



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

Proyecto de Investigación previo  
a la obtención del título de  
Ingeniera en Alimentos.

**Título del Proyecto de Investigación:**

**“ADICIÓN DE ENZIMAS Y LEVADURAS SOBRE LOS CAMBIOS QUÍMICOS Y  
ORGANOLÉPTICOS DEL CACAO (*Theobroma cacao* L) CLON CCN-51.”**

**Autora:**

**Karen Viviana Guevara Pérez**

**Director de Proyecto de Investigación:**

**Ing. Wiston Javier Morales Rodríguez M.Sc.**

**Quevedo – Los Ríos – Ecuador**

**2017**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, **Karen Viviana Guevara Pérez**, 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. \_\_\_\_\_

**Karen Viviana Guevara Pérez**

**C.C: # 050279711-1**

# **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

El suscrito, Morales Rodríguez Wiston Javier, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante Guevara Pérez Karen Viviana, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “ADICIÓN DE ENZIMAS Y LEVADURAS SOBRE LOS CAMBIOS QUÍMICOS Y ORGANOLÉPTICOS DEL CACAO (*Theobroma cacao* L) CLON CCN-51”, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

---

**Ing. Wiston Javier Morales Rodríguez M. Sc.**  
**DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

# 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. Wiston Javier Morales Rodríguez, en calidad de Director del Proyecto de Investigación titulado “**ADICIÓN DE ENZIMAS Y LEVADURAS SOBRE LOS CAMBIOS QUÍMICOS Y ORGANOLEPTICOS DEL CACAO (*Theobroma cacao* L) CLON CCN-51**” de autoría de la estudiante **GUEVARA PÉREZ KAREN VIVIANA**, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es de 5%, el mismo que es permitido por el mencionado software y los requerimientos académicos establecidos.

URKUND	
Documento	<a href="#">Proyecto Karen Guevara urkund.docx</a> (D29768002)
Presentado	2017-07-25 18:09 (-05:00)
Presentado por	karenvper.guevara@uteq.edu.ec
Recibido	wmorales.uteq@analysis.orkund.com
Mensaje	Tesis Karen Guevara <a href="#">Mostrar el mensaje completo</a> 5% de estas 10 páginas, se componen de texto presente en 2 fuentes.

Atentamente

Ing. Wiston Javier Morales Rodríguez M.Sc.  
**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



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

**Título:**

“ADICIÓN DE ENZIMAS Y LEVADURAS SOBRE LOS CAMBIOS QUÍMICOS Y ORGANOLÉPTICOS DEL CACAO (*Theobroma cacao* L) CLON CCN-51”

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

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Jaime Vera Chang Ms.C.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Gregorio Vásquez Montufar

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Christian Vallejo Ms.C.

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2017

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco a Dios por haberme otorgado unos padres maravillosos que han creído en mí y me han fomentado los valores de humildad, sacrificio y superación.*

*A mi hijo que ha sido el motor fundamental de cada paso en mi vida.*

*A mi esposo por estar siempre a mi lado aunque hemos vivido momentos difíciles pero siempre con amor ayudándonos mutuamente.*

*A mi director de tesis Ing. Wiston Morales quien me guio a lo largo del desarrollo del presente trabajo dedicando parte de su valioso tiempo.*

*A mis estimados Ing. Christian Vallejo y Ing. Jaime Vera Chang por compartir conmigo sus enseñanzas a lo largo de estos años y por su gran ayuda.*

*Y a toda mi familia por su apoyo incondicional.*

## DEDICATORIA

*Este presente trabajo lo dedico a Dios por darme vida y poder cumplir mis metas; a mis padres Nelson Guevara y Carmen Pérez, por ser la fuente de mi inspiración y superación de cada día y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor ya que sin su apoyo y su amor no hubiese alcanzado este logro.*

*A mi esposo Carlos Alberto Andagoya por formar parte de mi vida y apoyarme siempre en todo momento.*

*A mis hermanos Diego, Jenifer y Jahir por ser mis amigos incondicionales aunque con malos y buenos momentos siempre han sido mi motivación de superación y de ejemplo ya que en la vida nunca uno debe rendirse, ni por la edad que uno tenga, ni por las derrotas que se haya pasado siempre con optimismo, sacrificio y fe; se puede lograr lo que nos proponemos.*

*También le dedico con mucho amor a mi hijo Albertito quien ha sido mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para él.*

*Y finalmente a toda mi familia que ha estado presente en cada paso y decisión que eh dado y me apoyado incondicionalmente.*

*Gracias por todo....*

*Con cariño Karen*

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la adición de enzimas de frutas (polifenoloxidasas) y levaduras en las características organolépticas del clon de cacao trinitario, conocido por su alta productividad, pero carente de aroma propio de los genotipos nacionales. Se empleó un diseño completo al azar con arreglo factorial  $axb+n$ , evaluándose como niveles tres tipos de enzimas polifenoloxidasas (PPO) provenientes de frutas como manzana, aguacate y banano; además de dos tipos de levaduras la *Saccharomices cereviceae* y levadura madre, cuyas combinaciones dan 6 tratamientos más un tratamiento testigo al que no se le adicionó nada. Los tratamientos fueron adicionados a la masa de granos de cacao fresco y colocados en cajas de fermentación de madera de laurel, a partir de esto, se evaluó la temperatura durante el proceso de fermentación y se procedió al secado respectivo. Existieron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre la temperatura registrada por los tratamientos a las 48 y 72 horas de fermentación, a las 96 horas los tratamientos no demostraron diferencias. A las 48 horas el tratamiento T1 (Levadura madre + manzana) obtuvo  $42.33^{\circ}\text{C}$ , a las 72 horas el T3 (Levadura madre + banano) obtuvo  $36.33^{\circ}\text{C}$  y a las 96 horas  $38.33^{\circ}\text{C}$ . El porcentaje de fermentación de los granos de cacao demostró diferencias estadísticas ( $p \leq 0.05$ ) donde T3 alcanzó 91%, mientras que T1 y T2 alcanzaron el 88.33 y 86.67% respectivamente determinando así que la levadura madre influye directamente en la calidad de fermentación de los granos de cacao, mientras que la enzima que mejor se manifestó fue la PPO presente en el banano mejorando significativamente la calidad final de los granos. T3 obtuvo el mayor porcentaje de almendras que alcanzaron una buena fermentación con el 70.67%. Las características organolépticas mejoraron considerablemente en comparación con el testigo, demostrando que el empleo de enzimas y levaduras promete elevar la calidad del cacao CCN-51 para mercados extranjeros.

**Palabras clave:** *Saccharomices*, fermentación, polifenoloxidasas, frutas, calidad.

## ABSTRACT

The effect of the addition of fruit enzymes (polyphenoloxidase) and yeasts on the organoleptic characteristics of the trinitario cocoa clone, known for its high productivity, but lacking the aroma of the national genotypes, was evaluated. A randomized complete design with  $axb + n$  factorial arrangement was used, with three types of polyphenoloxidase (PPO) enzymes from fruits such as apple, avocado and banana being evaluated as levels; In addition to two types of yeasts *Saccharomyces cereviceae* and yeast mother, whose combinations give 6 treatments plus a control treatment to which nothing was added. The treatments were added to the mass of fresh cacao beans and placed in fermentation boxes of laurel wood. From this, the temperature was evaluated during the fermentation process and the respective drying was carried out. There were significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between the temperature recorded by the treatments at 48 and 72 hours of fermentation, at 96 hours the treatments showed no differences. At 48 hours treatment T1 (yeast mother + apple) obtained  $42.33^{\circ} \text{C}$ , at 72 hours T3 (yeast mother + banana) obtained  $36.33^{\circ} \text{C}$  and at 96 hours  $38.33^{\circ} \text{C}$ . The percentage of fermentation of the cocoa beans showed statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) where T3 reached 91%, while T1 and T2 reached 88.33 and 86.67% respectively, thus determining that the mother yeast directly influences the fermentation quality of the Cacao beans, whereas the enzyme that showed the best PPO present in the banana significantly improving the final quality of the beans. T3 obtained the highest percentage of almonds that reached a good fermentation with 70.67%. The organoleptic characteristics improved considerably compared to the control, demonstrating that the use of enzymes and yeasts promises to raise the quality of CCN-51 cocoa to foreign markets.

**Key words:** *Saccharomyces*, fermentation, polyphenoloxidase, fruits, quality.

# TABLA DE CONTENIDO

<b>Contenido.....</b>	<b>Pág</b>
Portada:.....	i
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	ii
Certificación de culminación del proyecto de investigación.....	iii
Certificado de prevención de coincidencia y/o plagio académico. ....	iv
Aprobación por miembros de tribunal:.....	v
Agradecimiento .....	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen .....	viii
Abstract.....	ix
Tabla de contenido.....	x
Indice de tablas .....	xiii
Indice de figuras .....	xiv
Indice de anexos .....	xv
Código dublin .....	xvi
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.....	5
1.1.3. Sistematización del problema. ....	5
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo general.....	6
1.2.2. Objetivos específicos. ....	6
1.3. Justificación.....	6
CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN .....	8
2.1. Marco conceptual. ....	9
2.2. Marco referencial.....	10
2.2.1. Antecedentes investigativos.....	10

2.2.2.	El cacao ecuatoriano fino de aroma.....	11
2.2.2.1.	Antecedentes históricos.....	12
2.2.3.	Morfología y taxonomía del cacao.....	14
2.2.3.1.	Morfología.....	14
2.2.3.2.	Factores climáticos para el desarrollo del cultivo de cacao.....	15
2.2.4.	Factores que influyen en el sabor característico del cacao ecuatoriano.....	17
2.2.4.1.	Fermentación de los granos de cacao.....	17
2.2.4.2.	Bioquímica de las semillas de cacao.....	20
2.2.4.3.	Enzimas que influyen en el proceso fermentativo del cacao.....	22
2.2.4.4.	Microorganismos que intervienen en el proceso de fermentación del cacao....	23
CAPÍTULO III .....		26
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		26
3.1.	Localización.....	27
3.2.	Tipo de investigación.....	27
3.2.1.	Investigación de campo.....	28
3.2.2.	Investigación de laboratorio.....	28
3.3.	Métodos de investigación.....	29
3.3.1.	Método de observación.....	29
3.3.2.	Método deductivo.....	29
3.3.3.	Método de síntesis.....	29
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	29
3.4.1.	Fuentes primarias.....	29
3.4.2.	Fuentes secundarias.....	30
3.5.	Diseño de la investigación.....	30
3.6.	Instrumentos de investigación.....	31
3.6.1.	Variables bajo estudio.....	31
3.6.1.4.	Evaluación sensorial.....	32
3.7.	Tratamiento de los datos.....	32
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	33
3.8.1.	Recursos humanos.....	33
3.8.2.	Materiales.....	33
3.9.	Flujograma del proceso.....	34
3.9.1.	Recepción de materia prima.....	34
3.9.2.	Inicio del proceso de fermentación.....	34

3.9.3.	Toma de temperatura. ....	35
3.9.4.	Proceso de secado. ....	35
3.9.5.	Evaluación de la fermentación obtenida. ....	35
3.9.6.	Evaluación del pH de la almendra. ....	36
3.9.7.	Prueba organoléptica. ....	36
CAPITULO IV .....		37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		37
4.1.	Resultados y discusión. ....	38
4.1.1.	Características físicas de los granos de cacao. ....	38
4.1.3.	Prueba organoléptica. ....	42
CAPÍTULO V .....		45
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		45
5.1.	Conclusiones. ....	46
5.2.	Recomendaciones. ....	47
6.1.	Referencias bibliográficas. ....	49
CAPÍTULO VII. ....		55
ANEXOS .....		55
6.1.	Anexo 1. Análisis de la varianza. ....	56
6.2.	Anexo 2. Resultados pruebas organoléptica. ....	58
6.3.	Anexo 3. Evidencia fotográfica. ....	59

# INDICE DE TABLAS

<b>Tabla.....</b>	<b>Pág</b>
Tabla 1. Características de los granos de cacao luego del proceso de fermentación. ....	19
Tabla 2. Composición bioquímica de las semillas de cacao en base al peso fresco.....	21
Tabla 3. Condiciones meteorológicas de la zona de estudio. ....	27
Tabla 4. Tratamientos bajo estudio. ....	31
Tabla 5. Esquema del análisis de varianza. ....	33
Tabla 6. Escala de atributos de calidad de una pasta de cacao. ....	36
Tabla 7. Variación de temperatura durante el proceso de fermentación de acuerdo a los tratamientos evaluados. ....	38
Tabla 8. Variación de pH durante el proceso de fermentación de acuerdo a los tratamientos evaluados. ....	39
Tabla 9. Grado de fermentación de los granos de cacao de acuerdo a los tratamientos.....	41
Tabla 10. Análisis organoléptico de las muestras de pasta de cacao de acuerdo a los tratamientos evaluados. ....	42
Tabla 11. Análisis de varianza para la temperatura a las 48 horas de fermentación. ....	56
Tabla 12. Análisis de varianza para la temperatura a las 72 horas de fermentación. ....	56
Tabla 13. Análisis de varianza para la temperatura a las 96 horas de fermentación. ....	56
Tabla 14. Análisis de varianza para la fermentación de los granos de cacao.....	57
Tabla 15. Análisis de la varianza para la variable pH de las almendras de cacao.....	57

