



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:

“FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CON ADICIÓN DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y ENZIMA (PPO's) EN LA DISMINUCIÓN DE METALES PESADOS”.

Autora:

Kerly Estefania Alvarado Vásquez

Tutor de la Unidad de Integración Curricular:

Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc.

Mocache – Los Ríos – Ecuador

2021



DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESION DE DERECHOS

Yo, **Kerly Estefania Alvarado Vásquez**, 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. _____

Kerly Estefania Alvarado Vásquez

C.I: 1250216940



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 **Kerly Estefania Alvarado Vásquez**, realizó el proyecto de investigación de grado “**FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CON ADICIÓN DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y ENZIMA (PPO’s) EN LA DISMINUCIÓN DE METALES PESADOS**”, 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 **“FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CON ADICIÓN DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y ENZIMA (PPO’s) EN LA DISMINUCIÓN DE METALES PESADOS”**., realizado por el Señor. Estudiante de la Carrera de Ingeniería en Alimentos Alvarado Vásquez Kerly Estefania, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es del 5%, el mismo que es permitido por el mencionado software y los requerimientos académicos establecidos.

FIGURA 1. Certificación del porcentaje de confiabilidad (95%) y similitud (5%) de URKUND.



Document Information

Analyzed document	“FERMENTACIÓN DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) (21-abril-2021).docx (D102468594)
Submitted	4/21/2021 9:48:00 PM
Submitted by	
Submitter email	kerly.alvarado2015@uteq.edu.ec
Similarity	5%
Analysis address	javellaneda.uteq@analysis.arkund.com

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



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

“FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) CON ADICIÓN DE
LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y ENZIMA (PPO's) EN LA
DISMINUCIÓN DE METALES PESADOS”.

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de
Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

Dr. Juan Humberto Avellaneda Cevallos Ph.D.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Diego Armando Tuarez García M.Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Cyntia Yadira Erazo Solorzano M.Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Mocache- Los Ríos – Ecuador

2021

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por ser tan bondadoso conmigo, brindarme fuerzas las cuales fueron necesarias para alcanzar mi más preciado sueño.

- ✚ A mis pequeños motores Mathias y Mateo que desde que llegaron a mi vida se encargaron de hacerme más responsable y cuidadosa.
- ✚ A mis queridos suegros, Marco Vásquez & Mariana Cortez que fueron quienes estuvieron pendiente durante toda la carrera y me apoyaron en todos los aspectos en la obtención de mi título universitario.
- ✚ De la misma manera es grato dar las gracias a mi querido esposo Luis Humberto Vásquez por ser quien me motivaba a seguir siempre y dar lo mejor de mí.
- ✚ A mis abuelitos amados Tito Florencio Vásquez & Lucila Concepción Pérez por darme amor, guía y valores.
- ✚ A mis padres por darme la vida Javier Santacruz & Carmen Vásquez.
- ✚ A mis tíos Victoria Vásquez, Carlos Vásquez, Ubaldo Loor.
- ✚ A mis hermanos y mis primos.
- ✚ A mi querida madrina la Lcda. Elizabeth Briones que desde que me brindo su apoyo siempre ha estado pendiente de mi progreso y feliz por verme firme cumpliendo mis objetivos.
- ✚ A mi querida Fanny Gonzales de Montes, quien nos ha brindado su mano amiga siempre.
- ✚ A mi querida y estimada comadre la Lcda. María Esparza y esposo.
- ✚ A mi querido compadre Bombero Edder Wilmer Burgos Valencia.
- ✚ A mi querida institución Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias de la Industria y Producción, Carrera de Ingeniería en Alimentos, al personal de Docentes quienes de manera generosa compartieron sus enseñanzas para superar cada etapa de la carrera.
- ✚ A mi estimado Ing. Jaime Fabian Vera Chang tutor de la presente investigación.
- ✚ A mi querida Ing. Cyntia Yadira Erazo Solorzano Coordinadora de la Carrera de Ingeniería en Alimentos, por ser como una madre dándome consejos y compartiendo sus enseñanzas.
- ✚ Mis agradecimientos al Ing. Diego Armando Tuarez García por todos sus conocimientos brindados.

- ✚ A mi amable Ing. Piedad Francisca Yépez Macias por todos los consejos y el cariño brindado.
- ✚ A mi compadre el Ing. Ángel Oliverio Fernández Escobar.
- ✚ A mi estimado Ing. Samir Antonio Zambrano Montes.
- ✚ Al Ing. Vicente Guerrón Troya.
- ✚ A mi estimada Lcda. Rosa Cecibel Varas Giler por compartir sus conocimientos.
- ✚ Ing. Edgar Pinargote, que de la misma manera compartió sus conocimientos.
- ✚ A mi querido Ing. Román Estuardo Soria Velasco, quien me enseñó a buscar la solución ante cualquier situación que se me presente con dedicación y esmero.
- ✚ A mi querida prima Ing. Jenny Alcívar Burgos por su apoyo incondicional y dar todo hasta el final.

A los integrantes del tribunal quienes dieron sustento y sugerencias para la mejora de redacción de la presente tesis.

- ✚ Ing. Cytia Erazo Solorzano, quien siempre estuvo presente a cualquier duda e inquietud presentada.
- ✚ Dr. Juan Humberto Avellaneda Cedeño, que presto sus conocimientos prestados.
- ✚ Ing. Diego Armando Tuarez García, por la guía brindada.

¡¡A mis compañeros y amigos!!

Kerly Alvarado Vásquez

DEDICATORIA

Mis anhelos y deseos se los dedico totalmente a Dios por tanta bondad que me ha dado y me está permitiendo cumplir sueños que quizás los veía muy lejanos. Mis hijos son prueba de aquella bondad que ha tenido hacia mí.

A mi amada abuelita que supo forjar mi carácter, fue mi motivación principal, con una promesa en pie que hoy se la estoy cumpliendo, a pesar de no estar en cuerpo conmigo su alma la mantengo presente y sus palabras en mi corazón.

De todo corazón dedico a mi pequeña familia los amo eternamente.

Con amor y cariño eterno Kerly Steff Avásquez.

Kerly Alvarado Vásquez

RESUMEN

La presente investigación se definió con el objetivo de conocer si con la adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y enzima (*Polifenol Oxidasas*) en la etapa de poscosecha, ayudaría a mejorar sus propiedades sensoriales a su vez, su utilización como una estrategia para reducir cadmio, mediante una fermentación incorporando en diferentes niveles en relación al peso(2kg por tratamiento), las levaduras 0.5%(10g) y 1%(20g) y enzimas al 2%(40ml) y 2.5%(50ml) a las primeras 24 horas se realizó remociones durante 4 días de fermentación, con el fin de que exista transformación en el cotiledón de las almendras de cacao, mejorando condiciones físicas, sensoriales y disminución de contenido de cadmio en referencia al reglamento 488/2014. Los resultados que se obtuvieron de las diferentes variables aplicadas en la investigación fueron analizados con un DCA bifactorial. Como factores principales las adiciones de levadura y enzima, tanto para las características físicas y propiedades sensoriales demostraron un comportamiento variable en las concentraciones más altas a diferencia de los testigos. Puesto a que se aplicó las levaduras 1%(20g) y enzimas al 2.5%(50ml). Para los análisis físicos: pH, °Brix, Temperatura, Prueba de corte (Índice de semilla, Testa y Cotiledón), Fermentación (granos fermentados, violetas y pizarros), los resultados obtenidos del análisis que se aplicó para conocer el contenido de cadmio fueron favorable y significativo a mayor concentración mejor significancia. Se realizó un análisis de costos para determinar precios entre los tratamientos, Los tratamientos de menor costo fueron los de la interacción entre el menor nivel del factor levadura (0 y 0.5) correspondientes a los tratamientos desde el T1- T4 (48.83) con los niveles de enzima y para los demás tratamientos (49.13) con una diferencia de 0.30 ctvs.

Palabras claves: levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), enzima (*Polifenol Oxidasas*), costos, análisis, aplicación, resultados, características, cadmio.

ABSTRACT

This research was defined to know whether the addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and enzyme (Polyphenol Oxidase) in the post-harvest stage would improve the sensory properties of cocoa and, in turn, its use would serve as a strategy to reduce cadmium Fermentation which was incorporated at different levels in relation to weight (2kg per treatment), yeasts 0.5%(10g) and 1%(20g) and enzymes at 2%(40ml) and 2.5%(50ml), at the first twenty-four hours removals were performed during four days of fermentation, in order to reach the transformation in the cotyledon of cocoa almonds, improving physical, sensory conditions and decreased cadmium content in reference to Regulation 488/2014. The results from different variables applied in the research were analyzed with a two-factor DCA. As main factors the additions of yeast and enzyme, both for physical characteristics and sensory properties demonstrated variable behavior in the highest concentrations unlike witnesses. Since yeasts 1%(20g) and enzymes were applied at 2.5%(50ml). For physical analyses: pH, Brix, Temperature, Cutting Test (Seed Index, Testa and Cotyledon), Fermentation (fermented grains, violets and slap), the results from the applied analysis to know the cadmium content were favorable and significant as it was established, so the higher concentration better significance. A cost analysis was performed to determine prices between treatments. The lowest cost treatments were those of the interaction between the lowest level of yeast factor (0 and 0.5) corresponding to treatments from T1 - T4 (48.83) with enzyme levels and for other treatments (49.13) with a difference of 0.30 cents.

Keywords: yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), enzyme (Polyphenol Oxidases), costs, analysis, application, results, characteristics, cadmium.

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESION DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE	iii
INVESTIGACIÓN.....	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iv
AGRADECIMIENTO	VI
DEDICATORIA	VIII
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT	X
CÓDIGO DUBLÍN.....	XVIII
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. Objetivos específicos.	7
1.3. Justificación.	8
CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. Marco Conceptual.....	9
2.1.1. Fermentación.....	9
2.1.2. Cadmio.	9
2.1.3. Levadura.	9
2.1.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
2.1.5. Enzimas.	10
2.1.6. Polifenol Oxidasas.	10
2.2. Marco referencial.....	11
2.2.1. Datos históricos de cacao.	11
2.2.2. Calidad del cacao ecuatoriano y su aporte económico al país.....	12

2.2.3.	Inestabilidad económica del cacao.	15
2.2.4.	Mercados del Mundo.	16
2.2.5.	Chocolate ecuatoriano.	16
2.2.6.	Taxonomía del Cacao.	17
2.2.6.1.	Clasificación según su orden.	17
2.2.6.2.	Componentes químicos del grano de cacao.	17
2.2.7.	Variedades de cacao en el Ecuador.	18
2.2.7.1.	Cacao Nacional.	19
2.2.7.2.	Cacao CCN-51.	19
2.2.7.3.	Cacao Trinitario.	19
2.2.7.4.	Cacao Forastero o Amazónico.	20
2.2.8.	Enfermedades que atacan a los cultivos de cacao.	20
2.2.8.1.	Factores que ocasionan las enfermedades en los cultivos de cacao.	20
2.2.9.	Exceso de agentes químicos en los cultivos de cacao.	21
2.2.10.	Cosecha.	21
2.2.10.1.	Desprendimiento del mucilago del cacao.	21
2.2.11.	Fermentación.	21
2.2.12.	Etapas de la fermentación.	22
2.2.12.1.	Fase anaeróbica.	22
2.2.12.2.	Fase oxidación condensativa.	22
2.2.12.3.	Fase aeróbica.	23
2.2.12.4.	Tiempo de fermentación.	23
2.2.12.5.	Métodos para realizar la fermentación del grano de cacao.	23
2.2.12.6.	Fermentación por caja o gavetas Rohan.	24
2.2.12.7.	Fermentación por montón.	24
2.2.12.8.	Fermentación por tina o canastas.	24
2.2.12.9.	Fermentación en cajas de madera.	24
2.2.12.10.	Fermentación en bandejas.	25
2.2.13.	Volteos o remoción de las almendras de cacao.	25
2.2.14.	Calidad de las almendras fermentadas.	25
2.2.15.	Parámetros de Fermentación.	26
2.2.16.	Secado.	26
2.2.16.1.	Método de secado.	26
2.2.16.2.	Previsiones durante el secado del cacao.	26
2.2.17.	Prueba de corte a los granos secos de cacao.	27

2.2.17.1.	Almendra bien fermentada.....	27
2.2.17.2.	Almendra mediana fermentación.	27
2.2.17.3.	Almendras violetas.	27
2.2.17.4.	Almendras pizarras.....	28
2.2.17.5.	Almendras mohosas.	28
2.2.18.	Licor de cacao.....	28
2.2.19.	Tueste y descascarillado.....	28
2.2.20.	Molienda y Refinado previo a la pasta de cacao.....	30
2.2.21.	Calidad Organoléptica.....	30
2.2.21.1.	Análisis y evaluación sensorial del licor de cacao.....	31
2.2.21.2.	Catación de Licor de cacao.....	31
2.2.21.3.	Aroma.....	31
2.2.21.4.	Sabor.....	31
2.2.21.5.	Sentido visual.....	32
2.2.22.	Mejoradores adicionados en la fermentación del cacao.	32
2.2.22.1.	Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32
2.2.22.2.	Condiciones favorables para el desarrollo de las levaduras.	33
2.2.22.3.	Importancia de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
2.2.23.	Enzima polifenol oxidasas PPO's.....	34
2.2.24.	Metales pesados que afectan a la producción de cacao.....	35
2.2.24.1.	Reducción de cadmio en árbol cacaotero.	36
2.2.24.2.	Minimización de cadmio mediante el post – cosecha.	36
2.3.	Investigaciones realizadas de levadura y enzimas para reducir cadmio.....	37
CAPÍTULO III		39
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN		39
3.1.	Localización.....	40
3.2.	Tipo de Investigación.....	40
3.3.	Métodos de investigación.....	41
3.3.1.	Método inductivo.....	41
3.3.2.	Método estadístico.....	41
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	41
3.5.	Diseño de la investigación.....	42
3.5.2.	Modelo matemático.....	44
3.6.	Instrumento de investigación.....	44
3.6.1.	Variables a estudiar.....	44

3.6.1.2.	Fermentación.....	45
3.6.1.3.	Proceso para la adición de levaduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45
3.6.1.4.	Proceso para la adición de enzimas Polifenol Oxidasa.....	46
3.6.1.5.	pH.....	46
3.6.1.6.	Grados Brix.....	46
3.6.1.7.	Temperatura.....	46
3.6.1.8.	Remociones óptimas.....	47
3.6.1.9.	Secado de los granos de cacao.....	47
3.6.1.10.	Índice de semilla.....	47
3.6.1.11.	Porcentaje de testa y cotiledón.....	47
3.6.1.12.	Prueba de corte.....	48
3.6.1.13.	Secuencia para la obtención de pasta de cacao.....	48
3.6.1.15.	Metales Pesado (cadmio).....	50
3.6.1.16.	Análisis Económico.....	50
3.7.	Recursos humanos y materiales.....	51
3.7.2.	Materiales y equipos.....	51
3.7.2.1	Materiales y equipos del campo.....	51
3.7.2.2.	Materiales de Laboratorio.....	52
CAPÍTULO IV		53
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		53
4.1. EFECTO DE UNA LEVADURA (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS, SENSORIALES Y CONCENTRACION DE CADMIO EN EL CACAO.....		54
4.1.1.	Variables físico - químicas.....	54
4.1.1.1.	Temperatura.....	54
4.1.1.2.	pH.....	55
4.1.1.3.	Grados Brix.....	56
4.1.1.4.	Variables de prueba de corte.....	57
4.1.2.	Variables sensoriales.....	58
4.2. EFECTO DE UNA ENZIMA (<i>Polifenol oxidasas</i>) SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS, SENSORIALES Y CONCENTRACION DE CADMIO EN EL CACAO.....		59
4.2.1.	Variables físico - químicas.....	59
4.2.1.1.	Temperatura.....	59
4.2.1.2.	pH.....	60
4.2.1.3.	Grados Brix.....	61

4.2.1.4. Variables de prueba de corte.....	62
4.2.2. Variables sensoriales.....	63
4.3. EFECTO DE LA INTERACCIÓN DE UNA ENZIMA (<i>Polifenol oxidasas</i>) Y UNA LEVADURA SOBRE LAS VARIABLES FISICO QUIMICAS, SENSORIALES Y CONCENTRACION DE CADMIO EN EL CACAO.....	64
4.3.1. Variables físico - químicas.....	64
4.3.1.1. Temperatura.....	64
4.3.1.2. pH.....	66
4.3.1.3. Grados Brix.....	67
4.3.1.4. Variables de prueba de corte.....	68
4.3.2. Variables sensoriales.....	70
4.3.3. Concentración de cadmio.....	71
4.4. Costos por tratamientos.....	72
CAPÍTULO V.....	74
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	74
5.1. Conclusiones.....	75
5.2. Recomendaciones.....	76
CAPÍTULO VI.....	77
BIBLIOGRAFIA.....	77
CAPITULO VII.....	91
ANEXOS.....	91

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Requerimientos físicos y la calidad para los granos de cacao.....	14
Tabla 2. Se muestra la clasificación taxonómica del cacao.....	17
Tabla 3. <i>Componentes químicos del grano de cacao.</i>	18
Tabla 4. Composición del mucilago de cacao.....	18
Tabla 5. Taxonomía de la levadura.	34
Tabla 6. Valores agro climatológicos del lugar de estudio.	40
Tabla 7. Esquema del ANDEVA.	42
Tabla 8. Factores y niveles en estudio.....	43
Tabla 9. Arreglo de tratamientos.....	43
Tabla 10. Efecto de una levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.....	54
Tabla 11. Efecto de una levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) sobre la pH del cacao en su proceso fermentativo.	55
Tabla 12. Efecto de una levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) sobre los Brix del cacao en su proceso fermentativo.....	56
Tabla 13. Efecto de una levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.....	57
Tabla 14. Efecto de una levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) sobre las variables sensoriales del cacao en su proceso fermentativo.....	58
Tabla 15. Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre la variable temperatura del cacao en su proceso fermentativo.....	59
Tabla 16. Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre la variable pH del cacao en su proceso fermentativo.	60
Tabla 17. Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre la variable °Brix del cacao en su proceso fermentativo.....	61
Tabla 18. Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.....	62
Tabla 19. Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables sensoriales del cacao en su proceso fermentativo.....	63
Tabla 20. Efecto de la interacción levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.	65
Tabla 21. Efecto de la interacción levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre pH del cacao en su proceso fermentativo.	66
Tabla 22. Efecto de la interacción levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre los °Brix del cacao en su proceso fermentativo.....	67
Tabla 23. Efecto de la interacción levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.....	69
Tabla 24. Efecto de la interacción levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables sensoriales del cacao en su proceso fermentativo.....	70
Tabla 25. Efecto de la interacción levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre las concentraciones de Cadmio del cacao en su proceso fermentativo.....	71
Tabla 26. Costos de los tratamientos.....	72

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Modelo matemático.....	44
Ecuación 2. Índice de semilla.....	47
Ecuación 3. Determinación de testa y cotiledón.	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. A continuación, se presenta los Andevas correspondiente a la investigación. los factores de estudio son: temperatura, pH, Brix, Prueba de corte índice de semilla, testa, cotiledón, fermentación (fermentadas, violetas, pizarras) y análisis sensorial.	92
Anexo 2. Ficha de catación para análisis sensorial de cacao.	110
Anexo 3. factura emitida por el laboratorio WSS.	111
Anexo 4. Informe análisis de cadmio. Informe de Laboratorio WSS.	112
Anexo 5. Diagrama de flujo del proceso para la determinación de cadmio.....	114
Anexo 6. Fotografías de la investigación.....	115
Anexo 7. Croquis experimental.	121

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Fermentación de cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) con adición de levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) y enzima (PPO’s) en la disminución de metales pesados”.
Autor:	Kerly Estefania Alvarado Vásquez
Palabras claves:	Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>), enzima (<i>Polifenol Oxidasas</i>), costos, análisis, aplicación, resultados, características, cadmio.
Fecha de publicación:	
Editorial:	Quevedo, UTEQ, 2021
Resumen:	<p>La presente investigación se definió con el objetivo de conocer si con la adición de levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) y enzima (<i>Polifenol Oxidasas</i>) en la etapa de poscosecha, ayudaría a mejorar sus propiedades sensoriales a su vez, su utilización como una estrategia para reducir cadmio, mediante una fermentación incorporando en diferentes niveles en relación al peso(2kg por tratamiento), las levaduras 0.5%(10g) y 1%(20g) y enzimas al 2%(40ml) y 2.5%(50ml) a las primeras 24 horas se realizó remociones durante 4 días de fermentación, con el fin de que exista transformación en el cotiledón de las almendras de cacao, mejorando condiciones físicas, sensoriales y disminución de contenido de cadmio en referencia al reglamento 488/2014. Los resultados que se obtuvieron de las diferentes variables aplicadas en la investigación fueron analizados con un DCA bifactorial. Como factores principales las adiciones de levadura y enzima, tanto para las características físicas y propiedades sensoriales demostraron un comportamiento variable en las concentraciones más altas a diferencia de los testigos. Puesto a que se aplicó las levaduras 1%(20g) y enzimas al 2.5%(50ml). Para los análisis físicos: pH, °Brix, Temperatura, Prueba de corte (Índice de semilla, Testa y Cotiledón), Fermentación (granos fermentados,</p>

violetas y pizarros), los resultados obtenidos del análisis que se aplicó para conocer el contenido de cadmio fueron favorable y significativo a mayor concentración mejor significancia. Se realizó un análisis de costos para determinar precios entre los tratamientos, Los tratamientos de menor costo fueron los de la interacción entre el menor nivel del factor levadura (0 y 0.5) correspondientes a los tratamientos desde el T1 - T4 (48.83) con los niveles de enzima y para los demás tratamientos (49.13) con una diferencia de 0.30 ctvs.

This research was defined to know whether the addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and enzyme (Polyphenol Oxidase) in the post-harvest stage would improve the sensory properties of cocoa and, in turn, its use would serve as a strategy to reduce cadmium Fermentation which was incorporated at different levels in relation to weight (2kg per treatment), yeasts 0.5%(10g) and 1%(20g) and enzymes at 2%(40ml) and 2.5%(50ml), at the first twenty-four hours removals were performed during four days of fermentation, in order to reach the transformation in the cotyledon of cocoa almonds, improving physical, sensory conditions and decreased cadmium content in reference to Regulation 488/2014. The results from different variables applied in the research were analyzed with a two-factor DCA. As main factors the additions of yeast and enzyme, both for physical characteristics and sensory properties demonstrated variable behavior in the highest concentrations unlike witnesses. Since yeasts 1%(20g) and enzymes were applied at 2.5%(50ml). For physical analyses: pH, Brix, Temperature, Cutting Test (Seed Index, Testa and Cotyledon), Fermentation (fermented grains, violets and slap), the results from the applied analysis to know the cadmium content were favorable and significant as it was established, so the higher concentration better significance. A cost analysis was performed to determine prices between treatments. The lowest cost

	treatments were those of the interaction between the lowest level of yeast factor (0 and 0.5) corresponding to treatments from T1-T4 (48.83) with enzyme levels and for other treatments (49.13) with a difference of 0.30 cents.
Descripción:	142 hojas; dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM
URI:	

Introducción

La pepa de oro tiene su transcendencia en el continente americano, países originarios Mesoamérica entre México, Guatemala y Honduras alrededor de su existencia desde hace 2000 años a.c, el cacao (*Theobroma cacao* L.) y una de los principales generadores de ingresos por su excelencia en sabor y aroma es reconocido al nivel mundial, la almendra que posee es utilizada para realizar un subproducto (pasta de cacao) (1).

