



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
Ingeniera en alimentos.

Título de la Unidad de Integración Curricular:

“INDUCCIÓN EXÓGENA DE *Rhizobium japonicum*, EN MASA FERMENTATIVA DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y SU POSIBLE EFECTO EN LA DISMINUCIÓN DE CADMIO”.

Autora:

Arelis Elizabeth Gaibor Ramón

Tutor de la Unidad de Integración Curricular:

Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc.

Mocache- Los Ríos- Ecuador

2021



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **GAIBOR RAMÓN ARELIS ELIZABETH**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este 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 normatividad institucional vigente.

f.

Gaibor Ramón Arelis Elizabeth

C.I: 080374594-2



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

El suscrito, **Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **ARELIS ELIZABETH GAIBOR RAMÓN**, realizó el Proyecto de la Unidad de Integración Curricular titulado **“INDUCCIÓN EXÓGENA DE *Rhizobium japonicum*, EN MASA FERMENTATIVA DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y SU POSIBLE EFECTO EN LA DISMINUCIÓN DE CADMIO”**, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente,

Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc.

DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



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 Fabián Vera Chang M.Sc., en calidad de director del Proyecto de Investigación titulado “**INDUCCIÓN EXÓGENA DE *Rhizobium japonicum*, EN MASA FERMENTATIVA DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y SU POSIBLE EFECTO EN LA DISMINUCIÓN DE CADMIO**” de autoría de la estudiante **ARELIS ELIZABETH GAIBOR RAMÓN**, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es de **9%**, el mismo que es permitido por el mencionado software y los requerimientos académicos establecidos.

URKUND

Documento: [URKUND-ARELIS ELIZABETH GAIBOR RAMÓN.docx](#) (D102472823)

Presentado: 2021-04-21 15:35 (-05:00)

Presentado por: arelis.gaibor2016@uteq.edu.ec

Recibido: jverac.uteq@analysis.orkund.com

Mensaje: Proyecto de investigación [Mostrar el mensaje completo](#)

9% de estas 13 páginas, se componen de texto presente en 12 fuentes.

Atentamente,

Ing. Jaime Fabián Vera Chang M.Sc.

DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Título:

“INDUCCIÓN EXÓGENA DE *Rhizobium japonicum*, EN MASA FERMENTATIVA DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y SU POSIBLE EFECTO EN LA DISMINUCIÓN DE CADMIO”

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

Aprobado por:

Ing. Christian Vallejo Torres
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Leonilo Durazno Delgado
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Wiston Morales Rodríguez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Mocache- Los Ríos – Ecuador

2020

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco a Dios, creador del universo y dueño de mi vida que me permite día a día fortalecerme en aquellos momentos que se me presento dificultad y debilidad, también de darme las mejores decisiones a mi largo camino de vida.

A mis padres Oswaldo Gaibor Trujillo y Gladys Ramón Morales por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar, brindarme valores y apoyarme en todos los momentos de mi vida.

A mis hermanos Cristhian y Andrés por siempre motivarme a seguir mis sueños y el apoyo incondicional en todo momento. También a todas mis familias en especial a mis abuelos que me apoyaron con sus enseñanzas de vida, consejos y palabras de aliento, dándome la fuerza de seguir y que en mi vida no existe la palabra rendirse.

A mi querida Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por brindarme la oportunidad de estudiar y formarme como Ingeniera en Alimentos. De igual a mi director de proyecto de investigación Ing. Jaime Vera Chang.

A mis docentes que a lo largo de la carrera aportaron granito de conocimiento.

A mis compañeros y más quienes se convirtieron en mis amigos.

A mis amigas incondicional de la infancia que siempre me ha motivo para seguir con mis metas y nunca rendirme Sulay Miranda y Katerine Quinde.

Arelis Elizabeth Gaibor Ramón

DEDICATORIA

Este logro le dedico a Dios por permitirme culminar esta meta, a mis padres por todo el amor, confianza y apoyo infinito, a mis abuelos por las enseñanzas y los valores impartidos. A mis familiares y amigos que me brindaron de una manera directa e indirecta su apoyo para nunca rendirme.

Con amor Arelis.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo el propósito de evaluar la influencia del *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa del cacao variedad Híbridos. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con 3 tratamientos con su respectivo testigo (Nacional), y 4 repeticiones. El análisis estadístico se realizó, mediante el análisis de varianza ANDEVA, para establecer las diferencias entre medias se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los resultados alcanzados en esta investigación fueron: % de testa el T3 (R3I0) (15.15) y el T6 (I3N0) (15.50); índice de semilla (I.S.) el T3 (1.40) y T6 (I3N0) (1.46). Para la fermentación, para los granos fermentados el T5 (I2N0) con 77.75% seguido del tratamiento T6 (I3N0) con 68.50% y T3 (R3I0) con 66.00%, en granos de violeta el T5 (I2N0) (21.75) y los granos pizarras con menor es el T3 (R3I0) (0.50). De acuerdo a la evaluación sensorial se destacaron el T6 (I3N0) (27.40%) y T2 (R2I0) (26.03%) ya que fueron seleccionados como los que presentaban mejores atributos, lo más aceptado en (el aroma, presentó menor acidez, un adecuado amargor y destacando el aroma floral de cacao) acercándose a las características del cacao, dicho procesos se realizaron con 10 catadores semi - entrenados. En el T3 (R3I0) (0.36 mg/kg) presentó disminución de cadmio de 0.01 mg/kg y el T6 (I3N0) (0.35mg/kg) de 0.02 mg/kg de acuerdo a los T1 (R1I0) y T4 (I4N0) (0.37 mg/kg) evaluados sin adición de *Rhizobium japonicum*. Se realizó un análisis económico mostrando variabilidad en los tratamientos debidos a las formulaciones utilizadas dando como resultado que el tratamiento tiene mayor costo en la aplicación 5% y el tratamiento con la aplicación de 3%.

Palabras Claves: Híbridos, fermentación, *Rhizobium*, cadmio (Cd).

ABSTRACT

The present research work had the purpose of evaluating the influence of *Rhizobium japonicum* on the fermentative mass of the hybrid cacao variety. A completely randomized design (DCA) was used, with 3 treatments with their respective control (National), and 4 repetitions. Statistical analysis was performed using the ANOVA analysis of variance, to establish the differences between means, the Tukey test ($p \leq 0.05$) was applied. The results achieved in this research were: % test on T3 (R3I0) (15.15) and T6 (I3N0) (15.50); Seed index (I.S.) on T3 (1.40) and T6 (I3N0) (1.46). For fermentation, for the fermented grains the T5 (I2N0) with 77.75% followed by the treatment T6 (I3N0) with 68.50% and T3 (R3I0) with 66.00%, in violet grains the T5 (I2N0) (21.75) and the grains slates with the lowest is T3 (R3I0) (0.50). According to the sensory evaluation, the T6 (I3N0) (27.40%) and T2 (R2I0) (26.03%) stood out since they were selected as those with the best attributes, the most accepted in (aroma, presented lower acidity, a adequate bitterness and highlighting the floral aroma of cocoa) approaching the characteristics of cocoa, said processes were carried out with 10 semi-trained tasters. In T3 (R3I0) (0.36 mg / kg) there was a decrease in cadmium of 0.01 mg / kg and in T6 (I3N0) (0.35mg / kg) of 0.002 mg / kg according to T1 (R1I0) and T4 (I4N0) (0.37 mg / kg) evaluated without the addition of *Rhizobium japonicum*. An economic analysis was carried out showing variability in the treatments due to the formulations used, resulting in that the treatment has a higher cost in the application of 5% and the treatment with the application of 3%.

Keywords: Hybrids, fermentation, Rhizobium, cadmium (Cd).

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO.	iv
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
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	9
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	9
2.1. Marco conceptual.	10
2.1.1. Híbridos.	10
2.1.2. Fermentación.	10
2.1.3. <i>Rhizobium</i>	10
2.1.4. Cadmio.	10
2.2. Marco Referencial.	11
2.2.1. Origen del cacao.	11
2.2.2. Clasificación taxonómica.	12
2.2.3. Características del cacao.	12
2.2.4. Variedad de cacao.	13
2.2.4.1. Forastero.	13
2.2.4.2. Criollo.	14

2.2.4.3.	Trinitarios.....	14
2.2.4.4.	Nacional.....	14
2.2.5.	Factores físicos, químicos y biológicos que afectan la calidad.....	15
2.2.6.	Tipo de fermentación.....	15
2.2.7.	Fermentación del cacao.....	15
2.2.8.	Duración de fermentación.....	16
2.2.9.	Remoción de masa.....	17
2.2.10.	Grado de fermentación de las almendras de cacao.....	17
2.2.10.1.	Almendra bien fermentada.....	17
2.2.10.2.	Almendra medianamente fermentada.....	17
2.2.10.3.	Almendra violeta.....	17
2.2.10.4.	Almendra pizarra.....	18
2.2.10.5.	Almendra mohosa.....	18
2.2.10.6.	Almendra infestada.....	18
2.2.11.	Norma técnica para la fermentación de cacao INEN 176:2018.....	18
2.2.12.	Microorganismos involucrados en la fermentación.....	20
2.2.12.1.	Levaduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
2.2.12.2.	Bacterias del ácido láctico (BAL).....	20
2.2.12.3.	Bacteria del ácido acético (AAB).....	21
2.2.13.	<i>Rhizobium japonicum</i>	21
2.2.14.	Enzimas.....	22
2.2.15.	Importancia económica y social del cacao.....	22
2.2.16.	Metales pesados en el suelo y planta.....	23
2.2.17.	Origen del cadmio.....	24
2.2.18.	Estado mundial del cadmio en cacao.....	25
2.3.	Investigaciones previas de la minimización de cadmio en cacao y datos científicos de la utilización de <i>Rhizobium japonicum</i>	27
CAPÍTULO III		28
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN		28
3.1.	Localización.....	29
3.1.1.	Condiciones climáticas de la zona.....	29
3.2.	Tipo de investigación.....	30
3.2.1.	Investigación exploratoria.....	30
3.2.2.	Investigación descriptiva.....	30
3.2.3.	Investigación experimental.....	30

3.3.	Métodos de investigación.	30
3.3.1.	Método inductivo.....	30
3.3.2.	Método Estadístico.	31
3.4.	Fuente de recopilación de información.....	31
3.5.	Diseño de la investigación.	31
3.5.1.	Esquema del ANDEVA.....	31
3.5.2.	Modelo matemático.	32
3.5.3.	Características del diseño experimental.	32
3.7.1.1.	Porcentaje de fermentación.....	33
3.7.1.4.	pH de las almendras.	34
3.7.1.6.	Cadmio.....	35
3.7.2.	Análisis organolépticos.	35
3.7.3.	Análisis económico.	35
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	36
3.8.1.	Recursos humanos.	36
3.8.2.	Recursos materiales.	36
3.8.3.	Materiales de oficina	37
CAPÍTULO IV		38
RESULTADOS		38
4.1.	Análisis físicos – química de la almendra de cacao en el proceso de fermentación. 39	
4.1.1.	Análisis de tiempo y temperaturas de la fermentación de cacao.....	39
4.1.2.	Análisis de pH.	40
4.1.3.	Prueba de corte de las almendras de cacao.....	41
4.1.4.	Cadmio.	44
4.1.5.	Análisis sensorial de la pasta de cacao.	45
4.1.6.	Análisis económico.	47
CAPÍTULO V		48
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		48
5.1.	Conclusiones.....	49
5.2.	Recomendaciones.	50
CAPÍTULO VI		51
BIBLIOGRAFÍA		51
CAPÍTULO VII.....		59
ANEXOS		59

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Requisitos de calidad del grano de cacao beneficiado.	19
Tabla 2. Fuente de cadmio.....	25
Tabla 3. Características climáticas de la zona en estudio.....	29
Tabla 4. Esquema del ANDEVA.....	31
Tabla 5. Característica del diseño experimental.....	32
Tabla 6. Tratamientos.....	33
Tabla 7. Perfiles de sabores de la pasta de cacao.	35
Tabla 8. Análisis de Prueba de corte de las almendras fermentados. La Represa. UTEQ 2021.....	42
Tabla 9. Promedios de los análisis de prueba de Testa, prueba de Índice de semilla. La Represa. UTEQ 2021.....	43
Tabla 10. Resultado de cadmio. La Represa. UTEQ 2021.....	44
Tabla 11. Valores Registrado del Análisis económico de la pasta de cacao.....	47

ÍNDICE DE GRÁFICA

Gráfica 1. Promedio tiempo temperatura de la fermentación de cacao. La Represa. UTEQ 2021.....	39
Gráfica 2. Promedio de la determinación de pH. La Represa. UTEQ 2021.....	40
Gráfica 3. Resultado de aceptabilidad de la pasta de cacao.	45
Gráfica 4. Perfiles de sabores de la pasta de cacao.	46

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Diseño Completamente al Azar.....	32
Ecuación 2. Porcentaje de Cascarilla.....	34
Ecuación 3. Índice de semilla.....	34
Ecuación 4. Costos primos.....	36

ÍNDICE DE ILUSTRACIÓN

Ilustración 1. Localización de la zona de estudio (62).....	29
Ilustración 2. Recolección de cacao.....	60
Ilustración 3. Zona de cosecha de híbridos	60
Ilustración 4. Toma de temperatura de la fermentación.....	60
Ilustración 5. Remoción de las almendras de cacao en fermentación.....	60
Ilustración 6. Medición de los granos del cacao	61
Ilustración 7. Toma de pH en el cacao.....	61
Ilustración 8. Peso del grano de cacao.	61
Ilustración 9. Determinación de °Brix del grano del cacao.	61
Ilustración 10. Secado del Cacao.	62
Ilustración 11. Prueba de corte.....	62
Ilustración 12. Proceso de descascarillado.....	62
Ilustración 13. Proceso de refinación de la pasta de cacao.	62
Ilustración 14. Pasta de cacao.	62
Ilustración 15. Envoltura de la pasta de cacao.	62
Ilustración 16. Prueba sensorial.	62

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1. Cosecha del cacao.....	60
Anexo 2. Proceso de fermentación.....	60
Anexo 3. Análisis físico químico.	61
Anexo 4. Proceso para la obtención de la pasta de cacao.	62
Anexo 5. Formulario para análisis organoléptico de pasta de cacao.....	63
Anexo 6. Resultados de la determinación de Cadmio.....	64
Anexo 7. Análisis de la varianza	65
Anexo 8. Determinación de Costos.	70
Anexo 9. Croquis de la investigación.....	70