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura.....</b>	<b>Pág</b>
Figura 1. Atributos organolépticos de los granos de cacao sometidos a diferentes clases de levaduras y enzimas durante su periodo de fermentación. ....	43
Figura 2. Pesado de frutas: A. Aguacate. B. Manzana. C. Banano. D. Peso de levadura ...	59
Figura 3. A. Proceso de fermentación de los granos de cacao. B. Proceso de secado. ....	60
Figura 4. A.B. Toma de parámetros físicos (Temperatura). C. Selección de muestras para toma de pH de la almendra. ....	61
Figura 5. A. Selección de muestras y prueba de corte. B. Corte de los granos fermentados de cacao. ....	62

## INDICE DE ANEXOS

<b>Contenido.....</b>	<b>Pág</b>
6.1. Anexo 1. Análisis de la varianza. ....	56
6.2. Anexo 2. Resultados pruebas organoléptica. ....	58
6.3. Anexo 3. Evidencia fotográfica. ....	59

## CÓDIGO DUBLIN

Título:	Adición de enzimas y levaduras sobre los cambios químicos y organolépticos del cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L) clon CCN-51.”
Autor:	<u>Karen Viviana Guevara Pérez</u>
Palabras clave:	Saccharomices, fermentación, polifenoloxidasa, frutas, calidad.
Fecha publicación:	06 de Agosto del 2017
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2017
Resumen:	<p><b>Resumen.-</b> Se evaluó el efecto de la adición de enzimas de frutas (polifenoloxidasa) y levaduras en las características organolépticas del clon de cacao trinitario, conocido por su alta productividad, pero carente de aroma propio de los genotipos nacionales. Se empleó un diseño completo al azar con arreglo factorial <math>axb+n</math>, evaluándose como niveles tres tipos de enzimas polifenoloxidasa (PPO) provenientes de frutas como manzana, aguacate y banano; además de dos tipos de levaduras la <i>Saccharomices cereviceae</i> y levadura madre, cuyas combinaciones dan 6 tratamientos más un tratamiento testigo al que no se le adicionó nada. Los tratamientos fueron adicionados a la masa de granos de cacao fresco y colocados en cajas de fermentación de madera de laurel, a partir de esto, se evaluó la temperatura durante el proceso de fermentación y se procedió al secado respectivo. Existieron diferencias significativas (<math>p \leq 0.05</math>) entre la temperatura registrada por los tratamientos a las 48 y 72 horas de fermentación, a las 96 horas los tratamientos no demostraron diferencias. A las 48 horas el tratamiento T1 (Levadura madre + manzana) obtuvo <math>42.33^{\circ}\text{C}</math>, a las 72 horas el T3 (Levadura madre + banano) obtuvo <math>36.33^{\circ}\text{C}</math> y a las 96 horas <math>38.33^{\circ}\text{C}</math>. El porcentaje de fermentación de los granos de cacao demostró diferencias estadísticas (<math>p \leq 0.05</math>) donde T3 alcanzó 91%, mientras que T1 y T2 alcanzaron el 88.33 y 86.67% respectivamente determinando así que la levadura madre influye directamente en la calidad de fermentación de los</p>

granos de cacao, mientras que la enzima que mejor se manifestó fue la PPO presente en el banano mejorando significativamente la calidad final de los granos. T3 obtuvo el mayor porcentaje de almendras que alcanzaron una buena fermentación con el 70.67%. Las características organolépticas mejoraron considerablemente en comparación con el testigo, demostrando que el empleo de enzimas y levaduras promete elevar la calidad del cacao CCN-51 para mercados extranjeros.

**Abstract.-** The effect of the addition of fruit enzymes (polyphenoloxidase) and yeasts on the organoleptic characteristics of the trinitario cacao clone, known for its high productivity, but lacking the aroma of the national genotypes, was evaluated. A randomized complete design with  $axb + n$  factorial arrangement was used, with three types of polyphenoloxidase (PPO) enzymes from fruits such as apple, avocado and banana being evaluated as levels; In addition to two types of yeasts *Saccharomices cereviceae* and yeast mother, whose combinations give 6 treatments plus a control treatment to which nothing was added. The treatments were added to the mass of fresh cacao beans and placed in fermentation boxes of laurel wood. From this, the temperature was evaluated during the fermentation process and the respective drying was carried out. There were significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between the temperature recorded by the treatments at 48 and 72 hours of fermentation, at 96 hours the treatments showed no differences. At 48 hours treatment T1 (yeast mother + apple) obtained  $42.33^{\circ} \text{C}$ , at 72 hours T3 (yeast mother + banana) obtained  $36.33^{\circ} \text{C}$  and at 96 hours  $38.33^{\circ} \text{C}$ . The percentage of fermentation of the cocoa beans showed statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) where T3 reached 91%, while T1 and T2 reached 88.33 and 86.67% respectively, thus determining that the mother yeast directly influences the fermentation quality of the Cacao beans, whereas the enzyme that showed the best PPO present in the banana significantly

	<p>improving the final quality of the beans. T3 obtained the highest percentage of almonds that reached a good fermentation with 70.67%. The organoleptic characteristics improved considerably compared to the control, demonstrating that the use of enzymes and yeasts promises to raise the quality of CCN-51 cocoa to foreign markets.</p>
Descripción:	80 hojas A 4s:dimensiones, 21 x 29.7 cm + CD ROM
URI	

## Introducción

El cacao es uno de los más significativos símbolos del país, debido a que, durante casi un siglo, el orden socioeconómico ecuatoriano se desarrollaba en gran medida alrededor del mercado internacional de este producto, puesto que cerca del 70% de la producción mundial de cacao fino de aroma se encuentra en el territorio ecuatoriano, convirtiendo al país en el mayor productor de cacao fino de aroma del mundo, convirtiéndose en un importante generador de empleo llegando a estimarse que aproximadamente 600 000 personas participan directamente en toda la cadena cacaotera, de la cual se reportan aproximadamente 490 000 ha cultivadas y distribuidas básicamente en las provincias de la Costa y en las estribaciones occidentales de la Región Andina (1).

La denominada “pepa de oro” del Ecuador se convirtió en una de las principales fuentes de ingreso para un gran número de familias de diferentes lugares de las tres regiones del país, donde la cadena agroindustrial de este producto tiene importancia estratégica en la economía ecuatoriana debido a la capacidad de generación de empleo e ingresos. La particularidad de esta variedad de cacao, único por su sabor y aroma floral insuperables, lo catapultan como un producto que registra una gran demanda en el mercado internacional, puesto que, los chocolates más finos se elaboran con el cacao ecuatoriano, impulsando a los productores a mejorar el manejo post-cosecha, elemento indispensable para lograr una mayor competitividad en el mercado internacional (2).

No puede existir el sabor a chocolate en los granos sin que se pueda llevar a cabo un proceso fermentativo, ya que durante este fenómeno se forman compuestos (precursores del sabor a chocolate) que reaccionarán entre ellos durante el tostado para formar el sabor final a chocolate (3), entre los cambios bioquímicos está el desarrollo de la pigmentación color marrón a partir de compuestos fenólicos, lo cual es un indicativo de la fermentación del grano de cacao, además, los contenidos de precursores sensoriales como polifenoles, alcaloides y acidez volátil (en especial el ácido acético) son indicadores de la calidad organoléptica (4).

Debido a los procesos bioquímicos antes mencionados se han propuesto investigaciones relacionadas con la modificación de estas reacciones mediante la inclusión de catalizadores como las enzimas y microorganismos que alteren estos procesos y permitan obtener otros resultados con el fin de aumentar la palatabilidad de las almendras de cacao, así como sus características organolépticas.

Actualmente las levaduras tienen su papel protagónico en muchos procesos tecnológicos e industriales, dentro de las cuales intervienen un gran número de especies a lo largo de todo el proceso fermentativo independientemente del sustrato en el que se hallen, donde resaltan las del género *Saccharomyces*, y en particular *Saccharomyces cerevisiae*, puesto que, conforme avanza el conocimiento sobre los procesos fermentativos, a través de la funcionalidad de sus levaduras y su posible control biotecnológico, han surgido nuevas líneas de investigación aplicada que pretenden mantener, en una escala de trabajo industrial, el equilibrio biológico inherente a la naturaleza del proceso de fermentación, todo aquello mediante un exhaustivo conocimiento de sus bases fisiológicas y bioquímicas (5).

Existe otro grupo de levaduras con características fisiológicas y bioquímicas propias que se aíslan de fermentaciones espontáneas de harinas de diversos cereales y de masas madre, muy usadas en la panificación, con masas jóvenes y maduras, cuyo origen filogenético es diferente y están más emparentadas con levaduras vínicas denominadas “masas madre” o “levadura madre”, las cuales son comunidades simbióticas muy dinámicas de bacterias lácticas (LAB) y levaduras que se establecen al refrescar porciones de una masa original con harina y agua, y cuya composición ecológica depende de agentes externos como la temperatura, el pH, los ciclos de retro-propagación y el tipo de cereal, entre otros, que ejercen presión selectiva sobre las levaduras hasta seleccionarse una especie dominante (6).

**CAPÍTULO I**  
**CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de la investigación.**

### **1.1.1. Planteamiento del problema.**

En la actualidad el cultivo de cacao representa uno de los rubros de mayor importancia económica para el Ecuador, ocupando el tercer lugar de las exportaciones no petroleras (4), siendo además un cacao de calidad única en el mundo debido a sus características organolépticas, sin embargo, en las últimas décadas estas características se han visto afectadas debido al mal manejo post-cosecha.

Dentro de este aspecto relevante como es el manejo post cosecha, y por ende en la fermentación de los granos de cacao, las levaduras cumplen una función importante, ya que metabolizan el citrato presente en la pulpa, reduciendo sus niveles y por lo tanto incrementando el pH. Desde que la masa es inicialmente aeróbica, existe una pequeña cantidad de ácido acético del etanol producido por bacterias ácido acéticas y, a medida que avanza la fermentación, la masa se torna anaeróbica y el pH es reducido por la formación de acetato, ya que en esta etapa las bacterias del ácido láctico como *Lactobacillus* incrementan su número y predominan, mientras los colonizadores iniciales declinan (7).

#### **Diagnóstico.**

El problema principal se centra en tratar de comprender este metabolismo de fermentación y tratar de mejorarlo, convirtiéndose en uno de los principales retos que se propone la industria chocolatera, quien busca cada día mejorar los sabores y aromas del cacao, los cuales se han empezado a perderse con el uso frecuente de variedades más productivas, pero con menos propiedades organolépticas que el cacao ancestral.

## **Pronóstico.**

Si no se busca una alternativa para mejorar las características organolépticas de esta materia prima importante para el país, se corre el riesgo de perder terreno en las exportaciones de cacao, rubro importante para la economía del país, puesto que el cacao de tipo nacional está perdiendo terreno frente al cultivo de clones más productivos, debido a que los productores prefieren reemplazar sus huertas tradicionales por nuevas plantaciones que le puedan generar un mayor ingreso económico por su producto.

### **1.1.2. Formulación del problema.**

Las características sensoriales de los granos de cacao son la propiedad más importante que este producto posee, razón por la cual se plantea la siguiente interrogante: ¿La modificación bioquímica del cotiledón de cacao en la etapa de fermentación, con la adición de levadura y enzimas podrá mejorar las características de la almendra?

### **1.1.3. Sistematización del problema.**

¿La adición de levaduras permitirá modificar las características bioquímicas de la almendra de cacao?

¿Las enzimas procedentes de diferentes frutas influirán en el proceso fermentativo externo de las semillas de cacao?

¿Se puede obtener una metodología de fermentación que permita mejorar la calidad de las almendras de cacao?

## **1.2. Objetivos.**

### **1.2.1. Objetivo general.**

Evaluar las características internas del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) fermentado mediante la adición de levaduras (*Saccharomices cerviceae* y levadura madre) y enzimas (polifenoloxidas) para mejorar la calidad física de la almendra de cacao.

### **1.2.2. Objetivos específicos.**

- ❖ Determinar el efecto de la adición de dos tipos de levaduras durante la etapa fermentativa en las características de la almendra (grado de fermentación, pH y temperatura).
- ❖ Evaluar el efecto de la adición de enzimas polifenoloxidas de banano, aguacate y manzana durante la etapa fermentativa en las características de la almendra (grado de fermentación, pH y temperatura).
- ❖ Establecer la incidencia del tiempo de fermentación sobre las características organolépticas de los granos fermentados gracias a la adición de enzimas y levaduras.

## **1.3. Justificación.**

El cultivo de cacao es una de las especies arbustivas más cultivada en el litoral ecuatoriano durante los últimos años, convirtiendo al país en el primer exportador de cacao fino de aroma, título que se debe a las características bioquímicas de las semillas lo que refleja, a su vez, un excelente manejo post cosecha, la cual es sin duda una operación realmente indispensable para el desenvolvimiento apropiado de los precursores del aroma de chocolate.