Unos de los productos más importantes del Ecuador y principales de exportación es el cacao ubicándose como unos de los mejores del mundo y primero en exportar, actualmente se mantiene posesionado en la categoría de tercer lugar a nivel internacional, representativo por ser unos de los principales rubros del sector agropecuario ecuatoriano y de chocolatería, su producción ayudado a generar recursos y plazas de trabajos a jornaleros y familias campesinas, en las últimas décadas se ha visto que un mal manejo de la post cosecha por lo cual afecta la características organolépticas (2). Esto afectando a la cadena agroindustrial por pérdidas de empleos y caída de ingresos, perdida de fama de nuestro producto de calidad, lo definen al cacao ecuatoriano como el gourmet ya que registra demandas significativas en el mercado mundial, y con la almendra se elabora unos de las mejores exquisiteces de chocolates más finos conocidos de todo el mundo (3).

Preexisten trazas emitidas por el cadmio y se encuentran en porcentajes en productos alimenticios y en el cacao se asume múltiples forma de su contaminación, puede darse en la parte del proceso de cultivo, en producción y transformación referente en la cadena agroalimentaria, y de forma relevante se va afectando tanto en la pasta, masa y la molienda resultado un chocolate a base de cacao contaminado por concentraciones de este metal pesado que afectaría directamente a la cadena productiva (industria alimentaria, exportación y consumidor) resultado de manifestación de efectos tóxicos ya que es bioacumulable, cabe recalcar que en la actualidad, la presencia de estos metales tanto cadmio y plomo que abarca el cacao y subproductos su mayor almacenamiento es en la almendra (4).

En caso de no existir una fermentación adecuada de la almendra de cacao se debe tomar en cuenta las temperaturas y tiempo el factor desfavorable va ser un subproducto sin ningún valor significativo sensorial de aroma característico del mismo, en este magnífico escenario de proceso fermentativo aparecen sabores, incremento de tonalidad en la almendra por la acción de *polifenol oxidasa*, la utilización de levaduras ayudará al producto final potenciando su calidad organoléptica y más apetecible al consumidor y mejorando conjuntamente la almendra de cacao (5).

Ante la expuesta investigación que propuso el mejoramiento de la fermentación de cacao mediante la adicción de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y enzimas PPOs para el mejoramiento de la calidad sensorial y ver si existe un efecto positivo en disminución de metales pesados en el cacao, se procura adicionar diferentes porcentajes de enzima y levadura en la fermentación, para lo cual se utilizó una variedad de cacao. La cosecha se efectuó en la Finca Experimental “La Represa” localizada en el kilómetro 7.5 del recinto Faita en la vía San Carlos, perteneciente a la UTEQ.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la Investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

En la gran industria alimentaria dedicada a la elaboración de chocolates y subproductos se tiene como inconveniente principal el contenido de cadmio en el producto final. Es por esta razón que se desea investigar si mediante la fermentación de la almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) con adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y enzimas PPOs pueden mejorar sus propiedades sensoriales y disminuir el cadmio presente durante el proceso (6).

La industria cacaotera nacional por su alta calidad organoléptica y su aroma está en repunte con la visión de convertirse en uno de los blancos más trascendentales para los negocios de cacao y sus derivados, pero es evidente recalcar que por el déficit de investigación para la disminución de metales pesados ha perdido minuciosamente plaza en el mercado y de esta forma observar si al tratar esta problemática afectaría el aroma de la almendra de cacao posteriormente a una excelente fermentación para un producto final de calidad (7).

Por lo cual investigar si con la presencia de enzimas y levaduras podemos reducir el porcentaje de cadmio en la almendra de cacao, el reglamento internacional de la Unión Europea tiene porcentajes cuyo contenido de materia seca de cacao mayor o igual a 50% tendrá un límite máximo de 0.80 mg/kg. A su vez determinando si estas concentraciones de levadura y enzima afecta a las características organolépticas del cacao (8). La calidad de la almendra de cacao se desarrolla inicialmente en la en la etapa de la post cosecha, a su vez beneficiando el tiempo de fermentación con el fin de cumplir una serie de transformaciones internas de la almendra como son físicas y químicas que permiten el desarrollo de su calidad en cuando a su aroma y sabor (9).

Diagnóstico.

Durante la situación pandémica que afectó toda la cadena de producción de cacao incluyendo los precios nacionales e internacionales. La exigencia permisible que impone la Unión Europea en cuanto a los niveles de cadmio que debería cumplir un subproducto o producto final, para lo cual se propone esta investigación tratando de minimizar los contenidos de cadmio en la almendra de cacao ya que afecta directamente al consumidor final, por esta razón es de gran importancia tratar de mitigar al metal pesado de manera artificial y natural en los cultivos de cacao evitando aplicar agroquímicos de manera indiscriminada ya que esta acción afecta severamente por motivo que produce toxicidad, al igual que en la etapa de la fermentación.

Pronóstico.

El principal problema de producción en el Ecuador es que sus suelos contienen altos contenidos de cadmio esto es debido a los agroquímicos empleados en la producción de cacao, por lo cual empresas internacionales requieren de un cacao con bajos niveles de este metal pesado, ya que de no acatar esta disposición existirían cierres de plazas a nivel de exportación teniendo como resultado pérdidas significativas por rechazo de materia prima. si se remediará este inconveniente preexistirá una mejora en los precios de nuestros pequeños y medianos productores. Por esta razón es fundamental que durante la post cosecha del cacao se estandarice un adecuado tratamiento incluyendo materiales genéticos, condiciones climáticas adecuadas y el manejo post cosecha tratando de mejorar los procesos metabólicos de la almendra adicionando enzimas exógenas, durante la fermentación, proponiendo potenciar sus cualidades sensoriales exigidos por la industria chocolatera, así mismo tratar por vía enzimática disminuir la cantidad de cadmio presente en la almendra.

1.1.2. Formulación del problema.

¿De qué manera influirá la adición de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, y la enzima PPO's en la fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.) para la disminución de metales pesados?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿La adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* permitirá modificar las características bioquímicas de la almendra de cacao y comprobar si existe disminución de cadmio?

¿Las enzimas PPOs influirán en el proceso fermentativo para la disminución de cadmio?

¿Se puede obtener una metodología de fermentación que permita mejorar la calidad de las almendras de cacao y comprobar si existe disminución de cadmio?

¿Al momento de agregar el (Pulp de fruta de banano) tendrá un efecto positivo a la fermentación?

¿Qué efecto tendrá la almendra al retirar la mayor cantidad de mucilago en la fermentación?

¿Al adicionar enzimas exógenas que efecto bioquímico tendrá antes y durante la fermentación de la almendra?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo general.

Validar la fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.) con adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y enzimas PPOs en la disminución de metales pesados.

1.2.2. Objetivos específicos.

- Evaluar la fermentación de almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) con adición de levadura y enzima para la reducción de metales pesado cadmio.
- Analizar el efecto físico - químico que ocurre durante la fase de fermentación aeróbica del cacao.
- Determinar la calidad sensorial en la pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.) con la adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y enzima PPOs.
- Realizar un análisis económico por tratamiento.

1.3. Justificación.

La presente investigación tiene como objetivo predominante mejorar el método fermentativo de la almendra de cacao para así obtener un aroma y sabor potenciado, y determinar si con este proceso se logra disminuir el contenido de cadmio, con el fin de mantener los porcentajes permitidos por el agente regulador de las Naciones Unidas que no debe superar el 50% de este metal pesado en los sólidos de cacao en toda Europa.

Teniendo en cuenta que los metales pesados son uno de los principales malestares para quienes exportan y manufacturan el cacao, con el propósito de mejorar, la calidad de la almendra para competir en los mercados internacionales, sin ningún impedimento o rebote de la producción exportada, además, teniendo en cuenta las exigencias de otros países y lo primordial, perfeccionar las propiedades y características del mismo, lo benéfico de esta investigación, es que ayudara a la parte agroalimentaria y a las exportaciones, de esta manera potenciando la productividad interna de los agricultores y, mejorar la economía del Ecuador.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual.

2.1.1. Fermentación.

Es el proceso inicial posterior de la cosecha que permite separar las almendras del mucilago y es donde se potencializa las propiedades organolépticas, reduciendo el sabor astringente y descartando el germen del cacao, una vez fermentada podemos corroborar que su tonalidad cambia a un color marrón oscuro y su fisionomía (7).

2.1.2. Cadmio.

Unos de los agentes con alta toxicidad en la polución y en la corteza terrestre es el cadmio, temida por sus efectos negativos y perjudiciales tanto para el hombre como al planeta tierra, procedentes a la bioacumulación y persistencia al medio ambiente, utilizando biorremediadores que pueden minimizar el metal pesado (10).

2.1.3. Levadura.

Pertenecen a un grupo heterogéneo de hongos unicelulares que al accionarse sobre medios de cultivos se proliferan y constituyen colonias pastosas, la estructura celular tiene su taxonomía eucariota pero sin sistema fotosintético es responsable del deterioro y producción de alimentos (11).

2.1.4. *Saccharomyces cerevisiae*.

Pertenece al género *Saccharomyces* que su acción es ser fermentadores energéticos de los azúcares bajo parámetros anaeróbicos son responsables de alto impacto en la industrialización de productos alimenticios más comercializados tanto el vino, cerveza y el pan y esta juega un papel importante en la industria alimentaria y tiene una alta importancia de valor comercial (12).

2.1.5. Enzimas.

Son proteínas que ejercen la función de catalizadores biológicos para sintetizar las diferentes reacciones químicas y bioquímicas que son constituidas por el metabolismo vivo, para ser llevada su función es necesario aplicar una enzima en específico (13).

2.1.6. Polifenol Oxidasas.

Las polifenol oxidasas son aquellas que cumplen la función oxidativa de en un alimento, es uno de los factores principales para la alteración de las características sensoriales y este produce el pardeamiento enzimático en variedades de alimentos, consecuencia grave en la industria de alimentos resultado por el cual altera la calidad de los mismos (14).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Datos históricos de cacao.

El alimento de los dioses *Theobroma cacao* L. forma parte de la familia de las *Malvaceae*, subfamilia *sterculioides* que cuenta alrededor de más de 22 especies aproximadamente (15), exactamente fue nombrado cacao por sus raíces de su descubrimiento, testificado en torno de los años 2500 antes de cristo desde sus principios es nativo del continente de América que generaliza Mesoamérica donde fue domesticada que comprenden la mitad meridional de México (16), que en la etimología de la lengua maya significa rojo, relación por la cual procede del fruto por su color característico, la representación de fuerza y fuego existen varias maneras que los indígenas ancestrales lo han nombrado y además acogido el cacao como un ingrediente magnífico de la madre naturaleza dentro que engloba sus costumbres e utilización (17).

Existen hallazgos de escrituras jeroglíficas y además vasijas plasmadas o pintadas encontrados en los sepulcros de la realeza del Imperio Maya, donde se puede examinar que era un producto esencial y de mucha importancia (18).

Existían en aquella época bebidas a base de cacao tan valiosa por sus propiedades sensoriales tan inusuales, tanto así solo era permitidas a personas nobles por lo tanto una bebida de lujo excéntrica se lo podría definir como ostentosa de tal manera proporcionaba vigor y fuerzas a los soldados en campaña y de mucha preferencia para los que gobernaban y poseían un gran harem (19), todo esto le brindaba el xocolalt que era una bebida fermentada parecida a la categoría de la cerveza de cacao procesados con la pulpa evitando la almendras de este fruto (20).

Los otros imperios mexicanos elaboraban la pasta de la almendra, tan multifuncional era el cacao que así mismo de ser un alimento, una medicina natural también pudo ser lo imaginable al punto que fue una moneda de comercialización donde se podía obtener diferentes clases de productos por variedad de unas cuantas almendras de cacao (19) (21).

2.2.2. Calidad del cacao ecuatoriano y su aporte económico al país.

Según Milyhira (22). Cita que la calidad es el proceso distintivo de un producto en específico el cual determinara la aceptación y apreciación por el consumidor final. El país ecuatoriano posee una segmentación en el mercado mundial y además de ser unos de los primeros países es el número uno en exportar a otras plazas de mercado ya que es conocido por ser el principal productor de cacao fino de aroma una trayectoria de medio milenio que ha exportado cacao (23).

Con excelente calidad sensorial y una óptima propiedades organolépticas tanto su sabor y aroma característicos como ningún otro cacao por sus notas aromáticas florales y frutales expende alrededor del 60% de la exportación global de cacao fino de Aroma y toca resaltar que apenas el 8% de cacao mundial se considera cacao fino de Aroma tanto que la región Ecuatorial es privilegiada, tanto fue la aceptación de nuestro originario fruto, no se puede hablar del Ecuador sin hablar del cacao ya que simboliza identidad, patrimonio, desarrollo para nuestra nación (24).

Por lo tanto estuvimos en el primer auge cacaotero definido como el boom del cacao y este fue la base fundamental de la economía histórica del Ecuador e inclusive estuvimos presentes en el primer lugar en el segundo auge por ende duro desde 1895 al 1913 fueron 20 años de gloria, actualmente vendemos al mercado internacional en procesos distintos tanto sea granos de cacao, semi elaborados y productos terminados actualmente se encuentra en el cuarto puesto a nivel mundial (25) (26).

Para que el fruto sea satisfactorio para la venta pasa por análisis basados por normas de calidad:

INEN 175: Decreta el posterior método siguiente: 500 granos representan un lote y estos posteriormente son cortados a la mitad esto se refiere a ensayos o pruebas de cortes para observar y analizar el estado del producto en este caso la almendra por medio de un examen visual para esta prueba se tomará 100 granos cogidos completamente al azar y posteriormente se produce una inserción transversal para corroborar si hubo una correcta fermentación es de mucho valor porque se observaría si existiera alguna lesión en la almendra interna que esta es generada por los mohos y polillas que penetran a la semilla con consecuencia originan sabores no deseados en la pasta de cacao (27) (28).

INEN 176: Decreta los requisitos de excelente calidad cumpliéndose en el cacao en grano para ser expendido y los diferentes posteriormente los criterios aplicables para su clasificación tenemos la prueba de corte siempre empleada para observar si está en excelente el grado de fermentación de una muestra estadística de la almendra de cacao por ende este diagnóstico permite confiar si las medidas o los parámetros del grado de fermentación estén óptimos, conjuntamente descartaríamos presencia de cuerpo extraños por ende contaminación tanto fisicoquímico existencia de proliferación de microorganismo que causen moho o algún defecto que influya en sus propiedades y la presencia de algún insecto, como se menciona determinar la fermentación de la almendra este es primordial para potenciar y que existan presencias de las propiedades sensoriales y características organolépticas tanto su sabor y aroma que va a resaltar en el producto final, si existe una nefasta fermentación va alterar su propiedad y sus notas van hacer astringentes (29).

La norma menciona y que se debe cumplir referente al porcentaje de fermentación de los granos de cacao fermentados debe estar en la amplitud como mínimo de 70 a 85%, el contenido de humedad en las almendras de cacao no debe ser mayor al 7%, los granos con defectos no deben ser más del 1% de almendras cortadas o agrietadas, para que sean granos de óptima calidad deben estar libres de agentes extraños de olores externos que afecten a las propiedades organolépticas (30).

El test de corte de las almendras de cacao es un examen visual a simple vista que sirve como herramienta fundamental para distinguir y corroborar si haya existido una fermentación óptima tanto como los parámetros comerciales o que presencien la calidad estos deberían ser su tamaño, peso, porcentaje de humedad, agentes externos que contaminen las habas, se debe clasificar los granos hecho un corte longitudinalmente para poder clasificar según al grado de fermentación.

Reglamento de la calidad de los granos de cacao, deben cumplirse estrictamente los parámetros físicos y químicos según la normativa INEN que se presenta como requisitos principales para cacao fino en la tabla 1.

Tabla 1. Requerimientos físicos y la calidad para los granos de cacao.

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	NTE INEN- ISO 2291
Peso de 100 granos, g (>)	130	120-130	100-12	125	110-125	a
Granos fermentados min, %	75	65	53	68	55	NTE INEN- ISO 1114
Granos violetas, máx %	15	21	25	18	26	NTE INEN- ISO 1114
Granos pizarrosos, máx %	9	12	18	12	15	NTE INEN- ISO 1114
Granos mohosos, máx %	1	2	4	2	4	NTE INEN- ISO 1114
TOTALES (análisis sobre 100 granos) min	100	10 0	100	100	100	
Granos defectuosos máx %	0	1	3	1	3	b
Material relacionado al cacao, máx %	1	1	1	1	1	b
Material extraño máx %	0	0	0	0	0	b

❖ El porcentaje simboliza a la notación 0.01 esta significa la fracción másica.

^a la masa debe ser medida por un instrumento de peso.

^b una muestra de 500 gramos de almendras de cacao.

Fuente: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176(29).

Desglose de la clasificación del cacao según sus siglas.

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

Observaciones: La existencia de granza es permitido para el cacao A.S.E y en el cacao C.S.C en un máximo del 1.5% (29).

INEN 177: Deslina conceptos y manifiesta reglas que deben ser acatadas ya que son condiciones a cumplir durante el muestreo asegurando el fortalecimiento del proceso productivo de control de calidad (31) (32).

Se basa a la acogida de un producto tal cual como es el cacao, en las plazas nacionales y extranjeras en diferentes mercados tiene sus normas legislativas, exigencias lo más notorio del producto final como tal es la aceptación del consumidor hacia el producto, un cacao tan valioso fino de aroma con sus distintivas sobresalientes cualidades sensoriales como resultado final del proceso de industrialización y fabricación va existir un producto con excelentes parámetros de calidad y de modo que un cacao prestigioso de altos atributos; involucra una cadena de requisitos comienza notoriamente desde la indicción de la cosecha, selección geográfica territorial, análisis del suelo para evitar contratiempos de metales pesados y sin lugar a duda la post cosecha con cuidados extraordinarios y así vamos obtener un consumidor final satisfecho (33).

La productividad de la siembra de cacao generó empleo al 5% de población económica rural activa y esto es beneficioso y un pilar de suma importancia de los ingresos económicos de las familias de la costa, la región andina y la parte amazónica que en conjunto integra aproximadamente 150,000 familias y de estos alrededores del 70% son productores a menor escala, el 20% son relativamente medianos productores y finalmente el faltante son grandes productores y exportadores a nivel multinacional. Existió un incremento significativo a 235,000 toneladas en el 2014 posteriormente 4 años después hubo incremento a 315,000 toneladas una resultado de incremento de 80,000 toneladas esto es muy factible para la productividad del Ecuador y el desarrollo en el mercado comercial y productor además tiende a aumentar el 8% anual como lo hemos mencionado Ecuador ocupa el tercer y cuarto puesto de los multinacionales exportadores mundial de cacao, actualmente destaca y no hubo una baja en la exportaciones de cacao en esta pandemia al contrario tuvo buena acogida y esto mejoro para su desarrollo de crecimiento (34).

2.2.3. Inestabilidad económica del cacao.

El Ecuador sufrió trance por el describe de la entrada de ingreso económico al país por pérdidas muy significativas de enfermedades catastróficas que afectan a gran escala a la productividad cacaotera estas fueron la Monilla y Escoba de Bruja que fueron responsables por la disminución del 30% adicionalmente en aquella época existía la falta de movilización y comercialización a niveles internacionales que fue afectado por la

primera guerra mundial y esto originó una inestabilidad y declinación de producción y de ganancias económicas e inclusive muchos productores cayeron en la banca rota y pérdidas muy significativas (35) (36).

2.2.4. Mercados del Mundo.

En la actualidad el consumo de este noble alimento llamado el chocolate está en el top aproximadamente \$ 102 mil millones en 2017 y existen posibilidades de crecimiento según Euromonitor que la demanda incremente al 8% en 2022, la más utilizadas y apreciado para el consumidor son los chocolates elaborados por los mejores cacao del Ecuador el criollo y trinitario pertenecientes a Fino de Aroma que es el ingrediente principal para la selección, elaboración e industrialización del chocolate premium Gourmet, unos de los más conocidos en el continente Europeo es el chocolaters belgas que contiene al menos 12% de chocolate fino de Ecuador la demanda tiene un incremento creciente del 10% en EE.UU a diferencia del cacao común que su porcentaje de 5.4% (37).

2.2.5. Chocolate ecuatoriano.

Hablando de los mejores chocolates es sinónimo de hablar de Suiza pero esto no es tan cierto la mayoría materia prima para elaborar estos productos son como ingrediente principal el cacao ecuatoriano por todas sus características sinigual de los otros productores a nivel mundial somos preferencia principal para la elaboración de chocolates de todo el mundo pero a pesar de esto en la producción y embalaje de este no hace referencia a Ecuador no le dan su importancia como expendedor número uno de las mejores almendras fermentadas (38), por ende en la actualidad ya se está compitiendo con el mercado mundial como es el chocolate de Pacari una industrial predominante en Ecuador y en el exterior además reconocido como el mejor chocolate del mundo por sus características de 35 sabores innovadores, ganando varias certificación, premios y galardones en Internacional chocolate Award World GOLD 2012 al 2019 nominado en el 2018 como orgánico y en el último galardón tasters silver y bronce (39).

Se debería fabricar más productos chocolateros de origen de procedencia y de elaboración con mano de obra ecuatoriana por lo tanto poseemos los recursos naturales e investigación científicas porque no segmentar con nuestro producto el mercado internacional chocolate 100% ecuatoriano de ser de renombre, además del mejor cacao tendríamos la capacidad del mejor chocolate internacional (40).

2.2.6. Taxonomía del Cacao.

2.2.6.1. Clasificación según su orden.

En la siguiente tabla se muestra la clasificación de la taxonomía del cacao.

Tabla 2. Se muestra la clasificación taxonómica del cacao.

Descripción según orden taxonómico del cacao	
Reino	Plantae
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Malvales</i>
Familia	<i>Sterculiaceae</i>
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>T, Cacao</i>

Fuente: Bol. Cient. Mus. Hist. Nat (41).

Nombre científico *Theobroma cacao* L. cuyo significado en latín alimentos de los dioses Según Rondón, en el año 2005 (42), cita que el cacao es el alimento frutal más multifuncional y con cualidades extraordinarias que se pueden elaborar productos y subproductos del e inclusive desde el mucilago, cascara y rechazos.

2.2.6.2. Componentes químicos del grano de cacao.

En la presente tabla 3, se presenta la composición química del grano de cacao podemos observar lo que nos indica la tabla en cuanto a sus porcentajes son altos en proteína, ácidos orgánicos, y su aroma característico distintivo del mismo.

Tabla 3. Componentes químicos del grano de cacao.

Componente	%p/p
Cafeína	0.2
Azúcares	1
Teobromina	1.2
Sales Minerales	2.6
Agua	5
Ácidos tánicos y color	6
Celulosa	9
Ácidos orgánicos y aromas	9.5
Proteína	11.5
Manteca de cacao	54

Fuente: Bol. Cient. Mus. Hist. Nat (41).

En la tabla 4, se muestra la composición del mucílago de cacao.

Tabla 4. Composición del mucilago de cacao.

Componentes	%p/p (Base Humedad)
Agua	79.20 - 84.2
Azúcares	12.50 – 15.9
Cenizas	0.40 - 0.50
Ácido Cítrico	0.77 – 1.52
Pectinas	0.90 - 1.19
Glucosa	11.60-15.32
Proteína	0.09-0.11

Fuente: Bol. Cient. Mus. Hist. Nat (41).

2.2.7. Variedades de cacao en el Ecuador.

En el Ecuador existen 2 tipos de cacao que son utilizados por los agricultores que son el cacao CCN-51 y el Criollo mejor conocido como Nacional Fino de Aroma (43), la última variedad mencionada según las estadísticas elaboradas por Pro Ecuador tiene la mayor

aceptación de la variedad Fino de Aroma en la plaza internacional un porcentaje muy notorio y satisfactorio para lo actividad agroalimentaria que cubre aproximadamente el 63% del mercado mundial (44).

2.2.7.1. Cacao Nacional.

Cacao Nacional “Criollo” es el fino de aroma su tonalidad característico de la mazorca es de color amarillo y anaranjadas tendiendo a rojiza también denominado como cacao arriba este se produce en tierras ecuatorianas en las llanuras de la costa y de la región amazónica la reputación son sus incluibles propiedades sensoriales, el cacao fino y de aroma popular y valioso tanto por su sabor floral no tiene ninguna similitud con otros a nivel global, su fermentación es muy corta comparando con los demás tipos de cacao brindando una molienda suave y de excelente sabor y aroma muy valorada en el exterior apreciada por las industrias chocolateras internacionales (45).