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“INDUCCIÓN EXÓGENA DE <i>Rhizobium japonicum</i> , EN MASA FERMENTATIVA DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) Y SU POSIBLE EFECTO EN LA DISMINUCIÓN DE CADMIO”.
Autora:	Gaibor Ramón Arelis Elizabeth
Palabras claves:	Híbridos, fermentación, <i>Rhizobium</i> , cadmio (Cd).
Editorial:	Quevedo, UTEQ, 2021.
Resumen:	<p>RESUMEN. -El presente trabajo de investigación tuvo el propósito de evaluar la influencia del <i>Rhizobium japonicum</i> en la masa fermentativa del cacao variedad Híbridos. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con 3 tratamientos con su respectivo testigo (Nacional), y 4 repeticiones. El análisis estadístico se realizó, mediante el análisis de varianza ANDEVA, para establecer las diferencias entre medias se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los resultados alcanzados en esta investigación fueron: % de testa el T3 (R3I0) (15.15) y el T6 (I3N0) (15.50); índice de semilla (I.S.) el T3 (1.40) y T6 (I3N0) (1.46). Para la fermentación, para los granos fermentados el T5 (I2N0) con 77.75% seguido del tratamiento T6 (I3N0) con 68.50% y T3 (R3I0) con 66.00%, en granos de violeta el T5 (I2N0) (21.75) y los granos pizarras con menor es el T3 (R3I0) (0.50). De acuerdo a la evaluación sensorial se destacaron el T6 (I3N0) (27.40%) y T2 (R2I0) (26.03%) ya que fueron seleccionados como los que presentaban mejores atributos, lo más aceptado en (el aroma, presentó menor acidez, un adecuado amargor y destacando el aroma floral de cacao) acercándose a las características del cacao, dicho procesos se realizaron con 10 catadores semi - entrenados. En el T3 (R3I0) (0.36 mg/kg) presentó disminución de cadmio de 0.01 mg/kg y el T6 (I3N0) (0.35mg/kg) de 0.02 mg/kg de acuerdo a los T1 (R1I0) y T4 (I4N0) (0.37 mg/kg) evaluados sin adición de <i>Rhizobium japonicum</i>. Se realizó un análisis económico mostrando variabilidad en los tratamientos debidos a las formulaciones utilizadas dando como resultado que el tratamiento tiene mayor costo en la aplicación 5% y el tratamiento con la aplicación de 3%.</p>

	<p>ABSTRACT. -The present research work had the purpose of evaluating the influence of <i>Rhizobium japonicum</i> on the fermentative mass of the hybrid cacao variety. A completely randomized design (DCA) was used, with 3 treatments with their respective control (National), and 4 repetitions. Statistical analysis was performed using the ANOVA analysis of variance, to establish the differences between means, the Tukey test ($p \leq 0.05$) was applied. The results achieved in this research were: % test on T3 (R3I0) (15.15) and T6 (I3N0) (15.50); Seed index (I.S.) on T3 (1.40) and T6 (I3N0) (1.46). For fermentation, for the fermented grains the T5 (I2N0) with 77.75% followed by the treatment T6 (I3N0) with 68.50% and T3 (R3I0) with 66.00%, in violet grains the T5 (I2N0) (21.75) and the grains slates with the lowest is T3 (R3I0) (0.50). According to the sensory evaluation, the T6 (I3N0) (27.40%) and T2 (R2I0) (26.03%) stood out since they were selected as those with the best attributes, the most accepted in (aroma, presented lower acidity, a adequate bitterness and highlighting the floral aroma of cocoa) approaching the characteristics of cocoa, said processes were carried out with 10 semi-trained tasters. In T3 (R3I0) (0.36 mg / kg) there was a decrease in cadmium of 0.01 mg / kg and in T6 (I3N0) (0.35mg / kg) of 0.02 mg / kg according to T1 (R1I0) and T4 (I4N0) (0.37 mg / kg) evaluated without the addition of <i>Rhizobium japonicum</i>. An economic analysis was carried out showing variability in the treatments due to the formulations used, resulting in that the treatment has a higher cost in the application of 5% and the treatment with the application of 3%.</p>
Descripción:	71 hojas; dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM
URL:	(En blanco hasta cuando se dispongan los repositorios).

INTRODUCCIÓN

El Ecuador es el principal país productor de cacao fino de aroma, con una participación del 62% del mercado mundial, quien aporta un sustento aproximado de cien mil familias que practican este cultivo. Su mayor productividad de cultivo se encuentra en las provincias costeras (Los Ríos, Guayas, Manabí y El Oro), y en las provincias del nororiente (Sucumbíos, Orellana y Napo) (1). En la zona costeras los productores acostumbran a realizar el proceso de fermentación por medio artesanales (sacos de yute, cajones o por montón), dependiendo de la experiencia del productor y el empleo que le dará a la post cosecha (2).

La fermentación es una etapa importante, fundamental en el procesamiento de la almendra del cacao, porque de ahí se desarrollan los precursores del aroma y sabor a chocolate (3). Durante la fermentación, la que se realiza por diferentes métodos, montón, sacos y cajas, en esta fase la pulpa que rodea a las pepas de cacao, es degradada por levadura y bacterias con el resultado de la producción de alcohol etílico, ácido láctico y ácido acético (4).

Los granos del cacao son ricos en polifenoles (alrededor del 15% del peso seco) y alcaloides (hasta el 4%), constituyendo con el sabor y aroma del cacao. Los polifenoles asignan sensaciones de amargor, astringencia y realza su aroma a verde y afrutado de los granos, mientras que los alcaloides asignan el amargor y están relacionados con la palatabilidad de los alimentos que los contienen. La cantidad y proporción de estos grupos de moléculas en las almendras pueden cambiar debido a los factores genéticos y ambientales (5).

La calidad del grano es uno de los aspectos más relevantes en el proceso productivo del cacao, determina la demanda en el mercado y para su exportación es un pilar fundamental las concentraciones de cadmio en las almendras, que son reguladas por la Unión Europea según el reglamento N° 488/2014 donde los niveles máximos autorizados de cadmio es de 0.3 a 0.8 mg/kg de chocolate, perjudica tanto a los pequeños agricultores y a la

industrias donde existió una pérdida económica en las exportaciones debido al alto porcentaje de cadmio presente en el cacao. Claramente se nota que es de vital importancia para la obtención de un chocolate de calidad cumpliendo con una serie de exigencias, en cuando a diferencia presenta el uso de tecnología de postcosecha correcta y precisa. La calidad se manifiesta en las propiedades físicas de las almendras (6) (7).

El color de la almendra es una característica propia del grado de fermentación, dando a conocer que el color violeta dejar ver una fermentación incompleta, a diferencia que si presenta un color pardo nos indica que la fermentación se ha completado adecuadamente (8). El sabor y el aroma, propio del cacao se ve reflejado en una serie de combinaciones de la variedad, suelo, clima, manejo agrónomo y tecnología postcosecha (6).

La planta de cacao absorbe el cadmio del suelo, la presencia de cadmio en los suelos de la agricultura aumenta por la combinación de procesos naturales (actividad volcánica, meteorización de rocas, incendios, erosión, sedimenta de los ríos) y antropogénicos (actividades mineras e industriales, fertilizantes) (9).

Esta investigación consiste en incrementar la exógenas *Rhizobium japonicum*, que permitirá la descomposición de metales pesados de la masa fermentativa de híbridos experimentales de cacao, se quiere inducir este microorganismo gran negativa ya que una de sus características principales radica en su funcionalidad como fijador de nitrógeno, elemento importante para el desarrollo y crecimiento de las plantas, además, de su capacidad para retener el cadmio. Debido a esas cualidades las propiedades del cacao mejoran, experimentaciones con la variedad híbrida existente en la finca experimental “La Represa”, propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, localizada en el kilómetro 7.5 del recinto Fanta de la vía Quevedo-San Carlos.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

La fermentación consiste en una serie de cambios físicos-químicos, que generan el desarrollo del sabor y aroma a chocolate (10). La fermentación es una fase importante del proceso de la elaboración de derivados del cacao, porque este proceso permite desarrollar una transformación dentro del grano, proporcionando un color, aroma y sabores que son precursores del chocolate (3).

En el Ecuador la fermentación se realiza de una manera ancestral de acuerdo a las costumbres de los productores, habitualmente lo hacen por medio de sacos de yute y en montón, son pocos productores que lo realizan por cajones, queriendo implementar la micro fermentación con especie maderable blanca (Guayacán blanco), comprobando si presencia mejoras en las características organolépticas en la pasta de cacao.

En la actualidad la presencia de metales pesados (cadmio) en el cacao, es un problema grave para los agricultores y los centros de acopio del Ecuador, lo que se presenta un límite permitido de metales pesados en los granos de cacao de 0.50 mg/kg de peso fresco (11) (12) y niveles máximos autorizados de (cadmio) es de 0.3 a 0.8 mg/kg de chocolate (13). La presencia de este metal en la almendra de cacao, constituyen riesgos peligrosos a la salud ocasionando problemas en el sistema óseo y en los riñones de los seres humanos.

Lo cual se desea inducir exógenas de *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa de híbrido experimentales de cacao, con la finalidad de presenciar si existe un efecto diminutivo de (cadmio) en las almendras de cacao.

Diagnóstico.

La postcosecha es una etapa fundamental para la determinación de un producto de calidad, por lo consiguiente se desea aplicar en la fase de fermentación, exógenas en el método de micro fermentación con cajones de madera blanco, como es el guayacán blanco. Deseando determinar si la aplicación fermentativa con las exógenas en la masa fermentativa híbrido experimental de cacao, presenta diferencia en las características sensoriales y efectos de disminución de cadmio.

Pronóstico.

Se pretende identificar un material genético que tenga la capacidad de absorber la menor cantidad de cadmio, que presente condiciones productivas y condiciones de calidad para la industria, inducidos de manera exógenas que permita la descomposición de metales pesados como el cadmio.

Si existe un efecto positivo en bajar las concentraciones de metales pesados, según el reglamento 488/2014 de la comisión europea que respecta al contenido máximo de cadmio a los productos alimenticios, conllevaría aumentar el interés de la producción nacional y de incrementar los niveles de exportación en mercados internacionales, mejorando la aceptación del cacao en sus productos derivados. Así disminuyendo la intoxicación del consumidor y previniendo posible cáncer, afectación al sistema óseo y perjuicio en los riñones.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Qué características sensoriales presenta en la masa fermentativa del cacao (*Theobroma cacao* L.), y si existirá disminución de cadmio con la inducción exógenas de *Rhizobium japonicum*?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Cuál será la calidad sensorial de la masa fermentativa híbridos de cacao con la adición de exógena?

¿Qué efecto presentará con la inducción de exógena de *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa de cacao?

¿Cuál es la diferencia en el porcentaje de *Rhizobium japonicum* y su efecto en la disminución de cadmio en las almendras de cacao fermentadas en distintas proporciones?

¿Podrá el exógeno de *Rhizobium Japonicum* disminuir los niveles de cadmio y en general de metales pesados en las almendras de cacao?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo general.

Evaluar la inducción exógena de *Rhizobium japonicum*, en masa fermentativa de híbridos experimentales de cacao (*Theobroma cacao* L.) y su posible efecto en la disminución de cadmio.

1.2.2. Objetivos específicos.

- Analizar los efectos físicos - químicos con la inducción de exógenas en la fermentación en masa de materia experimentales de cacao (*Theobroma cacao* L.)
- Evaluar la calidad sensorial de la masa fermentativa en híbridos experimentales de cacao (*Theobroma cacao* L.) con la presencia de exógenas.
- Determinar si existe diferencia entre los porcentajes permitidos de cadmio con la aplicación de *Rhizobium japonicum*.
- Estimar los costos que presentará la aplicación de *Rhizobium japonicum* en la postcosecha.

1.3. Justificación.

El Ecuador es reconocido como un país productor y exportador de cacao fino de aroma. La buena calidad del producto depende de una correcta fermentación, porque la misma, afecta significativa en el desarrollo del sabor característico del chocolate.

Dado que el interés mostrado en el mercado internacional, se busca perfeccionar la calidad de la producción de cacao tradicional, por los atributos que presenta el cacao en las características organoléptica, para satisfacer la integridad en un futuro que se incrementa en la demanda.

En la presente investigación pretende aplicar exógenas de *Rhizobium japonicum*, en el proceso de fermentación de la almendra de cacao. Los posibles efectos que se presenten para la disminución de cadmio, mostrando resultados favorables en las características organolépticas de la pasta de cacao y logrando minimizar el contenido de cadmio, la disminución económica o penalidades e intoxicaciones.

Los resultados de la investigación aportan a la producción de la molienda con aporte muy favorable en la exportación a nivel global, mejor industrialización, mayor manufactura y el realce de la almendra del cacao ecuatoriano.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

2.1.1. Híbridos.

Los híbridos son cruces de una o varias grupos genéticos principales de cacao, en función a sus rasgos morfológicos y origen geográfico, mejorando la productividad y la resistencia a las enfermedades, existiendo modificaciones en las características de las mazorcas y la semillas (14).

2.1.2. Fermentación.

Es la acción de microorganismos y de enzimas que genera los cambios en dicho proceso y como consecuencia se mejora el valor nutricional, la formación del aroma y se disminuyen o elimina factores anti nutricionales así mejorando la calidad del cacao (15).

2.1.3. *Rhizobium*.

Son bacterias que inducen en las raíces o los nódulos de los tallos de las leguminosas, reducen el nitrógeno gaseoso a amonio. Son utilizados como bioinoculantes, promueve el crecimiento y desarrollo de las plantas bajo diversas tensiones como los metales pesados (16).

2.1.4. Cadmio.

El cadmio es particular en la naturaleza se localiza en las plantas de suelos agrícolas, es de color blanco azulado, han desarrollado técnica para la extracción de metal pesado secuencial y única con análisis químicos. Es uno de los metales que afectan a los riñones (17).

2.2. Marco Referencial.

2.2.1. Origen del cacao.

Desde la cultura incaica el cacao fue un producto simbólico, de alta importancia en la economía y social en las distintas culturas, en la que cumplió una función tanto para el consumo como para el comercio, ya que sirvió como una especie de moneda, que se la utilizaba como intercambio entre comunidades y grupos aborígenes. Razón que el cacao, en la actualidad se está sembrando variedades de especies, como es el cacao fino de aroma, debido a sus propiedades químicas y sensoriales, es exportado a distintas extensiones, donde son selecta aceptación (18).