El clon de cacao CCN-51 se caracteriza por ser un clon altamente productivo, pero con la contrariedad de carecer de las características organolépticas propias de las variedades naciones de cacao fino de aroma, lo que lo convierte en una materia prima altamente demandada en los mercados internaciones de chocolatería fina.

La presente investigación pretende incidir en la mejora de la calidad de la semilla de cacao en su etapa de pos cosecha y aportará, tanto a las empresas fermentadoras como a los agricultores independientes, en encontrar alguna metodología de mejorar el producto final mediante el uso de levaduras y enzimas durante la etapa de fermentación, obteniendo metodologías que demuestre el efecto bioquímico que poseen estos precursores en los cotiledones de cacao al disminuir ciertas cualidades como astringencia, amargor y alta acidez proporcionándole mejores propiedades organolépticas.

**CAPÍTULO II**  
**FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## 2.1. Marco conceptual.

Se establecen los conceptos más empleados durante el desarrollo de la investigación, lo cual permite una comprensión más adecuada del contenido.

- ❖ **Astringencia.** - El sabor astringente es una de las cualidades organolépticas propias de los vinos tintos, en virtud de su contenido de taninos, sustancias que además de proporcionarles el color carmesí característico, también le dan ese matiz de amargor y sequedad propio de los vinos tintos fuertes, ricos en taninos (8).
- ❖ **Cotiledón.** – Conforman la primera hoja que, sola o junto a otra u otras, se forma en el embrión de una planta fanerógama, modificada especialmente y que en algunos casos acumula sustancias de reserva (9).
- ❖ **Enzimas.** - Son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre que sean termodinámicamente posibles, es decir, una enzima hace que una reacción química que es energéticamente posible, pero que transcurre a una velocidad muy baja, sea cinéticamente favorable (10).
- ❖ **Fermentación.** - Proceso bioquímico por el que una sustancia orgánica se transforma en otra, generalmente más simple, por la acción de un fermento. Es considerada la etapa clave en el proceso de post cosecha del cacao para la formación del aroma, debido a que en esta ocurre una profunda modificación del contenido de los compuestos químicos relacionados con el desarrollo del aroma de origen térmico (11).
- ❖ **Propiedades organolépticas.** – Son las propiedades físicas que posee la materia en general, que pueden ser percibidas por los órganos de los sentidos, estas pueden ser color, olor, textura, sabor, temperatura, etc. (12).

## **2.2. Marco referencial.**

### **2.2.1. Antecedentes investigativos.**

Se han elaborado trabajos investigativos que avalan la presente investigación, entre los cuales resalta que trabajando dentro de la etapa de fermentación para reducir las cualidades negativas del clon de cacao CCN-51, como lo es la acidez, amargor y astringencia, mediante la adición de enzimas mejorando la calidad organoléptica, para lo cual se requirió del uso de dos enzimas: Polifenoloxidasas presente en la piña y una proteasa comercial de origen fúngico, las cuales ayudaron a reducir la concentración de compuestos fenólicos disminuyendo el amargor y astringencia, potencializando el sabor a chocolate debido a la proteasa con actividad endo/exopeptídica; todos estos cambios fueron notorios en las evaluaciones sensoriales que se realizaron frente a un tratamiento testigo sin adición de enzimas (13).

Los microorganismos cumplen una función importante en el proceso fermentativo de las semillas de cacao, es por eso que se han evaluado la aplicación de microorganismos en la fermentación del cacao CCN-51 y su efecto en la calidad de almendras empleando cepas de *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter aceti*, en la fermentación de cacao, determinándose los tiempos óptimos para la fermentación, la calidad física y química de las almendras. Se realizó tres aplicaciones de bacterias a la masa fermentable con diferentes tiempos de fermentación 72, 96 y 120 horas, donde se estableció que en tres días de fermentación aumenta el porcentaje de almendras fermentadas y disminuyen almendras violetas y pizarrosas. Se pudo demostrar que aplicando estos microorganismos se mejoran las características químicas, permitiendo a las almendras ubicarse en el rango de cacaos finos (14).

Cada uno de los pasos durante el proceso de fermentación tiene relevante importancia, tanto así que se determinó que la variedad del fruto del *Theobroma cacao*, L. y la frecuencia de remoción durante la fermentación son dos factores que generan cambios bioquímicos determinando el aroma y sabor a chocolate, puesto que los componentes del mucílago son ricos en azúcares, los cuales al ser oxidados por microorganismos se degradan hasta ácido acético y al elevarse la

temperatura favorece su ingreso al cotiledón, que provoca la muerte del embrión y lo acondiciona para la formación de los precursores del sabor y aroma a cacao (15).

Los compuestos formados durante el proceso fermentativo al interactuar con los compuestos fenólicos, durante el secado y tostado, son transformados en pirazinas, ésteres y otras sustancias responsables del sabor y aroma a chocolate. La fermentación aeróbica de la masa con frecuencia de remoción, es favorecida por la mayor aireación y da lugar a la formación del ácido acético con liberación de calor, esto hace que el pH disminuya, se incremente el grosor del grano, se descompongan las células de los cotiledones y ocurran nuevas reacciones químicas, las que continúan durante el secado y determinan la composición del grano seco (15).

### **2.2.2. El cacao ecuatoriano fino de aroma.**

Cacao fino de aroma, así se denomina a las semillas de cacao que poseen un alto potencial aromático (floral) y bajo contenido de sustancias amargas (taninos), delicadas bondades sensoriales que les permiten distinguirse de otras variedades de cacao o clones obtenidos mediante investigaciones para darle un toque más refinado al producto final chocolate (2).

En la mayoría de los países del mundo, el propósito de regresar a una agricultura limpia moderna y científica ha alcanzado un rápido desarrollo debido a los beneficios propios de la práctica, tanto al ambiente como al hombre y los otros seres vivientes; por otra parte, los mercados para los productos limpios y especialmente para los orgánicos certificados, siguen creciendo en forma lineal y rápida, puesto que, la demanda de cacao limpio y de alta calidad y aroma es uno de los puntos más importantes a ser tomados en cuenta por los cacaoteros del Ecuador, puesto que es uno de los factores competitivos más importantes, pero que no se lo aprovecha de forma adecuada (16).

### **2.2.2.1. Antecedentes históricos.**

El cacao (*Theobroma cacao* L), es un cultivo tradicional en el país desde épocas coloniales, tanto así que en la actualidad se considera como el tercer rubro agropecuario de exportación, gracias a que representa el 6.7 % del PIB. Se calcula que actualmente existen cerca de 500 000 ha sembradas en aproximadamente 100 000 fincas, gran parte de estas, con extensiones que no superan las 5 ha promedio, mismas que pertenecen a los pequeños productores (17).

El cacao es originario de América, especialmente de la Amazonía y su domesticación, cultivo y consumo, se inició en Centroamérica en tiempos precolombinos, donde los Toltecas, Aztecas y Mayas procesaban esta pepa y producían una bebida llamada “*xocoatl*”. En forma acelerada los europeos incorporarían en su dieta el consumo de cacao bajo la forma de chocolate, añadiendo azúcar a aquella mezcla. En los siglos XVI y en parte del siglo XVII la exportación del cultivo estaba prohibida para los territorios del actual Ecuador, sin embargo, en forma creciente y pese a las Cédulas Reales, se continuó exportando cacao, hasta que en 1789 el Rey Carlos IV permitió el cultivo y la exportación desde la costa ecuatoriana (18).

Durante los años de lucha por la independencia (1800-1822), la producción de cacao fue la fuente más importante para su financiamiento, ya que significaba entre el 40% al 60% de las exportaciones totales del país y pagaba hasta el 68% de los impuestos del Estado. Así el cacao se convirtió en una de las fuentes principales de divisas durante el Siglo XIX, conformándose una clase poderosa de productores y exportadores poseedores de latifundios, a quienes se les denominaría los “grandes cacaos”. En las provincias de Los Ríos, Guayas y El Oro, se asentaron las principales tierras destinadas al cacao y es justamente en estas zonas, en la parte de arriba de la cuenca del río Guayas donde se produciría el cacao fino de aroma con denominación de origen “Arriba”, un tipo de cacao muy apreciado en el mercado internacional que obtiene altos precios por su calidad (18).

La composición química de los granos de cacao depende de varios factores entre los cuales citan el tipo de cacao, su origen genético, el grado de madurez a cosecha, calidad de fermentación y posterior secado y tostado (19); Ecuador, por sus especiales condiciones geográficas y su

riqueza en biodiversidad, es el productor por excelencia de cacao nacional fino y de aroma con el tradicional "Sabor Arriba" que ha sido reconocido durante siglos en el mercado internacional, a este cacao se le conoce como variedad de tipo "Nacional", la misma que botánicamente pertenece a los denominados "Forasteros Amazónicos", de la cual se obtiene el cacao "Arriba" que, por su aroma floral, es reconocido mundialmente por sus parámetros bioquímicos, que comprenden entre los más relevantes el contenido de agua, lípidos, compuestos fenólicos, proteínas y purinas, almidón y otros carbohidratos (20).

El cacao ecuatoriano es reconocido mundialmente por sus marcadas características de aroma y sabor, sumamente apreciadas en la preparación de chocolates finos, debido a la buena calidad del producto ecuatoriano, el cual depende principalmente del manejo post cosecha que se le dé a los granos del cacao, además de los otros procesos como lo son el secado, tostado y conchado y posterior elaboración de la pasta de chocolate (21).

El cultivo del cacao en el país está en manos de pequeños productores para quienes es la principal fuente de apoyo económico, además de eso, es de gran importancia para la economía local, ya que genera una fuente importante de trabajo para los pequeños agricultores que tienen en su mayoría un bajo nivel de educación que está directamente vinculado con las prácticas agronómicas y por lo tanto con el rendimiento de la plantación, sin embargo, el bajo rendimiento económico que obtienen del cacao, no les permite invertir en granjas sofisticadas para mejorar su productividad y nivel socioeconómico (22).

Económicamente para el cacao ecuatoriano existen amplias oportunidades de acceso a mercados internacionales debido a que se han exportado grandes cantidades (177648 t hasta el año 2010), a pesar de esto, el Ecuador con la calidad y el reconocimiento internacional que posee este producto, ha desaprovechado las oportunidades de mercados claves. El comercio de este producto es una fuente de ingresos indispensable para mejorar las condiciones de vida en los sectores, que están involucrados en la cadena productiva del cacao y que se ha visto afectado por los insuficientes conocimientos de comercialización internacional, que poseen asociaciones y productores (23).

### 2.2.3. Morfología y taxonomía del cacao.

El cultivo de cacao se agrupa dentro de la siguiente clasificación taxonómica:

Reino:	<i>Vegetal</i>
Tipo:	<i>Espermatofita</i>
Subtipo:	<i>Angiosperma</i>
Clase:	<i>Dicotiledóneas</i>
Subclase:	<i>Dialipétalas</i>
Orden:	<i>Malvales</i>
Familia:	<i>Esterculiácea</i>
Tribu:	<i>Buettneriea</i>
Género:	<i>Theobroma</i>
Especie:	<i>cacao</i> (24).

#### 2.2.3.1. Morfología.

El cacao posee una raíz principal pivotante muy profunda que puede llegar a medir hasta 1.0 m de profundidad, sin embargo, al sembrarse las plantas con la raíz torcida el árbol se desarrolla de manera anormal y tendrá una baja producción, mientras que en las plantas de propagación clonal no hay raíz pivotante sino varias raíces principales y proliferan cerca de la superficie formando así una cabellera compacta que fija la planta al suelo por tal motivo no se debe dejar descubierto el pie de los árboles para evitar el debilitamiento de las raíces y que el árbol se volque (25).

El cacaotero es una planta que proviene de semilla y produce un tallo erecto el cual puede llegar a medir de 1.0 a 1.5 m de altura, del cual emergen las ramas en número de 3 a 5 con un crecimiento horizontal formando el llamado abanico u horqueta, la cual una vez formada, se elimina la yema terminal, y el siguiente crecimiento vertical ocurre por un chupón que sale de la parte inferior de la horqueta y asciende para luego formar un segundo estrato (25).

El tallo produce dos tipos de ramas: la tipo vertical (o chupón), incluyendo el eje principal de las plantas producidas por las semillas, tiene hojas alternas en espiral de 3/8 y es limitado en su crecimiento ya que tarde o temprano siempre da origen a un abanico terminal; y las ramas tipo abanico que tiene hojas alternas en 1/2 creciendo indefinidamente y dando origen a ramas laterales de su mismo tipo (24). Las hojas son grandes, de color verde oscuro en la madurez; los pecíolos miden de 1 a 4 cm de largo, son pubescentes, presentan pulvínulos bien marcados, se encuentran situadas sobre chupones (26).

El fruto del cacao, llamado comúnmente mazorca, es una drupa grande, sostenida por un pedúnculo fuerte, cuya forma varía considerablemente y ha sido el carácter que ha servido de base para agrupar las poblaciones dentro de la especie. La drupa es generalmente elipsoidal, pero hay tipos desde fusiformes hasta esféricos; tienen cinco prominencias longitudinales principales, que en algunos cultivares se presentan como aristas marcadas y salientes. Los colores básicos del fruto maduro son amarillo claro o rojo oscuro (26).

