.425572	39.11111

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00222222	0.00222222	0.01	0.9136
Rhizobium	2	2.65444444	1.32722222	7.33	0.0083
Variedad*Rhizobium	2	0.44777778	0.22388889	1.24	0.3250

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00222222	0.00222222	0.01	0.9136
Rhizobium	2	2.65444444	1.32722222	7.33	0.0083
Variedad*Rhizobium	2	0.44777778	0.22388889	1.24	0.3250

Variable dependiente:Temp4

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	419.842778	83.968556	1.12	0.4028
Error	12	903.693333	75.307778		
Total correcto	17	1323.536111			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Temp4 Media
0.317213	21.92954	8.678005	39.57222

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	58.6805556	58.6805556	0.78	0.3947
Rhizobium	2	188.5877778	94.2938889	1.25	0.3207
Variedad*Rhizobium	2	172.5744444	86.2872222	1.15	0.3504

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	58.6805556	58.6805556	0.78	0.3947
Rhizobium	2	188.5877778	94.2938889	1.25	0.3207
Variedad*Rhizobium	2	172.5744444	86.2872222	1.15	0.3504

Variable dependiente:Aroma

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	1.00000000	0.20000000	0.20	0.9605
Error	54	53.60000000	0.99259259		
Total correcto	59	54.60000000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Aroma Media
0.018315	26.92674	0.996289	3.700000

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Rhizobium	2	0.70000000	0.35000000	0.35	0.7045
Variedad*Rhizobium	2	0.30000000	0.15000000	0.15	0.8601

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Rhizobium	2	0.70000000	0.35000000	0.35	0.7045
Variedad*Rhizobium	2	0.30000000	0.15000000	0.15	0.8601

Variable dependiente:Acidez

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	2.48333333	0.49666667	1.01	0.4197
Error	54	26.50000000	0.49074074		
Total correcto	59	28.98333333			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Acidez Media
0.085681	102.5164	0.700529	0.683333

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	1.35000000	1.35000000	2.75	0.1030
Rhizobium	2	0.43333333	0.21666667	0.44	0.6454
Variedad*Rhizobium	2	0.70000000	0.35000000	0.71	0.4946

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	1.35000000	1.35000000	2.75	0.1030
Rhizobium	2	0.43333333	0.21666667	0.44	0.6454
Variedad*Rhizobium	2	0.70000000	0.35000000	0.71	0.4946

Variable dependiente: Amargor

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	5.93333333	1.18666667	1.79	0.1305
Error	54	35.80000000	0.66296296		
Total correcto	59	41.73333333			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Amargor Media
0.142173	20.70065	0.814225	3.933333

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.26666667	0.26666667	0.40	0.5286
Rhizobium	2	3.03333333	1.51666667	2.29	0.1113
Variedad*Rhizobium	2	2.63333333	1.31666667	1.99	0.1471

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.26666667	0.26666667	0.40	0.5286
Rhizobium	2	3.03333333	1.51666667	2.29	0.1113
Variedad*Rhizobium	2	2.63333333	1.31666667	1.99	0.1471

Variable dependiente:Cacao

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	4.28333333	0.85666667	1.29	0.2824
Error	54	35.90000000	0.66481481		
Total correcto	59	40.18333333			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Cacao Media
0.106595	21.93798	0.815362	3.716667

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.81666667	2.81666667	4.24	0.0444
Rhizobium	2	0.53333333	0.26666667	0.40	0.6716
Variedad*Rhizobium	2	0.93333333	0.46666667	0.70	0.5001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.81666667	2.81666667	4.24	0.0444
Rhizobium	2	0.53333333	0.26666667	0.40	0.6716
Variedad*Rhizobium	2	0.93333333	0.46666667	0.70	0.5001

Variable dependiente:Nuez

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	2.55000000	0.51000000	0.41	0.8395
Error	54	67.10000000	1.24259259		
Total correcto	59	69.65000000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Nuez Media
0.036612	47.43474	1.114716	2.350000