El cacao es un árbol nativo de las regiones tropicales húmedo es originario en América de Sur, comprende países como Colombia, Ecuador, Perú y Brasil. Es en este último país donde se ha encontrado la mayor variabilidad de especie como el *Theobroma grandiflorum* y *Theobroma bicolor*, su importancia y uso radica como mejoramiento genético (19); las zonas de cultivo se extendió a través de la zona tropicales y subtropicales, de tal manera que se ha modificado el rango de temperatura en la que se desarrollar los cultivos, ahora es mayor a su hábitat (20).

El cacao es una planta perenne, su reproducción es de forma asexual (ramas) o sexual (semillas), presenta 20 cromosomas y su polinización es cruzada (alogama). El desarrollo y el rendimiento del cacao está íntimamente relacionado con las condiciones del medio ambientales del lugar donde se va a plantar. Por esta razón los factores climático afecta en la producción del cacao, por lo cual la condición térmica de la luminosidad y humedad deben ser adecuadas para las plantas (21).

2.2.2. Clasificación taxonómica.

Es del género americano *Theobroma L.* de la familia *Sterculiaceae*, integrado por 22 especies en el ámbito mundial, la especie *Theobroma cacao L.* es la más conocida e importante, la cual se la utiliza en la elaboración de chocolate y otros productos derivados de importancia económica. Esta especie se encuentra distribuida en la mayor parte geográfica, se ha cultivado desde la época precolombina en Centroamérica (22).

2.2.3. Características del cacao.

El fruto del cacao, designado comúnmente mazorca, llega a pesar alrededor de 40 gramos en promedio, su largo oscila de 10 a 30 cm y de ancho es de 7 a 9 cm, consiste en una cascara relativamente gruesa que encierra una cifra muy diversa de semillas, entre 20 a 50 pepas, se encuentra sumergido en una pulpa mucilaginosa de color blanco y sabor azucarado. Sus atributos y descripciones varían según la variedad de cacao como es su forma, el tamaño y color (23).

La principal característica es su particular aroma y sabor, teniendo presente que la calidad aromática se debe al origen del cultivo, es relacionado al medio ambiente y del buen tratamiento postcosecha, así aumentando su intensidad de sabores que es determinada por la cantidad de polifenoles, antocianinas, teobromina (24).

Los granos de cacao están compuestos por un embrión, dos cotiledones con un peso seco de la semilla de 86 a 90% y la pulpa mucilaginosa que rodea a la semilla contiene alrededor del 10 al 14% del peso seco y varía según el origen. La pulpa del cacao se compone de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), ácido cítrico y pectina que se utiliza como sustratos para los microorganismos involucrados durante la fermentación. También presenta un alto contenido de polifenoles de 15 a 20% en semillas frescas sin grasa que proporcionan un sabor astringente, amargo y desagradable; disminuye al 5% durante la fermentación (25).

El cacao contiene alrededor de 300 compuestos volátiles incluyendo esteres, hidrocarbocetonas, monocarbonilos, piroles y otras más. Se ha dicho que los importantes componentes de sabor son esteres alifáticos, polifenoles, carbonilos aromáticos insaturados, diketopiperazinas, pirazinas y teobromina. También contiene cerca de 18% de proteína (8% digestibles); grasas (manteca de cacao); aminas y alcaloides incluyendo teobromina (0.5-2.7%), cafeína (0.25-1.43%), tiamina, dopamina, salsolinol, trigonelina, ácido nicotínico y aminoácidos libres; fosfolípidos etc. La manteca de cacao contiene eminentemente triglicéridos de ácidos grasos consistentes de ácidos oleico 37.3%, esteárico 34.4% y palmítico 26%, también un 73% de glicéridos están presente como monoinsaturados. En la manteca de cacao hay pequeños contenidos de esteroides y metilesteroles; los esteroides están compuestos de beta-sitosteroles, estigmasterol y campesterol, con un poco cantidades de colesterol. En adición de alcaloides (teobromina), taninos y otros constituyentes, la mazorca de cacao presenta pigmento que es un poliflavonoglucosido con un peso molecular sobre 1,500, este pigmento es muy requerido por ser resistente a calor y luz, muy estable al pH de 3 a 11, también utilizado como colorante animal (26).

2.2.4. Variedad de cacao.

El cacao se divide en 2 grupos: forastero y criollo, al mismo tiempo da un híbrido de estos dos, nombrado trinitario; existiendo una cuarta variedad localizado en Ecuador llamado Nacional (27).

2.2.4.1. Forastero.

Son árbol de mayor rusticidad y productividad destinada a la producción de cacao básico o convencional (28). Es la variedad más cultivada en las regiones de África y Brasil. Se caracterizan por su fruto, presenta una mazorca de cascara dura y leñosa, su superficie relativamente tersa, presenta unas semillas aplanadas de color morado y sabor amargo. Dentro de esta variedad se destacan el cacao Cundeamor, Amelonado, Sambito, Calabacillo y Angoleta (29).

2.2.4.2. Criollo.

El cacao criollo es de alto valor y es un cacao fino que se utiliza para elaborar chocolate de alta calidad. Los finos aroma contienen mayor cantidad de linalol (30). Actualmente están sustituido a las plantaciones antiguas de forasteros debido a su mayor adaptabilidad a distintas condiciones ambientales y por sus frutos de mayor calidad (29). Se caracteriza por tener una superficie rugosa, surcos pronunciados y de forma alargada, su semilla son de un color blanco cremoso (31).

2.2.4.3. Trinitarios.

Los trinitarios constituyen a las poblaciones híbridas se originó del cruzamiento espontáneos de forastero y criollo nativo, entre ellos se encuentra el CCN-51; presentan algunas características de mazorca y semillas, tiene diferente grados de similitud con los dos grupos que dieron su origen (27). Los frutos trinitarios son de color púrpura similares al criollo, cambiando al madurar a un rojo más suaves, usualmente anaranjado (23).

2.2.4.4. Nacional.

Al cacao nacional, se lo ha considerado por un largo tiempo como una variedad del cacao forastero, determinado por la forma de las mazorcas, pero hoy en día se cree que este tipo de cacao se ha encontrado en el país desde tiempo antiguo, desde ante de la conquista española. Luego de varios estudios la morfología, el sabor presenta diferencia genética de los anteriormente mencionados (32).

El cacao nacional ecuatoriano es una variedad de calidad, denominado como “sabor arriba”, la cual se está perdiendo en su estado puro, localizada en la provincia de Guayas y los Ríos en la costa occidental del Ecuador. Es un árbol alto, robusto, tronco grueso y hojas grandes, esta variedad pertenece a los forasteros amazónicos de mazorca amelonadas, aproximadamente ovaladas con un pequeño estrangulamiento de cuello, cascara gruesa verde, punta roma, y su semilla son de color morado (33).

2.2.5. Factores físicos, químicos y biológicos que afectan la calidad.

Los factores físicos son considerados como lo más importantes a considerar en el almacenamiento de la semilla (humedad de equilibrio, humedad relativa y temperatura); en los químicos son los factores del oxígeno y dióxido de carbono que influyen vigorosamente en el almacenamiento del grano y las semillas, relacionado con el volumen y la porosidad de las semillas almacenadas, asimismo como son los procesos de respiración; los bióticos es la afectación de insectos y microorganismo los cuales están relacionado con la humedad relativa y temperatura, los cuales causan problemas al valor agrícola y comercial del producto; y por últimos otros factores que afectan la calidad de la semilla depende de las características de la variedad, el proceso de la postcosecha, grado de maduración (34).

2.2.6. Tipo de fermentación.

Las semillas extraídas de la mazorca de cacao se depositan en fermentadores que se envuelven (con plástico o lona de material grueso y oscuro), para evitar las pérdidas de calor y desecación de la superficie de la masa durante la fermentación. Existen diferentes tipos de fermentadores, como son por montón, en sacos, de cajas de madera y de rohan (uso de gavetas); de las que existe se ha considerado que la “caja de madera”, por su tipo de diseño, influye de manera positiva en las características físicas y químicas de las almendras fermentadas (35).

2.2.7. Fermentación del cacao.

La fermentación es un proceso tradicional, totalmente espontáneo, no controlado y complejo, estimulado por una sucesión microbiana que son las levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas; con actividad enzimática, que sucede a medida que presente los cambios microambientales (pH, temperatura y disponibilidad de oxígeno). La fermentación es originada por una serie de sucesos bioquímicos en el tipo y concentración de los precursores de aroma, sabor y color de la semilla de cacao, con la finalidad de disminuir el amargor y perder la viabilidad del embrión (35).

Siendo una de las fases más relevante en la postcosecha para desarrollar los perfiles adecuado del chocolate (aroma y sabor). En este proceso los compuestos químicos vinculados a la calidad sensoriales son de origen térmico y sufren transformaciones durante la fermentación (36). La primera fase de la fermentación se denomina anaeróbica hidrolítica, ocurre la reacciones microbianas (levaduras y bacterias), presente en la pulpa que contribuye a la eliminación del mucílago azucarado en alcohol y anhídrido carbónico en las primeras 48 h a una temperatura de 25 a 45 °C, presente en la almendra y en la segunda, son diversas reacciones hidrolíticas que suceden en los cotiledones a 42-52 °C, en un tiempo de 48 h, que conduce a la modificación de los compuestos químicos de la almendras y en particular, a la formación de los precursores del aroma (6) (30) (37).

Teneda (10), menciona que la fermentación consiste en una serie de cambios físicos-químicos que forman el sabor y aroma a chocolate.

- Cambios de la pigmentación interna del cacao, de un color violera a marrón claro.
- Transforma el sabor astringente de los cotiledones.
- Convierte los azúcares en alcoholes para las levaduras, los que a su vez se convierte en ácidos acéticos por las bacterias acéticas.

2.2.8. Duración de fermentación.

Este aspecto varía de acuerdo al clima y la variedad genética del cacao. En los climas calientes se demora menos que en los de temperatura moderada. En otra parte el cacao de variedad superior (Criollos) necesita menor tiempo para fermentar, con una duración de tres días, al contrario del cacao inferior (Forastero) tiene una fermentación de un periodo de seis o más días y los llamados semillas híbridas tiene un tiempo promedio de cuatro a cinco días, porque el mayor contenido de azúcar en el mucilago del superior acelera el proceso. La fermentación termina cuando la pepa se ven hinchadas, denominado la muerte del embrión y la alta cantidad de humedad reduce considerablemente, la semilla cambia de un color púrpura a morado pálido (37).

2.2.9. Remoción de masa.

La remoción de la masa es otro proceso de importancia que se realiza cada 24 horas, que permite la liberación del CO₂ generado y permita continuar con el proceso de oxidación, la remoción cumple con el objetivo de homogenizar, airear y permitir el aumento de la temperatura en la masa fermentativa se produce en el lapso de las primeras 24- 48 horas, con valores superiores a 30°C, lo que indica una buena fermentación; reflejando en la disminución de amargor, acidez y mayor preferencia, estos resultados se lo realiza en cajones cuadrados (38) (39).

2.2.10. Grado de fermentación de las almendras de cacao.

2.2.10.1. Almendra bien fermentada.

Los cotiledones presentan una coloración marrón o marrón oscuro, de aspecto quebradizo con estrías bien abiertas. La testa o cascarilla se separa fácilmente del cotiledón. El sabor y aroma de las almendras están bien desarrollado para la elaboración de chocolate. Presenta buena expresión del sabor a cacao, baja astringencia, acidez y amargor; y máxima expresión para el sabor Arriba, cuando se trata del nacional (40).

2.2.10.2. Almendra medianamente fermentada.

Los cotiledones se exhiben de un color café oscuro con pigmento violeta en los bordes y tiene aspecto ligeramente compacto; las estrías son poco abiertas y son menos quebradizo que en las almendras bien fermentada. La calidad del sabor y aroma es aceptada con cualidades aprovechables para la elaboración de chocolate. Los niveles de la astringencia, acidez y amargor son más altos que en la almendra bien fermentada (40).

2.2.10.3. Almendra violeta.

La presencia de este color se debe por una fermentación incompleta o enfriamiento de masa. Los cotiledones muestran un aspecto compacto o semi compacto, y se caracterizan por presenciar un color violeta intenso. Presenta una alta intensidad de la astringencia y la acidez es muy fuerte; los lotes con alto porcentaje de almendra violeta son poco recomendables para la elaboración de chocolate. Los precursores de sabor y aroma no se desarrolla (40) (41).

2.2.10.4. Almendra pizarra.

Es una almendra sin fermentar, en esta etapa los cotiledones son una masa de aspecto compacto y se presenta de un color gris negruzco opaco, textura queso. Su sabor es muy desagradable y persistente. El amargor y la astringencia se encuentra en su máxima expresión; no son recomendadas para la utilización en la industria chocolatera, por las características que presenta en la almendra. Solo se la utilizaría como una fuente para la extracción de grasas (40) (41).

2.2.10.5. Almendra mohosa.

En el interior de la semilla (cotiledones), presenta una coloración blanquecina y en momento muestra un color verdoso o amarilloso, por la aparición de los hongos. Producen olores y sabores desagradables. Dando origen a las ocratoxinas que son sustancias tóxicas para la salud. Las almendras son utilizadas para la extracción de la grasa (40).

2.2.10.6. Almendra infestada.

Estas almendras son categorizadas por presenciar polillas, huevos o excremento de los diversos insectos; ocasionando que las almendras están deterioradas hasta el 90%. Lo cual hacen que las almendra produzcan olores y sabores indeseables. Este deterioro peligroso ocasiona que lo inutilicen las almendras para el uso industrial por los riesgos que intoxique a la salud humana (40).

2.2.11. Norma técnica para la fermentación de cacao INEN 176:2018.

La norma INEN 176:2018 establece los requisitos que debe cumplir el grano de cacao beneficiado y los criterios que son necesarios para su calificación. Esta norma está destinado para los distintos fines de comercialización interna y externa (42).

- Requisitos

El cacao favorecido debe cumplir con los requisitos que se detallan a continuación, en la tabla 1.