El fruto está compuesto por un exocarpo, que se forma de una epidermis de células gruesas y de abundantes tejidos de parénquima; el mesocarpo el cual es muy angosto, formado de parénquima con numerosos canales de mucílago, en este se observa que existen cinco haces vasculares principales y cinco secundarios que corresponden a las costillas del fruto, y que se ramifican profusamente; y el endocarpo, el mismo que es delgado, parenquimatoso y de paredes internas duras y brillantes (26).

### **2.2.3.2. Factores climáticos para el desarrollo del cultivo de cacao.**

Los factores más críticos durante el desarrollo del cultivo de cacao son la temperatura ambiental y la precipitación, siendo menos incidentes, pero no menos importantes la velocidad del viento y la radiación solar, puesto que el cacao es una especie de penumbra, además de la humedad relativa, la cual también es importante ya que contribuye al apareamiento y propagación de enfermedades. Estas exigencias climáticas han hecho que el cultivo de cacao se concentre en las tierras bajas tropicales (27).

### **Temperatura.**

El cacaotero no soporta bajas temperaturas, ubicándose su límite promedio anual entre los 21 °C ya que es difícil cultivar cacao satisfactoriamente con una temperatura más baja. Es un cultivo que necesita estar bajo sombra para que intensidad lumínica no incidan directamente y exista un incremento en la temperatura ambiental. La variación de temperatura determina la floración, al alcanzar los 25 °C se produce una floración normal y abundante (27).

### **Agua.**

Esta especie es sensible a la sequía, pero también al encharcamiento por lo que se necesitan suelos sueltos y con buen drenaje. El encharcamiento provoca la asfixia y muerte de las raíces en muy poco tiempo, por lo que las necesidades de agua se establecen entre 1500 y 2500 mm en las zonas bajas más cálidas y entre 1200 y 1500 mm en las zonas más frescas (24).

### **Viento.**

La velocidad del viento incide en la plantación, puesto que al ser continuos pueden provocar deshidratación y caída de las hojas. Por ello es preciso el empleo de barreras para que el cacao no sufra daños. Los cortavientos pueden estar formados por especies arbóreas, las mismas que pueden ser frutales o maderables, dispuestas alrededor de plantación de cacao (27).

### **Sombra.**

El cacao es un cultivo típicamente umbrófilo, es decir, necesita de sombra durante sus primeros años de vida, puesto que el objetivo de la sombra es reducir la cantidad de rayos solares que llegan a las hojas, así se logra reducir la actividad metabólica de la planta además de proteger al cultivo de los vientos que la puedan perjudicar. Durante el establecimiento del cultivo se debe reducir el porcentaje de sombra hasta un 25 o 30 %, debido a que la luminosidad deberá ser del 50 % aproximadamente para los primeros cuatro años de vida, para que estas puedan alcanzar un excelente desarrollo y se limite el desarrollo de malezas (28).

Las especies para sombra son generalmente otros árboles frutales intercalados en el cultivo con marcos de plantación regulares, estas especies deben generar también ingresos al productor con el fin abaratar costos, las más empleadas son las musáceas (plátano, banano) para sombras temporales y de frutales y maderables para sombras permanentes (28).

## **Suelos.**

El cacao requiere suelos ricos en materia orgánica, profundos, de textura franco arcillosa, con buen drenaje y de topografía regular. El factor limitante del suelo para el desarrollo del cultivo de cacao es la presencia de una capa húmica, la misma que se degrada aceleradamente cuando la superficie del suelo está expuesta al sol, viento y lluvia de manera directa; por ello es común el empleo de plantas leguminosas como cultivos de cobertura que proporcionen la sombra necesaria y además sirvan como fuente de nitrógeno para el suelo (29).

### **2.2.4. Factores que influyen en el sabor característico del cacao ecuatoriano.**

El sabor a cacao sostiene la industria mundial de productos derivados de cacao y chocolates, estos granos fermentados y secos desarrollan precursores químicos que mediante la torrefacción se transforman en el sabor y aroma típico del cacao, sin embargo, la acidez, amargor y astringencia son otros sabores básicos del perfil sensorial de la pasta de cacao, la cual también puede incluir notas aromáticas complementarias como floral, frutal, nuez, malta, etc., que enriquecen las características sensoriales de los cacaos finos de aroma (30).

#### **2.2.4.1. Fermentación de los granos de cacao.**

La fermentación es el proceso mediante el cual los granos de cacao sufren transformaciones importantes diferenciadas en dos etapas; en la primera se producen reacciones bioquímicas que causan una disminución del amargor y de la astringencia que dan origen a los precursores del aroma y sabor a chocolate, mientras que en la segunda etapa se reduce la humedad, continúa la fase oxidativa iniciada en la fermentación y se completa la formación de los compuestos del aroma y sabor (31).

La fermentación es fase más importante durante el procesamiento del cacao, puesto que en ella se producen ciertos cambios a nivel bioquímico que dan origen al aroma y sabor característico, lo que determina su calidad física y química, entre los cambios bioquímicos está el desarrollo de la pigmentación color marrón a partir de compuestos fenólicos, lo cual es un indicativo de la fermentación del grano de cacao, además, los contenidos de precursores sensoriales como polifenoles, alcaloides (cafeína y teobromina) y acidez volátil (en especial el ácido acético), estos son indicadores de la calidad organoléptica del cacao (4).

En la práctica, los métodos de fermentación varían mucho de una zona productora a otra, sobretodo el tipo de fermentador y el tiempo de fermentación, siendo los más usuales, entre los productores de la zona norte y central de Manabí, las cajas de madera, saco de yute, tinas plásticas y montón; mientras que, por su parte los tiempos de fermentación varían entre dos a cuatro días (4).

Además de la fermentación, el perfil sensorial del cacao puede variar en función de la genética de cada árbol y la segregación general de la plantación de las huertas tradicionales, así como también por la interacción genotipo-ambiente, sin embargo, a pesar de presentarse como una desventaja, esta variación del perfil sensorial de los granos de cacao de distintos árboles, poblaciones, orígenes, y zonas productoras, presenta una diversidad de alternativas para la industria de chocolates con alto contenido de cacao, gracias a que esta circunstancia ayuda al desarrollo de recetas de nuevos productos para las diferentes marcas comerciales (30).

En el cacao se destaca la presencia de compuestos bioactivos como polifenoles, estos se encuentran asociados con la actividad antioxidante y con las características organolépticas de los diversos productos elaborados a partir del cacao, presentando una gran variedad de propiedades beneficiosas para la salud, todo esto debido a que la fermentación microbiana en el cacao contribuye a degradar el mucílago y trae consigo un conjunto de reacciones bioquímicas internas que conducen a una modificación de la composición fenólica (32).

El grano de cacao es fuente de proteína, grasa y fibra; de estas la grasa es rica en ácido esteárico, además contiene minerales como potasio, magnesio y fosforo, minerales primordiales en la salud humana, y sustancias como flavonoides, los cuales tienen alta capacidad antioxidante, estos granos se aprovechan para elaborar el chocolate y otros subproductos como manteca, grasa, aceite, cacao en polvo y licor de cacao (33).

### **Prueba de corte.**

Una de las metodologías empleadas para verificar el grado de fermentación de los granos de cacao es la prueba de corte, la cual consiste en partir longitudinalmente los granos y verificar las características de la almendra, de la cual se pueden distinguir tres características principales de los granos por el color de los cotiledones: los granos bien fermentados presentan un color café; los granos de mediana fermentación poseen un color violeta a café violáceo y finalmente los granos no fermentados presentan un color pizarra. La homogeneidad o heterogeneidad de los granos de cacao afecta la calidad del producto final (7)

**Tabla 1.** *Características de los granos de cacao luego del proceso de fermentación.*

<b>Grado</b>	<b>Color</b>	<b>Característica</b>
Fermentación completa	Marrón o café	El ácido acético y ácido láctico penetran al interior de los cotiledones, matando de esta forma al embrión y rompiendo las vacuolas de pigmentación. Estas almendras se presentan hinchadas y los cotiledones no son compactos, el grano tiene los cotiledones agrietados y la testa está suelta. La calidad del sabor y aroma del grano es superior, y muy deseable para la producción de chocolate.
Fermentación parcial	Marrón y violeta	Los ácidos no han penetrado totalmente y una porción de las vacuolas de pigmentación está intacta. Las almendras pueden presentarse hinchadas, pero con un pequeño vacío interior, los cotiledones no están

---

		compactos y la testa está relativamente suelta. La calidad del sabor y aroma es regular, pero aprovechable para chocolate.
Violetas	Violeta	Estos granos sólo han recibido una fermentación inicial, por lo que no se evidencia los efectos de los ácidos procedentes de la pulpa. Las almendras no se presentan hinchadas y tienen una apariencia interna compacta. El sabor es muy amargo y astringente, con ausencia de aroma. La calidad no es aceptable para la industria chocolatera, de modo que estos granos sólo son útiles para extraer manteca y posibles colorantes.
Pizarrozas	Violeta oscuro a gris	Indica que no hubo ningún efecto de fermentación y que las almendras son muy compactas. El color pizarra (gris) representa un defecto muy serio para cualquier procesador de cacao, pues tienen un muy bajo aroma a cacao con altos niveles de astringencia.

---

**Fuente:** (7).

**Elaboración:** Autora.

#### **2.2.4.2. Bioquímica de las semillas de cacao.**

La composición química de los granos de cacao depende de varios factores entre los que se pueden citar: tipo de cacao, origen geográfico, grado de madurez, calidad de la fermentación y el secado, además del beneficio postcosecha que también influye sobre su composición química. Los principales constituyentes químicos del cacao son: agua, grasa, compuestos fenólicos, materia nitrogenada (proteínas y purinas), almidón y otros carbohidratos (13).

**Tabla 2.** *Composición bioquímica de las semillas de cacao en base al porcentaje de peso fresco.*

<b>Componente</b>	<b>Cotiledones</b>	<b>Pulpa</b>	<b>Testa</b>
Agua	35.0	84.5	9.4
Fibra	3.2	0.0	13.8
Almidón	4.5	0.0	46.0
Pentosa	4.9	2.7	0.0
Sucrosa	0.0	0.7	0.0
Glucosa/Fructosa	1.1	10.0	0.0
Grasa	31.3	0.0	3.8
Proteína	8.4	0.6	18.0
Teobromina	2.4	0.0	0.0
Cafeína	0.8	0.0	0.0
Polifenoles	5.2	0.0	0.8
Ácidos	0.6	0.7	0.0
Sales inorgánicas	2.6	0.8	8.2

**Fuente:** (26).

La eliminación del exceso de humedad que queda en el grano al finalizar la fermentación, es importante porque evita el desarrollo de mohos que deterioran la calidad y facilita el almacenamiento, manejo y comercialización del grano de cacao, sin embargo, la reducción de la humedad debe ser hasta valores del 6 al 7%, máximo 8%, puesto que si se reduce demasiado el grano se vuelve muy quebradizo. El desarrollo de los pigmentos de color marrón, a partir de los compuestos fenólicos ocurre durante el secado, ya que los precursores del sabor, tales como aminoácidos libres, péptidos y azúcares no reductores pueden presentar algunos cambios químicos asociados con reacciones térmicas, lo cual conjuntamente con los cambios bioquímicos, productos de la fermentación, son determinantes de la calidad del cacao beneficiado, constituyendo un factor de peso en su comercialización y en su utilización en la agroindustria (34).

### **2.2.4.3. Enzimas que influyen en el proceso fermentativo del cacao.**

Las frutas tropicales poseen la particularidad de en sus pigmentos contener compuestos de naturaleza enzimática, muchos de estos, de gran importancia para la industria de alimentos. Una particular enzima es la polifenol oxidasa (PPO) la cual es una metaloenzima que se encuentra ampliamente distribuido en plantas y algunos hongos. Esta enzima contiene dos átomos de cobre en el sitio activo que catalizan dos tipos de reacciones usando  $O_2$  como agente oxidante: (a) la o-hidroxilación de monofenoles para producir o-difenoles (actividad monofenol monoxigenasa); y (b) la posterior oxidación de o-difenoles a o-quinonas (actividad catecolasa), donde la reacción general sugiere que el enzima cataliza la formación de quinonas altamente reactivas que reaccionan con grupos amino o sulfhidrilo de proteínas, estas reacciones generan cambios en las características físicas, químicas y nutricionales del alimento; por otro lado las quinonas también pueden conducir a la polimerización y a reacciones de condensación entre proteínas y polifenoles, produciendo como consecuencia pigmentos de color café, proceso conocido como “pardeamiento enzimático” que va en detrimento del perfil nutricional del alimento (35).

Las polifenoloxidasas que se encuentran en las frutas son las responsables de las reacciones de pardeamiento enzimático (oxidación) que ocurren durante el almacenamiento, manipulación y procesamiento de las mismas; estas enzimas, también conocidas como tirosinasas, fenoloxidasas, monofenoloxidasas o cresolasas, catalizan la hidroxilación de monofenoles a ortodifenoles, posteriormente oxidados a ortoquinonas, las cuales se polimerizan dando lugar a pigmentos que presentan color marrón, rojo o negro, dependiendo de los componentes naturales presentes en los tejidos vegetales, modificando las características organolépticas y nutricionales del alimento, depreciando su calidad, sin embargo estas reacciones ocasionalmente pueden ser aprovechadas para modificar las características de otros alimentos (36).