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.01666667	2.01666667	1.62	0.2081
Rhizobium	2	0.10000000	0.05000000	0.04	0.9606
Variedad*Rhizobium	2	0.43333333	0.21666667	0.17	0.8405

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.01666667	2.01666667	1.62	0.2081
Rhizobium	2	0.10000000	0.05000000	0.04	0.9606
Variedad*Rhizobium	2	0.43333333	0.21666667	0.17	0.8405

Variable dependiente:FS

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	2.33333333	0.46666667	0.31	0.9033
Error	54	80.60000000	1.49259259		
Total correcto	59	82.93333333			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	FS Media
0.028135	49.52907	1.221717	2.466667

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.06666667	0.06666667	0.04	0.8334
Rhizobium	2	0.53333333	0.26666667	0.18	0.8369
Variedad*Rhizobium	2	1.73333333	0.86666667	0.58	0.5630

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.06666667	0.06666667	0.04	0.8334
Rhizobium	2	0.53333333	0.26666667	0.18	0.8369
Variedad*Rhizobium	2	1.73333333	0.86666667	0.58	0.5630

Variable dependiente:Floral

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	9.2000000	1.8400000	0.84	0.5250
Error	54	117.8000000	2.1814815		
Total correcto	59	127.0000000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Floral Media
0.072441	59.07936	1.476984	2.500000

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	1.06666667	1.06666667	0.49	0.4874
Rhizobium	2	3.90000000	1.95000000	0.89	0.4150
Variedad*Rhizobium	2	4.23333333	2.11666667	0.97	0.3855

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	1.06666667	1.06666667	0.49	0.4874
Rhizobium	2	3.90000000	1.95000000	0.89	0.4150
Variedad*Rhizobium	2	4.23333333	2.11666667	0.97	0.3855

Variable dependiente: Especies

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.33333333	0.06666667	0.29	0.9163
Error	54	12.40000000	0.22962963		
Total correcto	59	12.73333333			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Especies Media
0.026178	205.3701	0.479197	0.233333

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Rhizobium	2	0.23333333	0.11666667	0.51	0.6045
Variedad*Rhizobium	2	0.10000000	0.05000000	0.22	0.8050

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Rhizobium	2	0.23333333	0.11666667	0.51	0.6045
Variedad*Rhizobium	2	0.10000000	0.05000000	0.22	0.8050

Variable dependiente:Otros

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	13.55000000	2.71000000	3.32	0.0110
Error	54	44.10000000	0.81666667		
Total correcto	59	57.65000000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Otros Media
0.235039	139.0302	0.903696	0.650000

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.01666667	2.01666667	2.47	0.1219
Rhizobium	2	5.70000000	2.85000000	3.49	0.0376
Variedad*Rhizobium	2	5.83333333	2.91666667	3.57	0.0349

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	2.01666667	2.01666667	2.47	0.1219
Rhizobium	2	5.70000000	2.85000000	3.49	0.0376
Variedad*Rhizobium	2	5.83333333	2.91666667	3.57	0.0349

Variable dependiente: Inten

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	35.5333333	7.1066667	5.10	0.0007
Error	54	75.2000000	1.3925926		
Total correcto	59	110.7333333			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Inten Media
0.320891	31.32960	1.180082	3.766667

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	19.2666667	19.2666667	13.84	0.0005
Rhizobium	2	2.5333333	1.2666667	0.91	0.4088
Variedad*Rhizobium	2	13.7333333	6.8666667	4.93	0.0108

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
Variedad	1	19.2666667	19.2666667	13.84	0.0005
Rhizobium	2	2.5333333	1.2666667	0.91	0.4088
Variedad*Rhizobium	2	13.7333333	6.8666667	4.93	0.0108

Anexo 2. Norma INEN Requisitos para la (Masa, Licor) de cacao.