2.2.7.2. Cacao CCN-51.

Uno de los clones más conocidos y apetecibles para el mercado internacional para la elaboración de chocolates es el CCN-51 por su resistencia y alto rendimiento y contenido graso, después de tantos años en 1960 Homero Castro en su finca llamada “Teobroma” ubicada en Naranjal, rápidamente después de muchos intentos logra denominar al cacao híbrido CCN-51 que a su vez es definido como (Colección Castro Naranjal) (46).

2.2.7.3. Cacao Trinitario.

Es un híbrido que se da origina de la combinación de dos tipos de cacao uno de ellos de tipo Criollo de Trinidad y Forasteros estas brindan resistencia a enfermedades o plagas y mejora la productividad, cubre la producción mundial del 10 al 15% este es el más popular que cultivan la mayoría de los agricultores en el continente Americano poseen sabor a frutas y nueces y su color en su maduración es de color rojizo (47) (45).

2.2.7.4. Cacao Forastero o Amazónico.

Los cacaos Forasteros son los menos proporcionados en cuanto a aroma y sabor esto como resultado en el producto final, pero es evidente resaltar que posee propiedades muy favorables para la industria chocolatera ya que los de esta variedad de cacao posee un alto contenido de grasa, su nombre de origen proviene de la amazonia, es un árbol frondoso, cuyas características en la ramificación es lateral, otra de las características de la mazorca es el espesor de su cascara y el grano es de menor tamaño en comparación a las demás variedades, el color que presenta la haba es de un malva oscuro, el mucilago no es azucarado y es un poco amargo (48).

2.2.8. Enfermedades que atacan a los cultivos de cacao.

Las enfermedades en los cultivos de cacao son de los problemas a resolver para obtener una producción de gran calidad, la enfermedad se concentra en mayor parte en el fruto y se muestra de color oscuro con manchas pardas, esto es generado por los hongos de las especies *Phytophthora* que ocasiona la mazorca negra y otras enfermedades causantes de daños que generan una gran pérdida económica como la escoba de bruja y la moniliasis (49).

2.2.8.1. Factores que ocasionan las enfermedades en los cultivos de cacao.

Debido a que existen grandes pérdidas en los cultivos los productores se han visto en la obligación de clonar las especies para obtener resultados eficientes en la producción (50).

- Humedad relativa
- Altas temperaturas
- Altitud
- Suelo
- Nutrición
- Cosecha
- Poscosecha (50).

2.2.9. Exceso de agentes químicos en los cultivos de cacao.

Es preventivo el uso de agentes químicos en las producciones de cacao, inconscientemente trae problemas a las producciones futuras e incluso resistencia a ciertos hongos, bacterias y plagas. Además de traer serios riesgos a la salud, por lo cual es necesario que se utilicen bioquímicos orgánicos remediadores adecuados en las medidas estandarizadas para que no afecten al fruto llenando de residuos de metales pesados ya que esto contrae problemas al medio ambiente y evitar que el suelo pierda sus propiedades quedando infértil por el uso excesivo de agroquímicos (51).

2.2.10. Cosecha.

La cosecha es donde se escogen el fruto maduro, característico de la variedad en específico cuando se encuentran en el estado de madurez óptimo. Es necesario tener en cuenta que solo se deben cosechar frutos aptos para la fermentación ya que frutos verdes no tendrán el mismo dulzor y pueden perjudicar dicho proceso. Por otra parte una almendra pasada puede secar y empezar a echar brotes (germinar) (52).

2.2.10.1. Desprendimiento del mucilago del cacao.

Una vez colectada las mazorcas de cacao se procede a retirar las almendras para realizar el drenado del mucilago previo a la fermentación comúnmente es realizado con las manos deslizando con los dedos cada una de las almendras hasta dejar la haba de cacao con una mínima cantidad de mucilago (53).

2.2.11. Fermentación.

El proceso de la fermentación es el primer manejo que se le da a las almendras después de la cosecha y desprendimiento de la pulpa, dicho proceso permite realizar el potenciamiento de las propiedades organolépticas distintivas el cacao, el haba empieza a coger volumen y su color empieza a cambiar de tonalidad, todo este proceso es llevado a cabo en caja de madera preferiblemente maderas sin olor que no vayan a inferir en el sabor final del chocolate, también son fermentados en tendales tapados con hojas de guineo o saquillos o costales de yute, para elevar la temperatura e inhibir microorganismo

patógenos perjudiciales que pudiera interrumpir el proceso fermentativo (54) (55); es recomendable según estudios que el drenaje de mucilago durante 12 horas en la etapa de fermentación reduce positivamente los porcentajes de cadmio en las almendras de cacao (56).

Indicadores que determinarán un fermentado de calidad:

- Transcurrido los primeros días de fermentación se debe tomar la temperatura interna que oscila por los 40°C.
- La baba que recubre al haba se reduce casi a su totalidad y el color cambia distintivo de cada variedad (57).

2.2.12. Etapa de la fermentación.

2.2.12.1. Fase anaeróbica.

Dentro de las etapas de fermentación hay que mencionar que la fase anaeróbica es de las principales debido a que el medio condicional de la baba o mucilago existe la difusión de levadura y estas son de carácter anaeróbico (58). Las levaduras se encargan de llevar a cabo el proceso de fermentación alcohólica es decir que el contenido de azúcar del mucilago se convierten en alcohol, de tal manera que se logran metabolizar gracias al contenido de ácido cítrico contenido en la pulpa de cacao, las levaduras tiene un periodo de vida de hasta dos días del inicio de la fermentación, juega un papel muy importante las levaduras y las enzimas por medio de ellas las almendras empiezan un proceso de exudación eliminando los líquidos que contiene la almendra y da por terminado el proceso de dicha fase, la primera fase se debe realizar la primera remoción después del día y medio desde que empezó el proceso de fermentación (58).

2.2.12.2. Fase oxidación condensativa.

Esta fase hay que tener en cuenta las situaciones aeróbicas ya que está muy de la mano con las bacterias ácido lácticas mismas que las levaduras las desarrollan con el fin de aumentar las bacterias lácticas y disminuir las levaduras, ocurre cuando el proceso fermentativo ha perdido la mayor cantidad de líquido debido a la exudación (58). Debido

al aumento de bacterias lácticas las temperaturas pueden llegar hasta 40°C temperatura que es óptima para el progreso de bacterias ácido acético mismas que suplantarán a las bacterias lácticas (58).

2.2.12.3. Fase aeróbica.

En esta etapa encontramos las bacterias aeróbicas teniendo la presencia de bacterias bacilos, que pueden resistir a un clima muy alto, hay que tener en cuenta que en esta fase se liberan diferentes compuestos los cuales van a inferir en la calidad final de la pasta de cacao (58).

2.2.12.4. Tiempo de fermentación.

El tiempo de fermentación va a variar de acuerdo a las condiciones climáticas de la zona, lo ideal es que lleve un tiempo de dos a 4 días para la variedad del cacao criollo (Nacional) en otras variedades el tiempo se puede prolongar de seis a siete días, otra de las condiciones que hay que tener en cuenta para el tiempo de fermentación es el contenido de mucilago poseído, siendo los medios fermentativos los cajones de madera, tachos, montón, sacos (59) (54).

2.2.12.5. Métodos para realizar la fermentación del grano de cacao.

En algunos lugares se sigue practicando la fermentación ancestral que consiste en poner el grano en los fermentadores uno de ellos es de ponerlos en una tina de plástico tapado de tal manera que no entre aire y no se produzcan la filtración de aire y evitando la contaminación por microorganismos patógenos, otro de estos métodos para fermentar es el de montón o rumos de granos esta es una de las más antiguas que existen y radica en apilar las habas en el suelo o sobre un plástico para facilitar el escurrido y se cubren con hojas de guineo o saquillos de yute o de plástico con el fin de tener el calor interno y que el resultado de la fermentación sea óptima. Estos rumos deben estar expuestos a los rayos solares y se deben remover de 1 a 2 veces al día, estas técnicas de fermentación se siguen realizando con el fin de abaratar costos y obtener ganancias productivas (60).

2.2.12.6. Fermentación por caja o gavetas Rohan.

Es considerado uno de los métodos más usuales que se han venido experimentando con el fin de obtener resultados de calidad, dependen de factores climático, y de la variedad de cacao que se somete a fermentación, la cantidad de granos pueden variar entre 100 a 200kg de almendras de cacao (61).

2.2.12.7. Fermentación por montón.

La fermentación por montón es un método ancestral, para este tratamiento se utiliza hojas de guineo las cuales hacen de camillas para facilitar el drenaje de la baba o mucilago, dicho tratamiento genera excelentes respuestas y sin tener que generar gastos mayores, la base para esta fermentación se realiza con caña picada o tablones de madera. Hay que tener en cuenta que este montón no debe estar expuesto a aguas lluvias ni canales de agua en lo posible lugares secos sin exposición a la tierra ya que todos estos factores afectarán al producto final, incluso a interrumpir el proceso de fermentación, la temperatura óptima necesaria es de entre 40° a 45° (61).

2.2.12.8. Fermentación por tina o canastas.

Las características principales de este tratamiento de fermentación son canastas que normalmente son tejidas por los africanos el material es sacado de la caña o en algunas de las veces se pueden encontrar canastas realizadas del árbol de palma. Dichas canastas pueden contener hasta 40 kg de almendras de cacao al momento de la fermentación deben ser cubiertas con hojas de guineo o plátano para su correcta fermentación, este proceso tarda hasta 5 días antes de ser sacado para la homogenización de los granos (61).

2.2.12.9. Fermentación en cajas de madera.

Alrededor del mundo este tratamiento es utilizado. Estas cajas pueden contener hasta 300 kilogramos. Este método requiere de ciertas técnicas, una de ellas es colocar las cajas suspendidas para poder realizar el drene del mucilago, otra técnica es colocando las cajas

a nivel del suelo y por último existe un procedimiento que radica en suspender las cajas tipo escalones. Hay que tener en cuenta al momento de realizar la fermentación el método adecuado para que los resultados sean los esperados y se obtengan una homogenización y estandarización de los granos de cacao óptimos (61).

2.2.12.10. Fermentación en bandejas.

Este método es el más satisfactorio ya que corrige los errores de los otros métodos de fermentación que no llegan a tener una correcta homogeneidad de las almendras de cacao, en este tipo de fermentación se llena únicamente en el centro de la bandeja fermentativa con el fin de que el fermentado llegue a la temperatura óptima adecuada (62).

2.2.13. Volteos o remoción de las almendras de cacao.

Los volteos o remoción de los granos de cacao permiten que la fermentación sea de calidad y el producto final muy beneficioso para la industria chocolatera normalmente se realizan las remociones con un periodo de 24 horas y por el tiempo que se lleve a cabo la fermentación lo cual dependerá de la variedad, lo que se busca con las remociones es darle una homogeneidad a la masa fermentativa, ventilar y aumentar la temperatura interna en el proceso de fermentación y que existan una fermentación eficaz (63) (64).

2.2.14. Calidad de las almendras fermentadas.

Como resultado de la fermentación se obtiene la calidad final de las almendras fermentadas existen almendras que no logran fermentarse con éxito estas tienen una coloración o tinción moradas, una almendra mal fermentada es desfavorable ya que pierde sabor y puede ganar un aroma no tan agradable. Por otra parte una almendra que obtuvo una fermentación óptima es de color marrón claro y el cotiledón bien pronunciado al momento de la prueba de corte (65).

2.2.15. Parámetros de Fermentación.

Para que haya existido una fermentación adecuada en las almendras de cacao ya fermentadas y secadas es considerable que sea mayor a 60% o igual para que sea optimas (66), otros autores detallan que el índice de fermentación debe ser más arriba que el 75% de granos fermentados, este valor es el mínimo requerido para la utilización de las almendras de cacao en la industria chocolatera para el beneficio del sabor y aroma procedentes y principales de cacao (67).

2.2.16. Secado.

El secado es el seguimiento de la fermentación en el cual determinara la calidad y desplegando los sabores y aromas, el principal objetivo que se persigue es eliminar humedad (7%) en el grano de cacao con el fin de evitar que pierda calidad debido a los agentes patológicos se realiza expuesto al sol extendiéndolo sobre tendales de caña, en los cuales el grosor de la masa va menorando con el pasar de los días para asegurar un excelente secado (63).

2.2.16.1. Método de secado.

- ✓ **Secado al sol:** Cubiertas de cemento, tablillas de caña o madera, marquesina.
- ✓ **Secados artificiales:** Secadores metálicos (rotativos) a combustible, gas, leña (63).

2.2.16.2. Prevenciones durante el secado del cacao.

Desde que inicia el proceso del secado en tendales empieza con un espesor de 5 cm, el segundo día la capa debe ser menos grasa y removida, posteriormente dejar recibir el sol las 24 horas en caso de usar un secado artificial es necesario hacer las remociones cada hora o dos horas (63).

2.2.17. Prueba de corte a los granos secos de cacao.

Luego de la fermentación ya sea natural o artificial, secado y limpieza del grano se eligen algunas almendras y se le realiza una prueba de corte para determinar la calidad final, una de las formas de reconocer la excelencia es por el color distintivo que es de café naranja, almendras elevadas y por su excelente aroma, dentro de la almendra se puede notar una apariencia estriada color muy agradable café intenso único y distintivo del chocolate. Si un grano previo al corte muestra apariencia mohosa, o picada por insectos (polillas) existió una mala fermentación (68)(69).

2.2.17.1. Almendra bien fermentada.

Las almendras bien fermentadas tienen características propias presentan al momento del corte transversal su fermentación total que asemeja al color marrón claro y es de apreciación muy estriada, fermentación total que se observa el cotiledón. Para la variedad de cacao CCN51 puede tomar diferente tonalidad después de encontrarse bien fermentado. Punto que hay que tener en cuenta al momento del corte para cacao puede tomar el color marrón, marrón oscuro e inclusive suele tomar el color de marrón violeta(70) (71).

2.2.17.2. Almendra mediana fermentación.

Las almendras con mediana fermentación tienen el cotiledón medianamente estriado son de color marrón levemente violetas en sus bordes extremos, pueden ser el resultado de falta de tiempo, ubicación de las almendras en el micro - fermentador, volteos o remociones insuficiente, escasa temperaturas(70)

2.2.17.3. Almendras violetas.

Las almendras violetas son el resultado de una fermentación insuficiente, mismas que como producto final no alcanzan aromas, ni sabores apropiados. Son poseedoras de altos contenidos de purinas, mediana fragancia, no contienen propiedades específicas(71).

2.2.17.4. Almendras pizarras.

son el resultado de que el grano de cacao no alcanza ninguna de las fases de fermentación dando como respuesta una almendra totalmente oscura, opaca, con una estructura plana, sin estrías en su cotiledón(71).

2.2.17.5. Almendras mohosas.

Estas almendras de cacao son muy escasas encontrarlas en la fermentación. Presenta deterioro en la superficie e interna de la almendra ocasionada por los hongos, lo cual es determinada por la prueba de corte. Colores distintivos internos son capa blanqueada algunas veces suele ser de color amarillo y esporas. Normalmente ocurre por motivo que las almendras tienen contenido de agua superando el 7% (70)(71).

2.2.18. Licor de cacao.

La elaboración de la pasta de cacao o licor de cacao es un procedimiento de la ejecución mecánica de las almendras de cacao previamente a una fermentación adecuada y con un secado óptimo teniendo en cuenta que debe haber sido sometidos a limpieza, descascarillado y tueste libres de agentes externos tales como químicos que afecten a sus propiedades organolépticas y sensoriales afectando al producto final debe estar libres de impurezas.

Previo a la obtención de la pasta de cacao, las habas de cacao deben pasar por ciertos procesos para obtener un producto final adecuado (72).

2.2.19. Tueste y descascarillado.

El tueste es uno de los principales procesos para la obtención de licor de cacao donde se procede a generar a las almendras de cacao aumento de temperatura térmica en un recipiente aconsejable de que sea vasijas de barro donde va existir un calentamiento muy homogéneo en el entorno de las habas de cacao, continuamente remociones para que las habas sean tostadas por igual para evitar que se ahúmen o se quemen, de esta manera tener un tueste excelente con el objetivo que se desprenda de la almendra de cacao la

cascarilla exponiendo solo el cotiledón este procedimiento genera que los precursores de sabores tales como olores y aromas muy característicos y significativos del chocolate, reacciones que existen en el proceso de fermentación de las almendras de cacao siendo de ayuda los azúcares y aminoácidos, de tal manera que las notas sensoriales típicas y principales de un producto terminado sea de sabores a frutos y floral o sabor a nuez, dependiendo del tipo de cacao de materia prima que se elabore el chocolate (73).

Es de suma importancia este proceso teniendo un seguimiento en el transcurso del tiempo y el control de temperatura del tostado. Al existir temperaturas altas y un tiempo prolongado de tostado perjudica a las propiedades aromáticas y sensoriales teniendo efecto de ahumado o quemado del mismo y esto perjudica directamente con el proceso de obtener un licor de cacao de excelente calidad, la fermentación es el proceso principal en generar el aroma por medio del tostado (74).

La temperatura y el tiempo adecuado para que exista un tueste en buenas condiciones de torrefacción es de 120 a 150 °C por 18 a 25 minutos; las variables principales que se debe tener seguimiento para obtener un aroma sabores predilectos del chocolate, este procedimiento es recomendado para conservar las cualidades sensoriales y aromáticas del cacao ecuatoriano es una etapa muy delicada que se debe tener mucho cuidado para no alterar propiedades que perjudiquen al aroma y sabor del chocolate este es el punto clave donde las almendras de cacao genera aproximadamente más de 400 aromas, el punto clave para obtener un chocolate de excelente calidad depende de la torrefacción (75).

A lo largo del proceso del tostado la tonalidad de la almendra de cacao cambia sus color por las reacciones que es sometida haciendo el efecto de un pardeamiento en esta engloba un sin número de reacciones tales como la oxidaciones, degradación de proteínas y polimerización de polifenoles y reacciones de Maillard, a diferencia del cambio en las propiedades sensoriales el aroma y el sabor tiene el efecto de la variabilidad de temperaturas variables y el tiempo que la almendra este sometida en el tostado (76), es importante porque por este se llegan a indicadores claves del proceso para disminuir la carga de bacterias o microorganismos, facilitando además el descascarillado y aumentar el color (77).

Existen tres propósitos fundamentales del proceso del tueste; ayuda a disminuir el porcentaje de humedad de las almendras de cacao aproximadamente de 7 - 8 alrededor del 2,5%, destruye los componentes volátiles que no se desea que estén presentes en el producto final como el aceite acético su olor característico desagradable como la de la acetona, para dar inicio a los nuevos componentes volátiles que serían aromas por reacción del origen térmico, las esenciales reacciones químicas que se generan en el transcurso del tostado mencionadas a continuación: las reacciones de Maillard (78), la oxidación del azúcar, degradación de proteínas y síntesis de compuestos azufrados, la reacción de Millard en las almendras de cacao se efectúa entre las azúcares reductores tales como la glucosa y la fructosa y los aminoácidos libres o péptidos de cadena corta, por medio de estas reacciones se producen componentes característicos del aroma y sabores del cacao como los éteres, fenoles, ácidos, ésteres, aldehídos, cetonas, pirazinas, pirroles; que cooperan en notas aromáticas a frutal, floral, nuez, almendras, caramelo, malta y chocolate y esto beneficia para que desempeñe y asido generado para tener un efecto de una óptima calidad sensorial (79).

2.2.20. Molienda y Refinado previo a la pasta de cacao.

La molienda es un paso para que se produzca un cambio en la textura del cacao de almendra solidas a trituradas el objetivo de este procedimiento es que exista un cambio y hacer que se disminuya el tamaño para que no se perciba en el gusto o consumo en el producto este no debe ser detectado por la lengua; generalmente gran parte deben de ser por debajo del tamaño de 40 micras (80).

2.2.21. Calidad Organoléptica.

La calidad sensorial es de mucho cuidado en el cacao porque este es muy susceptible a los agentes externos e inclusive en el tueste o molienda u agentes químicos sobre fermentación que aumenta los porcentajes acético y láctico consecuencia un aroma desagradable a la almendra de cacao; es recomendable que su fermentación y secado sea de forma natural o normal porque las cualidades del cacao son más apreciables y este aroma típico del cacao se desarrolla bajo estas condiciones (81).

2.2.21.1. Análisis y evaluación sensorial del licor de cacao.

El análisis organoléptico es la prueba específica para percibir y juzgar por medio de un análisis y evaluación sensorial en percibir las cualidades que tenga el producto final en este caso el licor de cacao para medir, analizar e interpretar las propiedades detectadas; estas son notadas por los sentidos de una persona en este caso el panelista por medio de análisis visual, olfativo y gustativo estas se realizan para determinar las características y propiedades organolépticos de una muestra a la vez tendrá efecto la evaluación influirá de manera satisfactoria o insatisfactoria negativamente (81).

2.2.21.2. Catación de Licor de cacao.

La destreza de catar un alimento trata de degustar con el propósito y el objetivo de justipreciar las características sensoriales generales teniendo en cuenta un modelo mental y real decretado el que se va encargar de evaluar por el análisis sensorial un cierto alimento por medio de los sentidos tales como: sentido visual, sentido olfativo, sentido gustativo, otro aspecto importante de resaltar es percatarse los gustos y opiniones de los consumidores sean de preferencia del consumo del producto o nuevo el resultado es anticiparse en las plazas alimentarias (82).

2.2.21.3. Aroma.

Ese se percibe por medio del órgano del olfato este está ubicado en la nariz, si el licor de cacao posee un excelente olor es porque desprende moléculas que son volátiles y son receptadas por la persona en sus cavidades nasales, la pasta de cacao es muy susceptible a impregnarse los olores teniendo así alguna alteración sensorial (83).

2.2.21.4. Sabor.

Es la cualidad sensorial más determinante a la hora de realizar una catación las cuales son: acidez, amargor, astringencia, caca/cacao, nuez, frutas secas, floral, especias, pos gusto, otros (quemado, mohoso, tierra, agentes químicos, etc.).

- **sabores básicos:** Acidez, amargor, astringencia, dulce, cacao.
- **Sabores específicos:** Floral, frutal, Nuez.
- **Sabores ajenos:** Mohoso, químico, tierra, ahumado, verde/ manchoso (83).

2.2.21.5. Sentido visual.

Este sentido se encarga de determinar mediante una observación la escala de intensidad que posee el licor de cacao, siendo esta una medición cualitativa, dando como resultado una clasificación de entre las escalas de color (84).

2.2.22. Mejoradores adicionados en la fermentación del cacao.

Dentro de las investigaciones que se han venido realizando para potenciar y mejorar el aroma del cacao son las levaduras del grupo *Saccharomyces spp*, misma que permite darle ambientes necesarios para el desarrollo de propiedades organolépticas, normalmente la que proporciona estas condiciones es *S. cerevisiae* (85).

2.2.22.1. Levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Las levaduras son hongos unicelulares que su multiplicación es mediante gemación, capaces de desdoblar el azúcar y convertir en alcoholes etanol. El aspecto de las levaduras es ovalada, cilíndrica muchas son de apariencia alargada, otra de sus cualidades es la longitud que tienen que es distintivo de las levaduras su diámetro de hasta $10\mu m$ de ancho y hasta $3\mu m$ de amplitud, Posteriormente en la segunda fase las levaduras dejan expandirse y son suplantadas por bacterias acéticas que se valen del aire y los alcoholes para generar ácido acético, es evidente destacar que no todas las levaduras son productoras de nitrógeno (85)(86).

Su Etimología saccharo que significa azúcar, myces procede de la palabra hongo y por último *cerevisiae* que relaciona a cerveza la misma tiene alto rendimiento fermentativo (87).