#### **2.2.4.4. Microorganismos que intervienen en el proceso de fermentación del cacao.**

Existen gran variedad de microorganismos que intervienen en el proceso de fermentación del cacao, los cuales en ambiente anaerobio producen sustancias que estimulan la formación de compuestos que influyen en la producción de compuestos y la fermentación de los granos, entre estas tenemos las levaduras del género *Saccharomyces*, las cuales son los principales microorganismos que fermentan el cacao, sin embargo, existen otros microorganismos que pueden proliferarse si no se maneja adecuadamente la post cosecha, como hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, quienes han sido denominado responsables de producir moho en granos mal fermentados o en cajas contaminadas (37).

El proceso de fermentación del cacao es natural o espontaneo, debido a que no se incluyen intencionalmente los microorganismos a los granos, que de hecho se encuentran estériles dentro de las mazorcas, las mismas que llegan a contaminarse cuando entran en contacto con los utensilios y las manos de las personas que manipulan los granos. El proceso de fermentación se divide en fases, durante las cuales ocurren una sucesión de poblaciones de microorganismos, predominantemente levaduras (38).

#### **Primera Fase**

En la primera fase aparecen entre 5 y 6 especies diferentes de levaduras, que paulatinamente van desapareciendo dejando su lugar a *Hanseniaspora guilliermondii*, la misma que predomina durante las primeras 24 horas, mientras que a *Hanseniaspora* sólo está presente ocasionalmente en fases posteriores. *Candida zemplinina* es una nueva especie de levadura que sólo se pudo detectar hasta que aparecieron las técnicas modernas de la biología molecular. *C. silvae*, *C. zemplinina* y *C. diversa* se encuentran comúnmente en los procesos de fermentación en bandejas, posiblemente por la mayor concentración de oxígeno presente en ese tipo de fermentación (39).

En las 36-38 horas posteriores dominan las especies de *S. cerevisiae* y *Pichia membranaefaciens*, encontrándose al final de la fermentación; *C. krusei* y *H. guilliermondii*, están presente en las fermentaciones en bandejas, aunque también predomina *S. cerevisiae* (39).

Las levaduras llevan a cabo el proceso de fermentación transformando los azúcares sencillos presentes en el mucílago en etanol, degradando así la pectina, modificando la textura del grano y eliminando el ácido cítrico presente, lo que trae como consecuencia una disminución de la acidez. Las levaduras consumen el oxígeno, creando un ambiente anaerobio que favorece el desarrollo de bacterias lácticas (38).

### **Segunda fase.**

En la segunda fase se favorece el desarrollo de bacterias lácticas que fermentan los carbohidratos residuales y continúan con el consumo del ácido cítrico. Se han aislado sobre todo bacterias del tipo *Lactobacillus* (*L. collonides*, *L. fermentum*, *L. mali* y *L. plantarum*), aunque también se han identificado bacterias como *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc pseudoficulneum*, y *Pediococcus acidilactici*. Por otro lado, *L. fermentum* y *L. plantarum* son microorganismos propios de esta fermentación, mientras que una cepa de *Weissella*, una bacteria láctica aislada de fermentaciones de cacao en Ghana se reportó como una especie nueva, esta es *Weissella fabaria* (40).

Las levaduras contienen enzimas del tipo “pectinolítico”, lo que les permite hidrolizar las pectinas, ocasionando una disminución de la viscosidad de la pulpa de mucílago y favoreciendo la entrada de aire, ya con este ambiente aerobio y menos ácido, esto debido al consumo de ácido cítrico, se favorece el desarrollo de bacterias acéticas (38).

### **Tercera fase.**

Durante la tercera fase del proceso de fermentación ocurre un cambio importante, puesto que intervienen bacterias acéticas llevando a cabo la transformación del etanol en ácido acético, ocasionando una reacción exotérmica, es decir, se produce calor, con lo que el etanol y el ácido

acético se introducen hacia el interior de los granos y junto con la temperatura alta, matan al embrión. Las bacterias acéticas más importantes que se han aislado de la fermentación del cacao, son: *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter aceti* y *Acetobacter pasteurianus*, de estas la primera que se encuentra es *Gluconobacter oxydans*, luego aparecen *A. syzygii* y *A. pasteurianus*, mientras que al final de la fermentación aparece *A. tropicalis* (41).

#### **Cuarta fase.**

En esta última fase de la fermentación, entre las 48 y las 60 horas, existe la presencia de bacterias del género *Bacillus*, puesto que, al voltear la masa de granos en fermentación favorece la presencia de *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus* y un grupo pequeño de *B. subtilis*, *B. megaterium* y *B. pumilus*. El desarrollo de bacterias del género *Bacillus*, se da por la alta temperatura presente, siendo estos microorganismos conocidos por la producción de numerosas enzimas que catalizan reacciones cuyos productos dan al cacao sabores y olores desagradables (42).

**CAPÍTULO III**  
**METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización.

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de Bromatología ubicado en la Campus Experimental “La María” en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), localizada en el Km 7.5 de la vía Quevedo – El Empalme, mientras que los granos de cacao fueron cosechados en una finca agrícola ubicada en el recinto La Norma, del Cantón Mocache, ubicada entre las coordenadas geográficas 01<sup>o</sup>08’26” de latitud sur y 79<sup>o</sup>21’32” de longitud oeste a una altitud de 89 msnm. Las condiciones agro meteorológicas de la zona de estudio se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** *Condiciones meteorológicas de la zona de estudio.*

<b>Parámetros</b>	<b>Valores medios</b>
Temperatura (°C)	25.3
Humedad Relativa (%)	82.0
Heliofanía (horas luz/año)	1041.1
Precipitación (mm/año)	3229.3
Zona ecológica	Bosque Húmedo Tropical bh-T

Fuente: (43).

### 3.2. Tipo de investigación.

El proyecto está establecido dentro de la línea de investigación: Desarrollo de tecnología para la transformación de la materia prima agroindustrial. Comprende una investigación de tipo exploratoria descriptiva, que pretende establecer el efecto de la adición de levaduras y enzimas en la composición bioquímica de la almendra de cacao después del proceso de fermentación.

### **3.2.1. Investigación de campo.**

La investigación de campo se inició mediante la cosecha y colocación de los granos de cacao dentro de cajas fermentativas de madera de laurel (*Laurus nobilis*), este tipo de madera cumple con las características de no desprender sustancias extrañas como taninos que interfieren en la calidad final del cacao y es resistente a la humedad (21).

Los granos de cacao fresco de la variedad CCN-51 fueron cosechados cuando estos alcanzaron su madurez fisiológica, posterior se colocaron en las cajas y se adicionó el tratamiento correspondiente, sellándose la caja con un plástico para crear un ambiente anaerobio y que inicie la fermentación. La masa fermentativa se removió cada 24 horas para asegurar una fermentación homogénea. El periodo de fermentación se estableció de acuerdo a los tiempos establecidos en el diseño de la investigación, sin embargo, estos superan las 48 horas el cual es el tiempo necesario para que la muerte del embrión se lleve a cabo de manera correcta (44).

El periodo de secado se llevó de manera natural, exponiendo al sol dentro de una marquesina y posteriormente se almacenaron los granos teniendo en cuenta que al final del almacenamiento estos deben tener un 7% de humedad. Durante esta fase de la investigación se estableció la toma de variables físico-químicas.

### **3.2.2. Investigación de laboratorio.**

Durante la fase de laboratorio se estableció la elaboración de la pasta de cacao, dentro de la cual entran los procesos de tostado, molienda y elaboración de la pasta a partir de las muestras de cada tratamiento respectivo para su posterior prueba sensorial. Durante esta fase también se evaluó el de pH de las almendras.

### **3.3. Métodos de investigación.**

#### **3.3.1. Método de observación.**

Este método permitió establecer los primeros enunciados a partir de la observación directa de los cambios en la masa fermentativa, a partir y como producto de la adición de microorganismos y enzimas para alterar su composición bioquímica.

#### **3.3.2. Método deductivo.**

Mediante el método deductivo se establecieron los principios generales en respuesta a los fenómenos que ocurren durante la investigación, empleando conceptos universales publicados en los medios escritos e informáticos para establecer las conclusiones generales.

#### **3.3.3. Método de síntesis.**

Este método permitió organizar la información obtenida y analizarla estadísticamente para determinar diferencias entre los tratamientos evaluados, con el fin de buscar soluciones al problema planteado. Una vez obtenidas las semillas fermentadas se procedió a su secado, para posteriormente mediante una prueba de corte determinar el grado de fermentación alcanzado por los granos. A partir de las semillas se elaboró una pasta base, a la cual se procedió a realizar un análisis organoléptico de sus características sensoriales.

### **3.4. Fuentes de recopilación de información.**

#### **3.4.1. Fuentes primarias.**

Las fuentes primarias de información constituyeron los datos obtenidos de la etapa de fermentación y la degustación de la pasta elaborada, parte experimental de la investigación, es decir, de la observación directa de los fenómenos el registro de las diferentes variables a evaluar.

### 3.4.2. Fuentes secundarias.

Las fuentes secundarias están determinadas por la información adquirida mediante medios físicos como libros, revistas, o medios electrónicos como el internet, revistas online, paginas indexadas, etc.

### 3.5. Diseño de la investigación

Para el desarrollo de esta investigación se dispuso de un diseño experimental completo al azar, con arreglo factorial  $A \times B + 1$ , donde se evaluó el efecto de la adición de dos tipos de levaduras (factor A) compuestos por una masa madre y *Saccharomices cerviceae*; y tres tipos de enzimas polifenoloxidas (PPO) (factor B) provenientes de la adición de frutas a la masa fermentativa, estas frutas fueron: banano, manzana y aguacate. De esta manera se establecieron 6 tratamientos más un tratamiento control al cual no se le adicionó nada para su proceso fermentativo.

El modelo matemático de este diseño experimental se presenta a continuación.

**(Ecuación 1)**

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \alpha\gamma_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  es la variable de respuesta o variable dependiente

$\mu$  es la media general

$\alpha_i$  es el efecto del factor A (tipos de levaduras)

$\gamma_j$  es el efecto del factor B (tipos de enzimas)

$\alpha\gamma_{ij}$  es la interacción de los factores A x B

$\epsilon_{ijk}$  es el error experimental

Cada unidad experimental estuvo conformada de una caja de fermentación y 23 kg de cacao fresco variedad CCN-51. Los tratamientos a evaluar se establecen en la tabla a continuación.

**Tabla 4.** *Tratamientos bajo estudio.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>	<b>U.E.</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>Cajas</b>
T1	<i>S. cerviceae</i> + Pulpa de banano	3	3	3
T2	<i>S. cerviceae</i> + Pulpa de manzana	3	3	3
T3	<i>S. cerviceae</i> + Pulpa de aguacate	3	3	3
T4	Levadura madre + Pulpa de banano	3	3	3
T5	Levadura madre + Pulpa de manzana	3	3	3
T6	Levadura madre + Pulpa de aguacate	3	3	3
T7	Testigo	3	3	3
			<b>Total</b>	<b>21</b>

### **3.6. Instrumentos de investigación.**

#### **3.6.1. Variables bajo estudio.**

Las variables se evaluaron durante tres periodos de fermentación a las 72, 96 y 120 horas con la finalidad de determinar la influencia de los periodos de fermentación sobre la calidad final de los granos de cacao.

##### **3.6.1.1. Temperatura de fermentación.**

La temperatura de fermentación se registró a partir de 24 horas iniciada la fermentación de los granos de cacao con la ayuda de un termómetro. Este parámetro se continuó evaluando cada 24 horas.

### **3.6.1.2. pH de las almendras.**

El pH de los granos secos fermentados se realizó mediante un muestreo por cada unidad experimental, obteniendo 5 semillas a las cuales se procedió a separar la testa del cotiledón, a estos se le añade 10 ml de agua destilada y se procede a licuar, posteriormente esta mezcla se afora añadiéndole 100 ml de agua destilada y se procedió a medir el pH usando un potenciómetro de acuerdo a la norma INEN NTE 0389 (45).

### **3.6.1.3. Porcentaje de fermentación.**

Para evaluar esta variable se observó las características internas del grano y el grado de fermentación obtenido por los granos de cacao expresado en porcentaje por cada tratamiento, para lo cual se realizó un muestreo de 100 granos y se realizó una prueba de corte empleando un equipo de corte vertical (guillotina) de acuerdo a la norma INEN NTE 0175 (46); la calidad de la fermentación se evaluó de acuerdo a la norma INEN NTE 0176 (47).

### **3.6.1.4. Evaluación sensorial.**

Se realizó una evaluación sensorial o prueba organoléptica. Esta variable se realizó mediante la elaboración de pasta de cacao y su posterior catación. La prueba organoléptica fue realizada por la empresa OREACAO S.A., y los resultados pueden observarse en el Anexo 2.

## **3.7. Tratamiento de los datos**

Los datos obtenidos de la calidad fermentativa fueron analizados a través de un análisis de varianza, gracias al empleo del software estadístico Infostat versión 2016 (48). El efecto de cada fuente de variación se determinó mediante un análisis de varianza, cuyo esquema se plantea a continuación en la Tabla 5.