CDU: 603.02

AI 02.06-405

<p>Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria</p>	<p>PASTA (MASA, LICOR) DE CACAO</p> <p>REQUISITOS</p>	<p>INEN 023</p> <p>1038-08</p>
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la pasta de cacao para fabricación industrial de productos de cacao y chocolate para consumo humano.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma comprende únicamente la pasta de cacao proveniente del grano de cacao.</p> <p style="text-align: center;">3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 Pasta de cacao. Es el producto obtenido por la desintegración mecánica de granos de cacao adecuadamente fermentados y secos que previamente hayan sido sometidos a limpieza, descascarado y tostación, prácticamente exentos de toda clase de impurezas.</p> <p>3.2 Pasta de cacao soluble. Es la pasta de cacao que ha sido sometida a proceso adecuado de solubilización y/o alcalinización.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 La pasta de cacao deberá elaborarse bajo condiciones sanitarias apropiadas, con semillas de cacao sanas, limpias, adecuadamente fermentada, descascarada y desgranada, exentas, de acuerdo a las tolerancias vigentes, de residuos de plaguicidas u otras sustancias tóxicas.</p> <p>4.2 La pasta de cacao soluble podrá tratarse, durante su manufactura, con agentes alcalinizantes, como hidróxidos, carbonatos o bicarbonatos de sodio, potasio, magnesio o amonio, siempre que en cualquier caso no excedan de un equivalente de 3,5 % expresado como carbonato de potasio anhidro, calculado sobre base seca y desengrasada, y con agentes neutralizantes como ácido fosfórico, en la dosis máxima de 0,25 % expresado como anhidro fosfórico, ácido cítrico y ácido tartárico en la dosis máxima de 0,50 %, solos o combinados calculados sobre la masa total del producto.</p> <p>4.3 La pasta de cacao debe estar exenta de toda clase de materias vegetales de otra procedencia (féculas, harinas, dextrinas) grasas animales o vegetales y semillas extrañas. Además, no se deberá agregar cascarrilla de cacao, sustancias inertes, colorantes, conservantes u otros productos extraños a su composición natural.</p> <p>4.4 La pasta de cacao no debe contener su composición ninguna sustancia mineral, excepto los residuos de la solubilización, si ésta tiene lugar.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3909 - Baquerizo Moreno Es-29 y Almagro - Guano-Ecuador - Prohibida la reproducción

Anexo 4. facturación de análisis de cadmio laboratorio WSS.



R.U.C.: 0991515844001

FACTURA

No. 002-002-000019010

NÚMERO DE AUTORIZACIÓN:
1703202101099151584400120020020000190101234567811

FECHA Y HORA DE AUTORIZACIÓN:

AMBIENTE: PRODUCCIÓN

CLAVE DE ACCESO:



1703202101099151584400120020020000190101234567811

WSS WORLD SURVEY SERVICES ECUADOR S.A.

Dirección Matriz: AV FRANCISCO DE ORELLANA EDIFICIO
WORLD TRADE CENTER TORRE B/PISO 3 OFC 323
Dirección Sucursal: CDLA ALBATROS AV LAS AMERICAS NO
1608 Y CARLOS LUIS PLAZA DANIN
Obligado a llevar contabilidad: Si
Agente de Retención mediante Resolución No. NAC-
DNCRASC20-00000001

Razón Social / Nombres y Apellidos: VASQUEZ CORTÉZ LUIS HUMBERTO RUC / CI: 0929037265

Dirección: QUEVEDO S/S

Fecha Emisión: 17/03/2021

Código	Descripción	Detalle	Cantidad	U/M	Precio Unitario	Descuento	Total
LBA00059	ANALISIS DE CADMIO	SERVICIO DE ANALISIS EN 6 MUESTRAS DE ALMENDRAS DE CACAO RECIBIDAS EL 15/03/2021. LOTES: T1 MUESTRA DE LABORATORIO / T2 MUESTRA DE LABORATORIO / T3 MUESTRA DE LABORATORIO / T4 MUESTRA DE LABORATORIO / T5 MUESTRA DE LABORATORIO T6R2 MUESTRA DE LABORAT	6.00	UNIDAD	\$ 25.00	0.00	\$ 150.00