La principal acción que cumple la levadura *Saccharomyces cerevisiae* tiene la funcional capacidad de atraer los azúcares que tiene en el medio y convirtiendo el CO₂ en etanol – alcohol (87).

La levadura tiene una ventaja actúa como absorbentes y captador de varios compuestos que contaminan el ecosistema y alimentarios por su característica de ser muy seguros y muy fáciles de producir (88), esta cepa es principal en la intervención de la fermentación de cacao, motivo que se prolifera en el proceso y su activación ayuda a reducir y absorber el cadmio y ayudando a mejorar la inocuidad del cacao (89).

2.2.22.2. Condiciones favorables para el desarrollo de las levaduras.

Para que las condiciones sean optimas el proceso de fermentación es de 4 a 5 días para que sus características organoléptica sean potenciadas y acelerar este proceso fermentativo del cacao mediante la adición de bacterias benéficas tales en este caso *Saccharomyces cerevisiae* dentro de los tiempos que lleva el proceso, en este tiempo se genera las bacterias precursoras de la fermentación de los carbohidratos residuales, estas bacterias fermentativas ayudan a fermentar azúcares y estas generan ácido láctico, ácido acético y manitol sin las existencia e esto hubiera una falta de actividad fermentativa y por ende impidiendo la obtención de las propiedades sensoriales del chocolate para su activación se necesita el ambiente adecuado perseguido por su temperatura la existencia de esta bacteria se encuentra estériles dentro de la mazorca deber existir la fermentación del cacao en forma natural o espontanea estas no se añaden intencionalmente por reacción del contacto de utensilios y la actividad humana que procede con el proceso (90).

2.2.22.3. Importancia de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Es primordial para la activación y generar la notación de sabores y aromas para el chocolate sin este no existiera una fermentación y no se obtendría sus cualidades y sus propiedades organolépticas son benéficos para la preparación del grano sin la función de este no se drenaría el mucilago, existiría la presencia de acidez en la almendra siendo esta de pésima calidad y astringente esta provenientes del citrato posteriormente sin la disposición del ácido láctico no se tendría el etanol, estos microorganismos ayudan a la fermentación en la pulpa que posee glucosa, fructosa y sacarosa y una acidez que va

desde 3.3 y 4.0 por la actividad de los ácidos cítricos, para la aparición de esta debe haber una alta concentración de oxígeno alrededor de 36 a 38 horas se denomina esta bacteria que ya se activan al tope de la fermentación están llevan el proceso fermentativo ayuda a generar cambios de los azucares del mucilago transformándolo en etanol estas desgastan el oxígeno motivo del cual el interior se vuelve anaeróbico que favorece a la presencia de bacterias lácticas (90).

Tabla 5. *Taxonomía de la levadura.*

Clasificación taxonómica de levadura <i>saccharomyces cerevisiae</i>	
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Saccharomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Genero	Saccharomyces
Especie	S.cerevisiae

Fuente: Genética de *Saccharomyces* (91).

2.2.23. Enzima polifenol oxidasas PPO's.

Enzimas pectinolítica en la fermentación su inducción ayuda a potenciar las propiedades organolépticas de la almendra de cacao es de gran relevancia las investigaciones de las enzimas para el desarrollo y mejoramiento de la fermentación del cacao y procede a generar mayor entrada económica a los grandes, medianos, y pequeños productores, abarcar nuevos mercados y abaratar precios de venta, con el fin de aumentar las características y propiedades del cacao y tener excelente producción cacaotera (92).

Polifenol oxidasa es metaloenzima que está concentrada en hongos y plantas de diferentes especies (93). Esta poseída por átomos de cobre (cu) que ayudan a catalizar, mediante el oxígeno (O₂) para realizar el poder oxidante, la dicho proceso crea quinonas que se activan con los grupos amino (proteínas), las cuales cambiaran o mejoraran sus propiedades físicas, químicas y proteínas nutricionales del haba de cacao o de cualquier alimento, además de proveer un color distintivo de los polifenoles marrón o café conocido como “pardeamiento de la enzima” (94) (93).

Es de considerar al momento es indispensable del escurrimiento este fue la partida que se debe considerar como el inicio de la fermentación con el propósito de inactivar las enzimas polifenol oxidasa para que no exista una sobre fermentación y oxidación que alteraría la calidad de la almendra y del chocolate a producir (95).

Menciona Navia y Pazmiño que para el mejoramiento de las cualidades organolépticas con la ayuda de inducción de enzimas, extraída de frutas tales como lo es la piña, manzana, aguacate, plátano maduro, que contiene altas cantidades poli-fenólicas que son capaces de reducir el amargor, astringencia y acidez (96).

La enzima polifenol oxidasa durante la fermentación ayuda a degradar una parte significativa de compuestos orgánicos en la parte interna de los cotiledones de la almendra de cacao en su efecto actúa como un drenador que permite el drenaje de líquidos a la parte externa eliminando varios componentes tanto macro y micronutrientes tales como el cadmio (97).

2.2.24. Metales pesados que afectan a la producción de cacao.

En la actualidad vivimos expuestos a la contaminación por metales pesados que afecta a la salud a largo plazo en primer lugar afecta al riñón y afecta a la calcificación de los huesos. En respuesta a esta condición la Unión Europea tiene restricciones de niveles de cadmio permisibles para los diferentes alimentos. Para el caso de la exportación del chocolate y el cacao en grano tiene análisis que se le aplica estrictamente antes de ser recibido, el 0.30 ppm permisible (98).

Existen estudios realizados en donde afirman que la fuente receptora de los metales pesados es el suelo en este caso las matas cacaoteras, parcelas son las que absorben por las raíces llegando a la almendra. Es por eso que actualmente realizan investigaciones que por medio de bioles reductores orgánicos de cadmio en cultivos de cacao, los cuales se manejan sistemáticamente por medios de mecanismos fisiológicos que son encargados de absorber metales pesados (98).

2.2.24.1. Reducción de cadmio en árbol cacaotero.

Una de las soluciones a este gran problema es aplicar diluciones de nutrientes orgánicos o enmiendas fortificadas a las plantas y evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos, por el hecho que generan contaminación al suelo, la planta en general y a las personas que realizan la fumigación de estos agentes químicos, en los bioles o enmiendas se pueden realizar con microorganismos, bacterias, hongos que tienen capacidad biológica de reducir cadmio (98).

2.2.24.2. Minimización de cadmio mediante el post – cosecha.

Posiblemente existiría una reducción de cadmio en los tratamiento de fermentación, pero esto se determinaría con previas investigaciones que validen la alternativa y que componentes se deberían aplicar para llevar acabo dicho proceso, los cuales además de que existirá reducción significativa de cadmio, también potenciaría las propiedades de la almendra de cacao (98).

2.3. Investigaciones realizadas de levadura y enzimas para reducir cadmio.

Ahmed El Salous et al. (2019) (90). En el estudio de investigación el primer ensayo con la adición de levaduras para acelerar la fermentación se notaron resultados paulatinamente iguales por un margen de diferencia del 2% produciendo el segundo ensayo que se obtuvieron almendras de color pizarros y mohosas ligeramente como mejores resultado, no hubo una diferencia muy separada menciona Ahmed que no garantiza la primera opción por motivo que fue un ambiente controlado y factores externos para observar la acción de la bacteria por tal razón tuvo aceptabilidad pero ya en terrenos libre ya con factores externos y climatológicos y microbianos no tendría el mismo resultado además tal forma dificulta a realizar la fermentación en lugar expuesto a temperaturas y parámetros ambientales y así existiría resultados diferentes.

Según el autor esto ayudaría generar menos gastos gracias a la aceleración del proceso fermentativo ayuda que la actividad cacaotera sea más rentables el cultivo de cacao por la índole de minimizar la duración de la poscosecha este dependerá de las contrallaciones de temperatura y del lugar de dos a siete días dependiendo de la variedad del cacao. Es aconsejable según el escritor extender las actividades de las levaduras entre la adición de sustratos en hallazgos científicos lo primordial de la muerte de las almendras para alterar las reacciones.

Guerra et al. (2014) (99). Comenta que los metales pesador como es el cadmio no pueden ser removidos con facilidad ni por la existencia de algún método tanto químico o biológico lo más negativo de este metal su bioacumulación y a biomodificarse y perjudicando a la producción y generando contaminantes tóxicos por esta índole, este circula y puede llegar a las plantas o arboles por medio de las raíces o tallos u hojas tales como el árbol de cacao, ocasionando problemas en el ecosistema la presencia más notorias son en los cultivos de cacao.

Su objetivo principal es la inducción de bacterias que ayuden a adaptarse y crecer en suelos con altos porcentajes de cadmio y su capacidad de asimilación y biosorción de metales se propuso la metodología para iniciar unos ensayos in vitro con el fin de elegir

benéficamente cepas fúngicas tolerantes a concentraciones muy altas de “Cd” los estudios realizados fueron en el laboratorio de investigaciones en biotecnología agroalimentaria de la universidad de Santander se evidencio que los resultados las bacterias del género *Aspergillus* y *Trichoderma* tuvieron altos porcentajes significativos de biosorción de cd para ver si existe una remoción de estos metales y retener en la biomasa.

Diaz Ubilla et al. (2018) (100). este estudio fue realizado en el cantón Vinces en fincas La Rafaela se rebeló que su producción tenía altos porcentajes de cadmio y aproveches menor porcentaje permitido con un valor de 0.099 ppm que en promedio general es 0.455 ppm en la provincia de los Ríos se tabulo 1.23 ppm de cd con un promedio de 0.57 ppm y un mínimo de 0.57 ppm y estas están por debajo de la norma de la unión Europea pudieron evidenciar que 9 fincas están por encima de los estándares permisibles y donde hubo mayor concentraciones y bioacumulación fue en los tejidos de las testa o cascarilla en diferencia de las habas de cacao recomiendan a buscar una alternativa o regeneradores que favorezcan la producción del cacao y así evitando pérdidas significativas al mediano agricultor con la ayuda de una bacteria.

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La expuesta investigación se realizó en la finca experimental “La Represa”, situado en el Recinto Faita ubicada en San Carlos kilómetro 7.5 Provincia de Los Ríos pertenecientes a los previos universitarios de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, su ubicación Geográfica es de 1° 03´ 18´ de longitud sur y 79° 25´ 24´ de longitud oeste, a una altura de 73 metros sobre la superficie del mar, donde fue la adquisición de la materia prima de la mazorca del cacao. (101).

Tabla 6. *Valores agro climatológicos del lugar de estudio.*

Datos meteorológicos	Valores medios
Temperatura, °C	23.4
Humedad relativa media, (%)	87
Heliofanía, horas luz/mes	67.4
Precipitación, mm/mensual	140.8
Topografía del terreno	Plana
Textura del suelo	Franco-arcilloso
Ph	5.7 (ligeramente ácido)

Fuente: Datos informativos del Anuario Meteorológico procedentes de la Estación Experimental Tropical Pichilingue (102).

3.2. Tipo de Investigación.

Método Exploratorio: nos permite tener un grado de acercamiento con el tema propuesto o llegar a cierta familiarización con el objeto de estudio en este trabajo consta en explorar los porcentajes de inducción de enzimas *polifenol oxidasa* y levadura *Saccharomyces cerevisiae* (103).

Método Descriptivo: ayuda a indagar con exactitud las propiedades de las dimensiones de una situación o del objeto de análisis se va a describir los procesos y la respuesta de la etapa de postcosecha y si existiría una minimización de metales pesados (103).

Método Explicativo: se encarga de revelar dichos acontecimientos de acuerdo a los resultados experimentales, referente a los parámetros investigados, realizando una explicación muy concreta y específica de todo el procedimiento de productividad (103).

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método inductivo.

Para esta investigación el método inductivo se aplicó de este modo para obtener mejoras a los diferentes inconvenientes que se desarrollan en el momento de la postcosecha, a su vez aplicando nuevas técnicas en la fermentación para obtener una materia prima de calidad.

3.3.2. Método estadístico.

Para llevar a cabo la investigación se aplicó un programa estadístico InfoStat, el cual nos ayudó a dar respuesta a la recopilación de los datos que se obtuvieron durante la investigación con el fin de tener resultados esperados.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

La expuesta investigación se fundamentó de fuentes primarias, un análisis exhaustivo que se originó en observaciones estrechamente vinculadas con el campo de estudio que se comprendió en la adquisición y recopilación de los antecedentes de las variables ejecutadas, por medio de fuentes secundarias tales cuales los artículos científicos tanto nacionales como extranjeros, libros, revistas científicas de variedades de editoriales e informes de investigaciones y tesis de diferentes Universidades.

3.5. Diseño de la investigación.

En la presente investigación se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo bifactorial 9 tratamientos por 3 repeticiones, se empleó la prueba de rangos múltiples de Tukey al ($p < 0.05$) para la comparación de medias.

3.5.1. Diseño ANDEVA.

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 rangos múltiples de Tukey al ($p \leq 0.05$) se trabajó con un software Estadístico de licencia libre InfoStat.

Tabla 7. *Esquema del ANDEVA.*

Fuentes de variación (FV)		Grados de libertad (GL)
Tratamientos	t-1	8
Factor Levadura	(l-1)	2
Factor Enzima	(e-1)	2
Int. l*e	(l-1) (e-1)	4
Error Experimental	(l*e) (r-1)	18
Total	l*e*r-1	26

Elaborado por: Autora.

A continuación, en la tabla 8 se presentan los factores y niveles que se realizó en la presente investigación.

Tabla 8. Factores y niveles en estudio.

FACTOR LEVADURA			FACTOR ENZIMAS		
	l_0	0.0%		e_0	0.0%
Niveles	l_1	0.5%	Niveles	e_1	2.0%
	l_2	1.0%		e_2	2.5%

Elaborado por: Autora.

En la tabla 9, se presentan los arreglos de los tratamientos el número, código y descripción.

Tabla 9. Arreglo de tratamientos.

N°	Código	Descripción
1	loe0	Sin Levadura (0.0%), sin enzima (0.0%) (testigo)
2	loe1	Sin Levadura con inducción de enzima (PPO's) (2.0%)
3	loe2	Sin Levadura con inducción de enzima (PPO's) (2.5%)
4	le0	Levadura 0.5%p/p sin enzimas (0.0%) (testigo)
5	le1	Levadura 0.5%p/p con inducción de enzima (PPO's) (2.0%)
6	le2	Levadura 0.5%p/p con inducción de enzima (PPO's) (2.5%)
7	le0	Levadura al 1 % p/p sin enzima (0.0%) (testigo)
8	le1	Levadura al 1 % p/p con inducción de enzima (PPO's) (2.0%)
9	le2	Levadura al 1 % p/p con inducción de enzima (PPO's) (2.5%)

Elaborado por: Autora.

Para el estudio se evaluó tres porcentajes de levadura los cuales corresponden a los siguientes porcentajes (0%, 0.5% y 1%) que tendrán 3 repeticiones, y tres de enzimas (0%, 2.0%, 2.5).

3.5.2. Modelo matemático.

Se aplicó el siguiente modelo matemático denominado diseño completamente al azar bifactorial que se encuentra en la ecuación 1.

Ecuación 1. *Modelo matemático.*

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

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.

$(\alpha \cdot \beta)_{ij}$ = 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 (104).

3.6. Instrumento de investigación.

3.6.1. Variables a estudiar.

3.6.1.1. Manejo de Poscosecha.

Recepción de la materia prima:

- Se procedió a la recolección de la materia prima de los frutos de cacao teniendo en cuenta que deben ser de óptima calidad sin ningún problema de enfermedad y frutos no sobre madurados o verdes ya que pueden tener un efecto negativo en el procesamiento de la pasta de cacao.
- Se realizó la colección del cacao de la variedad Nacional
- Fue aproximadamente un rango entre 30 mazorcas una cantidad adecuada para cumplir por cada tratamiento de estudio

Despulpado:

- Al momento de ya tener la materia prima se debe realizar adecuadamente el desgranaje o despulpado de las habas de cacao.
- Con mucha precaución se debe partir el fruto de cacao haciendo un corte diagonal que penetre la cascara para que queden expuestas las almendras de cacao con ayuda de una cuchara o con la mano se debe realizar al desprendimiento de la placenta que sostienen a las almendras de este modo para poder separar y extraer las semillas.
- Se procede a colocar las almendras despulpadas en envases o tachos limpios para que no afecte a las propiedades organolépticas.
- Se coloco 2 kg de masa de cacao fresca por cada cuadro a utilizar en la caja micro fermentadora

3.6.1.2. Fermentación.

Se realizó la fermentación de las habas frescas de cacao en cajas micro fermentadoras de madera (guayacan blanco) cuya capacidad es de 2 kg se ocupó 27 celdas, una vez puestas en cada separación se adicionó levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) al 0.5% y 1 y enzima (*polifenol oxidasa*) 2% y 2.5%, con el fin de facilitar el escurrió el mucilago de cacao, la fermentación se llevó a cabo durante 4 días, además se tomaba los datos de las variables experimentales temperatura, pH y grados Brix. (56).

3.6.1.3. Proceso para la adición de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*.

Se adicionó *Saccharomyces cerevisiae* para determinar si hay mejora en los atributos sensoriales, a su vez conocer si existe una disminución de metales pesados cadmio. La fermentación se llevó acabo en cajas micro fermentadoras cuya capacidad de abarque es de 2000g por cada cuadrado, las dosis estandarizadas fueron 0.5%(10g) y 1%(20g) Para la activación de la levadura se adiciono 100ml de agua destilada a 40°C. una vez diluido se adiciono en la masa fresca de cacao en diferentes proporciones dependiendo de la variación del croquis experimental planteado para 9 tratamientos y 3 repeticiones (89).

3.6.1.4. Proceso para la adición de enzimas Polifenol Oxidasa.

Se utilizó la enzima *polifenol oxidasa* al 2%(40ml) y 2.5%(50ml), para determinar si existe un efecto favorable en el mejoramiento de la calidad sensorial y si a su vez existiría una disminución del contenido de cadmio en el proceso fermentativo, para lo cual su adición fue elaborando una mezcla (Pulp de fruta banano) el requerimiento de esta fruta es de 8 bananos cuyo promedio es de 150gramos, su utilización requerida es debido al alto contenido en *polifenol oxidasa* se mezcló en 400ml de agua destilada a una temperatura de 37°C, junto a la levadura para la aceleración del proceso, una vez diluido se procedió a adicionar a las almendras frescas de cacao, esta se encarga de degradar una serie de compuestos orgánicos en el interior de los cotiledones actuando como un posible drenador de cadmio (105) (106) (97).

3.6.1.5. pH.

Se determinó la medición del pH en las muestras de cacao obtenidas, de cada tratamiento y sus repeticiones diariamente con la utilización del pH-metro. Para lo cual se pesó por medio de una balanza 10g de almendras, se trituraba y se adicionaba 100ml de agua destilada tibia y se procedía a medir con el instrumento.

3.6.1.6. Grados Brix.

Se tomo 10g de muestra de cacao previamente triturados y disueltos en 100ml de agua destilada tibia, se aplicó en el prisma principal de 2 a 3 gotas en el lente se bajó la tapa del lector o prisma y se dejó por 1 minuto para posteriormente proceder a la toma de lectura exponiendo a contra luz para su mejor observación a través del lente. Mismo procedimiento para los días de fermentación.

3.6.1.7. Temperatura.

Se mantendrá temperaturas adecuadas para que exista una fermentación homogénea y estable que exista reacciones internas y externas de la almendra de cacao se medirá con un termómetro manteniendo un rango de temperatura no bajo de 45°C y no mayor de 50° Celsius se procedió a la toma de la temperatura por medio de un termómetro que se lo realizaba diariamente por 4 días.

3.6.1.8. Remociones óptimas.

Se removió adecuadamente la masa de cacao para que exista una óptima fermentación en este caso se utilizó cajones fermentadores de madera (guayacán blanco) con medidas 125*75*10cm esta caja facilita controlar los parámetros internos como la temperatura que se realizó tomas cada 24 horas.

3.6.1.9. Secado de los granos de cacao.

Posteriormente terminada la fermentación se realiza el secado al sol de los granos de cacao, las remociones son de mucha importancia en el momento del secado donde se procedió de una forma homogénea sin confundir las almendras de los otros tratamientos por un tiempo estimado de 6 -7 días con el fin de eliminar contenido de humedad interna del grano, teniendo en cuenta que la humedad para ser almacenada debe estar por debajo de los 7% de humedad recomendable.

3.6.1.10. Índice de semilla.

Para la realización de esta variable del índice de semilla se tomaron 100 granos de cacao fermentados y secos al azar estas fueron pesadas en una balanza analítica y promediadas sus datos, previos a la prueba de corte para determinarlo utilizamos la siguiente ecuación.

Ecuación 2. *Índice de semilla.*

$$IS = \frac{\text{Peso}(g)100\text{semillas}}{100}$$

3.6.1.11. Porcentaje de testa y cotiledón.

Para determinar el porcentaje de testa y cotiledón se tomó como referencia el peso de 30 gramos de cacao fermentado y seco, determinando el valor mediante la siguiente ecuación.

Ecuación 3. *Determinación de testa y cotiledón.*

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

3.6.1.12. Prueba de corte.

Se procedió a seleccionar 100 granos de cacao, se pesó y se realizó un corte transversal para verificar por medio de un examen visual si hubo una fermentación excelente o algún defecto de la misma, según la normativa INEN 176:2008.

3.6.1.13. Secuencia para la obtención de pasta de cacao.

- 1. Selección y limpieza de los granos:** Se realizó la limpieza de los granos secos extrayendo alguna impureza, materia extraña que contengan los granos.
- 2. Tueste de los granos:** Se procedió a realizar el tueste de las almendras de cacao a fuego lento 125°C para evitar que se quemen o ahúmen además de quitar la humedad de los granos ya que afectaría a la elaboración de pasta de cacao y por último al análisis sensorial.
- 3. Descascarillado de los granos:** Para el descascarillado se extrajo la testa del cotiledón y se almacenaron en empaques de papel de despacho.
- 4. Triturado de los granos:** Con un molino manual se procedió a ingresar la muestra de cacao descascarillada poco a poco durante 4 pasadas para conseguir el diámetro requerido que corresponde a 30-40µm.
- 5. Refinamiento de los granos:** Para este paso se tomó 1 muestra por cada tratamiento con el fin de realizar la pasta de cacao la cantidad que se determino fue de 1 kg, se ingresó la muestra en una conchadora cuya cavidad del equipo es de cinco kilogramos.

6. Conchado: El proceso fue ingresar la muestra constantemente y distribuir la masa hacia las paredes de la conchadora con ayuda de una paleta plástica, para así evitar aglomeramiento y facilitándole el proceso que de la elaboración de la pasta de cacao que llevo 6 horas en alcanzar la textura adecuada.

7. Moldeado: Una vez terminado el proceso del conchado se esperó que la pasta tome la temperatura ambiente (atemperado de la pasta) y se colocó en los recipientes los cuales por tratamiento se obtuvieron alrededor de 40-46 cubitos con un peso de 20g cada uno. Continuamente se ingresó a refrigeración hasta tomar la consistencia adecuada.

8. Envoltura: Cuando la pasta esta rígida se envolvió con papel aluminio con su respectiva etiquetación dependiendo su tratamiento.

9. Almacenado: Se almacenó las muestras en fundas plásticas en refrigeración 4°C.

3.6.1.14. Análisis Organoléptico.

Procedimiento que se realizó para prueba sensorial.

1. Se procedió a tomar los datos sensoriales con ayuda de un panel de catación, se organizó por 10 jueces semientrenados, cada panelista se le proporcionó 20g de muestra de pasta de cacao con textura liquida previamente pasada por baño maría(84).

2. Al momento de ya obtener la pasta recepcionada y almacenada se procedió a colocar en una bandeja en baño maría a una temperatura que oscila entre 45-50 grados Celsius previo a la catación.