Tabla 1. *Requisitos de calidad del grano de cacao beneficiado.*

Requisitos	CACAO FINO			CACAO CCN52		Método de ensayo.
	A.S.S.S	A.S.S.	A.S.E.	C.S.S.	C.S.C.	
Humedad, máx., %+	7	7	7	7	7	INEN-ISO 2291
Peso de 100 g.	>130	>120 ^a 130	100 ^a 120	>125	110-125	a
Granos fermentados min, %	75	65	53	68	55	INEN-ISO 1114
Granos violetas, máx., %	15	21	25	18	26	INEN-ISO 1114
Granos pizarrosos, máx., %	9	18	18	12	15	INEN-ISO 1114
Granos mohosos, máx., %	1	2	4	2	5	INEN-ISO 1114
Totales (análisis sobre 100g), min	100	100	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

A.S.S.S. Arriba Superior Sumen 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

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

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

b determinado en 500g de muestra.

Fuente: (42).

2.2.12. Microorganismos involucrados en la fermentación.

Los microorganismos que actúan en la primera fase de fermentación son las levaduras, son las primeras en aparecer debido a las condiciones adecuada que tiene el mucilago del cacao; seguidos comienza a participar las bacterias lácticas y las bacterias acéticas (43).

2.2.12.1. Levaduras *Saccharomyces cerevisiae*.

Las levaduras son organismos eucariotas con gran variedad de tamaño, forma y color. Es un microorganismo íntimamente agrupado con el progreso y el bien de la humanidad su nombre procede de *Sacchoro* (azúcar) *myces* (hongos) y *cerevisiae* (cerveza). Son heterótrofa, que adquiere energía a partir de la glucosa y presenta una sublime capacidad fermentativa. Se puede aislarse fácilmente en plantas y tierra (44).

Eliminan la pulpa que envuelve a los granos de cacao fresco, des-polimerizando o rompiendo la pectina y las condiciones anaeróbicas (sin oxígeno) que imperan en el ambiente, culminando con la fermentación de los azúcares para la elaboración del etanol (43).

2.2.12.2. Bacterias del ácido láctico (BAL).

Las bacterias ácido lácticas participan periódicamente en las fermentaciones de alimentos, se han reportado bacterias específicamente del género *Lactobacillus* tanto productoras como degradadoras de aminos biogénicas, acción que se generada a través de enzimas amino oxidasas. Existen diversos mecanismo de producción de aminos biogénicas es la descarboxilación de los aminoácidos, reacción conocida como degradación de Strecker, la cual favorece durante el tostado de las semillas de cacao (45).

2.2.12.3. Bacteria del ácido acético (AAB).

En esta etapa de la fermentación, por acción combinada y balanceada de la temperatura, acidez y humedad, se procede a presenciar la muerte del embrión, comienza a romperse las estructuras de almacenamiento, en el interior de las cédulas de los cotiledones; produciéndose la liberación de los polifenoles, antioxidantes y proteínas de reserva, persiguiendo por las reacciones químicas que generan los compuestos precursores del sabor y aroma del chocolate (46).

2.2.13. *Rhizobium japonicum*.

Se localiza en las Región Andina y valles interandinos de Colombia. Los *Rhizobium* son de genero de bacterias, son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y modificarlo en compuestos de fácil asimilación. La taxonomía se basa en un enfoque polifásico que incluye características de la morfología, bioquímica, fisiología, genética y filogenia. Son pertenencia de las cepas a la familia *Rhizobiaceae* (47).

En los métodos de producción agrícola sostenible se ha proporcionado alto interés al uso de microorganismos benéficos del suelo, por medio de la actividad simbiótica inducen la mejora de la nutrición de las plantas, conllevan a soportar condiciones adversas de producción y consecuentemente, incrementa el crecimiento y la producción de los cultivos. Por lo general los macroorganismos benéficos se han estimado agentes de fertilización biológica y biofertilizante. Así reconociendo en la actualidad que son diferentes estructuras de oligosacarinas endógenas y exógenas, que cumple un papel importante de acuerdo a diversos estudios que se ha investigado en las plantas como son la división, el crecimiento y la morfogénesis celular, el crecimiento radical y vegetativo, el acortamiento y mejoramiento del periodo de floración y fructificación (48).

2.2.14. Enzimas.

Las enzimas han sido manipuladas desde hace cientos de años en distintos procesos de fermentación. En 1980 las enzimas exógenas comenzaron a jugar un papel importante al mejorar de forma radical la eficiencia de la producción (49).

Las enzimas exógenas son aplicadas como un aditivo para la nutrición animal no tiene más de veinte años, sus principales enfoques han sido: mejorar la digestibilidad de las dietas mediante la restricción o eliminación de factores anti nutricionales de los NSP (Non-starch polysaccharides) que permita incluir ingredientes alternativos en las dietas; reducir el impacto ambiental como es el caso de la utilización de fitasa para minimizar la eliminación de fósforo (P) al medio ambiente; y enzimas diseñadas para ingredientes convencionales (sin subproductos) (49).

Las enzimas digestivas amilolíticas están involucradas en todas las reacciones metabólicas que implica la conversión de las moléculas complejas de almidón (amilasa y amilopectina) a sus constituyentes más simples, como la glucosa, maltosa e isomaltosa. Producto de biotecnología, que intervienen en unos intervalos desarrollados de pH (4-9) y temperatura (30-90°C) (50).

2.2.15. Importancia económica y social del cacao.

En los últimos años se ha demostrado una serie de cambios de gran importancia en la economía mundial, lo que incide notablemente en el desarrollo de los mercados alimenticios. Entre estos cambios se pueden destacar el proceso de apertura comercial y liberación de mercados, la consolidación de bloques económicos, el fortalecimiento de las instituciones que rigen el comercio internacional de cacao (51).

El cacao es de gran importancia en las actividades agrícolas, siendo la tercera mayor exportación de Ecuador, el cacao genera diversas fuentes de trabajo directas e indirectas, es parte esencial de muchas comunidades del país. Solo el 5% del cacao producido en el mundo es fino de las variedades de trinitario y criollo. De este porcentaje, más del 65% proviene del Ecuador, lo que lo convierte en el mayor productor de cacao fino en el mundo, dando un prestigio importante, favorable, destacado, indispensable y representativo para el país (52). Ayudando a impulsar y desarrollar la economía de los ecuatorianos, así una vez más este producto genera ingresos a las familias más vulnerable que son los campesinos en especial de las provincias de Los Ríos, Manabí, Guayas, El Oro y Esmeraldas (53).

No obstante, las exportaciones del cacao fino de aroma del Ecuador, dirigidos principalmente a los mercados europeos, se ve amenazado por indicios de contaminación de metales pesados como es el cadmio en las almendras de cacao exportable, en niveles elevados a los permitidos por Normativas alimentarias de la Comunidad Europea. A la presente fecha se han realizado diversos análisis de riesgo donde determina se determina que la cantidad máxima de cadmio es de 0.1-0.3 mg por kg de chocolate, indispensable en el porcentaje de cacao que presente, inmediatamente después de haber analizado las posibles afectaciones que el consumo de la misma pueda afectar a la salud humana (54).

2.2.16. Metales pesados en el suelo y planta.

Los metales pesados se pueden acumulan por meteorización natural, actividad humana directa como el derramamiento de desechos mineros, la deposición atmosférica procedente de emisiones vehicular e industrial, y las aplicaciones de fertilizantes, fungicidas y herbicidas en los cultivos agrícolas. Dentro de las plantas, los metales pesados se pueden acumular en la raíz o ser transportados al tejido aéreo (tallo y hojas) o producirse la acumulación en los granos (55).

Los metales pesados se encuentran en los suelos de una forma natural o por actividades antropogénica, no precisamente significa que estos son un problema de toxicidad para los seres humanos, actualmente una fracción de los metales se pueden localizar de forma inerte, en estados sólidos, e incorporados en las rocas. Esta fracción solo podría solubilizarse por el desgaste natural de las rocas que sucede, comúnmente, en suceder en periodos prolongados de tiempo. Simplemente las formas químicas de algunos metales pesados que se encuentran disponibles para los seres vivos pueden ser tóxicos (55).

2.2.17. Origen del cadmio.

El cadmio (*cadmia* en latín y en griego *Kadmeia*, significa calamina, nombre que recibe en tiempos pasados del carbonato de Zinc), se lo descubrió en Alemania en 1817 por Friedrich Stromeyer como una impureza en el carbonato de Zinc. Desde ese momento no se lo tomó en cuenta; hasta apenas de un tiempo aproximado de cincuenta años se le encontraron aplicaciones metalúrgicas. Por lo que el cadmio no se lo encuentra en el ambiente como un metal puro. Es más abundante en la naturaleza de forma de óxidos complejos, sulfuros o carbonatos en el Zinc, plomo y menas de cobre. El cadmio es suave, de color blanco plateado y es respectivamente económico, ya que es un subproducto del procesamiento de metales más valiosos, como el Zinc y el cobre. Es liberado por las emisiones volcánicas y por la quema de combustibles fósiles y de biomasa. Este metal se integra al medio ambiente a través de diversas fuentes naturales y antropogénicas como se detalla en la tabla 2 (56) (57).

Tabla 2. Fuente de cadmio.

Antropogénicas	Naturales
Lodos residuales y estiércol.	Actividad volcánica
Fertilizantes fosfatados y nitrogenados	Rocas
Industria de plateado y galvanizado	
Minería del Zinc, cobre y plomo	
Industria de fundición de metales	
Incineración	
Industria de alimentos fosfatados	

Fuente: (57).

2.2.18. Estado mundial del cadmio en cacao.

El cacao y sus derivados son producto prominente del Ecuador, se ha evidenciado la presencia de contaminantes, como el cadmio, un metal pesado que ofrece daños a la salud de los consumidores del grano. El cadmio (Cd), es un elemento del grupo 12 de la tabla periódica al que también pertenece el zinc (Zn) y el mercurio (Hg). Las plantas expuestas a altos niveles de cadmio les causa la reducción en la fotosíntesis, la absorción de agua y de nutrientes, en consecuencia, se observa clorosis, inhibición del crecimiento pardeamiento de las puntas de las raíces y posterior la muerte (11).

La absorción del cadmio en humanos es relativamente baja (3-5%), por esto este metal es retenido en el riñón y el hígado; en el riñón la toxicidad reside en la acumulación, principalmente, en las células tubulares proximales con posibles consecuencias de disfunción renal, y posterior desmineralización ósea. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer ha clasificado el cadmio como una sustancia cancerígena humana del (Grupo 1) con la cual conlleva mayor riesgo de cáncer en los pulmones, endometrio, vejiga y mama (58). Por lo que está aprobada y puesta en vigor del Reglamento UE No. 488/2014 sobre límites máximos de cadmio en cacao y chocolates de 0.10 a 0.18 $\mu\text{g g}^{-1}$ a partir del 1 de enero del 2019 (11).

El cadmio es uno de los metales pesados que generalmente existe como un elemento menor en los suelos. Cadmio es un metal altamente toxico que causa efectos nocivos a mayor concentración en bacterias del suelo, así como plantas. Grado de sensibilidad de la *Rhizobium* a cadmio difiere de una cepa a una cepa. En consecuencia, la contaminación con cadmio a concentraciones más altas podría cambiar una estructura poblacional de *Rhizobium* en el suelo (59).

2.3. Investigaciones previas de la minimización de cadmio en cacao y datos científicos de la utilización de *Rhizobium japonicum*.

Mite et al, (54). En la investigación de avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas en Ecuador, se planteó como objetivo de identificar la contaminación por cadmio en los diferentes cultivos de cacao, para prevenir las alternativas de remediación para contrarrestar el efecto tóxico. Determino que la cantidad de cadmio se descubrió en la cascarilla, a relación de la almendra, aunque aún no se ha podido disminuir la concentración de Cd en la almendra del cacao, pero ya hay interés en el país en la necesidad de trabajar en esta área.

Cuadrado et al, (47). El objetivo de su estudio es de analizar las características de 52 cepas de rizobios aisladas del frijol *V. unguiculate*, tomando como base su morfología, cultivos, metabolismo, resistencia a metales y antibiótico, los aislado fueron característicos conforme con sus patrones de asimilación de carbono y se encontraron microorganismos Rhizobium, bradyrhizobium identificada como potenciales bioinocular y se identificación de las cepas son capaces de crecer en ambientes hostiles, la cual presenta usos potenciales como bioinoculantes.

Valencia et al, (60). En su investigación de Caracterización molecular de cepas de *Bradyrhizobium japonicum* J-01, J-96 y J-98, mediante protocolos rep-PCR (Método para clasificar bacterias con bases en sus patrones de huellas genómicas). Su trabajo se basó en un cultivo de soya con alta saturación de aluminio, baja capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica que afecta a la fijación biológica del nitrógeno y el crecimiento de las plantas. Por las que se utilizaron cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, determino que las cepas J-96 Y J-98, establecen nuevas opciones de variedad biológicas para la fijación de nitrógeno altamente eficaces.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La investigación se realizó en el laboratorio de bromatológico localizado en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, de la finca experimental “La María” de que se encuentra ubicada en el Km 7 vía Quevedo- El Empalme, en la longitud occidental de 79°32’24” y latitud sur de 1°05’18”, a una altura de 75msmm.

La semilla de cacao se obtendrá de la finca Experimental “La Represa”, perteneciente a la propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo ubicado en el Km 7.5 del recinto Faighta de la vía Quevedo - San Carlos, la cual se encuentra ubicado en la longitud sur de 1°03’18” y del oeste en la 79°25’24”, a una altura de 90 msnm (61).



Ilustración 1. Localización de la zona de estudio (62).

3.1.1. Condiciones climáticas de la zona.

A continuación, en la tabla 3, se detallarán las condiciones meteorológicas y otras condiciones del lugar experimental en donde se lleva a cabo el estudio.

Tabla 3. Características climáticas de la zona en estudio.

Parámetros	
Altitud	75msnm
Precipitación media anual	269,12mm
Temperatura media anual	24.93°C
Humedad relativa	85.5%
Heliofanía	84,325 h/luz
Zona de vida Holdridge	Bosques semihúmedo tropical

Fuente: (61).

3.2. Tipo de investigación.

El tipo de esta investigación a tratar en esta investigación es de carácter exploratoria, descriptivo y experimental.

3.2.1. Investigación exploratoria.

Se realizó esta investigación, debido que este tema no ha sido explorado en su totalidad, si el uso de *Rhizobium japonicum*, cambia los aromas pertinentes en el cacao al momento de su fermentación y si presenta disminución de cadmio.

3.2.2. Investigación descriptiva.

En esta investigación se procedió a describir el comportamiento y las reacciones que se efectuará en la principal fase de la postcosecha, que es la fermentación de los granos del cacao al momento de aplicar los respectivos tratamientos.