**Tabla 5.** *Esquema del análisis de varianza.*

<b>Fuente de variación</b>		<b>Grados de libertad</b>
Tratamientos	t-1	6
Enzimas	b-1	2
Levaduras	a-1	1
Levaduras x enzimas	(a-1)(b-1)	2
Testigo vs resto		1
Error experimental	ab(n-1)	14
Total	abn-1	20

### **3.8. Recursos humanos y materiales.**

#### **3.8.1. Recursos humanos.**

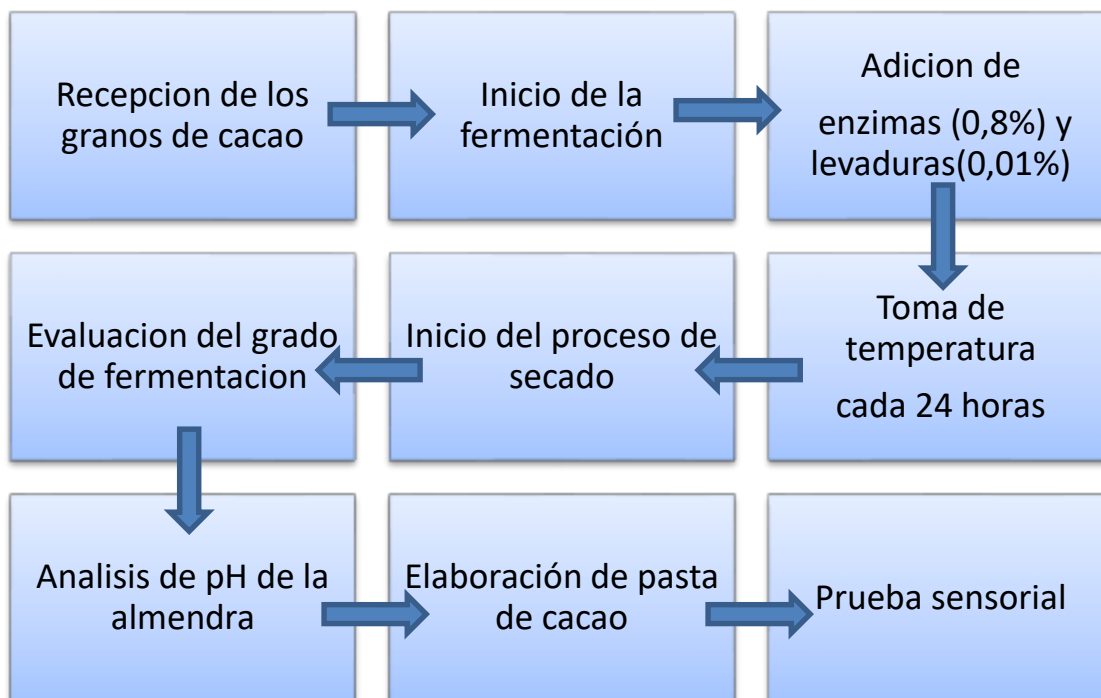
- ❖ Karen Guevara (Autora)
- ❖ Ing. Wiston Morales (Tutor)

#### **3.8.2. Materiales.**

- ❖ Cacao fresco (483 Kg)
- ❖ Cajas de fermentación
- ❖ Termómetro
- ❖ Guillotina
- ❖ Equipos de laboratorio
- ❖ Balanza
- ❖ Potenciómetro

### 3.9. Flujoograma del proceso.

A continuación, se muestra el flujoograma del proceso tomado en el desarrollo de la presente investigación.



#### 3.9.1. Recepción de materia prima.

Los granos de cacao fueron cosechados tomando en cuenta el grado de madurez óptimo, evitando emplear mazorcas inmaduras o con problemas fitosanitarios. Los granos fueron recibidos y colocados en cajones de madera de laurel para iniciar el proceso de fermentación. En cada caja se colocó 23 kg de granos de cacao fresco, empleando así en total 483 kg.

#### 3.9.2. Inicio del proceso de fermentación.

Los granos reposaron en las cajas durante 24 horas, luego de este periodo se procedió a remover la masa fermentativa y aplicar los tratamientos respectivos con su respectiva rotulación. El proceso se inició con la selección, procesamiento y pesado de las frutas a razón del 8% de su

peso total, es decir, se empleó 1.84 kg de pulpa de fruta en estado maduro; mientras que la levadura fue incluida de a razón del 0.1% es decir, de acuerdo al tratamiento correspondiente se utilizó 23 g de levadura activada.

*Dosis de enzimas :  $23\text{kg} * 0.08 = 1.84 \text{ kg de pulpa fruta en estado maduro por caja}$*

*Dosis de levaduras :  $23\text{kg} * 0.001 = 23 \text{ gramos de levaduras por caja}$*

Para activar la levadura comercial se lo realizó disolviendo los gránulos en una solución de agua a una temperatura que oscile entre los 32° y 43° C. Una vez aplicados los tratamientos a los granos, los cajones fueron sellados con el fin de iniciar el proceso de fermentación.

La fruta fue incorporada a los granos de cacao en forma de pasta (puré) en forma pura sin previamente añadir agua, a excepción de la manzana, que debido a su naturaleza se debió incorporar 300 ml de agua y licuar hasta obtener una pasta.

### **3.9.3. Toma de temperatura.**

A las siguientes 24 horas se realizó el volteo de la masa fermentativa, previo a esto se realizó la toma de la temperatura de fermentación correspondiente, la misma que se repitió cada 24 horas.

### **3.9.4. Proceso de secado.**

Una vez concluida la etapa de fermentación, los granos fueron llevados a una marquesina con el fin de iniciar el proceso de secado. Esta fase se llevó a cabo de manera permanente por 7 días hasta que los granos alcanzaran un porcentaje de humedad de aproximadamente 7%.

### **3.9.5. Evaluación de la fermentación obtenida.**

Una vez secos los granos, se tomó muestras para ser evaluadas mediante prueba de corte, los datos obtenidos fueron registrados y posteriormente analizados; de acuerdo a la norma INEN

NTE 0175 mientras que para evaluar la calidad de la fermentación debe emplearse la norma INEN NTE 0176.

### **3.9.6. Evaluación del pH de la almendra.**

A partir del muestreo anterior se tomó una submuestra para evaluar el pH de las almendras de acuerdo a los tratamientos para lo cual debe empleamos la norma INEN NTE 0389.

### **3.9.7. Prueba organoléptica.**

Para la prueba organoléptica se procedió a tomar otra muestra de los granos secos los cuales fueron llevados a laboratorio donde se elaboró una pasta, la cual fue degustada y evaluada por catadores especializados de acuerdo a la siguiente escala presentada en la Tabla 6.

**Tabla 6.** *Escala de atributos de calidad de una pasta de cacao.*

<b>Escala</b>	<b>Significado</b>
0	Ausente
1	Poco presente, y tal vez no se encuentre si se saborea de nuevo
2	Presente en la muestra
3	Caracteriza la muestra
4	Dominante en la muestra
5	Muy dominante en la muestra

**Fuente:** (49)

**Elaboración:** Autora.

**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1. Resultados y discusión.

### 4.1.1. Características físicas de los granos de cacao.

Se pudo evidenciar que existieron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre la temperatura registrada por los tratamientos evaluados durante las primeras 48 y 72 horas de fermentación, sin embargo, a partir de las 96 horas los tratamientos no demostraron diferencias estadísticas entre sí. A las 48 horas el tratamiento T1 (Levadura madre + manzana) obtuvo la mayor temperatura registrada con 42.33°C, no obstante, a las 72 horas el T3 (Levadura madre + banano) obtuvo la mayor temperatura con 36.33°C, de la misma manera a las 96 horas con 38.33°C. Estos valores pueden observarse en Tabla 7.

**Tabla 7.** Variación de temperatura durante el proceso de fermentación de acuerdo a los tratamientos evaluados.

Tratamientos			Horas		
Cód.	Levaduras	Enzimas	48 horas	72 horas	96 horas
T1	Levadura madre	Manzana	42.33 a	36.00 ab	36.67 a
T2	Levadura madre	Aguacate	38.00 b	35.00 ab	36.33 a
T3	Levadura madre	Banano	38.33 ab	36.33 a	38.33 a
T4	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Manzana	38.33 ab	34.67 ab	37.33 a
T5	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Aguacate	38.00 b	34.33 b	37.67 a
T6	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Banano	38.00 b	35.00 ab	37.67 a
T7	Testigo		37.67 b	35.00 ab	37.00 a
C.V. (%)			3.95	1.86	2.03

C.V. Coeficiente de variación; Medias con misma letra no difieren estadísticamente ( $p > 0.05$ )

Los resultados demuestran que la levadura madre influye significativamente en el incremento de la temperatura durante el proceso de fermentación, lo cual permite una mejor fermentación de los granos de cacao, estos valores concuerdan con los datos publicados en investigaciones donde se consideró que la fermentación es más rápida a medida cuando se incrementa la temperatura de la masa fermentativa (50).

Los resultados permiten establecer que los microorganismos presentes en la levadura madre influyeron significativamente en el incremento de temperatura durante el proceso de fermentación, siendo estos indispensables durante este proceso, concordando con la información expuesta en investigaciones donde se destaca que los microorganismos juegan un rol crucial en la calidad final de los granos fermentados, a pesar de existir poca información acerca de la dinámica de estas poblaciones microbianas y su rol específico (51).

El pH de los granos fermentados difirió estadísticamente entre los tratamientos evaluados, donde el tratamiento T5 (*Saccharomices cerviceae* + aguacate) obtuvo el mayor valor de pH con 5.71, sin embargo, entre el tratamiento T5 y T2 no existieron diferencias significativas por lo cual se estableció que la enzima presente en la pulpa de aguacate determinó el pH de las almendras fermentadas. Estos valores pueden observarse en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Variación de pH durante el proceso de fermentación de acuerdo a los tratamientos evaluados.

<b>Tratamientos</b>			
<b>Cód.</b>	<b>Levaduras</b>	<b>Enzimas</b>	<b>pH</b>
T1	Levadura madre	Manzana	5.52 a
T2	Levadura madre	Aguacate	5.63 a
T3	Levadura madre	Banano	5.63 a
T4	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Manzana	4.88 b
T5	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Aguacate	5.71 a
T6	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Banano	5.42 a
T7	Testigo		4.98 b
C.V. (%)			2.68

C.V. Coeficiente de variación; Medias con misma letra no difieren estadísticamente ( $p > 0.05$ )

El rango de valores de pH obtenidos en la presente investigación concuerda con los resultados obtenidos en investigaciones donde se determinó que el pH óptimo para un cacao de calidad se encuentra entre 5.1 a 5.4, obteniendo una media de 5.39 (52).

Otros estudios establecen que cualquier pH menor a 5.0 es indicador de la presencia de ácidos no volátiles que pueden llegar a proporcionarle al cacao aromas y sabores desagradables (53).

#### **4.1.2. Fermentación de los granos de cacao.**

El porcentaje de fermentación de los granos de cacao de acuerdo a los tratamientos evaluados demostraron diferencias estadísticas ( $p \leq 0.05$ ) donde el tratamiento T3 alcanzó un 91% de los granos fermentados, mientras que el T1 y T2 alcanzaron el 88.33 y 86.67% respectivamente determinando así que la levadura madre influye directamente en la calidad de fermentación de los granos de cacao, mientras que la enzima que mejor se manifestó fue la PPO presente en el banano mejorando significativamente la calidad final de los granos. El coeficiente de variación para el porcentaje de fermentación de los granos de cacao fue de 1.31%. Estos valores pueden observarse en la Tabla 9.

Para los porcentajes de fermentación buena y media no se identificaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos, sin embargo, se observó diferencias numéricas donde el tratamiento T3 obtuvo el mayor porcentaje de almendras que alcanzaron una buena fermentación con el 70.67%, de la misma forma este tratamiento alcanzo los menores porcentajes de violeta, pizarra y moho con el 7.67, 1.00 y 0.33 % respectivamente. Los porcentajes de granos con mediana fermentación concuerdan con los datos publicados en investigaciones donde se alcanzó un porcentaje medio de hasta 47.90% de granos de fermentación media, indicando además que las características de estos granos son poseer una coloración medianamente marrón (50).

Se logró obtener un 91.00 % de fermentación de los granos de cacao sobre un 76.33 % alcanzado por el tratamiento testigo lo que demostró que la adición de enzimas y levaduras influyen significativamente en la calidad de los granos fermentados. Investigaciones demostraron que además de la adición de aditivos el tipo de fermentación y tiempo de remoción permiten alcanzar altos porcentajes de granos fermentados superiores al 83% (54).