3. Continuamente se colocó la pasta liquida en vasos pequeños para los 9 tratamientos acompañado de servilletas y paletas. A los panalistas se les indica que deben degustar la muestra para captar sabores y aroma es recomendable que este entre un tiempo promedio de 15 a 20 segundos en ese rango de tiempo se puede captar los sabores. Además, el catador debe estar 1 horas antes o después de haber comido otro

tipo de alimentos, para que estos sabores no afecten a la catación. Además de que el catador debe enjuagar su boca para quitar el amargor entre tratamientos.

4. Se debe desechar las muestras utilizadas y las paletas ya con muestra anterior de pasta de cacao.

Aspectos principales en la catación:

- **Generalidades:** aroma, acidez, amargor, astringencia, sabor, pos gusto.
- **Sabores:** cacao, dulce, nuez, frutas secas, frutas frescas, floral, especias.
- **Defecto:** mohoso, contaminantes, crudo, tierra, descomposición.
- **Específicos:** floral, frutal, dulzor, nuez.
- **Escala de intensidad:** ausente, apenas detectable, caracteriza la muestra, dominante, extremo.
- **Escala de calidad:** pésimo, malo, regular, bueno, excelente, muy excelente.

3.6.1.15. Metales Pesado (cadmio).

Se analizó los porcentajes de metales pesados presentes en la almendra de cacao y se verificó si están dentro del rango permitido por la Unión Europea y corroborar si existió una disminución de cadmio después del proceso de fermentación, para determinar dichos porcentajes de cadmio se tomó 1 gramo pasta de cacao diluida previamente con ácido nítrico seguidamente se ingresa en un microondas y se eleva a temperaturas superior a 150°C, se filtra la muestra y se rotula en el equipo de absorción atómica por horno de grafito (107).

3.6.1.16. Análisis Económico.

Se aplicó un cálculo de un análisis económico, calculando los costos de cada tratamiento que tendrá un efecto en la enzima, medir el efecto de esta, en cada tratamiento va llevar lo mismo añadiendo adicionalmente el porcentaje de las enzimas y así sacar el costo por tratamiento; se va contabilizar que se va utilizar para cada tratamiento, cuanto es el costo por cada tratamiento y que utilizo. cuanto seria su valor de costo de producción y

cuál sería el de menor costo; posteriormente observar el que de mejor resultado y así mejorando 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. Recursos humanos y materiales.

En la expuesta investigación tuvimos ayuda de recursos humanos los cuales son primordiales para poder realizar la investigación:

Ing. Jaime Fabian Vera Chang, director del proyecto de investigación de titulación con su ayuda primordial.

Estudiante y autora de la Investigación Kerly Estefania Alvarado Vásquez.

3.7.2. Materiales y equipos.

3.7.2.1 Materiales y equipos del campo.

Laptop

cámara

Lápiz

libreta

Marcadores

Cacao

Caja de madera

Machetes

Sacos

Tachos

Pesa de mano

Enzimas *Polifenol Oxidasa*

Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Agua destilada.

3.7.2.2. Materiales de Laboratorio.

Vasos de vidrio

Balanza Analítica

Gramera

Instrumentos para la prueba de corte

Guantes

Gafas

Brixometro de marca ATAGO modelo N-1 α (Brix 0- 32%) MADE IN JAPAN.

Calculadora

pH-metro marca pH meter de rango 0.00 a 14.00.

Termómetro

Estilete.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EFECTO DE UNA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) SOBRE LAS VARIABLES FISICO QUIMICAS, SENSORIALES Y CONCENTRACION DE CADMIO EN EL 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 la levadura sobre la temperatura de fermentación, estos demuestran que existió diferencias estadísticas ($P < 0.05$); se puede evidenciar que la acción microbiana provocó cambios con un comportamiento lineal positivo (incremento) en el valor de la temperatura en todos los tiempos (días) de muestreo.

Tabla 10. Efecto de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.

Levadura	Temperatura (día 1)	Temperatura (día 2)	Temperatura (día 3)	Temperatura (día 4)
0%	32.04c	39.66b	40.08b	41.48b
0.5%	33.17b	40.01ab	40.47a	42.17ab
1%	33.94a	40.54a	40.78a	43.01 ^a
EEM	1.6542	0.7745	0.6082	1.3304
P<0.05	<0.0001	0.0027	0.0002	0.011

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.1.1.2. pH.

En el mismo sentido, se observó que la variable pH en el proceso de fermentación, también se vio afectado ($P < 0.05$) por efecto de la variable levadura, pudiéndose evidenciar que el valor del pH en todos los tiempos (días) de muestreo incrementó linealmente en función del nivel de adición del compuesto microbiano, demostrando una acción positiva de este factor en estudio (levadura: *Saccharomyces cerevisiae*) en los procesos de fermentación de cacao (Tabla 11).

Tabla 11. Efecto de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la pH del cacao en su proceso fermentativo.

Levadura	pH	pH	pH	pH
0%	3.49c	4.43c	4.95c	5.20c
0.50%	3.59b	4.48b	5.09b	5.32b
1%	3.67a	4.56a	5.18a	5.44 ^a
EEM	0.1527	0.1154	0.2000	0.2081
P<0.05	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.1.1.3. Grados Brix.

En lo que se refiere a los resultados de concentración de los °Brix, no se observó datos concluyentes que determinen un efecto claro del factor en estudio levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), toda vez que, en los días 1 y 4 no se reportaron diferencias estadísticas ($P>0.05$), mientras que en los días 2 y 3, los datos presentaron un comportamiento lineal decreciente ($P<0.05$), condición que demuestra una acción positiva por efecto de la acción microbiana (*Saccharomyces cerevisiae*) en los procesos de fermentación de cacao (Tabla 12).

Tabla 12. Efecto de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre los /Brix del cacao en su proceso fermentativo.

Levadura	°Brix1	°Brix2	°Brix3	°Brix4
0%	13.47a	11.62a	9.90a	6.18a
0.5%	12.80a	9.96b	9.27a	6.42a
1%	13.31a	9.96b	8.17b	6.04a
EEM	0.6027	1.6663	1.5187	0.3310
P<0.05	0.0821	0.0005	0.0006	0.8679

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.1.1.4. Variables de prueba de corte.

Los resultados de la mayoría de las variables de prueba de corte estudiadas en la presente investigación no presentaron diferencias estadísticas ($P>0.05$), por lo tanto, podemos indicar que los variables porcentaje de testa, cotiledón, índice de semilla y pizarras, no son influenciados por la acción microbiana (*Saccharomyces cerevisiae*) durante el proceso de fermentación del cacao; sin embargo, la variable elementos fermentados y presentación de almendras violetas, tuvieron un comportamiento distinto ($P<0.05$), demostrando un efecto lineal creciente y decreciente, respectivamente con la aplicación de la levadura (Tabla 13).

Tabla 13. Efecto de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.

Levadura	%Testa	%Cotiledón	IS	Fermentados	Vio	Piz
0	15.70	84.30	1.57	62.22b	36.67a	1.44
0.5	14.67	83.33	1.53	74.78a	27.22ab	1.44
1	12.00	88.00	1.50	74.44a	21.78b	1.11
EEM	3.31	3.30	0.057	12.39	13.48	0.33
P<0.05	0.1558	0.1558	0.5192	<0.0001	0.0029	0.6579

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.1.2. Variables sensoriales.

Similarmente a los resultados anteriormente descritos, la mayoría de las variables sensoriales estudiadas no presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$), donde, tan solo variables acidez y otros, fueron influenciadas por la acción microbiana (*Saccharomyces cerevisiae*) durante el proceso de fermentación del cacao; sin embargo, las demás variables estudiadas tuvieron un comportamiento distinto ($P > 0.05$) (Tabla 14).

Tabla 14. Efecto de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre las variables sensoriales del cacao en su proceso fermentativo.

Levadura	Aroma	Acidez	Amargor	Cacao	Nuez	Frutos.s	Floral	Espicias	Otros	Intensidad	Color
0%	4.17a	0.73ab	3.50a	3.80a	2.80a	2.60a	3.17a	0.07a	0.70a	3.77a	4.90a
0.50%	4.03a	0.8a	3.50a	3.80a	2.70a	2.87a	3.17a	0.13a	0.37ab	3.77a	5.00a
1.00%	4.27a	0.43b	3.73a	3.77a	3.30a	2.90a	4.40a	0.03a	0.30b	3.63a	4.93a
EEM	0.369	0.6164	0.4242	0.0577	1.0165	0.5196	0.4242	0.16	0.6780	0.2449	0.1632
P<0.05	0.6047	0.0107	0.6138	0.9888	0.1771	0.5839	0.7531	0.28200	0.0157	0.8645	0.2213

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.2. EFECTO DE UNA ENZIMA (*Polifenol oxidasas*) SOBRE LAS VARIABLES FISICO QUIMICAS, SENSORIALES Y CONCENTRACION DE CADMIO EN EL CACAO.

4.2.1. Variables físico - químicas.

4.2.1.1. Temperatura.

En la Tabla 15, se observa el efecto de una enzima (*Polifenol oxidasas*) sobre la temperatura del cacao en su proceso de fermentación. Se evidenció que en los días estudio (día 1 al 4 de fermentación) no existió diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en los valores de la temperatura. Pudiendo recalcar que, de igual manera los comportamientos de los valores fueron erráticos y no lineales.

Tabla 15. *Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre la variable temperatura del cacao en su proceso fermentativo.*

Enzima	Temperatura 1	Temperatura 2	Temperatura 3	Temperatura 4
0%	32.92a	40.06a	40.51a	42.21a
2%	33.13a	40.04a	40.43a	42.29a
2.5%	33.10a	40.11a	40.38a	42.16a
EEM	0.2000	0.0577	0.1154	0.1150
P<0.05	0.646	0.9482	0.5906	0.9566

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.2.1.2. pH.

En lo referente al efecto de la enzima (*Polifenol oxidasas*) sobre el pH del cacao en su proceso de fermentación, podemos indicar que hay una respuesta lineal de los valores (excepto en el día 1); presentándose diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en todos los días de evaluación de la variable (1 al 4). Lo anterior, nos indica que para esta investigación la acción de la enzima (*Polifenol oxidasas*) es consistente y se correlaciona con el incremento del pH.

Tabla 16. *Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre la variable pH del cacao en su proceso fermentativo.*

Enzima	pH	pH	pH	pH
0%	3.55b	4.34c	4.76c	4.92c
2%	3.46c	4.50b	5.08b	5.34b
2.5%	3.74a	4.63a	5.38a	5.70a
EEM	0.2449	0.2449	0.5354	0.6782
P<0.05	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.2.1.3. Grados Brix.

En lo referente a la presenta variable, que determina porcentaje de sólidos solubles en base a la solución total (cuantificación de °Brix), podemos indicar que la enzima (*Polifenol oxidasas*) permitió obtener datos que presentaron un comportamiento de linealidad de los valores en respuesta de la adición incremental de la enzima (0, 2 y 2.5%); sin embargo, la adición del producto microbiano solo permitió la expresión estadística significativa ($P < 0.05$) de la variable en el día 3 de muestreo. Es importante manifestar, que el perfil de los valores es congruente con la adición de la enzima en torno a la disminución de los valores de °Brix como evidencia del efecto positivo de la adición de la enzima (Tabla 17)

Tabla 17. Efecto de una enzima (*Polifenol oxidasas*) sobre la variable °Brix del cacao en su proceso fermentativo.

Enzima	°Brix1	°Brix2	°Brix3	°Brix4
0%	13.42a	10.78a	9.61a	6.38a
2%	13.16a	10.36a	9.37a	6.93a
2.5%	13.00a	10.40a	8.36b	6.23a
EEM	0.6000	0.4000	1.1532	0.300
P<0.05	0.3606	0.5184	0.0069	0.8908

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.2.1.4. Variables de prueba de corte.

Con base en los resultados encontrados, indicar que el producto enzimático enzima (*Polifenol oxidasas*) utilizado, provocó solo efectos de criterio estadístico en la variable fermentados (almendras fermentadas) ($P>0.05$), lo que permite inferir el efecto positivo sobre los procesos fermentativos del cacao, sin embargo, las variables como porcentaje de testa, cotiledón, índice de semilla, presentación de almendras violetas y pizarra, presentaron resultados estadísticos similares ($P>0.05$) (Tabla 18). Es importante mencionar, que el comportamiento de la variable fermentados en lineal positiva al empleo y efecto del producto enzimático utilizado.

Tabla 18. *Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.*

Enzima	%Testa	%Cotiledón	IS	Fermentados	Vio	Piz
0	15.26a	84.74a	1.51a	61.89c	28.22a	1.33a
2	15.41a	84.59a	1.57a	71.33b	28.56a	1.56a
2.5	11.70a	88.30a	1.51a	78.22a	28.89a	1.11a
EEM	3.63	3.63	0.057	5.71	0.57	0.38
P<0.05	0.1112	0.1112	0.5459	<0.0001	0.9841	0.5746

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.2.2. Variables sensoriales.

En relación a las variables sensoriales, en lo general se puede manifestar que los resultados no demostraron diferencias estadísticas ($P>0.05$), excepto para las variables especias y otros (sabores y olores indeterminados), que reportaron la existencia de diferencias estadísticas ($P<0.05$) (Tabla 19) sin un criterio de crecimiento de decrecimiento lineal.

Tabla 19. Efecto de una enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables sensoriales del cacao en su proceso fermentativo.

Enzima	Aroma	Acidez	Amargor	Cacao	Nuez	Frutos secos	Floral	Especias	Otros	Intensidad	Color
0.0%	4.20a	0.70a	3.53a	3.93a	2.80a	2.87a	3.23a	0.00b	0.83a	3.93a	4.87a
2.0%	4.00a	0.60a	3.47a	3.70a	3.10a	2.43a	2.90a	0.30b	0.40b	3.23b	4.97a
2.5%	4.27a	0.67a	3.73a	3.73a	2.90a	3.07a	3.60a	0.20a	0.13b	4.00a	5.00a
EEM	0.439	0.1632	0.4396	0.4	0.483	1.023	1.1075	0.3366	1.9908	1.3428	0.216
P<0.05	0.4941	0.7224	0.5958	0.6186	0.6721	0.1291	0.1529	0.0049	<0.0001	0.0148	0.0634

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.3. EFECTO DE LA INTERACCIÓN DE UNA ENZIMA (*Polifenol oxidasas*) Y UNA LEVADURA SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS, SENSORIALES Y CONCENTRACION DE CADMIO EN EL CACAO.

4.3.1. Variables físico - químicas.

4.3.1.1. Temperatura.

En la Tabla 20, se presentan los valores de la variable temperatura como respuesta a la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidasas*), observándose que en los días (1 y 3) del proceso fermentativo, existió diferencias estadísticas ($P < 0.05$), sin embargo, en los días 2 y 4, no se evidenció interacción entre los factores estudiados, es importante comentar que fue claro el incremento del valor de esta variable para los tratamientos constituido por 1 interacción de una levadura por una enzima en sus máximos niveles, que aunque, como se indicara que no en todos los casos existió diferencias estadísticas, la tendencia numérica se mantuvo en favor de uso de los factores en su nivel máximo.

Según Pallares *et al* (108) menciona que una temperatura máxima de fermentación debe ser entre 45 a 48 grados centígrados para que exista una pérdida significativa de humedad y por ende una fermentación de calidad en el grano, impedimento que exista una germinación de las almendras de cacao. El proceso fermentativo termina con la muerte del embrión además la disminución total de bacterias y microorganismos (109) (110).

Seguido del contexto anterior Salous(111) indica que los microorganismos ayudan a mejorar la fermentación además de brindar mayores características sensoriales cumple un papel importante en el proceso fermentativo reduciendo significativamente el tiempo de fermentación cumpliendo su características como un reductor, acelerador de tiempo fermentativo el cual es óptimo para la productividad en las industrias chocolateras y alimentarias con el objetivo de no reducir su calidad es más fomentar la rentabilidad, producción cacaotera de este modo mejorando sus cualidades sensoriales y aumentando su aroma, sabores y olores.

Continuamente Pallares et al (112) califica que la enzima *polifenol oxidada* es una fuente natural de azúcares que permite activar la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y esto tiene un efecto positivo en la fermentación de las almendras de cacao reduciendo tiempo del proceso fermentativo, además da un aporte a los granos de cacao muy significativos (113) (114).

Tabla 20. Efecto de la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidadas*) sobre la temperatura del cacao en su proceso fermentativo.

Factor levadura	%Adición PPO	Temperatura 1	Temperatura 2	Temperatura 3	Temperatura 4
0	0	31.97b	39.99a	40.17ab	41.40a
	2	32.07b	39.53a	40.00b	41.57a
	2.5	32.97b	39.67a	40.07ab	41.47a
0.5	0	33.00ab	39.90a	40.57ab	42.20a
	2	33.27ab	40.00a	40.47ab	42.17a
	2.5	33.00ab	40.13a	40.37a	42.13a
1	0	33.80a	40.50a	40.80a	43.03a
	2	34.07a	40.60a	40.83a	43.13a
	2.5	33.97a	40.53a	40.70ab	42.87a
EEM		0.0333	0.0666	0.0333	0.04714
P<0.05		0.9979	0.2581	0.9513	0.9999

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.3.1.2. pH.

En el mismo sentido, al estudiar la variable pH como respuesta a la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidases*), se observó que en los días (1 y 2) del proceso fermentativo, existió diferencias estadísticas ($P < 0.05$), sin embargo, en los días 3 y 4 no se identificó el mismo comportamiento estadístico ($P > 0.05$) para la interacción entre los factores estudiados. Se debe indicar también, que con excepción del día uno de registro de esta variable, en los demás días (2, 3 y 4), se observó una tendencia lineal creciente de los valores del pH como efecto de la infección de factores (Tabla 21)

Amorim et al (115) argumenta que el pH influye directamente en el proceso fermentativo y es necesario encontrarse en rangos como mínimo (4.5) y máximos de (5.5) para alcanzar una fermentación formidable y atributos sensoriales de calidad, Mismos valores que tienen total concordancia con la presente investigación debido a que se alcanzaron esos rangos de pH en la fermentación anaerobia.

Conforme Castillo et al (116) redactan que en la fermentación se debe controlar el pH ya que va a determinar la calidad final de un alimento por los severos daños que ocasionan en la salud por lo que es necesario que su pH de 6 que es el más óptimo.

Tabla 21. Efecto de la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidases*) sobre pH del cacao en su proceso fermentativo.

Factor levadura	%Adición PPO	pH	pH	pH	pH
0	0	3.44e	4.33a	4.63f	4.76g
	2	3.34f	4.30a	4.96d	5.23d
	2.5	3.69bc	4.57bc	5.26b	5.61b
0.5	0	3.56d	4.35e	4.76e	4.92f
	2	3.46e	4.49cd	5.12c	5.34cd
	2.5	3.74ab	4.61b	5.39a	5.70ab
1	0	3.64cd	4.45d	4.89d	5.07e
	2	3.58d	4.53bcd	5.17bc	5.45c
	2.5	3.78a	4.70a	5.49a	5.79a
EEM		0.0223	0.023	0.0124	0.0179
P<0.05		0.0027	<0.0109	0.468	0.3238

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.3.1.3. Grados Brix.

Por otra parte, investigando la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidasas*) sobre la respuesta de la variable °Brix, se observó que en los días (1 y 4) de fermentación del cacao, los resultados no presentaron diferencias estadísticas ($P>0.05$), sin embargo, en los días 2 y 3 se pudo observar interacción entre los factores ($P<0.05$), aunque las respuestas no mostraron un efecto lineal creciente por efectos de la relación incremental de los niveles de la levadura por la enzima (Tabla 22).

Según Gálvez (117) indica que los grados brix van en función con la fermentación los datos obtenidos muestran un comportamiento lineal decreciente similar a los que se representan en la presente investigación. Razón por la durante la fermentación su concentración de azúcares disminuye, y garantiza que el producto semi - elaborado o final contenga propiedades o cualidades enriquecidas.

Tabla 22. Efecto de la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidasas*) sobre los °Brix del cacao en su proceso fermentativo.

Factor levadura	%Adición PPO	°Brix1	°Brix2	°Brix3	°Brix4
0	0	13.73a	11.83a	11.10a	6.33a
	2	13.50a	11.33ab	7.90c	5.50a
	2.5	13.17a	11.70a	10.70a	6.70a
0.5	0	13.37a	10.50abc	10.13ab	7.07a
	2	12.70a	10.53abc	9.27abc	6.50a
	2.5	12.33a	8.83c	8.40bc	5.70a
1	0	13.17a	10.00abc	7.60c	5.73a
	2	13.27a	9.20bc	7.90c	6.10a
	2.5	13.50a	10.67abc	9.00abc	6.30a
EEM		0.2027	0.48070	0.7070	0.3741
P<0.05		0.4435	0.0497	0.0001	0.7042

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.3.1.4. Variables de prueba de corte.

Con base en los resultados de las variables de prueba de corte, se observa que, para el porcentaje de testa, cotiledón, índice de semilla, presentación de almendras violetas y pizarras, no existen diferencias estadísticas ($P>0.05$) por efecto de la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidasas*), sin embargo, en lo referente a la variable fermentados, los resultados demuestran un perfil de datos que tienen tendencia lineal creciente, además de, diferencias estadísticas ($P<0.05$) como respuesta a la interacción de los factores (Tabla 23).

Referente al investigador Álvarez et al. (118) señala que esta prueba es determinante en la fermentación ya que se evalúa la cantidad de granos que alcanzaron una buena fermentación, mediana, violetas y pizarras entre más características que se evalúan en este principio, a su vez es clave principal para las industrias alimentarias dedicadas a la transformación del grano, sugiere que la se remocione en rangos homogéneos es decir cada 24 horas constantemente durante los días de fermentación.

Por consiguiente Quintana et al (119) menciona que es necesario realizar pruebas a las almendras de cacao (índice de semilla, porcentaje de testa y cotiledón, índice de grano), ya que estos porcentajes serán determinantes en el manejo de poscosecha del cacao, dichos valores resultantes se asemejan a los encontrados en esta investigación y con referencia a la norma INEN176.

Tabla 23. Efecto de la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables de prueba de corte del cacao en su proceso fermentativo.

Factor levadura	%Adición PPO	%Testa	%Cotiledón	IS	Fermentados	Vio	Piz
0	0	15.56	84.44	1.56	56.67d	37.33	4.33
	2	18.11	81.89	1.58	63.67cd	36.67	2.00
	2.5	13.44	86.56	1.56	66.33c	36.00	1.67
0.5	0	16.44	83.56	1.53	61.67cd	27.67	3.00
	2	17.78	82.22	1.56	75.00b	25.00	2.67
	2.5	9.78	90.22	1.52	87.67a	29.00	1.33
1	0	13.78	86.22	1.45	67.33c	19.67	2.33
	2	10.33	89.67	1.58	75.33b	24.00	2.00
	2.5	11.89	88.11	1.45	80.67ab	21.67	1.00
EEM		1.51	1.51	0.020	2.49	1.22	0.12
P<0.05		0.3132	0.3132	0.9186	0.0003	0.9260	0.9639

Elaborado por: Alvarado, K. 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 acidez, especias, otros e intensidad, que presentaron cambios en su comportamiento estadístico ($P < 0.05$), por efecto de la interacción entre los factores estudiados (Tabla 24), cabe mencionar que no se evidenció un criterio de crecimiento lineal creciente o decreciente de los valores de respuesta por efecto de la adición de los niveles de levadura y enzima, excepto para acidez, cuya tendencia fue evidentemente decreciente.

Según Romero y Tuz (120) El método fermentivo empleado determinara la calidad sensorial desarrollando aroma, sabor, color resultante del licor de cacao. Empezando por una fermentación microbiana donde actúa las levaduras ayudando a integrarse y activándose reduciendo más rápido la concentración de mucilago, además de producir esteres de aromas. La aplicación productores de aroma, sabor durante la fermentación es ideal para potenciar las cualidades presentes en el grano, también argumenta que gracias al drenaje el grano alcanza o logra tener menor contenido de humedad interna lo cual favorece y disminuye el tiempo de secado al sol sin perder propiedades. Los resultados que se obtuvieron son significativos positivos por la adición de levaduras al proceso fermentativo.