3.2.3. Investigación experimental.

Se realizó una investigación experimental para ver el efecto de la actividad microbiológica del *Rhizobium japonicum* en el proceso de la masa fermentativo de cacao extraído de la finca experimental la represa.

3.3. Métodos de investigación.

Los métodos propuestos para la investigación son los siguientes:

3.3.1. Método inductivo.

Se empleó la presente investigación el método inductivo, buscando obtener soluciones a los principales problemas en la postcosecha del cacao así mismo dar soluciones a nuevas técnicas o métodos fermentativo para la mejora del cacao.

3.3.2. Método Estadístico.

Este método se aplicó con la ayuda de un software libre, que permite cuantificar, tabular y ordenar los datos recopilados mediante análisis, lo cual nos permitirán obtener los resultados.

3.4. Fuente de recopilación de información.

La investigación se apoyó en la fuente primaria, lo que consistía en un trabajo de observación directa en el campo, así ayudando a la recopilación de los datos de las variables establecidas y también participarán las fuentes secundarias, las cuales son los libros, tesis, artículos científicos e informes de investigación.

3.5. Diseño de la investigación.

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar con tres tratamientos con tres testigos Nacional (EET-103) con cuatro repeticiones evaluará el efecto de la adición de *Rhizobium japonicum* en diferentes proporciones a estudiar (0, 3, 5%).

Para comprobar diferencias entre medias de tratamientos, se emplea la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.5.1. Esquema del ANDEVA.

En la siguiente tabla 4, se muestra el esquema del ANDEVA que se aplicará.

Tabla 4. Esquema del ANDEVA.

Fuente de variación (FV)		Grados de libertad (GL)
Tratamientos	(h-1)	5
Error Experimental	(h)(r-1)	18
Total	h*r-1	23

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

3.5.2. Modelo matemático.

La fuente de variación se realizará en esta investigación será con el siguiente modelo perteneciente al diseño completamente al azar (63).

Ecuación 1. *Diseño Completamente al Azar.*

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij} \quad (\text{Ec. 01})$$

Y_{ij} = Es la observación “j-ésima” correspondiente al tratamiento “i-ésimo”.

α = Media de la población.

T_i = Es un efecto del tratamiento “i-ésimo” sobre la media.

ϵ_{ij} = Es un efecto aleatorio (error experimental).

3.5.3. Características del diseño experimental.

En la tabla 5, se detallarán las características que se van a investigación en el diseño experimental.

En la inducción exógena del *Rhizobium japonicum*, después de haber realizado una serie de investigación exploratoria se determinó que el valor a utilizar es de 60 y 100ml, en relación de las celdas del cajón, se determinó que los porcentajes es de 3 y 5% para la aplicación de los diferentes tratamientos de la fermentación.

Tabla 5. *Característica del diseño experimental.*

CÓDIGO	TRATAMIENTO
R1I0	Inducción de exógena R.J. 0%
R2I0	Inducción de exógena R.J. 3%
R3I0	Inducción de exógena R.J. 5%

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

3.6. Tratamientos.

En la presente tabla 6, se detallarán los datos de los tratamientos a investigar, la aplicación de RJ en la masa fermentativa del cacao.

Tabla 6. *Tratamientos.*

N°	Código	Descripción
1	R1I0	Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos sin inducción.
2	R2I0	Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos con inducción del 3%.
3	R3I0	Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos con inducción del 5%.
4	I1N0	Testigo Nacional (EET-103) sin inducción.
5	I2N0	Testigo Nacional (EET-103) con inducción del 3%.
6	I3N0	Testigo Nacional (EET-103) con inducción del 5%.

Elaboración por: Gaibor, A. 2021.

3.7. Instrumentos de investigación.

3.7.1. Análisis físicos-químicos.

Los análisis que se realizará son los siguientes:

3.7.1.1. Porcentaje de fermentación.

Una forma de evaluar el porcentaje es por la técnica de la prueba de corte.

Proceso.

1. Se realizó la recolecta de 100 almendras al azar de cacao.
2. Se pesó y seguido se realizó un corte longitudinal.
3. De acuerdo a las características que presenta se determina el porcentaje de fermentación.
4. Finalmente se clasifico según las normas INEN 176:2018, (Tabla 1).

3.7.1.2. Porcentaje de cascarilla o testa.

Es la cantidad de cascarilla que presenta la almendra una vez seca.

Proceso

1. Se pesó 30g de almendras.
2. Se procedió a descascarillar, luego se pesó por separados el cotiledón y la testa.
3. La diferencia se dividió para el peso de las almendras y se multiplico por 100, a continuación, ecuación 2.

Ecuación 2. *Porcentaje de Cascarilla.*

$$\%Cascarilla = \frac{p1-p2}{p1} * 100 \quad (\text{Ec.02})$$

3.7.1.3. Índice de semilla.

Se tomó al azar 100 almendra de cacao seco, estas se la procedieron a pesar y promediadas. Para la cual se utilizó la siguiente ecuación 3.

Ecuación 3. *Índice de semilla.*

$$IS = \frac{\text{Peso de 100 almendras}}{100} \quad (\text{Ec.03})$$

3.7.1.4. pH de las almendras.

Se realizó mediante un muestreo por cada tratamiento, obteniendo 10 gramos de almendras, se procedió a aplastar la semilla y mezclar con 100 ml de agua destilada tibia y por último se midió pH usando el pH-metro.

3.7.1.5. Temperatura de fermentación.

Se procedió a tomar la temperatura en las siguientes 24 horas el volteo de la masa fermentativa, previo a esto se tomó la temperatura correspondiente, la misma que se realiza cada 24 horas.

3.7.1.6. Cadmio.

Se procederá a determinar la presencia de cadmio en la masa fresca fermentativa de cacao si existe un efecto favorable por la inducción de *Rhizobium japonicum* para minimizar su contenido de este metal para cumplir con los estándares internacionales de la Unión Europea 488/2014 (64).

3.7.2. Análisis organolépticos.

A continuación, se mostrará en la tabla 7, los perfiles de sabores que se tomaran en cuenta al momento de determinar el chocolate.

Tabla 7. *Perfiles de sabores de la pasta de cacao.*

Sabores Específicos	Sabores Básicos	Sabores adquiridos
Floral	Amargo	Moho
Frutal	Acidez	Verde
Nuez	Astringencia	Otros

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

En todos estos tres perfiles de sabores (básicos, específicos y adquiridos), individualmente se calificó la degustación de la pasta de cacao usando una escala internacional de 0 a 5 puntos, donde:

Tabla 8. *Escala de atributos de calidad de una pasta de cacao.*

Escala	Significado
0	Ausente
1	Poco presente.
2	Presente en la muestra
3	Caracteriza la muestra
4	Dominante
5	Muy dominante

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

3.7.3. Análisis económico.

Para determinar los análisis económicos del *Rhizobium japonicum*, se calculará los costos de los diversos tratamientos planteados, teniendo presente los efectos, estos mismo llevaran una adición de porcentaje, así determinando los costos de los mejores tratamientos teniendo presente cuánto costará para tener un producto de calidad.

Ecuación 4. *Costos primos.*

$$\text{Total de Egresos} = \text{Costos variables} + \text{Costos fijos} \quad (\text{Ec.04})$$

3.8. Recursos humanos y materiales.

3.8.1. Recursos humanos.

Las personas que contribuye en el proyecto de investigación se nombran a continuación:

- Director del proyecto de investigación Ing. Vera Chang Jaime Fabián M. Sc.
- Autora de la investigación Srta. Arelis Elizabeth Gaibor Ramón.

3.8.2. Recursos materiales.

- Línea Híbridas de cacao Trinitario X Nacional
- Exógena de *Rhizobium japonicum*
- Micro fermentación (cajones de Guayacán blanco)
- Termómetro
- Equipo de laboratorio
- Equipo de cadmio
- Guillotina
- Balanza analítica
- Brixómetro (ATAGO modelo N-1 α)
- pH-metro
- Molino

3.8.3. Materiales de oficina

- Calculadora
- Libro de campo
- Carpeta
- Hojas A4
- Lápiz
- Esferos
- Laptop
- Impresora

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Análisis físicos – química de la almendra de cacao en el proceso de fermentación.

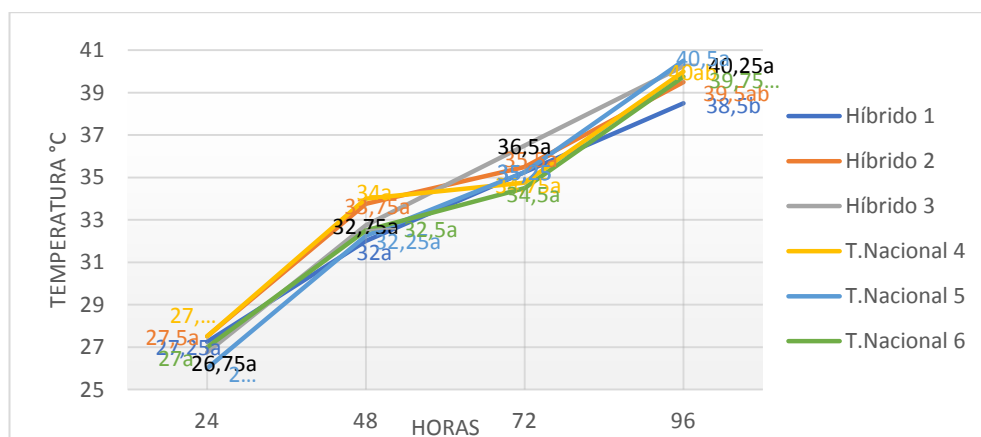
4.1.1. Análisis de tiempo y temperaturas de la fermentación de cacao.

Se evidencia que existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la temperatura registrada por los tratamientos evaluados durante las 96 horas de fermentación, no obstante, en las primeras horas de fermentación 24, 48 y 72 horas no demostró diferencia significativa. A las 24 horas de fermentación el T2 y T4 presentaron la temperatura más alta (27.50°C), mientras que el T5 fue la temperatura mínima de (26.00°C). A las 48 horas el tratamiento T4 obtuvo la mayor temperatura registrada con (34.00°C), y el T2 (33.75°C). A las 72 horas el T obtuvo la mayor temperatura con (36.50°C), mientras que el T6 tiene una temperatura de mínima de (34.50°C). A las 96 horas se observó que alcanzó una temperatura de (40.50°C) el T5 y una mínima de T1 de (38.50°C), mostrando la muerte del embrión al momento de partir 5 almendras de cada tratamiento fermentado. Estos valores pueden observarse en la gráfica 1.

Según Ortiz de Bertorelli *et al.* (65), las remociones que se realizan en la masa de cacao ayuda a la fermentación y aumentar el proceso de la aireación de la masa, favoreciendo el desarrollo de microorganismo aeróbicos, lo que generan las reacciones exotérmicas ocasionando el aumento rápido de temperatura y la muerte de los cotiledones.

Braudeau (1970) señaló que el aumento de la temperatura era responsable, por una parte, de la muerte del embrión y del inicio de las reacciones enzimáticas en los tejidos del cotiledón, dando origen a los precursores de sabor y aroma a chocolate (66).

Gráfica 1. Promedio tiempo temperatura de la fermentación de cacao. La Represa. UTEQ 2021.



Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

4.1.2. Análisis de pH.

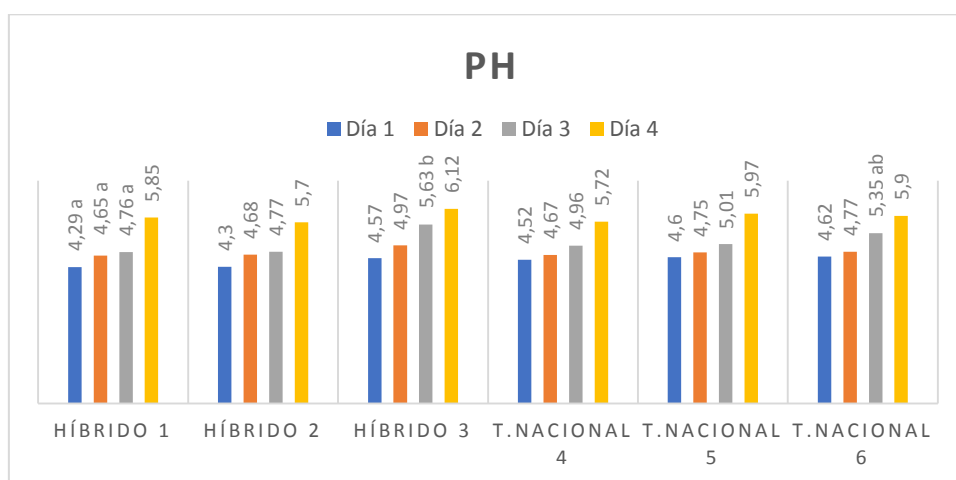
En la gráfica 2 se detalla los días que se realizó la toma de pH con una inducción de *Rhizobium japonicum*, en diferentes proporciones en masa fermentativa, la cual se aplicó una prueba de Tukey ($p \leq 0,05$), mostrando significancia estadística en el día 3 en los tratamientos, teniendo en el T1 (Híbridos sin inducción) con 4.76, T2 (Híbrido con inducción de Rj. 3%) con 4.77, T3 (Híbrido con inducción de Rj. 5%) con 5.63, T4 (Nacional sin inducción) con 4.96, T5 (Nacional con inducción de Rj.3%) con 5.01 y T6 (Nacional con inducción de Rj. 5%) con 5.35.

El pH final de las variedades de los híbridos (Trinitario X Nacional) fue de acuerdo al tratamiento T1 con 5.85, T2 con 5.7 y T3 con 6.12, para la variedad de Nacional que lo utilizamos como testigo fue del T4 con 5.72, T5 con 5.97 y T6 con 5.9; siendo comparado con lo reportado por Álvarez, 2010 presentando un promedio de pH de 5.37. Notando que no presenta alteración por la presencia de *Rhizobium japonicum* (66).

Según Criollo *et al.* el pH de las almendras el ascenso se genera debido a la desasimilación del ácido cítrico por parte de los microorganismos y el descenso a la conversión del etanol a ácido acético, dándose un cambio en la semilla de compuesto de la testa al cotiledón (67).

El cadmio aumenta a valores de pH bajos. Esto es lógico porque la solubilidad en agua de los metales aumenta a dicho pH (68)

Gráfica 2. Promedio de la determinación de pH. La Represa. UTEQ 2021.



Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

4.1.3. Prueba de corte de las almendras de cacao.

En la tabla 8. Se representa el análisis de prueba de corte de las almendras fermentado. Para este análisis se realizó un conteo de 100 almendras de cacao por cada tratamiento con diferentes proporciones de *Rhizobium japonicum*, posteriormente se realizó un corte longitudinal, rigiéndose bajo la norma técnica para fermentación de cacao INEN 176:2018. Se observó que existe diferencia significativa en el grado de fermentación en los granos que fueron elegidos.

Almendras fermentación total

En la tabla 8 se observa que la variable a estudiar presento diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos, detallando que el T5 con 77.75 seguido del T6 con 68.50 y por último teniendo con menor valor el T4 con 54.75; presentando un promedio general de 65.92 y un coeficiente de variación de 8.67%.

Según la norma INEN 176, para considerar una buena fermentación total en las almendras debe tener un mínimo de 65% para el cacao CCN-51 y un 75% en el cacao A.S.S.P.S.(42).

Almendras violetas

En la tabla 8 la variable de las almendras violetas presento diferencia ($p \leq 0.05$), siendo el mayor índice de almendras con principal violeta es el T4 con 44.75 seguido del T2 con 35.00 y con menor resultados tenemos el T5 con 21.75. Se detalló un promedio general de 33.10 y un coeficiente de variación de 17.44%.

(Sánchez, 2007), indica que los defectos de la almendra se deben al comportamiento de la fermentación total, en otras palabras, mientras más fermentación total menos almendras violetas, lo que su sabor es astringente (69).

En otra parte La Norma INEN 176 indicar los defectos de la almendra violeta se debe al mal manejo durante la fermentación y no debe superar el 17% cacao CCN-51 (42).

Almendras pizarras

Para la presente variable no registró diferencia significativa ($p \leq 0.05$), entre los tratamientos a estudios con presencia de mayor almendras pizarra fue el T2 con 2.25 seguido del T1 con 1.25 Con una especificación general de 1.00 y un coeficiente de variación de 83.33%.

La Norma INEN 176 detalla que las almendras pizarras no debe superar al 5% según el tipo de cacao CCN-51 (70).

Tabla 9. Análisis de Prueba de corte de las almendras fermentados. La Represa. UTEQ 2021.

Variedad	T. Fermentados	Violeta	Pizarro	Catalogación de cacao	
	1	65.75abc	33.00abc	1.25a	C.S.C
Híbridos	2	62.75bc	35.00 bc	2.25a	C.S.C
	3	66.00abc	33.50abc	0.50a	C.S.C
Testigos (Nacional)	4	54,75c	44,75c	0.50a	A.S.E
	5	77.75a	21.75a	0.50a	A.S.S.S
	6	68.50ab	30.59ab	1.00a	A.S.S
Promedio		65.92	33.10	1.00	
CV		8.67	17.44	83.33	

Medidas con letras común no son significativamente diferentes test de Turkey ($P < 0.05$).

A.S.S.S. =Arriba Superior Sumen Selecto.

A.S.S. =Arriba Superior Selecto.

A.S.E. =Arriba Superior Época.

C.S.C. =Cacao Superior Corriente

C.V. =Coeficiente de variación.

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

Testa.

En la tabla 9 se observa que no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el porcentaje de testa, sin embargo, el T1 con 15.65 presento mayor porcentaje seguido de T4 Y T6 teniendo 15.50 el promedio general es 14,99 y con un coeficiente de variación de 10.61.

Los resultados son inferiores comparando a Vera *et al.* teniendo un valor promedio de 18.92, se puede decir que la presencia de *Rhizobium* en el proceso de fermentación disminuye cantidad de cascarilla en la almendra (71).

(Andrade, *et al.* 2019), detalla que el porcentaje de testa en la variedad de cacao Nacional va de un valor 16.19 ± 0.49 y del CNN 51 un valor de $12.33 \pm 0.34\%$; observando que mientras sea grande el grano mayor cantidad de testa presentara (18).

Índice de semilla

En la tabla 9 se observa que existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el Índice de semilla entre los tratamientos aplicados, el mayor tratamiento obtuvo el T6 (Nacional con inducción del 5% Rj.) con 1.46 g., y como mínimo tenemos al T1 (Híbridos sin inducción) con 1.32 g. Su promedio general es 1.40 g con un coeficiente de variación de 4.12%.

Los resultados son mayores comparados a Vera et al. de los datos reales con un rango de 1.04 a 1.19g. quien indica que los valores con amplitud que varían entre 0.76 y 1.19 teniendo un valor promedio de 1.32 g (71). El rendimiento en el IS es clave para el mejoramiento, se encuentra relacionado con los requerimientos de calidad física según INNEN 176 (72).

Tabla 10. Promedios de los análisis de prueba de Testa, prueba de Índice de semilla. La Represa. UTEQ 2021

Variedad	T.	%Testa	IS
Híbridos	1	15.65a	1.32 a
	2	13.33a	1.41 ab
	3	15.15a	1.40 ab
	4	15.50a	1.43 ab
Testigos (Nacional)	5	14.83a	1.39 ab
	6	15.50a	1.46 b
Promedio		14.99	1.40
CV (%)		10.61	4.12

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

C.V =Coeficiente de variación.

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

4.1.4. Cadmio.

En la tabla 10 se puede observar claramente que la presencia de *Rhizobium japonicum* en la fase de la fermentación con la cantidad de 0, 3 y 5% colocado a 2kg de masa fermentativo se presencia una pequeña disminución de Cd, de 0,01mg/kg del tratamiento R1I0 (testigo híbrida) al R2I0 Y R3I0, mientras en el nacional se notó que dependiendo a la cantidad de *Rhizobium japonicum* presento una disminución de hasta 0,02mg/kg, correspondiente del I1N0 (testigo nacional) a diferencia del I3N0.

Según Casteblanco, 2018, ha demostrado técnicas con fitoremediación y bioremediación (microorganismos), ha demostrado una disminución de cadmio y plomo en las plantaciones de cacao (73).

Tabla 11. Resultado de cadmio. La Represa. UTEQ 2021.

Código de muestra	Resultado mg/kg	Incert.	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	LMR UE* mg/kg
R1I0	0.37	±0.03	0.006	0.10	0.8
R2I0	0.36	±0.03	0.006	0.10	0.8
R3I0	0.36	±0.03	0.006	0.10	0.8
I1N0	0.37	±0.03	0.006	0.10	0.8
I2N0	0.36	±0.03	0.006	0.10	0.8
I3N0	0.35	±0.03	0.006	0.10	0.8

ND=No Detectable LOD=Límite de Detección LOQ=Límite de Cuantificación

Incert.=Incertidumbre LPM=Límite Máximo Permisible.

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

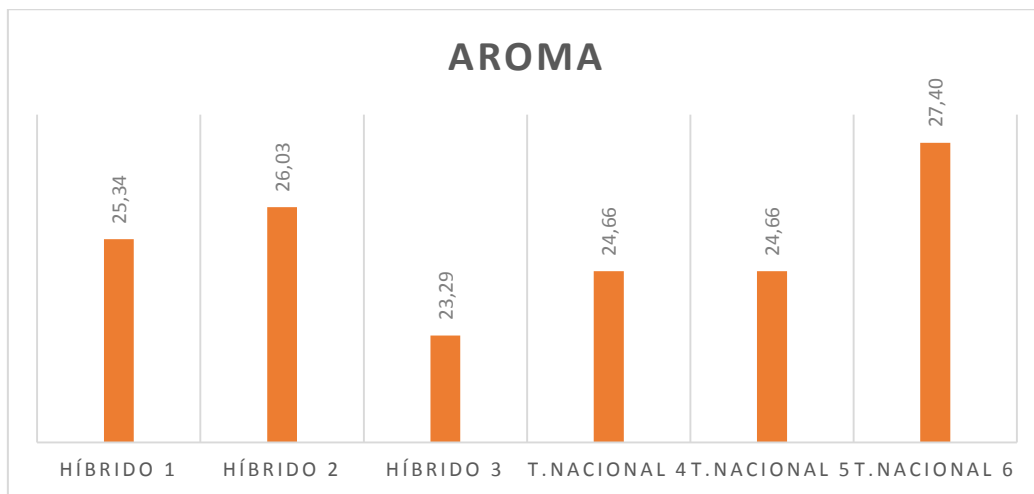
4.1.5. Análisis sensorial de la pasta de cacao.

Se realizó un análisis sensorial para poder determinar las características sensoriales de seis muestras con adición de *Rhizobium japonicum*, con cuatros días de fermentación con su respectivo testigo. Los caracteres que se van a evaluar se basan a una calificación que va desde 0= ausencia hasta 5= muy dominante. Los valores se detallan en la gráfica 3 y 4.

Aroma

En la gráfica 3 se detalla los resultados adquiridos, el cual nos indica que el T6 presenta mayor aceptabilidad con un 27.40% teniendo presente que este tratamiento supera a su testigo siendo de 24.66%, seguido de T2 que presento un 26.03% de igual manera siendo mejor aceptado que su testigo que es de 25.34%.

Gráfica 3. Resultado de aceptabilidad de la pasta de cacao.



Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

Sabor

Los resultados obtenidos de los perfiles de sabores básicos se detallan de la Gráfica 4, nos indica que el Tratamiento con menor intensidad de acidez es del T6 con un 0.2, seguido del T1 y T4 con un 0.3 lo cual son testigos. Respectivamente al sabor amargo, la muestra T5 con 2.9, con mayor amargor presenta el T6 con 4; mientras que sabor a cacao con mayor aceptación es T5 con 5.9 seguido del T6 y T2 con 3.7.

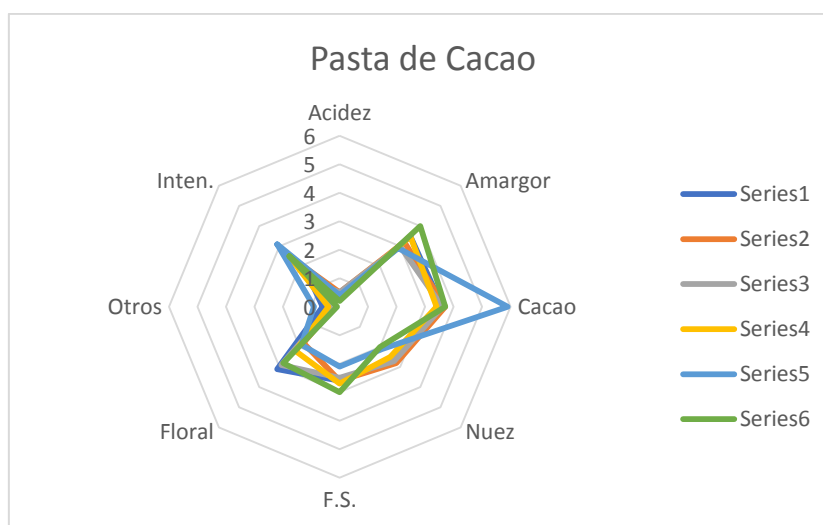
La intensidad del sabor nuez, frutos secos y floral presenta una valoración menos de 3, al igual al ítem de otros sabores (quemado) que se puede detallar en la gráfica 4.

Por último, el tratamiento con mayor intensidad degustación es el T5 con 3.1 seguido del T4 con 2.6, T6 y T2 con 2.5 de la pasta de cacao.

De acuerdo a los resultados adquiridos de los sabores según Morales Rodríguez *et al* con presencia de enzimas polifenol oxidasa con una fermentación de siete días brinda mejoría en los sabores (acidez, amargor, astringencia, floral, frutal y nuez) y una aceptabilidad en relación al aroma; a pesar de no llegar a las características sensorial del cacao Nacional (74).

Guevara, detalla que las muestras que provienen de mejor calidad fermentativa demostraron una expresión intensa de sabor a cacao y otras notas sensoriales típicas del cacao fino o de aroma como sabor frutal, arriba o nuez, además que los atributos negativos del sabor a cacao que pertenecen al amargor, acidez y astringencia, se pronunciaron como consecuencia de una mala fermentación (75).

Gráfica 4. Perfiles de sabores de la pasta de cacao.



Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

4.1.6. Análisis económico.

En la tabla 11 se muestra los resultados económicos de las fases de la postcosecha del cacao, donde determinamos que el mayor costo de los tratamientos es del T3 y T6 con un costo de 26.11 USD y el menor costo de los tratamientos es de los testigos que no se aplicó los *Rhizobium japonicum*. Existe pequeñas diferencias porque el tratamiento que se aplica el microorganismo es el de costo más elevado en los tratamientos.

Tabla 12. Valores Registrado del Análisis económico de la pasta de cacao.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
COSTOS VARIABLES						
LABORES CULTURALES	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06
MATERIA PRIMA	0	1.44	2.88	0	1.44	2.88
MANO DE OBRA DIRECTA	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
COSTOS INDIRECTOS	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11
COSTOS FIJOS	11,06	11,06	11,06	11,06	11,06	11,06
TOTAL, DE EGRESOS	23.23	24.67	26.11	23.23	24.67	26.11

Elaborado por: Gaibor, A. 2021.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

A continuación, se concluye los siguientes:

- En relación a los parámetros físicos químicos de la % de testa e I.S, se vio favorable el T2 y T5 con un a inducción de 3% de *Rhizobium japonicum* dando unos buenos resultados; se observó una buena fermentación al 3% en el T5 con 77.75% seguido del tratamiento con aplicación del *Rhizobium japonicum* con 5%, que encontramos al T6 con 68.50% y T3 con 66.00% de buena fermentación logrando alcanzar los parámetros de aceptabilidad que rigen las normas INEN:176 que acepta u mínimo de 65% en CCN-51.
- Se observó que la inducción de *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa de cacao con una cantidad de 5% presento disminución de cadmio de 0.01 mg/kg en el T3 y de 0.02 mg/kg en el T6 seguido del demás tratamiento de acuerdo a los testigos evaluados.
- Se determina que T6 (Nacional con inducción de *Rhizobium japonicum* 5%) con 27.40% y T2 (Híbrido con inducción de *Rhizobium japonicum*.3%) con 26.03% son lo más aceptado en el aroma y presenta menor acidez, un adecuado amargor y destacando el aroma floral de cacao, acercándose a las características del cacao.
- Los costos determinados en la aplicación de *Rhizobium japonicum* en los tratamientos fue de 24.67 USD en la aplicación de 3% y de 26.11 USD en la aplicación de 5%.