**Tabla 9.** Grado de fermentación de los granos de cacao de acuerdo a los tratamientos.

Tratamientos			Porcentaje de fermentación					
Cód.	Levaduras	Enzimas	Total fermentado	Buena	Media	Violeta	Pizarra	Moho
T1	Levadura Madre	Manzana	88.33 ab	66.67 a	21.67 a	9.33 cd	1.67 a	0,66 a
T2	Levadura Madre	Aguacate	86.67 bc	66.33 a	20.34 a	9.00 cd	2.67 a	1,66 a
T3	Levadura Madre	Banano	91.00 a	70.67 a	20.33 a	7.67 d	1.00 a	0,33 a
T4	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Manzana	84.33 cd	64.00 ab	20.33 a	13.00 bc	1.33 a	1,34 a
T5	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Aguacate	86.00 bc	68.33 a	17.67 a	11.33 cd	2.33 a	0,34 a
T6	<i>Saccharomices cerviceae</i>	Banano	81.33 d	63.00 ab	18.33 a	16.33 ab	2.00 a	0,34 a
T7	<i>Testigo</i>		76.33 e	54.67 b	21.66 a	18.33 a	3.67 a	1,67 a
C.V.			1.31	6.05	19.14	14.15		

C.V. Coeficiente de variación; Medias con misma letra no difieren estadísticamente ( $p>0.05$ )

### 4.1.3. Prueba organoléptica.

La prueba organoléptica de los tratamientos evaluados en la presente investigación demostró que el tratamiento T3 presento mejores atributos que los demás tratamientos evaluados, sin embargo, en el atributo floral se puede observar que el tratamiento testigo presento un sabor más frutal en comparación con los demás tratamientos. Los atributos están evaluados en base a una calificación que va desde 0 = ausente hasta 5 = presente (Tabla 6). Los valores se presentan a continuación en la Tabla 10.

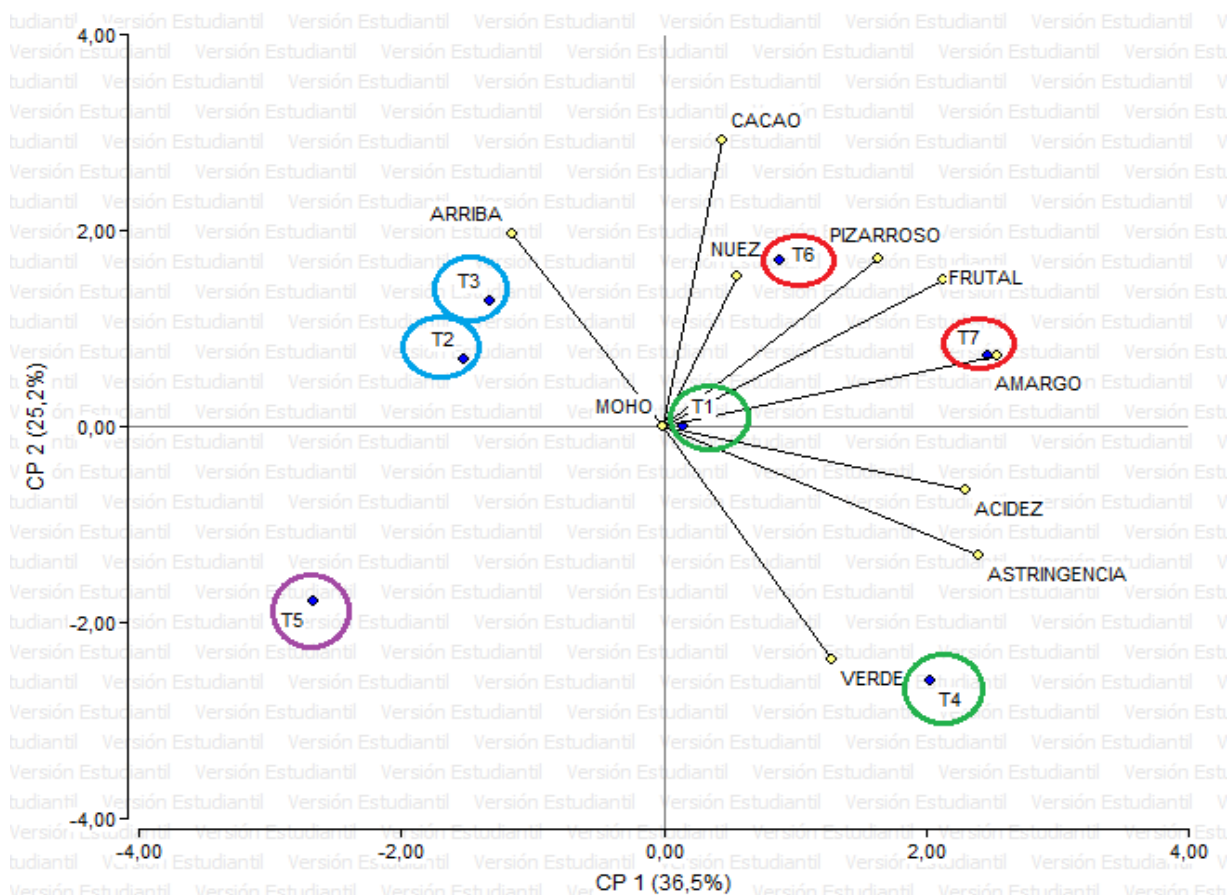
**Tabla 10.** Análisis organoléptico de las muestras de pasta de cacao de acuerdo a los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Atributos (Escala 0-5)						
	Arriba	Frutal	Cacao	Amargo	Nuez	Acidez	Astringencia
T1	2.5	1.5	2.5	2.0	1.0	2.5	2.5
T2	2.5	1.5	2.5	2.0	1.0	1.0	1.5
T3	3.0	1.5	3.0	2.0	1.0	1.5	1.5
T4	1.5	1.5	1.5	2.5	1.0	2.5	3.0
T5	1.5	1.0	1.0	1.5	1.0	1.0	1.5
T6	2.0	1.5	2.5	2.5	1.5	1.5	2.0
T7	1.5	2.0	2.5	2.5	1.0	2.5	2.5
<b>H</b>	<b>7.13<sup>ns</sup></b>	<b>2.08<sup>ns</sup></b>	<b>7.40<sup>ns</sup></b>	<b>3.69<sup>ns</sup></b>	<b>1.20<sup>ns</sup></b>	<b>8.21<sup>ns</sup></b>	<b>7.13<sup>ns</sup></b>
<b>p-Valor</b>	<b>0.2086</b>	<b>0.7153</b>	<b>0.2035</b>	<b>0.4386</b>	<b>0.4232</b>	<b>0.1504</b>	<b>0.2086</b>

T1= Levadura madre + manzana; T2= Levadura madre + aguacate; T3= Levadura madre + banano; T4= *S. cereviceae* + manzana; T5= *S. cereviceae* + aguacate; T6= *S. cereviceae* + banano; T7= Testigo; H= Prueba no paramétrica de Krustal Wallis; p-Valor = Valor de significancia ( $p \geq 0.05$ );

Las muestras procedentes de los tratamientos con una mejor calidad fermentativa desarrollaron una expresión más intensa del sabor a cacao y otras notas sensoriales típicas de los cacaos finos o de aroma como sabor frutal, arriba o nuez, mientras que los atributos negativos del sabor a cacao que correspondieron al amargor, acidez y astringencia, se expresaron como consecuencia

de una mala fermentación. En la Figura 1 se presentan la distribución de los tratamientos de acuerdo a un plano de atributos organolépticos de los granos de cacao.



T1= Levadura madre + manzana; T2= Levadura madre + aguacate; T3= Levadura madre + banano; T4= *S. cereviceae* + manzana; T5= *S. cereviceae* + aguacate; T6= *S. cereviceae* + banano; T7= Testigo.

**Figura 1.** Atributos organolépticos de los granos de cacao sometidos a diferentes clases de levaduras y enzimas durante su periodo de fermentación.

La Figura 1 permite demostrar una variabilidad del 61.7 % en las variables sensoriales evaluadas, además, se puede evidenciar la relación entre las notas sensoriales y los tratamientos, encontrándose que los tratamientos T2 y T3 están agrupados dentro del perfil arriba, como resultado de un excelente proceso de fermentación; los tratamientos T6 y T1 están agrupados dentro de los perfiles propios de cacaos ecuatorianos como su sabor frutal y nuez, mientras que los tratamientos T4 y testigo están agrupados dentro de los perfiles amargor y astringencia, propios de un proceso de fermentación deficiente.

La calidad de la fermentación de las almendras permitió alcanzar atributos propios de granos de cacao de calidad, mismas características sensoriales obtenidas en otras investigación, donde además se verificaron otras características adicionales como Intensidad Aromática, Aroma a Fruta Fresca, Aroma a Fruta Confitada, Aroma Floral, Aroma Típico a Chocolate y Aroma a Frutos Secos, demostrando que existió una relación directa del porcentaje de fermentación con las características sensoriales del producto final (13).

Las diferencias en la calidad de la fermentación podrían explicar las correlaciones positivas entre el sabor a cacao con floral, frutal y nuez. Las muestras mejor fermentadas desarrollan no solo una expresión más intensa del sabor a cacao sino también notas sensoriales aromáticas típicas de los cacaos finos o de aroma, cuando estas son partes integrales de su genética (55).

Las correlaciones negativas del sabor a cacao con el amargor, acidez y astringencia, son consecuencia de la mala calidad de la fermentación que estimula la expresión de estos últimos, atenuando la expresión del sabor a cacao y de otros aromas de interés, en mayor o menor medida; por el contrario, las correlaciones negativas entre el amargor y aquellas notas sensoriales asociadas a los cacaos finos, confirman que la fermentación fue insuficiente, limitando el desarrollo de la expresión de estos últimos, puesto que, la misma explicación sirve para demostrar la relación inversa entre la acidez y la astringencia con los sabores floral y frutal (55).

Los arboles de genotipo nacional poseen características organolépticas superiores al CCN-51, como lo demuestran investigaciones donde los genotipos de árboles nacionales 2361, 2248, 2126, 2634, 2184 y el clon EET-96 alcanzaron los valores más altos de perfiles sensoriales, mientras que el CCN-51 obtuvo una valoración media en comparación con los otros genotipos evaluados, obteniendo valores de 1.9, 0.44, 1.0 y 0.19 para los perfiles de sabores específicos cacao, floral, frutal y nuez respectivamente, valores por debajo de los obtenidos en la presente investigación, donde la adición de enzimas y levaduras durante el proceso de fermentación repercutió en la obtención de mejores características organolépticas del chocolate producido (56).

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se plantean las siguientes conclusiones:

- ❖ El efecto de la adición de dos tipos de levaduras durante la etapa fermentativa influyó significativamente en las características bioquímicas de la almendra de cacao, determinándose que la levadura madre adicionada a la masa de granos de cacao previo al proceso de fermentación permitió alcanzar mejores temperaturas e índices de pH, de la misma forma afectó de manera positiva en el grado de fermentación permitiendo alcanzar mayores porcentajes de granos fermentados.
- ❖ El efecto de la adición de enzimas polifenoloxidasas de tres frutas durante la etapa fermentativa de los granos de cacao no demostró significancia en las características bioquímicas de la almendra de cacao, sin embargo, para el proceso de fermentación, la enzima PPO contenida en el banano permitió alcanzar los mayores porcentajes de fermentación de los granos de cacao fermentados.
- ❖ La adición de enzimas y levaduras a los granos de cacao con el fin de mejorar su proceso de fermentación incidió significativamente sobre las características organolépticas de los granos, demostrando que los tratamientos donde se adicionó estos aditivos presentaron mejores atributos en comparación con el tratamiento testigo, lo que demuestra su efectividad al mejorar considerablemente las características sensoriales de clones como el CCN-51.

## **5.2. Recomendaciones.**

Se recomienda evaluar mayores dosis de enzimas y levaduras con el fin de aumentar las características sensoriales de los granos de cacao gracias al proceso de fermentación.

Se recomienda evaluar diferentes periodos de fermentación, con el fin de determinar su influencia sobre la calidad final de los granos de cacao.

Se recomienda evaluar el Beneficio/Costo, con el fin de demostrar que exista una relación entre los métodos de pos cosecha, calidad del producto, precio y su rentabilidad.

**CAPÍTULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

## 6.1. Referencias bibliográficas.

1. ANECACAO. Actualidad y perspectivas del sector cacaotero en Ecuador Guayaquil: Cumbre Mundial de Cacao; 2014.
2. Bravo N, Mingo F. Valoración de tres métodos de fermentación y secado para mejorar la calidad y rentabilidad del cacao fino de aroma (*Theobroma cacao*) en la parroquia Panguintza del cantón Centinela del Condor, provincia de Zamora Chinchipe Loja: Universidad Nacional de Loja; 2011.
3. Lambert S. Fermentación del cacao, aspectos generales Madagascar: CDOC; 2011.
4. Rivera RD, Mesias F, Guzman A, Peña M, Medina H, Casanova L, et al. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología*. 2012 Junio; 5(1): p. 7-12.
5. Belda I, Navascués E, Alonso A, Marquina D, Santos A. Microbiología del proceso de vinificación: selección de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* autóctonas con óptimas propiedades enológicas. *Reduca. Serie Microbiología*. 2014; 7(1): p. 1-14.
6. Chiva R, Jimenez A, Santos MA, Tamame M. Nuevas levaduras para nuevos panes. *Biotecnología*. 2016; 1(1): p. 38-46.
7. Pastorelly D. Bioquímica y microbiología de la fermentación de cacao. *El cacaotero*. 2013; 1(1).
8. Barahona R, Lascano C, Cochran R, Morrill J. Efecto del manejo post cosecha del forraje y la adición de polietilén glicol en la concentración y la astringencia de taninos condensados en leguminosas tropicales. *Pasturas tropicales*. 1996; 18(1): p. 41-47.
9. Stevenson C, Corven J, Villanueva G. Manual para análisis de cacao en laboratorio San José: IICA; 1993.