Tabla 24. Efecto de la interacción levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre las variables sensoriales del cacao en su proceso fermentativo.

Factor levadura	%Adición PPO	Aroma	Acidez	Amargor	Cacao	Nuez	Frutos secos	Floral	Especias	Otros	Intensidad	Color
0	0	4.30a	0.80ab	3.20a	3.80a	2.50a	2.20a	3.30a	0.00b	1.00a	3.80ab	4.80a
	2	3.90a	0.90ab	3.50a	4.10a	2.60a	3.60a	3.70a	0.00b	0.70abc	4.20ab	5.00a
	2.5	4.30a	0.50bc	3.90a	3.90a	3.30a	2.80a	2.70a	0.00b	0.80ab	3.80ab	4.80a
0.5	0	4.10a	0.50bc	3.60a	3.80a	3.10a	2.70a	2.80a	0.00b	0.40abc	3.70ab	4.90a
	2	4.10a	0.50bc	3.30a	3.80a	3.00a	2.10a	2.70a	0.00b	0.00c	3.30ab	5.00a
	2.5	3.90a	1.40a	3.50a	3.50a	3.20a	2.50a	3.20a	0.10ab	0.00c	2.70b	5.00a
1	0	4.20a	0.80ab	3.70a	3.80a	2.80a	2.90a	3.40a	0.20ab	0.70abc	3.80ab	5.00a
	2	4.00a	0.40bc	3.70a	3.50a	2.50a	2.90a	3.10a	0.40a	0.40abc	3.80ab	5.00a
	2.5	4.60a	0.10c	3.80a	3.90a	3.40a	3.40a	4.30a	0.00b	0.10bc	4.40a	5.00a
EEM		0.238	0.488	0.231	0.2309	0.2357	0.4678	0.6046	0.1414	0.1247	0.476	0.0666
P<0.05		0.6431	0.4946	0.7859	0.7480	0.8868	0.1075	0.1532	0.0254	0.7657	0.1631	0.4809

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.3.3. Concentración de cadmio.

Con base en los resultados experimentales descriptivos de la concentración de Cadmio, se puede indicar que se observa una interacción entre el factor levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por enzima (*Polifenol oxidasas*), siendo este un efecto positivo sobre los productos fermentados del cacao, por cuanto para la industria se ve favorable la reducción de la concentración de este elemento químico contaminante (Tabla 25).

Según la Fao (121) menciona que con la utilización de levadura ayuda a la minimización de cadmio en las almendras de cacao y eficientemente en el producto semielaborado o final (chocolate) de este modo mejorando la exportación y productividad interna, externa y se evidencio y reducción del tiempo fermentativo.

Tabla 25. *Efecto de la interacción levadura (Saccharomyces cerevisiae) por enzima (Polifenol oxidasas) sobre las concentraciones de Cadmio del cacao en su proceso fermentativo.*

Levadura	Enzima	mg/ kg
0	0	0.32
	2	0.28
	2.5	0.26
0.5	0	0.25
	2	0.24
	2.5	0.24
1	0	0.22
	2	0.22
	2.5	0.20

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

4.4. Costos por tratamientos.

Tabla 26. Costos de los tratamientos.

RUBROS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
EGRESOS									
COST. VARIABLES									
Materia prima	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66	12.66
Mano de obra directa	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66
T.C. VARIABLE	19.32	19.32	19.32	19.32	19.32	19.32	19.32	19.32	19.32
COSTOS INDIRECTOS									
Insumos									
Polifenol oxidasa	0	0.18	0.23	0	0.18	0.23	0	0.18	0.23
Levadura	0	0	0	0.18	0.18	0.18	0.36	0.36	0.36
Depreciaciones									
Brixometro	0.69	0.69	0.69	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	0.09	0.09	0.09
Termómetro	0.06	0.06	0.06	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	0.52	0.52	0.52
Costos varios									
Análisis	28	28	28	28	28	28	28	28	28
T.C. INDIRECTOS	29.36	29.54	29.59	29.54	29.72	29.77	29.72	29.90	29.95
COSTO TOTAL X TRATAMIENTO	48.68	48.86	48.91	48.86	49.04	49.09	49.04	49.22	49.27
COSTO DE CADA UNIDAD DE 20 GR DE PASTA DE CACAO	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
45 UNIDADES DE 50 GRAMOS	5.85	5.85	5.85	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	17.55	17.55	17.55

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.

La realización del análisis económicos que se llevó acabo para los diferentes tratamientos que se efectuaron en la investigación nos muestra los siguientes resultados, el tratamiento T0 – t4 son los que generaron los menores costos de la investigación, mientras que los tratamientos T5 y T9 son los que presenta mayor costo esto se debe a la mayor cantidad de Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y Enzima (*Polifenol oxidasa*) que adiciono a las almendras de cacao para la presente investigación y para los diferentes tratamientos.

El costo que se determinó para la elaboración de pasta de cacao no tiene variaciones entre los tratamientos ya que se obtuvo por cada kilogramo de muestra de cacao molida un costo de \$5.85 la producción de 45 barras que quedan después del proceso de la elaboración 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

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- Los resultados experimentales del estudio de la interacción de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y una enzima (*Polifenol oxidasas*), presentaron resultados favorables para la disminución del Cadmio en la pasta de cacao según el reglamento establecido por la Unión Europea N° 488/2014.
- Si bien es cierto que, en algunas variables físico-químicas, de prueba de corte y sensoriales de la almendra de cacao fermentada, se presentan diferencias estadísticas significativas por el empleo de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), los efectos no son concluyente y determinadamente beneficios para todas las variables estudiadas en el proceso de fermentación del cacao. Es importante mencionar, que no existe normativa específica para los valores de estas variables en función de la aplicación de moduladores biológicos (levadura, *Saccharomyces cerevisiae*), sin embargo, se puede indicar que, al compararse con los encontrados por otros autores, los presentes resultados guardan mucha relación (temperatura 32.04 hasta 43.01, pH 3.49 hasta 5.44, °Brix 12.80 hasta 6.18) con los de la literatura.
- En el mismo sentido, aunque en algunas variables físico-químicas, de prueba de corte y sensoriales de la almendra de cacao fermentada, se presentan diferencias estadísticas significativas por el empleo de una enzima (*Polifenol oxidasas*), los efectos no son concluyente y determinadamente beneficios para todas las variables estudiadas en el proceso de fermentación del cacao. Similarmente, se puede indicar que no se encuentra en la literatura valores referencia para las variables físico-químicas en función del empleo de enzimas (*Polifenol oxidasas*), sin embargo, al compararse con los encontrados por otros autores, los presentes resultados guardan mucha relación (temperatura 33.10 hasta 42.29, pH 3.46 hasta 5.70, °Brix 13.00 hasta 6.93) con los de la literatura.
- Los tratamientos de menor costo fueron los de la interacción entre el menor nivel del factor levadura (0 y 0.5) con los niveles de enzima.

5.2. Recomendaciones.

- Desarrollar investigaciones con otras concentraciones de los factores estudiados en esta investigación, con el fin de propiciar una mayor disminución de la concentración del cadmio en la almendra del cacao.
- Realizar investigaciones con diversas variedades de cacao, así como, de diferentes zonas geográficas.
- Investigar nuevos métodos biológicos o químicos que ayuden a potenciar la calidad de la pasta de cacao.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFIA

1. Anecacao. Historia del Cacao [Internet]. 2015. Disponible en: <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/historia-del-cacao.html>
2. Acebo M. Estudios industriales y orientación estratégica para la toma de decisiones para la industria de cacao. Esc Politécnica del Litoral [Internet]. 2016;42. Disponible en: <https://url2.cl/1Ug8n>
3. Burbano M. Ecuador de exportador del mejor cacao del mundo a exportador del mejor chocolate del mundo. Flacso Andes; 2011.
4. INVIMA. Programa nacional de vigilancia y control de cadmio en producto derivados del cacao. 2012;83:8. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/documents/20143/441038/Documento-tecnico-Cadmio-en-cacao.pdf/36200805-c21d-c444-ee08-47a0f6c8c230>
5. Ureña Peralta M, Andrade Almeida J, Rivera García J, Chire Fajardo G, Ureña Peralta M. Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú [Internet]. Vol. 10. Manabí; 2019. 1-12 p. Disponible en: http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1390-65422019000400001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. 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;(November):17-9.
7. Teneda W. Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad Nacional y variedad CCN51. Univ Int Andalucía [Internet]. 2016;140. Disponible en: <https://url2.cl/VB8Tk>
8. Unión E. Reglamento de la Unión Europea N°488/2014. EFSA J. 2011;9(2):10-4.
9. Vera Chang JF, Vallejo Torres C, Párraga Morán DE, Macías Véliz J, Ramos Remache R, Morales Rodríguez W. Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. Cienc y Tecnol. 2015;7(2):21-34.
10. Ramírez A. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. An la Fac Med. 2013;63(1):51.
11. Barnes EH. The Fungi as a major group of organisms. Atlas Man Plant Pathol. 2001;115-22.
12. Xiang H, Sun-Waterhouse D, Waterhouse GIN, Cui C, Ruan Z. fermentation-

enabled wellness foods: a fresh perspective. *Food Sci Hum wellness*. 2019;8(3):203-43.

13. Gallardo Sánchez JM. Purificación y caracterización cinética de la enzima Polifenoloxidasas de aguacate Hass (“Persea americana”, variedad “Mill”) y del compuesto inhibitorio presente en la semilla del mismo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2003.

14. Peng X, Du C, Yu H, Zhao X, Zhang X, Wang X. Purification and characterization of polyphenol oxidase (PPO) from water yam (*Dioscorea alata*). *CYTA - J Food* [Internet]. 2019;17(1):676-84. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1634645>

15. Dostert N, José R, Cano A, Torre M, Weigend M. Hoja botánica : Cacao. En: Hecho el depósito legal en la biblioteca Nacional del Perú N° 2012-06345, editor. D38/08-19. Lima: Giacomotti Comunicación Gráfica S.A.C.; 2011. p. 20. Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Jose_Roque_Gamarra/publication/321796762_Hoja_botanica_Cacao_-_Theobroma_cacao_L/links/5b834917299bf1d5a72a6125/Hoja-botanica-Cacao-Theobroma-cacao-L.pdf

16. Anacafé. Programa de diversificación de ingresos en la empresa cafetalera. Anal pendapatan dan tingkat Kesejaht rumah tangga petani [Internet]. 2013;53(9):1689-99. Disponible en: file:///C:/Users/USER/OneDrive/Escritorio/tesis/ARTICULOS,_TESIS/Cultivo-de-Cacao.pdf

17. Salas Tornés J, Hernández Sánchez L. Emissions measurement system for hybrid and plug-in hybrid electric vehicles using intermittent sampling strategy. *SAE Tech Pap* [Internet]. 2015;2:30-9. Disponible en: https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/66_3/PDF/Cacao.pdf

18. Vié Wohrer A. Las escrituras que privilegian la imagen: cuatro casos. 2006;(22):37-63. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/desacatos/n22/n22a2.pdf>

19. Lecón AA. Cuentas , dares y tomares del cacao : delicia , convite , rito mesoamericano. Aspectos antropológicos. 2011;12:1-22. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/esracdr/v28n52/0188-4557-esracdr-28-52-00005.pdf>

20. Santiago Alarcón D. Chocolate: herencia mesoamericana para el mundo.

- 2018;69:64-9. Disponible en: https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/69_4/PDF/12_69_4_1095_Chocolate_L.pdf
21. Caso Barrera L. Cacao producción, consumo y comercio del periodo Prehispánico a la actualidad en América Latina. Cacao Prod Consum y Comer [Internet]. 2017;22:237-42. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83350361010>
22. Miyahira Arakaki J. Criterios de calidad de las revistas científicas. Rev Medica Hered [Internet]. 2008 [citado 14 de diciembre de 2020];19(1):01-4. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2008000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
23. Contreras C. Guayaquil y su región en el primer boom cacaotero (1750-1820). Hist y región en el Ecuador 1830 - 1930 [Internet]. 1994;189-250. Disponible en: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/catalog/resGet.php?resId=2037>
24. Manguashca J. La incorporación del cacao ecuatoriano al mercado mundial entre 1840 y 1925, según los informes consulares. Procesos Rev ecuatoriana Hist [Internet]. 2014;1(35):67. Disponible en: http://www.uasb.edu.ec/UserFiles/384/File/Procesos/Procesos35/07_ESTUDIOS_IncorporacionCacaoMercadoMundial-JManguashca.pdf
25. Paz J, Cepeda M. La época cacaotera en Ecuador. 2014;(03):1-10. Disponible en: http://the.pazymino.com/JPYM-Epoca_Cacaotera_Ecuador.pdf http://the.pazymino.com/JPYM-Epoca_Cacaotera_Ecuador.pdf <http://puce.the.pazymino.com/bMar2011.html>
26. Contreras C. El Boom del cacao. Flacso Ecuador [Internet]. 1980;51-90. Disponible en: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/catalog/resGet.php?resId=2037>
27. INEN. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 175. 2003;1-2.
28. INEN. NTE INEN 175. Cacao en grano. Ensayo de Corte. 1989;1-2.
29. INEN. Granos de cacao. Requisitos NTE INEN 176-5. Norma Técnica Ecuatoriana. 2018;5:8.
30. 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
31. INEN. NTE INEN 177. Cacao en grano. muestreo. 1995;
32. INEN. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 177 : 95 cacao en grano –

muestreo. 1995;

33. Gryna FM, Chua RC, Defeo JA. Metodo Juran analisis y planeación de la calidad. Quinta edi. Monterrey, Campus Estado de México Las; 2007. 802 p.
34. Abad A, Acuña C, Naranjo E. El cacao en la costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. Rev Int Adm [Internet]. 2020;7(7):59-83. Disponible en:
https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/eg/article/view/1442/1270?fbclid=IwAR3lfjPE7kgzViFeIULvCfU4Yt_L7w7OT-5bEqCuu-gFx1tuYOml91Nq4_c
35. Almeida R. Kemmerer en el Ecuador. FLACSO, Quito [Internet]. 1994;210. Disponible en: <http://www.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/53323.pdf>
36. Vassallo M. Diferenciación y agregado de valor en la cadena ecuatoriana del cacao [Internet]. 1.^a ed. IAEN, editor. Vol. 53, Journal of chemical information and modeling. Quito: Instituto de Altos Estudios Nacionales; 2015. 1689-1699 p. Disponible en: <https://editorial.iaen.edu.ec/wp-content/uploads/2016/06/Cadena-del-cacao-en-Ecuador.pdf>
37. Rodriguez JA. Estudios industriales orientación estratégica para la toma de decisiones. Ind cacao [Internet]. 2016; Disponible en: <https://www.espae.espol.edu.ec/wp-content/uploads/2016/12/industriacacao.pdf>
38. ANECACAO. Tradición e innovación [Internet]. 211.^a ed. Arosemena A, editor. Gauayaquil; 2020. Disponible en: <http://www.anecacao.com/uploads/magazine/revista-septiembre-2020-1.pdf>
39. 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
40. Durango W, Caicedo M, Vera D, Sotomayor I, Saini E, Chávez E. La Cadena de Valor del cacao en América Latina y El Caribe [Internet]. Fontagro. 2019. 1-32 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/337957901_Chocolate
41. Flores LAM, Castellanos OA. Tecnología para el sistema de producción de cacao [Internet]. Bucaramanga, Colombia; 2000. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/3832/1/220.1.pdf>
42. Baudilio Rondón J, Cumana Campos L. Revisión taxonómica del género Theobroma (Sterculiaceae) en venezuela. Acta Botánica Venez [Internet]. 2005;1(28):113-33. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/862/86228107.pdf>

43. Quiroz J, Soria J. Caracterización fenotípica del cacao nacional de Ecuador INIAP. 1994;71. Disponible en: [https://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/bitstream/41000/1579/1/Boletín técnico Nº 74.pdf](https://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/bitstream/41000/1579/1/Boletín_técnico_Nº_74.pdf)
44. ECUADOR P. Ficha sectorial: cacao y chocolate. Rep la Corporación Financ Nac [Internet]. 2018;30. Disponible en: <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/2018/04/Ficha-Sectorial-Cacao.pdf>
45. INIAP. Manual de cultivo de cacao para la Amazonía ecuatoriana. —Manual No 76— [Internet]. 2009;0076(76):5. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4786/7/iniapeecam76.pdf>
46. Carrión J. Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51, Jama-Manabí. Univ San Fr Quito [Internet]. 2012;65. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1451/1/104270.pdf>
47. Pridmore RD, Crouzillat D, Walker C, Foley S, Zink R, Zwahlen MC, et al. Genomics, molecular genetics and the food industry. *J Biotechnol* [Internet]. 2000;78(3):251-8. Disponible en: [https://sci-hub.se/10.1016/s0168-1656\(00\)00202-9](https://sci-hub.se/10.1016/s0168-1656(00)00202-9)
48. Pinzón Useche J, Ardila Rojas J. Guía técnica para el cultivo del cacao. Fedecacao [Internet]. 2003; Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/3666/1/031.1.pdf>
49. Sánchez Cuevas MC, Jaramillo Aguilar EE, Ramírez Morales IE. Enfermedades del cacao [Internet]. Curso Internacional de Cacao. 2015. 109 p. Disponible en: [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/6921/1/124 ENFERMEDADES DEL CACAO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/6921/1/124_ENFERMEDADES_DEL_CACAO.pdf)
50. Suárez YJ, Hernández FA. Manejo de las enfermedades del cacao [Internet]. Director. 2010. 1-90 p. Disponible en: Colombia
51. Colonia Coral LM. Manejo integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de cacao. 2554;1-28. Disponible en: <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
52. Guachamín Velásquez CD. Diseño de un secador de cacao Fino. 2007;63. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/790/1/CD-1238.pdf>
53. Aguilar H. Actividades de poscosecha para lograr cacao de calidad. 2017;(14):8. Disponible en: http://www.fhia.org.hn/downloads/cacao_pdfs/infocacao/InfoCacao_No14_Sept_2017

.pdf

54. Chang JV. Guía para el mejoramiento de cacao Nacional. 2016;(June 2016). Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/325985827>
55. Cardona Velásquez LM, Rodríguez-Sandoval E, Cadena Chamorro EM. Diagnóstico de las prácticas de beneficio del cacao en el departamento de Arauca. Rev Lasallista Investig. 2016;13(1):94-104.
56. Dávila E. Uso de enmiendas en la reducción del contenido de cadmio en el suelo y en los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) clon ccn-51. UNiversidad Nacional Agraria De La Selva; 2019.
57. Portillo E, Graziani de Farinas L, Betancourt E. Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el índice de fermentación en la calidad del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el sur del lago de maracaibo. Rev la Fac Agron [Internet]. 2005 [citado 19 de diciembre de 2020];22(4):394-406. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182005000400007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
58. Afoakwa EO. Cocoa production and processing technology. New York; 2014.
59. Rivera Fernández RD, Mecías Gallo FW, Guzmán Cedeño ÁM, Peña Galeas MM, Medina Quinteros HN, Margarita CFL, et al. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional. 2013;(June).
60. Chávez Vargas A, Mansilla Rivera J, Paredes Arce M, Montero Palacios O, Aguila Rengifo C. “ Manual del cultivo del cacao ”. 2004;
61. Suárez C, Moreira M, Vera Barahona J. Manual del cultivo de cacao. 2.^a ed. Pichilingue QEIET, editor. Ecuador; 1994. 135 p.
62. Pastrano Quiña WA, Sotomayor Vega VL. Diseño y construcción de un sistema de fermentación de cacao nacional para la asociación de agricultores wiñak. [Internet]. Escuela Politécnica Nacional; 2020. Disponible en: https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/20617/1/CD_10117.pdf
63. Pérez R. El beneficiado del cacao. 2017;68. Disponible en: <https://docplayer.es/42017759-Beneficiado-del-cacao-ing-agr-rosa-perez-piza.html>
64. Campoverde M. Días de fermentación y frecuencia de remoción de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el genotipo Nacional y clon CCN-51. Cent Sur Agrar [Internet]. 2018;24-35. Disponible en: <https://www.bibliotecasdelecuador.com/Record/ir-:123456789-4316>

65. Benito Sullca JA, Altamirano Flores E, Pinchi García N. Cosecha y beneficio primario del cacao. 2008;29.
66. Huayama Sopla PM, Siche R. Efecto de la variedad, frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en el rendimiento y calidad de granos de cacao, evaluado mediante visión computacional. 2020;2(3):147-54. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/3230>
67. Ruíz Pinargote MA, Mera Morán OL, Prado Cedeño Á, Cedeño Guzmán WP. Influencia de la época de cosecha en la calidad del licor de cacao tipo nacional. 2014;5(2):79-87. Disponible en: http://espamciencia.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/85
68. Tinoco HA, Ospina DY. Análisis del proceso de deshidratación de cacao para la disminución del tiempo de secado. Rev EIA. 2010;13:53-63.
69. Dubón A. Protocolo para el beneficiado y calidad del cacao. Fhia [Internet]. 2016;18. Disponible en: http://www.fhia.org.hn/downloads/cacao_pdfs/Protocolo_para_el_Beneficiado_y_Calidad_del_Cacao_2016.pdf
70. Llerena K, Uriña Z. “Uso de Cultivos Iniciadores (Starter) en la Fermentación de Cacao Tipo Nacional Clon 103 y CCN51 en la Estación Pichilingue ubicada en Quevedo - Provincia de los Ríos”. Univ Guayaquil [Internet]. 2017;(28050):111. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/28030/1/TESIS-FINAL-MARZO.pdf>
71. Fedecacao. Fichas_Calidad_y Beneficio.pdf. 2013. p. 16.
72. INEN. NTE INEN 623 Pasta de cacao requisitos. 1988;1-4. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/623.pdf>
73. Liendo R. Procesamiento del cacao para la fabricación de chocolate y sus subproductos. Tecnol postcosecha [Internet]. 2005;2-4. Disponible en: http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2016/03/El_Chocolate.pdf
74. 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 [Internet]. 2009;9(2):458-68. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/47554627_Aroma_formation_of_Criollo_cocoa_Theobroma_cacao_L_in_function_of_the_post-

harvest_treatment_in_Venezuela

75. Amores F, Palacios A, Jiménez J, Zhang D. Entorno ambiental, genética, atributos de calidad y singularización del cacao en el Nor Oriente de las provincias de Esmeraldas. 2009;135(May):111. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/47554627_Aroma_formation_of_Criollo_cocoa_Theobroma_cacao_L_in_function_of_the_post-harvest_treatment_in_Venezuela

76. Ramli N, Hassan O, Said M, Samsudin W, Idris A. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted malaysian cocoa beans nazaruddin. J food Process Preserv [Internet]. 2006;30(3):280-98. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2006.00065.x>

77. Schwan R, Pereira G, Fleet G. Microbial activities during cocoa fermentation. Cocoa coffee Ferment [Internet]. 2014;(September):129-92. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/285267847_Microbial_activities_during_cocoa_fermentation

78. Calderón R, Chaurán Y, Mendoza N, Vega C, Rojas J, Manganiello L. Operating parameters more appropriate in the process of roasted cocoa almonds. 1 Enero-Abril [Internet]. 2016;23:67-80. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/707/70745478009.pdf>

79. Żyżelewicz D, Krysiak W, Oracz J, Sosnowska D. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. Food Res Int [Internet]. 2016;89:918-29. Disponible en: <https://www.essentialnutrition.com.br/media/artigos/chocolift/10.pdf>

80. Córdova Álvarez E. Guía técnica para la elaboración de chocolate. 1. Disponible en: http://centa.gob.sv/docs/agroindustria/GUIA_TÉCNICA_PARA_LA_ELABORACIÓN_DE_CHOCOLATE.pdf

81. 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.