5.2. Recomendaciones.

- Se recomienda evaluar mayor dosis de *Rhizobium japonicum* con el fin de disminuir el cadmio y a su vez seguir detallando si sus características organolépticas cambian.
- Se recomienda realizar un análisis de toxicidad a la pasta de cacao a futuras investigaciones con respecto al microorganismo *Rhizobium japonicum*.
- Investigar diferentes fuentes para la obtención de *Rhizobium japonicum*, determinando cuál sería la más apropiada.
- Al momento de aplicar el *Rhizobium japonicum* se puede hacer con diluciones para ver si se puede abaratar los costos de los tratamientos.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

1. CEPAL. Diagnóstico de la Cadena Productiva del Cacao en el Ecuador. Resum Elabor por la Secr Técnica del Com Interinstitucional para el cambio la matriz Product - Vicepresidencia del Ecuador [Internet]. 2013;10 pp. Available from: <https://www.vicepresidencia.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Resumen-Cadena-de-Cacao-rev.pdf>
2. Contreras C, Ortiz de Bertorelli L, Graziani de Fariñas L, Parra P. Fermentadores para cacao usados por los productores de la localidad de Cumboto, Venezuela. *Agron Trop* [Internet]. 2004 [cited 2020 Dec 2];54(2):219–32. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
3. Ortiz de Bertorelli L, Rovedas L G, Graziani de Fariñas L. Influencia de varios factores sobre índices físicos del grano de cacao en fermentación. *Agron Trop* [Internet]. 2009 [cited 2020 Dec 2];59(1):81–8. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
4. Rodriguez Campo J, Escalona Buendía H, Orozo Avila I, Lugo Cervantes E, Jaramillo Flores M. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *FRIN* [Internet]. 2011;44(1):250–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.028>
5. Vázquez A, Ovando I, A L, Betancur D, Salvador M. Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Arch Latinoam Nutr* [Internet]. 2016 [cited 2020 Dec 2];65(3):239–54. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222016000300010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Gutiérrez Seijas M. Efecto de la frecuencia de remoción y tiempo de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Rev científico UDO Agrícola*. 2012;12(4):914–8.
7. ANECACAO. Tradición e innovación. 2019;18:32. Available from: <http://www.anecacao.com/uploads/magazine/revista-anecacao-ed-18.pdf>
8. Graziani de Fariñas L, Ortiz de Bertorelli L, Alvarez N, Trujillo de Leal A. Fermentación del cacao en dos diseños de cajas de madera. *Agron Trop* [Internet]. 2003 [cited 2020 Nov 30];53(2):175–88. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2003000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
9. Meter A, Atkinson R, LAbiberte B. Cadmio en el cacao de America Latina y el Caribe. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2019. 1689–1699 p.
10. Teneda Llerena WF. Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Univ Int Andalucía*. 2016;140.
11. Jiménez Tobón CS. Estado legal mundial del cadmio en cacao (*Theobroma cacao*): fantasía o realidad. *Prod + Limpia*. 2015;10(1):89–104.
12. Lopez A, Hoyos J, Coronado E. Determinación del contenido de Cadmio (Cd) en almendras de Cacao (*Theobroma cacao* l) cultivado bajo tres sistemas de manejo

- en San Alejandro-region Ucayali. Univ Nac Ucayali [Internet]. 2018;(Cd):1–11. Available from: <http://181.176.160.68/handle/UNU/3926>
13. Díaz Ubilla LE, Mendoza Hidalgo E, Bravo Bustamante M, Domínguez Vergara N. Determinación de Cadmio y Plomo en almendras de cacao (*Theobroma cacao*), proveniente de fincas de productores orgánicos del cantón Vinces. *Espirales* [Internet]. 2018;2(15):77–92. Available from: <https://www.revistaespirales.com/index.php/es/article/view/213/160#:~:text=Según la FAO%2FWHO.,Pb en almendras de cacao.>
 14. Moreira IM da V, Miguel MG da CP, Duarte WF, Dias DR, Schwan RF. Microbial succession and the dynamics of metabolites and sugars during the fermentation of three different cocoa (*Theobroma cacao* L.) hybrids. *Food Res Int*. 2013 Nov 1;54(1):9–17.
 15. Davila M, Sangronis E, Granito M. Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *Arch Latinoam Nutr* [Internet]. 2003;53(4). Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400003&lng=es.](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400003&lng=es)
 16. Ahemad M, Kibret M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Vol. 26, *Journal of King Saud University - Science*. Elsevier; 2014. p. 1–20.
 17. Chavez E, He Z, Stoffella P, Mylavarapu R, Li Y, Baligar V. Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*. 2016;150:57–62.
 18. Andrade, Rivera, Chire U. Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú. *Enfoque UTE*. 2019;10(4):1–12.
 19. Vera Chang J, Ramos Remache R, Sánchez Mora F, Vera, Chévez H, Veliz Apolo V, Pinargote Alava J. Caracterización física y sensorial de treinta materiales élites de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la cuenca alta de río Guayas – Ecuador. *Conamti* [Internet]. 2018;5(22):115–24. Available from: http://187.217.95.42/conamti/descargas/2018/26_Vera_et_al_2018.pdf
 20. Osorio MA, Leiva EI, Ramírez R. Crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en diferentes tamaños de contenedor. *Rev Ciencias Agrícolas*. 2017;34(2):73–82.
 21. El Salous A, Martillo García J, Gómez Vargas J, Martínez Alcivar F. Mejoramiento de la calidad del cultivo de cacao en Ecuador. *Rev Venez Gerenc*. 2020;25(3).
 22. Rondón J. & CL. Revisión taxonómica del género *Theobroma* (Sterculiaceae) en Venezuela. *Acta Botánica Venez* [Internet]. 2005;1(28):113–33. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/862/86228107.pdf>
 23. Graziani de Fariñas L, Ortiz de Bertorelli L, Angulo J, Parra P. Características físicas del fruto de cacao tipos criollo, forastero y trinitario de la localidad de Cumboto, Venezuela [Internet]. Vol. 52, *Agronomía Tropical*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA); 2002 [cited 2020 Dec 14]. 343–362 p. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-

24. Gonzalez CE. Evaluación de la concentración mínima aceptable e identificación de metales pesados en el grano de cacao del Ecuador [Internet]. Utmach. 2017. Available from: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7751/1/Muñoz.pdf>
25. Domínguez-Pérez LA, Beltrán-Barrientos LM, González-Córdova AF, Hernández-Mendoza A, Vallejo-Cordoba B. Artisanal cocoa bean fermentation: From cocoa bean proteins to bioactive peptides with potential health benefits. *J Funct Foods* [Internet]. 2020;73(May):104134. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104134>
26. Garzaro D. THEOBROMA CACAOL.: Un nuevo enfoque THEOBROMA. 2014;(January 1998).
27. 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.
28. Arvelo Sánchez MA, González León D, Maroto Arce S, Delgado López T, Montoya López P. Manual técnico del cultivo de cacao Buenas prácticas para América Latina. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 2017. 143 p.
29. Anacafé. Cultivo de cacao. Programa De Diversificación De Ingresos En La Empresa Cafetalera. Anal pendapatan dan tingkat Kesejaht rumah tangga petani. 2013;53(9):1689–99.
30. Castro-Alayo E, Idrogo-Vásquez G, Siche R, Cardenas-Toro F. Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa. Vol. 5, *Heliyon*. Elsevier Ltd; 2019. p. e01157.
31. Durán E, Dubón A. Tipos genéticos de cacao y distribución geográfica en Honduras. 2016;4–6.
32. Quinga E. Estudio de caso: denominacion de origen “cacao arriba.” FAO. 2007;
33. Enríquez G. Curso sobre el cultivo del cacao [Internet]. Costa Rica; 1985. 24 p. Available from: <https://books.google.es/books?id=eZgOAQAIAAJ&lpg=PA5&ots=IroR43Uj2N&dq=cacao&lr&hl=es&pg=PP1#v=onepage&q=cacao&f=false>
34. Doria J. Generalidades Sobre Las Semillas: Su Producción, Conservación Y Almacenamiento. *Cultiv Trop.* 2010;31(1):00–00.
35. López-Navarrete M, Hernández-Gómez E. El proceso de fermentado del cacao (*Theobroma cacao L.*). *Inst Nac Investig For Agrícolas y Pecu.* 2010;20–4.
36. Quevedo Guerrero JN, Romero López JA, Tuz Guncay IG. Calidad físico química y sensorial de granos y licor de cacao (*Theobroma CacaoL.*) Usando cinco métodos de fermentación. *Agroecosistemas* [Internet]. 2018;6(1):115–27. Available from: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>.
37. Moreno & Sánchez. Beneficio del cacao. *Fund Hondureña Investig Agrícolas* [Internet]. 1989;Fascículo(Nº 6):26. Available from:

https://www.academia.edu/11178170/Beneficio_del_Cacao

38. Portillo, Graziani de Fariñas L, Cros E. Efecto de algunos factores post-cosecha sobre la calidad sensorial del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) [Internet]. Vol. 23, Revista de la Facultad de Agronomía. 2000. Universidad del Zulia; 2006 [cited 2020 Dec 14]. 51–59 p. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182006000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
39. Torres O, Graziani de Fariñas L, Ortiz de Bertorelli L, Trujillo A. Efecto del tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la maxorca del cacao tipo forestero de Guyagua sobre características del grano en fermentación. *Agron Trop*. 2004;54(4):481–95.
40. Jiménez J, Amores F. CLASIFICACIÓN DE ALMENDRAS DE CACAO POR EL GRADO DE FERMENTACIÓN. INIAP. 2008.
41. García, Virgilio; García, Omar; Quispe, Miguel; Tuesta, Kandy; Medina J, Reyes De la O, Celmer; Caysahuana A. Manual de proceso de calidad de cacao fino de aroma. Lima Escorpio MP SAC. 2016;
42. INEN. Servicio Ecuatoriano de Normalización. Reseña Histórica. 2019;
43. El Salous A. Acceleration of cocoa fermentation through the action of bacteria (*Acetobacter aceti*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Espirakes* [Internet]. 2019;3(28). Available from: <https://www.revistaespirales.com/index.php/es/article/view/572/html>
44. Suárez Machín C, Garrido Carralero N, Guevara Rodríguez A. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA Sobre los Deriv la Caña Azúcar*. 2016;50(1):20–8.
45. Mejía-Reyes JD, Coronel-Niño R, Gálvez-López D, Rosas-Quijano R, Vázquez-Ovando A. Efecto de la fermentación y del tostado sobre el contenido de aminos biogénicos en semillas de cacao. *Inst Biociencias* [Internet]. 2018;3(12):958–79. Available from: <https://revistas.proeditio.com/jonnpr/article/view/2778/html2778>
46. Otárola A. Universidad Nacional Vicerrectorado de "EFECTO DE LA ENZIMA PECTOLÍTICA Y LEVADURA (*Saccharomyces*). 2018.
47. Cuadrado B, Rubio G, Santos W. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de fríjol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. *Rev Colomb Ciencias Químico - Farm*. 2009;38(1):78–104.
48. Corbera J, Nápoles M. EVALUACIÓN DE LA INOCULACIÓN CONJUNTA *Bradyrhizobium japonicum*–HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y LA APLICACIÓN DE UN BIOESTIMULADOR DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN SOYA CULTIVADA EN ÉPOCA DE INVIERNO. *Cultiv Trop* [Internet]. 2010;31(4). Available from: <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
49. Rodríguez Saldaña DF. Uso de enzimas: consideraciones prácticas y su influencia en los costos de producción del alimento en Ecuador. XVIII Semin Int Avic AMEVEA-E 2016. 2016;(September 2016):1–19.

50. Rojo Rubio R, Mendoza Martinez G, Montañez Valdez O, Rebollar Rebollar S, Cardoso Jiménez D, Hernández Martínez J, et al. ENZIMAS AMILOLÍTICAS EXÓGENAS EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES Exogenous amylolytic enzymes in the feeding of ruminant feeders. 2007;23(2):173–82.
51. Quintero ML, Díaz Morales KM. El mercado mundial del cacao. Agroalimentaria [Internet]. 2004 [cited 2020 Dec 17];9(18):47–59. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-03542004000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
52. NESTLE. El plan de cacao, producción social y ambientalmente responsable. [Internet]. 2011. Available from: <https://www.nestle.com.ec/es/csv/iniciativas-globales/iniciativa-global-youth/desarrollorural/plancacao>
53. Córdova R. Automatización de un sistema de fermentación de almendra de cacao (*Theobroma cacao* L.) para pequeños productores. Córdoba Rosa [Internet]. 2019;7(2):79. Available from: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/287/310>
54. 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.
55. Covarrubias SA, García Berumen JA, Peña Cabriales JJ. El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Acta Univ. 2015;25(NE-3):40–5.
56. Pérez García PE, Azcona Cruz MI. Los efectos del cadmio en la salud. Rev Espec Médico-Quirúrgicas. 2012;17(3):199–205.
57. Ramírez A. TOXICOLOGIA DEL CADMIO CONCEPTOS ACTUALES PARA EVALUAR EXPOSICION AMBIENTAL U OCUPACIONAL CON INDICADORES BIOLOGICOS. Fac Med Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2002;63(1):51–64. Available from: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v63_n1/toxicologia.htm
58. European Food Safety Authority. Cadmium in food: Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. EFSA. 2011;9(2):19.
59. Ozawa T, Ijiri K. Inhibitory effect of cadmium on competitive nodulation ability of *Bradyrhizobium japonicum*. Bull Hiroshima Inst Tech Res [Internet]. 2015;49:27–33. Available from: <http://ci.nii.ac.jp/naid/120005550374/en/>
60. Valencia R, Gómez L. Caracterización molecular de las cepas de *Bradyrhizobium japonicum* protocolos rep-PCR. Corpoica - Cienc y Tecnol Agropecu. 2012;13(2):196–200.
61. Mendoza E. “INFLUENCIA DE LA MADERA BLANCA (Pino, Laurel, Guayacán blanco) EN LA CALIDAD DE FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) DE ORIGEN FORASTERO Y NACIONAL.” 2020.
62. Google Maps. Finca Experimental La María (Universidad Técnica Estatal de Quevedo) [Internet]. 2021. Available from: [https://www.google.com.ec/maps/place/Finca+Experimental+La+María+\(Universidad+Técnica+Estatal+de+Quevedo\)/@-1.0819847,-](https://www.google.com.ec/maps/place/Finca+Experimental+La+María+(Universidad+Técnica+Estatal+de+Quevedo)/@-1.0819847,-)