Información Adicional	
Email :	Luis.vasquez2015@uteq.edu.ec
Dirección :	QUEVEDO S/S
Agente de Retención:	No. Resolución: 1
Código Interno	19010

SUBTOTAL SIN IMPUESTOS	150.00
DESCUENTO	0.00
SUBTOTAL 12	150.00
SUBTOTAL 0.00 %	0.00
SUBTOTAL No sujeto de IVA	0.00
ICE	0.00
IVA 12.00%	18.00
VALOR TOTAL USD	168.00

FORMA DE PAGO	VALOR	PLAZO	UND. TIEMPO
OTROS CON UTILIZACION DEL SISTEMA FINANCIERO	USD 168.00	0	DIAS

Moneda: DOLAR

Puede revisar sus documentos electrónicos en el sitio web: <http://www.tu factura.ec/login/receptor/108>

Anexo 5. Resultados de laboratorio WSS análisis de cadmio.

**LABORATORIO WSS
WORLD SURVEY SERVICES ECUADOR S.A.**

Página 1 de 1
R-LB-15 Rv.13 / 22.02.2020



SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO
Acreditación N° SAE LEN 11-01
LABORATORIO DE ENSAYOS

**SUPLEMENTO DE
INFORME DE ENSAYO N° 2237-21 A**

Número de OT : 41423
 Cliente : LUIS HUMBERTO VASQUEZ CORTEZ
 Dirección : QUEVEDO S/S
 Nombre, número o correo de contacto : LUIS VASQUEZ / 0988485490 / Luis.vasquez2015@uteq.edu.ec
 Laboratorio : Aguas
 Tipo de Muestra : Almendra de Cacao
 Origen de Muestra : Muestra proporcionada por el cliente
 Temperatura de recepción : 23.6 °C
 Tipo de envase : Funda Plástica
 Cantidad de Muestra : 400 g
 Hora Recepción : 10:30
 Fecha de recepción : 15/03/2021
 Fecha Inicio de Ensayo : 15/03/2021
 Fecha Término de Ensayo : 22/03/2021

RESULTADOS DE ANÁLISIS

Código de muestra	Ensayo	Resultado mg/kg	Incert.	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	LMR UE* mg/kg	Metodología
2573	CADMIO	0,36	±0,03	0,006	0,10	0,8	DETERMINACION DE CADMIO EN CACAO ENGRANO, PRODUCTOS DE CHOCOLATE SEMITERMINADOS Y TERMINADOS POR ABSORCIÓN ATÓMICA HGA POE-LA-068 Determination of Cadmium, Lead, Copper and Arsenic in Raw Cocoa, Semifinished and Finishes Chocolate Products -Pertanika Vol 8 -1985 / Determinación de Cadmio en chocolate por horno de grafito- Thermo Scientific 2010 / Determinación de Cadmio en Cacao, Chocolate ISSN 1909-8637 /2016
2574	CADMIO	0,34	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2575	CADMIO	0,35	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2576	CADMIO	0,36	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2577	CADMIO	0,30	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2578	CADMIO	0,29	±0,03	0,006	0,10	0,8	

Comentarios:

2573= ALMENDRA DE CACAO LUIS – T1
 2574= ALMENDRA DE CACAO LUIS – T2
 2575= ALMENDRA DE CACAO LUIS – T3
 2576= ALMENDRA DE CACAO LUIS – T4
 2577= ALMENDRA DE CACAO LUIS – T5
 2578= ALMENDRA DE CACAO LUIS – T6-R2

Observaciones:

Los resultados corresponden tan sólo a las muestras sometidas a ensayo.
 La reproducción parcial de este informe no está permitida sin la autorización por escrito de este laboratorio.
 El muestreo no fue realizada por WSS, las referencia e identificación de las muestras fueron proporcionadas por el cliente y es de su exclusiva responsabilidad.
 El laboratorio no se responsabiliza de la información proporcionada por el cliente, que pueda afectar a la validez de los resultados.
 Todas las actividades del laboratorio son realizadas en las instalaciones de WSS, excepto donde se especifique.
 La declaración sobre la incertidumbre de la medición, se pueden solicitar al laboratorio, antes que los informe de ensayos sean emitidos para proporcionar una declaración de conformidad con una especificación, reglamento o normativas vigentes proporcionada por el laboratorio o especificaciones, reglamentos o normativas proporcionadas por el cliente.
 El tiempo de almacenamiento de los informes de ensayos es de 5 años
 La información proporcionada por el cliente se encuentra subrayada
 Se realiza suplemento de Informe de Ensayo N° 2237-21 A que reemplaza al informe inicial N° 2237-21
 ND= no detectable
 LOD= Limite de Detección LOQ= Limite de Cuantificación Incert.=Incertidumbre LMP= Limite Máximo Permissible

Guayaquil, 26 de Marzo del 2021

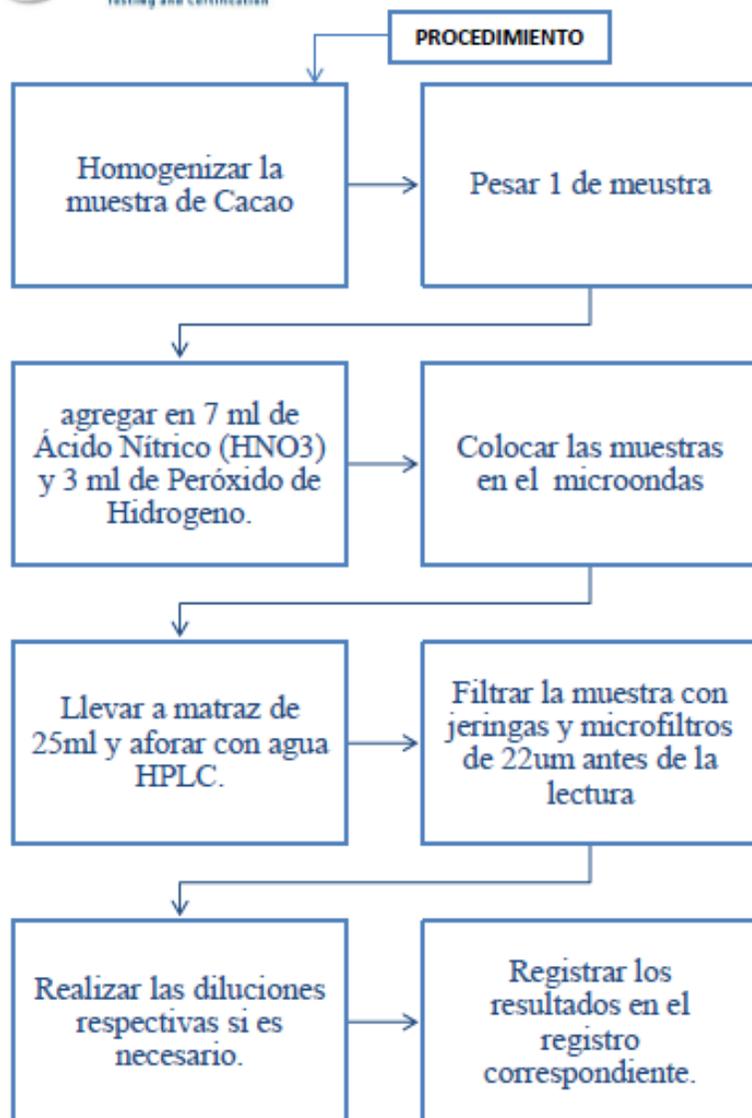
Q.F. Ricardo Andrade S.
 Jefe de laboratorio Aguas
 WSS ECUADOR S.A.