82. Zaragoza U de. Alimentando los sentidos. 2018;1. Disponible en: https://ucc.unizar.es/sites/ucc.unizar.es/files/enziende_materialdidactico_alimentando_web.pdf

83. Ramos G, Gonzáles N, Zambrano A, Gómez Á. Olores y sabores de cacaos

- (*Theobroma cacao* L.) venezolanos obtenidos usando un panel de catación entrenado. *Rev Científica UDO Agrícola* [Internet]. 2013;13(1):114-27. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg13014>
84. Aguilar H. Manual para la evaluación de la calidad del grano de cacao. 2016;12-4. Disponible en: http://www.fhia.org.hn/downloads/cacao_pdfs/Manual_para_la_Evaluacion_de_la_Calidad_del_Grano_de_Cacao.pdf
85. Teneda Llerena WF. Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). 2016;140.
86. Reed G, Nagodawithana TW. *Yeast technology*. 2.^a ed. Proposal for a Cluster of Excellence. New York: Van Nostrand Reinhold; 2018.
87. Suárez Machín C, Garrido Carralero NA, Guevara Rodríguez CA. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA Sobre los Deriv la caña azúcar* [Internet]. 2016;50(1):20-8. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004%0ACómo>
88. Angelkos Palacios MG. Uso de *saccharomyces* para la reducción de la biosidsonibilidad oral de cadmio. Universidad Politécnica de Valencia; 2019.
89. FAO, OMS. Anteproyecto de código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por cadmio en los granos de cacao. *J Chem Inf Model*. 2020;53(9):51.
90. Salous A, Angulo González A, Solís Flores L. Acceleration of cocoa fermentation through the action of bacteria (*acetobacter aceti*) and yeast (*saccharomyces cerevisiae*). *Espirales Rev Multidiscip Investig*. 2019;3(28):1.
91. Houston P, Simon PJ, Broach JR. The *Sacharomyces cervisiae* recombination enhancer biases recombination during interchromosomal mating-type switching but not in interchromosomal homologous recombination. 2004;166(3):1187-97.
92. Schwimmer S. *Buchbesprechungen / Book Reviews*. En 1982. p. 6940. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3420/342050982002.pdf>
93. Mayer AM. Polyphenol oxidases in plants-recent progress. *Phytochemistry*. 1986;26(1):11-20.
94. Vaughn KC, Duke SO. Function of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiol Plant*. 1984;60(1):106-12.
95. Pallares Pallares A, Estupiñán A MR, Perea Villamil JA, López Giraldo LJ. Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad

- antioxidante del clon de cacao CCN-51. Rev ION [Internet]. 2017;29(2):7-21. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3420/342050982002.pdf>
96. Navia A, Pazmiño N. “Mejoramiento de las características sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de enzimas durante el proceso de fermentación”. 2012;135. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/90118/D-79626.pdf>
97. Wollgast J, Anklam E. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Res Int [Internet]. 2000;33(6):423-47. Disponible en: [https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5?fbclid=IwAR3pcOt_ewiATsqh5_mASen3cFQbAYG5_w8XPoODR7X_JhfPcNGM8ATqTYc](https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5?fbclid=IwAR3pcOt_ewiATsqh5_mASen3cFQbAYG5_w8XPoODR7X_JhfPcNGM8ATqTYc)
98. Meter A, Atkinson RJ, Laliberté B. Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe – Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación. Bioersivity [Internet]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/10568/102354>
99. Guerra BE, Sandoval Meza A, Manrique González LS, Barrera Rangel SP. Ensayos preliminares in vitro de biosorción de cadmio por cepas fúngicas nativas de suelos contaminados. Innovaciencia [Internet]. 2014;2(1):53-8. Disponible en: <http://revistas.udes.edu.co/site/index.php/innovaciencia/article/view/256>
100. Diaz Ubilla L, Mendoza Hidalgo E, Bravo Bustamante M, Dominguez Vergara N. Determinación de Cadmio y Plomo en almendras de cacao (Theobroma cacao), provenientes de fincas de productores orgánicos del cantón vines. 2018;2. Disponible en: <http://revistaespirales.com/index.php/es/article/view/213/160>
101. Sánchez Mora F, Zambrano Montufar J, Vera Chang JF, Ramos Ramache R, Gárce Fiallos F, Vásquez Montúfar G. Productividad de clones de cacao tipo Nacional en una zona del bosque humedo tropical de la Provincia de Los Ríos, Ecuador. Rev Fitotec Mex [Internet]. 2014;38(3):265-74. Disponible en: <https://revfitotecnia.mx/index.php/RFM/article/view/426>
102. Vera Chang J, Goya Baquerizo A. Comportamiento agronómico, calidad física y sensorial de 21 líneas híbridas de cacao (Theobroma cacao L.). La Técnica Rev las Agrociencias ISSN 2477-8982. 2015;(15):26.
103. Vera Chang JF, Castaño OR, Torres Navarrete Y. Fundamento de metodología de la investigación científica. 1.^a ed. Compás G, editor. Ecología. Guayaquil; 2018.

104. Vera Barhona 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>
105. Morales Rodriguez W, Vallejo Torres C, Sinche Bósquez P, Torres Navarrete Y, Vera Chang J, Anzules Cedeño E. Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Rev Amaz Cienc y Tecnol.* 2016;5(2):169-81.
106. Falcón Paredes G. Cadmio y polifenoles totales en la fermentación de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Clon CCN-51. 2018; Disponible en: http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1339/JATA_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
107. Echeverry A, Reyes H. Determinación de la concentraciones de cadmio en un chocolate colobiano con 65% de cacao y hocolates extranjeros con diferentes porcentajes de cacao. *Entre Cienc e Ing* [Internet]. 2016;(19):22-32. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ecei/v10n19/v10n19a04.pdf>
108. Pallares Pallares A, Estupiñan M, Perez Villamil JA, López Giraldo LJ. Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Rev ION* [Internet]. 2016;29(2):7-21. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rion/v29n2/0120-100X-rion-29-02-00007.pdf>
109. Jiménez Barragán JC. Efecto de dos metodos de fermentación sobre la calidad de tres grupos de cacao *Theobroma cacao* L. cultivados en la zona de Quevedo provincia de Los Rios. [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2000. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rion/v29n2/0120-100X-rion-29-02-00007.pdf>
110. Guzman Alvarez R, Pérez E, Rodriguez P. Caracterización fisicoquímica y nutricional de almendras del cacao (*Theobroma cacao* L.) frescas y fermentadas provenientes de la región de Rio Chico, estado Miranda-Venezuela. 2008;(September 2015). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/230814454_Caracterizacion_fisicoquimica_y_nutricional_de_almendras_del_cacao_Theobroma_cacao_L_frescas_y_fermentadas_provenientes_de_la_region_de_Rio_Chico_estado_Miranda-Venezuela
111. Salous A. Aceleración de la fermentación del cacao mediante la acción de

- bacterias (*Acetobacter aceti*) y levadura (*sacharomyces cerevisiae*). *Espirales Rev Multidiscip Investig* [Internet]. 2019;3(28):1. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/230814454_Caracterizacion_fisicoquimica_y_nutricional_de_almendras_del_cacao_Theobroma_cacao_L_frescas_y_fermentadas_provenientes_de_la_region_de_Rio_Chico_estado_Miranda-Venezuela
112. Pallares Pallares A, Estupiñan M, Perea Villamil J, López Giraldo LJ. Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Rev ION*. 2016;29(2):7-21.
113. Arizti Acha M. Procedimiento para la producción de concentrado de polifenoles de cacao. 2008;1-18. Disponible en: <https://patentimages.storage.googleapis.com/c2/8f/80/798ede69531b99/ES2300999T3.pdf>
114. Silva Soares M. «Estudo melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através de acao enzimática durante a fermentacao» [Internet]. Universidade Estadual de Campinas; 2001. Disponible en: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/255229>
115. Amorim Homem de Abreu Loureiro G, Reis de Araujo Q, René-Valle R, Andrade-Sodré G, Moreira de Souza SM. 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.
116. Castillo E, Alvarez C, Contreras Y. Caracterización fisicoquímica de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*theobroma cacao* l.) Cosechados en Caucagua, estado Miranda. Venezuela. *Rev Invest (Guadalajara)* [Internet]. 2018;42(95):154-76. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/3761/376160247008/376160247008.pdf>
117. Galvez del Cid DI. Efectos del secado en la fermentación y características del cacao (*Theobroma cacao* L) de almendra blanca var. Carmelo. 2019;23. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6519/1/AGI-2019-T024.pdf>
118. Alvarez et al. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. 2010;10(1):76-87.
119. Quintana Fuentes LF, Gómez Castelblanco S, García Jerez A, Martínez Guerrero N. Caracterización de tres índices de cosecha de cacao de los clones CCN51, ICS60 e ICS 95, en la montaña santandereana, Colombia. *Rev Investig Agrar y Ambient*. 2015;6(1):252.

120. Julio RL, Ivanna TG. calidad fisico quimica y sensorial de ganos y licor de cacao (theobroma cacao L.) usando cinco metodos de fermentacion. 2018;

121. FAO. Documento de debate sobre el desarrollo de un código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por cadmio en el cacao. J Chem Inf Model [Internet]. 2019;53(9):1689-99. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-13%252FWDs%252Fcf13_12s.pdf

CAPITULO VII.

ANEXOS

Anexo 1. A continuación, se presenta los Andevas correspondiente a la investigación. los factores de estudio son: temperatura, pH, Brix, Prueba de corte índice de semilla, testa, cotiledón, fermentación (fermentadas, violetas, pizarras) y análisis sensorial.

TEMPERATURA DIA 1

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TEMP1	27	0,78	0,68	1,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16,69	8	2,09	8,06	0,0001
Enzima	0,23	2	0,12	0,45	0,6460
Levadura	16,42	2	8,21	31,72	<0,0001
Enzima*Levadura	0,03	4	0,01	0,03	0,9979
Error	4,66	18	0,26		
Total	21,35	26			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,61215

Error: 0,2589 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,00	33,13	9	0,17 A
2,50	33,10	9	0,17 A
0,00	32,92	9	0,17 A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,61215

Error: 0,2589 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura 1	33,94	9	0,17 A
Levadura 0,5	33,17	9	0,17 B
Levadura0	32,04	9	0,17 C

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

TEMPERATURA DIA 2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TEMP2	27	0,49	0,27	1,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,78	8	0,47	2,20	0,0789
Enzima	0,02	2	0,01	0,05	0,9482
Levadura	3,60	2	1,80	8,37	0,0027
Enzima*Levadura	0,16	4	0,04	0,18	0,9445
Error	3,87	18	0,22		
Total	7,66	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,55810

Error: 0,2152 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.	
2,50	40,11	9	0,15	A
0,00	40,06	9	0,15	A
2,00	40,04	9	0,15	A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,55810

Error: 0,2152 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.	
Levadura 1	40,54	9	0,15	A
Levadura 0,5	40,01	9	0,15	A B
Levadura0	39,66	9	0,15	B

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

TEMPERATURA DIA 3

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TEMP3	27	0,64	0,47	0,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,35	8	0,29	3,94	0,0075
Enzima	0,08	2	0,04	0,54	0,5906
Levadura	2,21	2	1,11	14,87	0,0002
Enzima*Levadura	0,05	4	0,01	0,17	0,9513
Error	1,34	18	0,07		
Total	3,69	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,32826

Error: 0,0744 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.	
0,00	40,51	9	0,09	A
2,00	40,43	9	0,09	A
2,50	40,38	9	0,09	A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,32826

Error: 0,0744 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.	
Levadura 1	40,78	9	0,09	A
Levadura 0,5	40,47	9	0,09	A
Levadura0	40,08	9	0,09	B

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

TEMPERATURA DIA 4

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TEMP4	27	0,40	0,13	2,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,77	8	1,35	1,48	0,2312
Enzima	0,08	2	0,04	0,04	0,9566
Levadura	10,62	2	5,31	5,85	0,0111
Enzima*Levadura	0,08	4	0,02	0,02	0,9990
Error	16,35	18	0,91		
Total	27,12	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,14652

Error: 0,9081 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,00	42,29	9	0,32 A
0,00	42,21	9	0,32 A
2,50	42,16	9	0,32 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,14652

Error: 0,9081 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura 1	43,01	9	0,32 A
Levadura 0,5	42,17	9	0,32 A B
Levadura0	41,48	9	0,32 B

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

Ph día 1

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH1	27	0,98	0,97	0,75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,53	8	0,07	90,64	<0,0001
Enzima	0,36	2	0,18	248,69	<0,0001
Levadura	0,15	2	0,07	101,61	<0,0001
Enzima*Levadura	0,02	4	4,5E-03	6,13	0,0027
Error	0,01	18	7,3E-04		
Total	0,54	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03250

Error: 0,0007 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,50	3,74	9	0,01 A
0,00	3,55	9	0,01 B
2,00	3,46	9	0,01 C

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03250

Error: 0,0007 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura 1	3,67	9	0,01 A
Levadura 0,5	3,59	9	0,01 B
Levadura0	3,49	9	0,01 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**pH día 2**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH2	27	0,96	0,94	0,73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,46	8	0,06	53,00	<0,0001
Enzima	0,36	2	0,18	165,16	<0,0001
Levadura	0,08	2	0,04	37,88	<0,0001
Enzima*Levadura	0,02	4	4,9E-03	4,48	0,0109
Error	0,02	18	1,1E-03		
Total	0,48	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03970

Error: 0,0011 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,50	4,63	9	0,01 A
2,00	4,50	9	0,01 B
0,00	4,34	9	0,01 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03970**

Error: 0,0011 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura 1	4,56	9	0,01 A
Levadura 0,5	4,48	9	0,01 B
Levadura0	4,43	9	0,01 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**pH día 3**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH3	27	0,99	0,98	0,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,97	8	0,25	166,79	<0,0001
Enzima	1,73	2	0,86	583,70	<0,0001
Levadura	0,24	2	0,12	81,60	<0,0001
Enzima*Levadura	0,01	4	1,4E-03	0,93	0,4680
Error	0,03	18	1,5E-03		
Total	2,00	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04625

Error: 0,0015 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,50	5,38	9	0,01 A
2,00	5,08	9	0,01 B
0,00	4,76	9	0,01 C

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04625

Error: 0,0015 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.	
Levadura 1	5,18	9	0,01	A
Levadura 0,5	5,09	9	0,01	B
Levadura0	4,95	9	0,01	C

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

pH día 4

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH4	27	0,99	0,98	0,90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,03	8	0,38	164,77	<0,0001
Enzima	2,76	2	1,38	601,19	<0,0001
Levadura	0,25	2	0,13	55,40	<0,0001
Enzima*Levadura	0,01	4	2,9E-03	1,25	0,3238
Error	0,04	18	2,3E-03		
Total	3,07	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05765

Error: 0,0023 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.	
2,50	5,70	9	0,02	A
2,00	5,34	9	0,02	B
0,00	4,92	9	0,02	C

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05765

Error: 0,0023 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.	
Levadura 1	5,44	9	0,02	A
Levadura 0,5	5,32	9	0,02	B
Levadura0	5,20	9	0,02	C

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

BRIX DIA 1

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
1	27	0,40	0,13	4,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,50	8	0,56	1,48	0,2323
Enzima	0,82	2	0,41	1,08	0,3606
Levadura	2,19	2	1,09	2,88	0,0821
Enzima*Levadura	1,49	4	0,37	0,98	0,4435
Error	6,84	18	0,38		
Total	11,34	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,74164

Error: 0,3800 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.	
0,00	13,42	9	0,21	A
2,00	13,16	9	0,21	A
2,50	13,00	9	0,21	A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,74164

Error: 0,3800 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura0	13,47	9	0,21 A
Levadura 1	13,31	9	0,21 A
Levadura 0,5	12,80	9	0,21 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**BRIX DIA 2**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
2	27	0,67	0,52	8,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	25,97	8	3,25	4,57	0,0036
Enzima	0,97	2	0,48	0,68	0,5184
Levadura	16,67	2	8,33	11,72	0,0005
Enzima*Levadura	8,34	4	2,08	2,93	0,0497
Error	12,79	18	0,71		
Total	38,77	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,01428

Error: 0,7107 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
0,00	10,78	9	0,28 A
2,50	10,40	9	0,28 A
2,00	10,36	9	0,28 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,01428**

Error: 0,7107 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura0	11,62	9	0,28 A
Levadura 1	9,96	9	0,28 B
Levadura 0,5	9,96	9	0,28 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**BRIX DIA 3**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
3	27	0,79	0,69	8,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	39,85	8	4,98	8,31	0,0001
Enzima	7,98	2	3,99	6,65	0,0069
Levadura	13,85	2	6,92	11,55	0,0006
Enzima*Levadura	18,03	4	4,51	7,52	0,0010
Error	10,79	18	0,60		
Total	50,65	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,93163

Error: 0,5996 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
0,00	9,61	9	0,26 A
2,50	9,37	9	0,26 A
2,00	8,36	9	0,26 B

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,93163

Error: 0,5996 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura0	9,90	9	0,26 A
Levadura 0,5	9,27	9	0,26 A
Levadura 1	8,17	9	0,26 B

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

BRIX DIA 4

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
4	27	0,13	0,00	24,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,25	8	0,78	0,34	0,9395
Enzima	0,54	2	0,27	0,12	0,8908
Levadura	0,66	2	0,33	0,14	0,8679
Enzima*Levadura	5,05	4	1,26	0,55	0,7042
Error	41,66	18	2,31		
Total	47,91	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,83031

Error: 2,3144 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
0,00	6,38	9	0,51 A
2,50	6,23	9	0,51 A
2,00	6,03	9	0,51 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,83031

Error: 2,3144 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura 0,5	6,42	9	0,51 A
Levadura0	6,18	9	0,51 A
Levadura 1	6,04	9	0,51 A

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

INDICE DE SEMILLA

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
INDICE DE SEMILLA	27	0,16	0,00	8,46

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	8	0,01	0,44	0,8807
Enzima	0,02	2	0,01	0,63	0,5459
Levadura	0,02	2	0,01	0,68	0,5192
Enzima*Levadura	0,02	4	3,8E-03	0,23	0,9186
Error	0,30	18	0,02		
Total	0,36	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15591

Error: 0,0168 gl: 18

Enzima Medias n E.E.

2,00 1,57 9 0,04 A

0,00 1,51 9 0,04 A

2,50 1,51 9 0,04 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15591

Error: 0,0168 gl: 18

Levadura Medias n E.E.

Levadura0 1,57 9 0,04 A

Levadura 0,5 1,53 9 0,04 A

Levadura 1 1,50 9 0,04 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,37075

Error: 0,0168 gl: 18

Enzima Levadura Medias n E.E.

2,00 Levadura 1 1,58 3 0,07 A

2,00 Levadura0 1,58 3 0,07 A

2,50 Levadura0 1,56 3 0,07 A

0,00 Levadura0 1,56 3 0,07 A

2,00 Levadura 0,5 1,56 3 0,07 A

0,00 Levadura 0,5 1,53 3 0,07 A

2,50 Levadura 0,5 1,52 3 0,07 A

0,00 Levadura 1 1,45 3 0,07 A

2,50 Levadura 1 1,45 3 0,07 A

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

%TESTA

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%TESTA	27	0,44	0,19	28,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	226,55	8	28,32	1,78	0,1474
Enzima	79,14	2	39,57	2,49	0,1112
Levadura	65,71	2	32,86	2,07	0,1558
Enzima*Levadura	81,70	4	20,42	1,28	0,3132
Error	286,37	18	15,91		
Total	512,92	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,79877

Error: 15,9095 gl: 18

Enzima Medias n E.E.

2,00 15,41 9 1,33 A

0,00 15,26 9 1,33 A

2,50 11,70 9 1,33 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,79877

Error: 15,9095 gl: 18

Levadura Medias n E.E.

Levadura0 15,70 9 1,33 A

Levadura 0,5 14,67 9 1,33 A

Levadura 1 12,00 9 1,33 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,41114

Error: 15,9095 gl: 18

Enzima Levadura Medias n E.E.

2,00 Levadura0 18,11 3 2,30 A

2,00 Levadura 0,5 17,78 3 2,30 A

0,00 Levadura 0,5 16,44 3 2,30 A

0,00 Levadura0 15,56 3 2,30 A

0,00 Levadura 1 13,78 3 2,30 A

2,50 Levadura0 13,44 3 2,30 A

2,50 Levadura 1 11,89 3 2,30 A

2,00 Levadura 1 10,33 3 2,30 A

2,50 Levadura 0,5 9,78 3 2,30 A

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

%COTILEDON

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%COTILEDON	27	0,44	0,19	4,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	226,55	8	28,32	1,78	0,1474
Enzima	79,14	2	39,57	2,49	0,1112
Levadura	65,71	2	32,86	2,07	0,1558
Enzima*Levadura	81,70	4	20,42	1,28	0,3132
Error	286,37	18	15,91		
Total	512,92	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,79877

Error: 15,9095 gl: 18

Enzima Medias n E.E.

2,50 88,30 9 1,33 A

0,00 84,74 9 1,33 A

2,00 84,59 9 1,33 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,79877

Error: 15,9095 gl: 18

Levadura Medias n E.E.

Levadura 1 88,00 9 1,33 A

Levadura 0,5 85,33 9 1,33 A

Levadura0 84,30 9 1,33 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,41114

Error: 15,9095 gl: 18

Enzima Levadura Medias n E.E.

2,50 Levadura 0,5 90,22 3 2,30 A

2,00 Levadura 1 89,67 3 2,30 A

2,50 Levadura 1 88,11 3 2,30 A

2,50 Levadura0 86,56 3 2,30 A

0,00 Levadura 1 86,22 3 2,30 A

0,00 Levadura0 84,44 3 2,30 A

0,00 Levadura 0,5 83,56 3 2,30 A

2,00 Levadura 0,5 82,22 3 2,30 A

2,00 Levadura0 81,89 3 2,30 A

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

ALMENDRAS FERMENTADAS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FERMENTADAS	27	0,95	0,93	3,53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2355,41	8	294,43	47,60	<0,0001
Enzima	1210,30	2	605,15	97,84	<0,0001
Levadura	921,41	2	460,70	74,49	<0,0001
Enzima*Levadura	223,70	4	55,93	9,04	0,0003
Error	111,33	18	6,19		
Total	2466,74	26			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,99212

Error: 6,1852 gl: 18

Enzima Medias n E.E.

2,50	78,22	9	0,83	A
2,00	71,33	9	0,83	B
0,00	61,89	9	0,83	C

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,99212

Error: 6,1852 gl: 18

Levadura Medias n E.E.

Levadura 0,5	74,78	9	0,83	A
Levadura 1	74,44	9	0,83	A
Levadura0	62,22	9	0,83	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,11505

Error: 6,1852 gl: 18

Enzima Levadura Medias n E.E.