79.493853,1567m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x902b51084d7ab623:0x6bcc71baac287771!8m2!3d-1.0803164!4d-79.5014544

63. Vera Chang J. Resumen de principios de diseños experimentales [Internet]. 2018. 102 p. Available from:
<http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3764/1/1.pdf>
64. Europea D oficial de la U. REGLAMENTO (UE) N° 488/2014 DE LA COMISIÓN Statement on tolerable weekly intake for cadmium. EFSA J. 2014;9(2):10–4.
65. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela) L, Instituto Nacional de Agricultura (Venezuela) L, Centro de Investigaciones Agronómicas (Venezuela) G, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela). Agronomía tropical : revista del Instituto Nacional de Agricultura. [Internet]. Vol. 59, Agronomía Tropical. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA); 2009 [cited 2021 Apr 1]. 119–127 p. Available from:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
66. Álvarez C, Tovar L, García H, Morillo F, Sánchez P, Girón C, et al. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. UDO Agrícola. 2010;10(1):76–86.
67. Criollo J, Criollo D, Sandoval A. Fermentación de la almendra de copoazú (*Theobroma grandiflorum*[Willd. ex Spreng.] Schum.): evaluación y optimización del proceso. Corpoica Cienc y Tecnol Agorpecuaria [Internet]. 2010;11(2):107–15. Available from:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945029001>
68. Florida Rofner N, Claudio Melchor SL, Gómez R. EL pH Y LA ABSORCIÓN DE CADMIO EN ALMENDRAS DE CACAO ORGÁNICO (*Theobroma cacao* L.) EN LEONCIO PRADO, HUÁNUCO, PERU. Folia Amaz. 2019;27(1):1–8.
69. Sánchez V. Caracterización organoléptica del cacao(*Theobromacacao*L.), para la selección de árboles con perfiles de sabor de interés comercial. [Quevedo]: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO ; 2007.
70. INEN. NTE INEN 0176: Cacao en grano. Requisitos. 2006.
71. Vera J, Vallejo C, Párraga D, Morales W, Macías J, Ramos R. Atributos físico-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* l.) en el Ecuador. ARTÍCULO CIENTÍFICO en Cienc y Tecnol . 2014 Sep 26;7(2):21–34.
72. 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.
73. Castebianco JA. Heavy metals remediation with potential application in cocoa cultivation. Granja. 2018 Mar 1;27(1):21–35.
74. Morales Rodríguez W, Vallejo Torres C, Sinche Bósquez P, Guiselli Torres Navarrete, Fabián Vera Chang J, Anzules Cedeño E, et al. 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. Amaz Cienc y Technol. 2016 Nov 11;5(2):169–81.

75. Guevara Pérez K. “ADICIÓN DE ENZIMAS Y LEVADURAS SOBRE LOS CAMBIOS QUÍMICOS Y ORGANOLÉPTICOS DEL CACAO (*Theobroma cacao* L) CLÓN CCN-51.” A. [Quevedo]: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO; 2017.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Cosecha del cacao.

Ilustración 2. *Recolección de cacao.*



Ilustración 3. *Zona de cosecha de híbridos*



Anexo 2. Proceso de fermentación.

Ilustración 4. *Toma de temperatura de la fermentación.*



Ilustración 5. *Remoción de las almendras de cacao en fermentación.*



Anexo 3. Análisis físico químico.

Ilustración 6. Medición de los granos del cacao



Ilustración 7. Toma de pH en el cacao.



Ilustración 8. Peso del grano de cacao.



Ilustración 9. Determinación de °Brix del grano del cacao.



Anexo 4. Proceso para la obtención de la pasta de cacao.

Ilustración 10. *Secado del Cacao.*



Ilustración 11. *Prueba de corte.*



Ilustración 12. *Proceso de descascarillado.*



Ilustración 13. *Proceso de refinación de la pasta de cacao.*



Ilustración 14. *Pasta de cacao.*



Ilustración 15. *Envoltura de la pasta de cacao.*



Ilustración 16. *Prueba sensorial.*



Anexo 5. Formulario para análisis organoléptico de pasta de cacao.



ANÁLISIS SENSORIAL DE CACAO

FICHA DE CATACIÓN

FECHA: _____

Nº DE CATADOR: _____

NOMBRE: _____

Tipo de muestra: Pasta de cacao

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.



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.	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).	0	1	2	3	4	5											
Pos gusto		0	1	2	3	4	5											
COMENTARIOS:		PUNTAJE FINAL:																
ESCALA DE INTENSIDAD 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.																
ESCALA DE CALIDAD <table border="1"> <tr> <td>0</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>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 6. Resultados de la determinación de Cadmio.

LABORATORIO WSS
WORLD SURVEY SERVICES ECUADOR S.A.



Página 1 de 1
 R-LS-15 Rev 13 / 22.02.2020



INFORME DE ENSAYO N° 2236-21

Número de OT : 41420
 Cliente : ARELIS ELIZABETH GAIBOR RAMON
 Dirección : QUEVEDO S/S
 Nombre, número o correo de contacto : ARELIS GAIBOR / 0988485490 / Arelis.gaibor2016@uteq.edu.ec
 Laboratorio : Aguas
 Tipo de Muestra : Almendra de Cacao
 Origen de Muestra : Muestra proporcionada por el cliente
 Temperatura de recepción : 23,6 °C
 Tipo de envase : Funda Plástica
 Cantidad de Muestra : 400 g
 Hora Recepción : 10:30
 Fecha de recepción : 15/03/2021
 Fecha Inicio de Ensayo : 15/03/2021
 Fecha Término de Ensayo : 22/03/2021

RESULTADOS DE ANÁLISIS

Código de muestra	Ensayo	Resultado mg/kg	Incert.	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	LMR UE* mg/kg	Metodología
2567	CADMIO	0,37	±0,03	0,006	0,10	0,8	DETERMINACIÓN 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 Cocos, Semifinished and Finishes Chocolate Products – Pertanika Vol 8 -1985 / Determinación de Cadmio en chocolate por horno de grafito- Thermo Scientific 2010 / Determinación de Cadmio en Cacao Chocolate ISSN 1909-8637 /2016
2568	CADMIO	0,36	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2569	CADMIO	0,36	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2570	CADMIO	0,37	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2571	CADMIO	0,36	±0,03	0,006	0,10	0,8	
2572	CADMIO	0,35	±0,03	0,006	0,10	0,8	

Comentarios:

2567= ALMENDRA DE CACAO – A1 R1
 2568= ALMENDRA DE CACAO – A2 R3
 2569= ALMENDRA DE CACAO – A3 R3
 2570= ALMENDRA DE CACAO – A4 R3
 2571= ALMENDRA DE CACAO – A5 R3
 2572= ALMENDRA DE CACAO – A6 R3

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
 ND= no detectable
 LOD= Limite de Detección LOQ= Limite de Cuantificación Incert.=Incertidumbre LMP= Limite Máximo Permisible

Guayaquil, 22 de Marzo del 2021

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



OFICINAS ADMINISTRATIVAS Y COMERCIAL: Av. Francisco de Orellana Edificio World Trade Center Torre B Piso 3 Of. 323 Phone: 593-4-2630234 - 2630233
 LABORATORIO: Av. de las Américas 1608 y Av. Plaza Dañin - e-mail: wss@wss.ec
 www.wss.ec - Guayaquil - Ecuador

Anexo 7. Análisis de la varianza

ANÁLISIS DE LA VARIANZA DEL GRADO BRIX

1 Día

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
1 Día	24	0,35	0,17	3,33	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,41	5	0,28	1,94	0,1372
T	1,41	5	0,28	1,94	0,1372
Error	2,62	18	0,15		
Total	4,04	23			

2 Días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
2 Días	24	0,42	0,26	5,19	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,34	5	0,87	2,63	0,0594
T	4,34	5	0,87	2,63	0,0594
Error	5,94	18	0,33		
Total	10,28	23			

3 Días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
3 Días	24	0,62	0,52	5,66	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,41	5	2,08	5,91	0,0021
T	10,41	5	2,08	5,91	0,0021
Error	6,34	18	0,35		
Total	16,76	23			

4 Días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
4 Días	24	0,56	0,43	8,17	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13,87	5	2,77	4,50	0,0077
T	13,87	5	2,77	4,50	0,0077
Error	11,09	18	0,62		
Total	24,97	23			

ANÁLISIS DE LA VARIANZA DE PH

1 Día

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
1 Día	24	0,41	0,25	4,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,46	5	0,09	2,53	0,0663
T	0,46	5	0,09	2,53	0,0663
Error	0,65	18	0,04		
Total	1,11	23			

2 Días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
2 Días	24	0,33	0,14	3,72

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,27	5	0,05	1,77	0,1708
T	0,27	5	0,05	1,77	0,1708
Error	0,56	18	0,03		
Total	0,83	23			

3 Días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
3 Días	24	0,65	0,55	5,27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,38	5	0,48	6,65	0,0011
T	2,38	5	0,48	6,65	0,0011
Error	1,29	18	0,07		
Total	3,67	23			

4 Días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
4 Días	24	0,35	0,17	3,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,50	5	0,10	1,95	0,1358
T	0,50	5	0,10	1,95	0,1358
Error	0,93	18	0,05		
Total	1,43	23			

ANÁLISIS DE LA VARIANZA LA PRUEBA DE CORTE

Fermentados

Variable N R² R² Aj CV
Fermentados 24 0,66 0,56 8,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor
Modelo 1125,83 5 225,17 6,89 0,0009
T 1125,83 5 225,17 6,89 0,0009
Error 588,00 18 32,67
Total 1713,83 23

Violetas

Variable N R² R² Aj CV
Violetas 24 0,65 0,55 17,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor
Modelo 1100,33 5 220,07 6,61 0,0012
T 1100,33 5 220,07 6,61 0,0012
Error 599,50 18 33,31
Total 1699,83 23

Pizarros

Variable N R² R² Aj CV
Pizarros 24 0,43 0,27 83,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor
Modelo 9,50 5 1,90 2,74 0,0522
T 9,50 5 1,90 2,74 0,0522
Error 12,50 18 0,69
Total 22,00 23

ANÁLISIS DE LA VARIANZA SENSORIAL

Aroma

Variable N R² R² Aj CV
Aroma 60 0,02 0,00 35,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor
Modelo 2,08 5 0,42 0,24 0,9419
T 2,08 5 0,42 0,24 0,9419
Error 92,90 54 1,72
Total 94,98 59

Acidez

Variable N R² R² Aj CV
Acidez 60 0,06 0,00 149,07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0,95	5	0,19	0,70	0,6273
T	0,95	5	0,19	0,70	0,6273
Error	14,70	54	0,27		
<u>Total</u>	<u>15,65</u>	<u>59</u>			

Amargor

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Amargor	60	0,12	0,04	31,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	8,15	5	1,63	1,43	0,2280
T	8,15	5	1,63	1,43	0,2280
Error	61,50	54	1,14		
<u>Total</u>	<u>69,65</u>	<u>59</u>			

Cacao

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Cacao	60	0,03	0,00	26,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	1,35	5	0,27	0,29	0,9166
T	1,35	5	0,27	0,29	0,9166
Error	50,30	54	0,93		
<u>Total</u>	<u>51,65</u>	<u>59</u>			

Nuez

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Nuez	60	0,08	0,00	44,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	5,73	5	1,15	0,95	0,4568
T	5,73	5	1,15	0,95	0,4568
Error	65,20	54	1,21		
<u>Total</u>	<u>70,93</u>	<u>59</u>			

F.S.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
F.S.	60	0,07	0,00	39,53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	4,28	5	0,86	0,82	0,5397
T	4,28	5	0,86	0,82	0,5397
Error	56,30	54	1,04		
<u>Total</u>	<u>60,58</u>	<u>59</u>			

Floral

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Floral	60	0,19	0,11	45,63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15,35	5	3,07	2,46	0,0446
T	15,35	5	3,07	2,46	0,0446
Error	67,50	54	1,25		
Total	82,85	59			

Especies

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Especies	60	0,31	0,24	245,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,95	5	1,79	4,76	0,0011
T	8,95	5	1,79	4,76	0,0011
Error	20,30	54	0,38		
Total	29,25	59			

Otros

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Otros	60	0,12	0,04	179,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,28	5	0,86	1,53	0,1970
T	4,28	5	0,86	1,53	0,1970
Error	30,30	54	0,56		
Total	34,58	59			

Inten.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Inten.	60	0,25	0,18	52,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

























F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,95	5	4,99	3,53	0,0078
T	24,95	5	4,99	3,53	0,0078
Error	76,30	54	1,41		
Total	101,25	59			

Anexo 8. Determinación de Costos.






	T1	T2	T3	T4	T5	T6
COSTOS VARIABLES						
LABORES CULTURALES						
Cosecha	2,226	2,226	2,226	2,226	2,226	2,226
Fermentado	0,278	0,278	0,278	0,278	0,278	0,278
Secado	0,556	0,556	0,556	0,556	0,556	0,556
Subtotal	3,060	3,060	3,060	3,060	3,060	3,060
MATERIA PRIMA						
Rhizobium	1.44	2.88	0	1.44	2.88	1.44
Subtotal	1.44	2.88	0	1.44	2.88	1.44
MANO DE OBRA DIRECTA						
Proceso de elaboración de pasta de cacao	6	6	6	6	6	6
COSTOS INDIRECTOS						
Agua	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Luz	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Bandeja de aluminio	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Rollo de papel aluminio	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Rollo de papel de seda	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Subtotal	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11
COSTOS FIJOS						
Caja fermentadora	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Molino	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
Conchadora	8,55	8,55	8,55	8,55	8,55	8,55
Balanza	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Termómetro	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
pH-metro	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Moldes	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
Subtotal	11,06	11,06	11,06	11,06	11,06	11,06
TOTAL DE EGRESOS	23.230	24.670	26.110	23.230	24.670	26.110

Anexo 9. Croquis de la investigación.

DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR

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

CROQUISS DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

- T1=I1 Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos sin inducción 
- T2=I2 Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos con inducción del 3% 
- T3=I3 Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos con inducción del 5% 
- T4=N1 Testigo Nacional (EET-103) sin inducción 
- T5=N2 Testigo Nacional (EET-103) con inducción del 3% 
- T6=N3 Testigo Nacional (EET-103) con inducción del 5% 