Anexo 6. Procedimiento para determinar cadmio en almendras de cacao.



DETERMINACIÓN DE CADMIO EN CACAO EN GRANO, PRODUCTOS DE CHOCOLATE SEMITERMINADOS Y TERMINADOS POR ABSORCIÓN ATÓMICA POR HORNO DE GRAFITO



PARÁMETROS INSTRUMENTALES

Longitud de Onda	228.80 nm
Curva	0.25 ug/L
	0.50 ug/L
	1.0 ug/L
	2.0 ug/L
	5.0 ug/L
Combustible	Argón
Modificador de Matriz	0.015 mg Pd + 0.01 mg Mg(NO3)2
Temp de inyección	50º C
Tiempo de calibración	12 min
Tiempo por muestra	2 min

PROGRAMA DE HORNO DE GRAFITO

Temp °C	Ramp Time(Seg)	Hold Time (Seg)	Internal Flow	Gas Type
110	1	30	250	Normal
130	15	20	250	Normal
850	10	20	250	Normal
1650	0	5	0	Normal
2600	1	5	250	Normal

EQUIPOS

Espectrofotómetro de absorción atómica con Horno de Grafito Marca PerkinElmer
 Lámpara de descarga de Cadmio PerkinElmer precisely
 Horno digestor Microondas Marca Milestone Connect

Actualizado por: Q.F. JAIRO JAIME
 Fecha de Actualización: 12.04.2021
 Una Vez impreso o compartido pasa a ser,
 DOCUMENTO NO CONTROLADO, por tanto no se garantiza la versión vigente.

Anexo 7. Se presenta las fotos de las distintas actividades que se llevaron a cabo en la presente investigación.



Recolección de cacao.



Etapa fermentativa



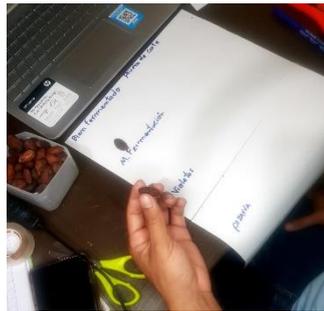
Análisis físico químico, determinación de grados Brix



Determinación de pH



Determinación de Temperatura



Prueba de corte



Secado del cacao.



Tostado



Descascarillado



Molienda



Ingresando la muestra a la canchadora



Pasta de cacao dentro de la conchadora.



Envolviendo la muestra de pasta de cacao.



Evaluador sensorial #1



Evaluador sensorial #2



Evaluador sensorial #3



Evaluador sensorial #4



Evaluador sensorial #5



Evaluador sensorial #6



Evaluador sensorial #7



Evaluador sensorial #8



Evaluador sensorial #9



Evaluador sensorial #10

Anexo 8. Croquis de la investigación.

DISEÑO COMPLETAMENTE
AL AZAR

T4 	T6 	T1 	T5 	T2 	T3 
T1 	T4 	T5 	T3 	T6 	T2 
T5 	T2 	T4 	T2 	T3 	T6 

CROQUIS DE LAS UNIDADES
EXPERIMENTALES

Código: Descripción

- T1= v0j0 Cacao Nacional sin *Rhizobium japonicum* (testigo) 
- T2=v0j1 Cacao Nacional con inducción de *Rhizobium japonicum* (3 %)
- T3=v0j2 Cacao Nacional con inducción de *Rhizobium japonicum* (5 %)
- T4= v1j0 Cacao Trinitario sin *Rhizobium japonicum* (testigo) 
- T5= v1j1 Cacao Trinitario con inducción de *Rhizobium japonicum* (3%)
- T6=v1j2 Cacao Trinitario con inducción de *Rhizobium japonicum* (5%)

Elaborado por: Vásquez, L. 2021.