2,50	Levadura 0,5	87,67	3	1,44	A
2,50	Levadura 1	80,67	3	1,44	A B
2,00	Levadura 1	75,33	3	1,44	B
2,00	Levadura 0,5	75,00	3	1,44	B
0,00	Levadura 1	67,33	3	1,44	C
2,50	Levadura0	66,33	3	1,44	C
2,00	Levadura0	63,67	3	1,44	C D
0,00	Levadura 0,5	61,67	3	1,44	C D
0,00	Levadura0	56,67	3	1,44	D

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

VIOLETAS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Vio	27	0,49	0,26	27,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1077,33	8	134,67	2,17	0,0827
Enzima	2,00	2	1,00	0,02	0,9841
Levadura	1021,56	2	510,78	8,21	0,0029
Enzima*Levadura	53,78	4	13,44	0,22	0,9260
Error	1119,33	18	62,19		
Total	2196,67	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,48737

Error: 62,1852 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,50	28,89	9	2,63 A
2,00	28,56	9	2,63 A
0,00	28,22	9	2,63 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,48737

Error: 62,1852 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura0	36,67	9	2,63 A
Levadura 0,5	27,22	9	2,63 A B
Levadura 1	21,78	9	2,63 B

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=22,56030

Error: 62,1852 gl: 18

Enzima	Levadura	Medias	n	E.E.
0,00	Levadura0	37,33	3	4,55 A
2,00	Levadura0	36,67	3	4,55 A
2,50	Levadura0	36,00	3	4,55 A
2,50	Levadura 0,5	29,00	3	4,55 A
0,00	Levadura 0,5	27,67	3	4,55 A
2,00	Levadura 0,5	25,00	3	4,55 A
2,00	Levadura 1	24,00	3	4,55 A
2,50	Levadura 1	21,67	3	4,55 A
0,00	Levadura 1	19,67	3	4,55 A

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

PIZARRAS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Piz	27	0,13	0,00	66,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,00	8	0,25	0,32	0,9472
Enzima	0,89	2	0,44	0,57	0,5746
Levadura	0,67	2	0,33	0,43	0,6579
Enzima*Levadura	0,44	4	0,11	0,14	0,9639
Error	14,00	18	0,78		
Total	16,00	26			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,06104

Error: 0,7778 gl: 18

Enzima	Medias	n	E.E.
2,00	1,56	9	0,29 A
0,00	1,33	9	0,29 A
2,50	1,11	9	0,29 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,06104

Error: 0,7778 gl: 18

Levadura	Medias	n	E.E.
Levadura 0,5	1,44	9	0,29 A
Levadura0	1,44	9	0,29 A
Levadura 1	1,11	9	0,29 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,52307**

Error: 0,7778 gl: 18

Enzima	Levadura	Medias	n	E.E.
0,00	Levadura0	1,67	3	0,51 A
2,00	Levadura0	1,67	3	0,51 A
2,00	Levadura 0,5	1,67	3	0,51 A
0,00	Levadura 0,5	1,33	3	0,51 A
2,50	Levadura 0,5	1,33	3	0,51 A
2,00	Levadura 1	1,33	3	0,51 A
2,50	Levadura 1	1,00	3	0,51 A
2,50	Levadura0	1,00	3	0,51 A
0,00	Levadura 1	1,00	3	0,51 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**AROMA**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Aroma	90	0,06	0,00	21,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,02	8	0,50	0,62	0,7596
Factor A	1,16	2	0,58	0,71	0,4941
Factor B	0,82	2	0,41	0,51	0,6047
Factor A*Factor B	2,04	4	0,51	0,63	0,6431
Error	65,80	81	0,81		
Total	69,82	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,55562

Error: 0,8123 gl: 81

Factor A	Medias	n	E.E.
2,50	4,27	30	0,16 A
0,00	4,20	30	0,16 A
2,00	4,00	30	0,16 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,55562**

Error: 0,8123 gl: 81

Factor B	Medias	n	E.E.
Levadura 1	4,27	30	0,16 A
Levadura 0	4,17	30	0,16 A
Levadura 0,5	4,03	30	0,16 A

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

ACIDEZ

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Acidez	90	0,36	0,30	74,46

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11,02	8	1,38	5,78	<0,0001
Factor A	0,16	2	0,08	0,33	0,7224
Factor B	2,29	2	1,14	4,80	0,0107
Factor A*Factor B	8,58	4	2,14	9,00	<0,0001
Error	19,30	81	0,24		
Total	30,32	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30091

Error: 0,2383 gl: 81

Factor A Medias n E.E.

0,00 0,70 30 0,09 A

2,50 0,67 30 0,09 A

2,00 0,60 30 0,09 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30091

Error: 0,2383 gl: 81

Factor B Medias n E.E.

Levadura 0,5 0,80 30 0,09 A

Levadura0 0,73 30 0,09 A B

Levadura 1 0,43 30 0,09 B

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

AMARGOR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Amargor	90	0,04	0,00	29,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,16	8	0,52	0,47	0,8749
Factor A	1,16	2	0,58	0,52	0,5958
Factor B	1,09	2	0,54	0,49	0,6138
Factor A*Factor B	1,91	4	0,48	0,43	0,7859
Error	89,80	81	1,11		
Total	93,96	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,64909

Error: 1,1086 gl: 81

Factor A Medias n E.E.

2,50 3,73 30 0,19 A

0,00 3,53 30 0,19 A

2,00 3,47 30 0,19 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,64909

Error: 1,1086 gl: 81

Factor B Medias n E.E.

Levadura 1 3,73 30 0,19 A

Levadura 0,5 3,50 30 0,19 A

Levadura0 3,50 30 0,19 A

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

CACAO

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cacao	90	0,03	0,00	26,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,89	8	0,36	0,37	0,9359
Factor A	0,96	2	0,48	0,48	0,6186
Factor B	0,02	2	0,01	0,01	0,9888
Factor A*Factor B	1,91	4	0,48	0,48	0,7480
Error	80,10	81	0,99		
Total	82,99	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,61303

Error: 0,9889 gl: 81

Factor A Medias n E.E.

0,00 3,93 30 0,18 A

2,50 3,73 30 0,18 A

2,00 3,70 30 0,18 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,61303

Error: 0,9889 gl: 81

Factor B Medias n E.E.

Levadura 0,5 3,80 30 0,18 A

Levadura0 3,80 30 0,18 A

Levadura 1 3,77 30 0,18 A

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

NUEZ

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Nuez	90	0,06	0,00	45,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9,60	8	1,20	0,68	0,7039
Factor A	1,40	2	0,70	0,40	0,6721
Factor B	6,20	2	3,10	1,77	0,1771
Factor A*Factor B	2,00	4	0,50	0,29	0,8868
Error	142,00	81	1,75		
Total	151,60	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,81622

Error: 1,7531 gl: 81

Factor A Medias n E.E.

2,00 3,10 30 0,24 A

2,50 2,90 30 0,24 A

0,00 2,80 30 0,24 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,81622

Error: 1,7531 gl: 81

Factor B Medias n E.E.

Levadura 1 3,30 30 0,24 A

Levadura0 2,80 30 0,24 A

Levadura 0,5 2,70 30 0,24 A

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

FRUTOS SECOS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
F.S.	90	0,14	0,05	43,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,69	8	2,46	1,64	0,1254
Factor A	6,29	2	3,14	2,10	0,1291
Factor B	1,62	2	0,81	0,54	0,5839
Factor A*Factor B	11,78	4	2,94	1,97	0,1075
Error	121,30	81	1,50		
Total	140,99	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,75439

Error: 1,4975 gl: 81

Factor A	Medias	n	E.E.
2,50	3,07	30	0,22 A
0,00	2,87	30	0,22 A
2,00	2,43	30	0,22 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,75439

Error: 1,4975 gl: 81

Factor B	Medias	n	E.E.
Levadura 1	2,90	30	0,22 A
Levadura 0,5	2,87	30	0,22 A
Levadura0	2,60	30	0,22 A

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

FLORAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Floral	90	0,12	0,04	42,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21,62	8	2,70	1,41	0,2039
Factor A	7,36	2	3,68	1,92	0,1529
Factor B	1,09	2	0,54	0,28	0,7531
Factor A*Factor B	13,18	4	3,29	1,72	0,1532
Error	155,00	81	1,91		
Total	176,62	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,85277

Error: 1,9136 gl: 81

Factor A	Medias	n	E.E.
2,50	3,60	30	0,25 A
0,00	3,23	30	0,25 A
2,00	2,90	30	0,25 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,85277

Error: 1,9136 gl: 81

Factor B	Medias	n	E.E.
Levadura 1	3,40	30	0,25 A
Levadura 0,5	3,17	30	0,25 A
Levadura0	3,17	30	0,25 A

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

ESPECIAS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Especies	90	0,24	0,17	316,23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,56	8	0,19	3,21	0,0032
Factor A	0,69	2	0,34	5,69	0,0049
Factor B	0,16	2	0,08	1,29	0,2820
Factor A*Factor B	0,71	4	0,18	2,94	0,0254
Error	4,90	81	0,06		
Total	6,46	89			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15162

Error: 0,0605 gl: 81

Factor A	Medias	n	E.E.	
2,50	0,20	30	0,04	A
2,00	0,03	30	0,04	B
0,00	0,00	30	0,04	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15162

Error: 0,0605 gl: 81

Factor B	Medias	n	E.E.	
Levadura 0,5	0,13	30	0,04	A
Levadura 0	0,07	30	0,04	A
Levadura 1	0,03	30	0,04	A

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

OTROS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Otros	90	0,30	0,23	123,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,82	8	1,35	4,30	0,0002
Factor A	7,49	2	3,74	11,89	<0,0001
Factor B	2,76	2	1,38	4,38	0,0157
Factor A*Factor B	0,58	4	0,14	0,46	0,7657
Error	25,50	81	0,31		
Total	36,32	89			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,34589

Error: 0,3148 gl: 81

Factor A	Medias	n	E.E.	
0,00	0,83	30	0,10	A
2,50	0,40	30	0,10	B
2,00	0,13	30	0,10	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,34589

Error: 0,3148 gl: 81

Factor B	Medias	n	E.E.	
Levadura 0	0,70	30	0,10	A
Levadura 0,5	0,37	30	0,10	A B
Levadura 1	0,30	30	0,10	B

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

INTENSIDAD

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Inten.	90	0,16	0,08	29,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,36	8	2,42	1,99	0,0586
Factor A	10,82	2	5,41	4,44	0,0148
Factor B	0,36	2	0,18	0,15	0,8645
Factor A*Factor B	8,18	4	2,04	1,68	0,1631
Error	98,70	81	1,22		
Total	118,06	89			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,68049

Error: 1,2185 gl: 81

Factor A Medias n E.E.

2,50 4,00 30 0,20 A

0,00 3,93 30 0,20 A

2,00 3,23 30 0,20 B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,68049

Error: 1,2185 gl: 81

Factor B Medias n E.E.

Levadura 0,5 3,77 30 0,20 A

Levadura0 3,77 30 0,20 A

Levadura 1 3,63 30 0,20 A

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

COLOR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Color	90	0,13	0,05	4,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,62	8	0,08	1,54	0,1576
Factor A	0,29	2	0,14	2,85	0,0634
Factor B	0,16	2	0,08	1,54	0,2213
Factor A*Factor B	0,18	4	0,04	0,88	0,4809
Error	4,10	81	0,05		
Total	4,72	89			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13869

Error: 0,0506 gl: 81

Factor A Medias n E.E.

2,50 5,00 30 0,04 A

2,00 4,97 30 0,04 A

0,00 4,87 30 0,04 A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13869

Error: 0,0506 gl: 81

Factor B Medias n E.E.


Levadura 0,5 5,00 30 0,04 A

Levadura 1 4,93 30 0,04 A

Levadura0 4,90 30 0,04 A

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

Anexo 2. Ficha de catación para análisis sensorial de cacao.



ANÁLISIS SENSORIAL DE CACAO
FICHA DE CATACIÓN

Tipo de muestra: Pasta de cacao

FECHA: _____

Nº DE CATADOR: _____


NOMBRE: _____

Código de la muestra:

Instrucciones:

- Escriba el código de la muestra sobre la línea
- Pruebe la muestra las veces que sea necesario e indique la intensidad de la característica solicitada marcando con una X sobre la línea.

0	1	2	3	4	5

Categorías		Intensidad					Puntaje												
Aroma		0	1	2	3	4	5												
Acidez		0	1	2	3	4	5												
Amargor	INTENSIDAD 0 a 2.5: ≥ 5 en calidad 2.5 a 5: ≤ 5 en calidad	0	1	2	3	4	5												
Astringencia																			
Sabor	Cacao/Cacao	0	1	2	3	4	5												
	Nuez	0	1	2	3	4	5												
	Frutas Secas	0	1	2	3	4	5												
	Floral	0	1	2	3	4	5												
	Espicias	0	1	2	3	4	5												
	Otros (quemado, mohoso)	0	1	2	3	4	5												
Pos gusto		0	1	2	3	4	5												
COMENTARIOS:		PUNTAJE FINAL																	
ESCALA DE INTENSIDAD <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">0</td><td style="width: 15%;">1</td><td style="width: 15%;">2</td><td style="width: 15%;">3</td><td style="width: 15%;">4</td><td style="width: 15%;">5</td> </tr> <tr> <td>Ausente</td><td>Apenas detectable</td><td>Presente</td><td>Caracteriza la muestra</td><td>Dominante</td><td>Extremo</td> </tr> </table>		0	1	2	3	4	5	Ausente	Apenas detectable	Presente	Caracteriza la muestra	Dominante	Extremo	TIPS PARA EVALUAR CALIDAD EN DEFECTOS Nombrar el defecto: Una reducción de puntos en calidad debe ser justificado en Descriptores. Relación inversa: Entre más intenso el sabor defectuoso, se reduce el puntaje en calidad.					
0	1	2	3	4	5														
Ausente	Apenas detectable	Presente	Caracteriza la muestra	Dominante	Extremo														
ESCALA DE CALIDAD <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">0</td><td style="width: 15%;">1</td><td style="width: 15%;">2</td><td style="width: 15%;">3</td><td style="width: 15%;">4</td><td style="width: 15%;">5</td> </tr> <tr> <td>Pésimo</td><td>Malo</td><td>Regular</td><td>Buena</td><td>Excelente</td><td>Muy Excelente</td> </tr> </table>		0	1	2	3	4	5	Pésimo	Malo	Regular	Buena	Excelente	Muy Excelente						
0	1	2	3	4	5														
Pésimo	Malo	Regular	Buena	Excelente	Muy Excelente														

Anexo 3. factura emitida por el laboratorio WSS.



WSS WORLD SURVEY SERVICES ECUADOR S.A.
 Dirección Matriz: AV FRANCISCO DE ORELLANA EDIFICIO
 WORLD TRADE CENTER TORRE BPSO 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

R.U.C.: 0991515844001
FACTURA
 No. 002-002-000019011
 NÚMERO DE AUTORIZACIÓN:
 1703202101099151584400120020020000190111234567815
 FECHA Y HORA DE AUTORIZACIÓN:
 AMBIENTE: PRODUCCIÓN
 CLAVE DE ACCESO:

 1703202101099151584400120020020000190111234567815

Razón Social / Nombres y Apellidos: ALVARADO VASQUEZ KERLY ESTEFANIA RUC / CI: 1250216940
 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 9 MUESTRAS DE ALMENDRAS DE CACAO RECIBIDAS EL 15/03/2021. LOTES: K T1R3 MUESTRA DE LABORATORIO / K T2R3 MUESTRA DE LABORATORIO / K T3R3 MUESTRA DE LABORATORIO / K T4R3 MUESTRA DE LABORATORIO / K T5R3 MUESTRA DE LABORATORIO / K	9.00	UNIDAD	\$ 25.00	0.00	\$ 225.00

Información Adicional
 Email : Kerly.alvarado2015@uteq.edu.ec
 Dirección : QUEVEDO S/S
 Agente de Retención: No. Resolución: 1
 Código Interno 19011

SUBTOTAL SIN IMPUESTOS	225.00
DESCUENTO	0.00
SUBTOTAL 12	225.00
SUBTOTAL 0.00 %	0.00
SUBTOTAL No sujeto de IVA	0.00
ICE	0.00
IVA 12.00%	27.00
VALOR TOTAL USD	252.00

FORMA DE PAGO	VALOR	PLAZO	UND. TIEMPO
OTROS CON UTILIZACION DEL SISTEMA FINANCIERO	USD 252.00	0	DIAS

Moneda: DOLAR

Puede revisar sus documentos electrónicos en el sitio web: <http://www.lufactura.ec/ogin/receptor/108>

Anexo 4. Informe análisis de cadmio. Informe de Laboratorio WSS.

LABORATORIO WSS WORLD SURVEY SERVICES ECUADOR S.A.

Página 1 de 2
R-LB-15 Rv.13 / 22.02.2020



INFORME DE ENSAYO N° 2249-21 A

Número de OT : 41665
 Cliente : KERLY ESTEFANIA ALVARADO VAZQUEZ
 Dirección : QUEVEDO S/S
 Nombre, número o correo de contacto : kerly.alvarado2015@uteq.edu.ec
 Laboratorio : Aguas
 Tipo de Muestra : Pasta de cacao
 Origen de Muestra : Muestra proporcionada por el cliente
 Temperatura de recepción : 23.6 °C
 Tipo de envase : Cubierta en papel aluminio
 Fecha de recepción : 29/03/2021
 Cantidad de Muestra : 100 g
 Fecha Inicio de Ensayo : 29/03/2021
 Hora Recepción : 16:20
 Fecha Término de Ensayo : 30/03/2021

RESULTADOS DE ANÁLISIS

Código de muestra	Ensayo	Resultado mg/kg	Incert.	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	LMR UE* mg/kg	Metodología
3220	CADMIO	0,32	± 0,03	0,006	0,1	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 /
3221	CADMIO	0,28	± 0,03	0,006	0,1	0,8	
3222	CADMIO	0,26	± 0,03	0,006	0,1	0,8	
3223	CADMIO	0,25	± 0,02	0,006	0,1	0,8	
3224	CADMIO	0,24	± 0,02	0,006	0,1	0,8	
3225	CADMIO	0,24	± 0,02	0,006	0,1	0,8	
3226	CADMIO	0,22	± 0,02	0,006	0,1	0,8	
3227	CADMIO	0,22	± 0,02	0,006	0,1	0,8	
3228	CADMIO	0,20	± 0,02	0,006	0,1	0,8	

Comentarios:

3220= PASTA DE CACAO K1
 3221= PASTA DE CACAO K2
 3222= PASTA DE CACAO K3
 3223= PASTA DE CACAO K4
 3224= PASTA DE CACAO K5
 3225= PASTA DE CACAO K6
 3226= PASTA DE CACAO K7
 3227= PASTA DE CACAO K8
 3228= PASTA DE CACAO K9

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

Página 2 de 2
R-LB-15 Rv.13 / 22.02.2020



INFORME DE ENSAYO N° 2249-21 A

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

LOD= Limite de Detección LOQ= Limite de Cuantificación Incert.=Incertidumbre LMP= Limite Máximo Permisible

Guayaquil, 30 de Marzo del 2021


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

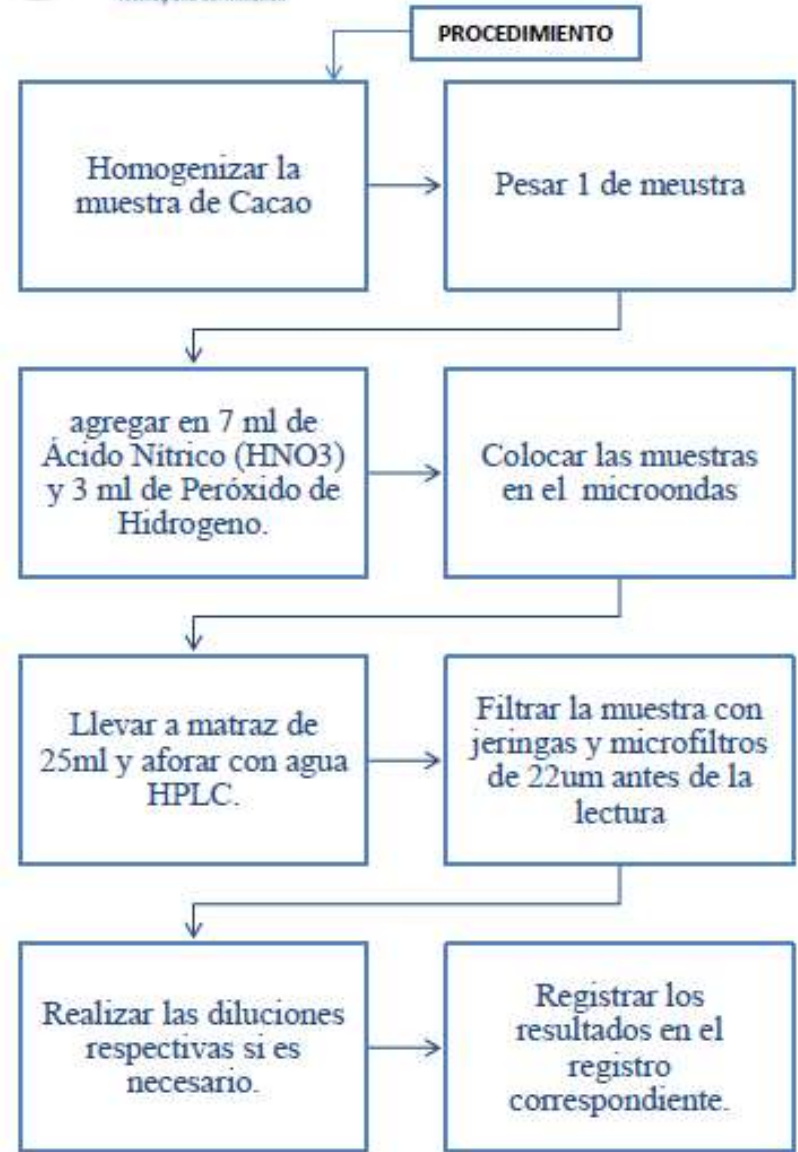
Testing



Anexo 5. Diagrama de flujo del proceso para la determinación de cadmio.



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 6. Fotografías de la investigación.



Campo de trabajo



Cosecha de la variedad de cacao



Extracción de almendras de cacao



Levadura *saccharomyces cerevisiae*



Preparación de *Polifenol Oxidasa*



Aplicación de enzimas y levaduras a la masa fermentativa



Realizando remoción



Toma de temperatura



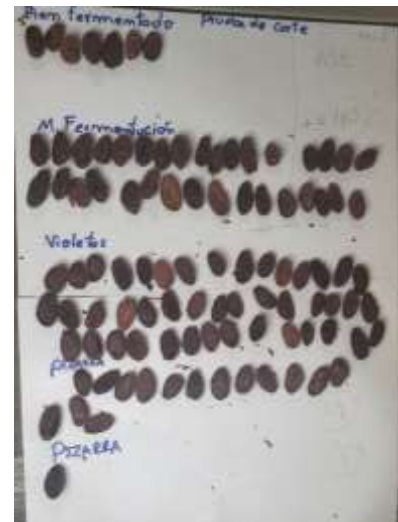
Determinación de grados Brix



Toma de pH



Secado de las muestras de cacao



Prueba de corte



Índice de semilla



Porcentaje de testa y cotiledón



Tostado de las almendras de cacao



Descascarillado



Molienda



Elaboración de pasta de cacao



Refinadora - conchadora



Obtención de la pasta de cacao



Envoltura de la pasta de cacao



Envoltura de la pasta de cacao



Evaluación sensorial



Catador 1 analisis sensorial



Catador 2 análisis sensorial



Catador 3 análisis sensorial



Catador 4 análisis sensorial



Catador 5 análisis sensorial



Catador 6 análisis sensorial



Catador 7 análisis sensorial



Catador 8 análisis sensorial




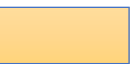

















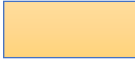







Catador 9 análisis sensorial



Catador 10 análisis sensorial




Anexo 7. Croquis experimental.

DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR

T6 	T7 	T3 	T9 	T2 	T5 	T8 	T4 	T1 
T7 	T2 	T6 	T4 	T9 	T8 	T1 	T5 	T3 
T3 	T8 	T5 	T7 	T1 	T4 	T9 	T2 	T6 

CROQUIS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Código: Descripción

T1=10e0	Sin Levadura (0.0%) sin enzima (0.0%) (testigo) 
T2=10e1	Sin Levadura (0.0%) con inducción de enzima (PPO's) (2%)
T3=10e2	Sin Levadura (0.0%) con inducción de enzima (PPO's) (2.5%)
T4=11e0	Levadura 0.5% p/p sin enzimas (0.0%) (testigo) 
T5=11e1	Levadura 0.5% p/p con inducción de enzima (PPO's) (2%)
T6=11e2	Levadura 0.5% p/p con inducción de enzima (PPO's) (2.5%)
T7=12e0	Levadura al 1 % p/p sin enzima (0.0%) (testigo) 
T8=12e1	Levadura al 1 % p/p con inducción de enzima (PPO's) (2%)
T9=12e2	Levadura al 1 % p/p con inducción de enzima (PPO's) (2.5%)

Elaborado por: Alvarado, K. 2021.