10. Kalvatchev Z, Garzaro D, Guerra F. Theobroma cacao L: Un nuevo enfoque para nutrición y salud. *Agroalimentaria*. 1998 Junio; 1(6): p. 23-26.
11. Portillo A, Portillo E, Arenas L, Rodríguez B, Chacón I. Efecto del año y tiempo de fermentación sobre las características químicas del cacao Porcelana. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 2014; 1(1): p. 699-711.
12. Tinoco H, Ospina D. Análisis del proceso de deshidratación de cacao para la disminución del tiempo de secado. *Revista EIA*. 2010 Julio; 1(13): p. 53-63.
13. Navia A, Pazmiño N. Mejoramiento de las Características Sensoriales del Cacao CCN51 a través de la Adición de Enzimas durante el Proceso de fermentación Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2012.
14. Erazo R, Mendoza C. Evaluación de la aplicación de *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter acetii*, en la fermentación del cacao CCN-51 y su efecto en la calidad de las almendras. Primera ed. Santo Domingo: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE; 2015.
15. Loayza W. Influencia de la frecuencia de remoción, durante la fermentación, en la calidad sensorial del cacao (*Theobroma Cacao, L.*) de Satipo Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
16. Enríquez G. Cacao orgánico. Guía para productores ecuatorianos. Primera ed. Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias ; 2004.
17. Quiroz J, Agama J. El cultivo de cacao. *Producción*. 2009 Agosto; 2(1).
18. Pérez R. El cacao en la historia ecuatoriana: La pepa de oro. La calidad del cacao. 2009 Agosto; 2(1).
19. Díaz S, Pinoargote M. Análisis de las características organolépticas del chocolate a partir de cacao CCN-51 tratado enzimáticamente y tostado a diferentes temperaturas Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2012.

20. Zapata S, Tamayo A, Rojano A. Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2013; 18(3): p. 391-404.
21. Diaz L, Pinoargote M, Castillo P. Analisis de las características organolepticas del chocolate a partir de cacao CCN-51 tratado enzimáticamente y tostado a diferentes temperaturas. *ESPOL*. 2011 Octubre; 1(1).
22. Morales F, Ferreira J, Carrillo M, Peña M. Pequeños productores de cacao Nacional de la provincia de Los Ríos, Ecuador: un análisis socio-educacional y económico. *Spanish Journal of Rural Development*. 2015 Abril; 6(1-2): p. 29-44.
23. Lugmaña J. La demanda de cacao en grano en Suiza y su comercialización desde la provincia del Guayas Tulcan: Universidad Estatal Politecnica del Carchi; 2014.
24. Artica M. Cultivo del cacao Lima, Perú: Editora MACRO; 2008.
25. Torres LA. Manual de producción de cacao fino de aroma a travez de manejo ecológico. Primera ed. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca; 2012.
26. Perez E. Generalidades del cacao (*Theobroma cacao* L.), usos y aplicaciones en la industria alimentaria. Primera ed. Buenavista, Saltillo Coahuila, Mexico: Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro; 2006.
27. ANECAFE. Cultivo de cacao Quito: Asociación nacional del cafe; 2012.
28. Paredes M. Manual del cultivo de cacao Lima, Perú: Programa para el desarrollo de la Amazonía PROAMAZONIA; 2003.
29. Paredes N. Manual del cultivo de cacao para la Amazonia ecuatoriana. 76th ed. Quito, Ecuador: Intituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias; 2009.

30. Solorzano E, Amores F, Jiménez J, Nicklin C, Barzola S. Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Ciencia y Tecnología*. 2015 Junio; 8(1): p. 37-47.
31. Alvarez 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. *Revista Científica UDO Agrícola*. 2010; 10(1): p. 76-87.
32. Ibáñez D, Lujan D, Rojano B, Martínez G, Salcedo Y, Martines L. Fermentación, efectos en la capacidad antioxidante del cacao del Alto Sinú y Montes de María. *Agronomía Colombiana*. 2016 Septiembre; 36(1): p. 1367-1369.
33. Caballero JF, Hernandez C, Avendaño C. La fermentación y el secado al sol de granos de cacao. 31st ed. Tapachula, Chiapas: INIFAP, SAGARPA; 2014.
34. Nogales J, Graziani L, Ortiz L. Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. *Agronomía Trop*. 2006; 56(1).
35. Muñoz K, Bravo K, Zapata P, Londoño J. Caracterización preliminar del enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: Implicaciones en su proceso de industrialización. *Scientia et Technica*. 2007 Mayo; 13(33): p. 161-165.
36. Gasull E, Becerra D. Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). *Informacion Tecnológica*. 2006; 17(6): p. 69-74.
37. Reyes H, Vivas J, Romero A. La calidad del cacao: Cosecha y fermentación. FONAIAP DIVULGA. 2000; 1(1).
38. Wachter MC. Microorganismos y chocolate. *Revista Digital Universitaria*. 2011 Abril; 12(4): p. 1-8.

39. Nielsen D, Teniola O, Ban-koffi L, Owusu M, Andersson T, Holzapfel W. La microbiología de las fermentaciones ghanesas de cacao analizadas utilizando métodos dependientes de la cultura e independientes de la cultura. *International Journal of Food Microbiology*. 2007; 144(1): p. 168-186.
40. De Bruyne K, Camu N, de Vuyst P, Vandamme P. Nueva especie presente en la fermentación de cacao de Ghana Nueva Guinea; 2010.
41. Cleenwerck I, González A, Camu E, Engelbeen P, de Vos P, de Vuys L. *Acetobacter Fabarum*, sp. Nov., una bacteria de ácido acético de una fermentación ghaniana del montón de granos de cacao. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2008; 58(1): p. 2180-2185.
42. Ardhana MM, Fleet G. La ecología microbiana de las fermentaciones de cacao en Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*. 2003; 86(1): p. 87-89.
43. INAMHI. Anuario Meteorológico Quito: Servicio Meteorológico; 2015.
44. Maisincho M. Fermentacion de cacao (*Theobroma cacao*) variedad CCN-51 inoculando *Acetobacter*. Primera ed. Ambato: Universidad Tecnica de Ambato.; 2006.
45. INEN. Norma 0389. Conservas vegetales. Determinación de la concentración del ión hidrógeno. Primera Revisión ed. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización; 1986.
46. INEN. Norma 0175. Cacao en grano. Ensayo de corte. Primera Revisión ed. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización; 1987.
47. INEN. Norma 0176. Cacao en granos. Requisitos. Cuarta Revisión ed. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización; 2006.
48. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzales L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2016 Cordoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2016.

49. Sukha DA. Protocolos para calidad del cacao: Análisis del estado actual de la industria San Pedro Sula: Universidad de las Antillas; 2016.
50. Sánchez V. Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L) para la selección de árboles con perfiles de árboles de interés comercial Quevedo: Universidad Tecnica Estatal de Quevedo; 2007.
51. López R. Desarrollo de un modelo matemático para la fermentacion del cacao criollo blanco Piura: Universidad de Piura; 2016.
52. Alvarez C, Tovar L, García H, Morillo F, Sanchez P, Girón C, et al. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. Revista Científica UDO Agrícola. 2010 Noviembre; 10(1): p. 76-87.
53. Calderon L. Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (*Theobroma cacao* L.) de tipo fino y ordinario de producción Nacional durante la fermentación en relación con la calidad Quito: Pontificia Universidad Catolica; 2002.
54. Teneda W. Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad Nacional y variedad CCN-51 Sevilla: Universidad Internacional de Andalucía; 2016.
55. Párraga D. Caracterización físico-química y sensorial de quince clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional en almendras fermentadas y secas para obtención de pasta de cacao. Primera ed. Quevedo: Universidad Tecnica Estatal de Quevedo; 2013.
56. Sánchez V. Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L), para la seleccion de arboles con perfiles de sabor de interes comercial Quevedo: Universidad Tecnica Estatal de Quevedo; 2007.

**CAPÍTULO VII**  
**ANEXOS**

## 6.1. Anexo 1. Análisis de la varianza.

**Tabla 11.** Análisis de varianza para la variable temperatura a las 48 horas de fermentación.

<b>Fuente de variación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-Valor</b>
Tratamiento	48.00	6	8.00	3.43	0.0269
Enzima	20.33	2	10.17	4.36	0.0336
Levadura	9.39	1	9.39	4.03	0.0644
Levadura*Enzima	14.78	2	7.39	3.17	0.0731
Testigo vs resto	3.50	1	3.50	1.50	0.2409
Error	32.67	14	2.33		
Total	80.67	20			

**Tabla 12.** Análisis de varianza para la variable temperatura a las 72 horas de fermentación.

<b>Fuente de variación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-Valor</b>
Tratamiento	9.24	6	1.54	3.59	0.0228
Enzima	3.11	2	1.56	3.63	0.0538
Levadura	5.56	1	5.56	12.93	0.0029
Levadura*Enzima	0.44	2	0.22	0.51	0.6103
Testigo vs resto	0.13	1	0.13	0.30	0.5948
Error	6.00	14	0.43		
Total	15.24	20			

**Tabla 13.** Análisis de varianza para la variable temperatura a las 96 horas de fermentación.

<b>Fuente de variación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-Valor</b>
Tratamiento	8.29	6	1.38	2.42	0.0815
Enzima	4.00	2	2.00	3.51	0.0582
Levadura	0.89	1	0.89	1.56	0.2319
Levadura*Enzima	3.11	2	1.56	2.74	0.0993
Testigo vs resto	0.29	1	0.29	0.50	0.4911
Error	8.00	14	0.57		
Total	16.29	20			

**Tabla 14.** *Análisis de varianza para la variable fermentación de los granos de cacao.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-Valor</b>
Tratamiento	419.24	6	69.87	56.44	<0.0001
Enzima	0.11	2	0.06	0.05	0.9529
Levadura	102.72	1	102.72	82.84	<0.0001
Levadura*Enzima	62.11	2	31.06	25.05	<0.0001
Testigo vs resto	254.29	1	254.29	205.39	<0.0001
Error	17.33	14	1.24		
Total	436.57	20			

**Tabla 15.** *Análisis de la varianza para la variable pH de las almendras de cacao.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-Valor</b>
Tratamiento	2.01	6	0.33	15.95	<0.0001
Enzima	0.70	2	0.35	17.50	0.0002
Levadura	0.30	1	0.30	15.00	0.0017
Levadura*Enzima	0.40	2	0.20	10.00	0.0020
Testigo vs resto	0.61	1	0.61	28.93	0.0001
Error	0.29	14	0.02		
Total	2.30	20			

## 6.2. Anexo 2. Resultados pruebas organoléptica. Escala (0-5)

16/4/2017

#	arriba	frutal	cacao	amargo	nuez	acidez	astringencia	pizaroso	moho	verde	otros
to-r3	2	2	3	2	1	3	3	1	1	1	
t4-r3	1	1	2	3	1	3	3	1	1	2	agua sangre podrido?
t5-r2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	tocino rancio
t1-r1	3	2	2	2	1	3	2	1	1	1	banano coco
t3-r3	3	2	3	2	1	2	2	1	1	1	limpio equilibrado plano
t6-r2	2	2	3	3	2	2	2	2	1	1	tosco poco elegante
t2-r2	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	jabon plano

18/4/2017

#	arriba	frutal	cacao	amargo	nuez	acidez	astringencia	pizaroso	moho	verde	otros
to-r3	1	2	2	3	1	2	2	2	1	1	agua sangre
t4-r3	2	2	1	2	1	2	3	1	1	1	agua sangre
t5-r2	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	cebo
t1-r1	2	1	3	2	1	2	3	1	1	1	canela
t3-r3	3	1	3	2	1	1	1	1	1	1	muy plano pero ok
t6-r2	2	1	2	2	1	1	2	1	1	1	
t2-r2	3	1	2	2	1	1	2	1	1	1	ok plano

comentarios

HICIMOS 2 DEGUSTACIONES

el t1r1 tiene algo de fruta pero es un hilo

tocino jamon cebo es un defecto o un sabor atipico

en general los sabores son mas bien plano

no se encuentra un sabor de fruta bien pronunciado

LA MEJOR MUESTRA EN NUESTRO OPINION ES EL T3R3 Y EL T1R1

ORECAO SA  


### 6.3. Anexo 3. Evidencia fotográfica.



**Figura 2.** Pesado de frutas: A. Aguacate. B. Manzana. C. Banano. D. Peso de levadura



A



B

**Figura 3.** A. Proceso de fermentación de los granos de cacao. B. Proceso de secado.



**Figura 4.** A.B. Toma de parámetros físicos (Temperatura). C. Selección de muestras para toma de pH de la almendra.



**Figura 5.** A. Selección de muestras y prueba de corte. B. Corte de los granos fermentados de cacao. C. Pasta de cacao elaborada para prueba sensorial.