



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

CENTRO DE POSTGRADOS

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA

MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES

PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
AGROINDUSTRIA MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES

TÍTULO:

EVALUACIÓN DE UN SISTEMA SEMIAUTOMATIZADO PARA LA FERMENTACIÓN
DE *Theobroma cacao* L. (NACIONAL Y SÚPER ÁRBOL) EN LA AMAZONÍA NORTE
ECUATORIANA

AUTOR:

REMIGIO ARMANDO BURBANO CACHIGUANGO

DIRECTOR:

REINIER ABREU NARANJO, PhD

Puyo – Ecuador

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Remigio Armando Burbano Cachiguango con cédula 1003426481, declaro que el contenido de este proyecto de innovación es de mi autoría exclusiva

Remigio Armando Burbano Cachiguango

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El presente proyecto de innovación con el título “Evaluación de un sistema semiautomatizado para la fermentación de *Theobroma cacao* L. (Nacional y Súper Árbol) en la Amazonía norte ecuatoriana” fue revisado y aprobado por el tribunal de sustentación

Dr. C. Amaury Pérez Martínez, PhD

PRESIDENTE

Dr. C. Manuel Lázaro Pérez Quintana, PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. C. Hernán Patricio Ruiz Mármol, PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios por haber sido quien me ha guiado y guardado en todo este tiempo y además me ha regalado la vida, salud, e inteligencia, sin las cuales no hubiese sido posible culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre Carmen Cachiguango una persona llena de sabiduría, ejemplo de lucha, por todo su apoyo, sus oraciones, su amor para con sus hijos, por ser una inspiración en mi vida.

A mi Hermana Marlene Burbano, gracias a ella he podido alcanzar mis metas, gracias por su apoyo en todo momento y a mi cuñado Fausto le agradezco por toda su amistad, comprensión y por ser una muy buena persona y luchadora.

A mi hermano Marco porque ha sido siempre parte de todos mis procesos

A mis sobrinas Karen, gemelas Lía y Dayana Terán por ser unas niñas adorables, ustedes son mi inspiración, amor y ternura; Ustedes son quienes me hacen sentir lo maravilloso de la vida y que vale la pena luchar por alcanzar nuevas metas.

A mi novia Diana por todo el apoyo que me ha sabido dar y por estar pendiente de todo en el transcurso de mis estudios, a mis amigos y hermanos de la iglesia por sus oraciones y por ser chéveres.

Al Ing. Carlos Caicedo director del INIAP – Estación Experimental Central de la Amazonía, por brindarme todas las facilidades para poder seguir desarrollándome profesionalmente. A mis compañeros de trabajo por su apoyo en todo momento.

Al Dr. Reinier Abreu Naranjo por tenerme paciencia y estar siempre presto a apoyar con sus conocimientos en la realización de este proyecto, a mis compañeros de estudios y Dr. Luis Bravo por las facilidades que nos ha sabido dar y sobre todo por la paciencia que nos ha tenido.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a Dios, porque me ha sabido dar las fuerzas suficientes cuando las he necesitado, dedico este trabajo y mi profesión, le pongo todo en sus manos.

A mi madre porque sin su apoyo no habría podido llegar donde estoy, a mi hermana Marlene y a mis sobrinas (Karen, Lía y Dayana), a mi familia ya que siempre han sido parte fundamental de todo mi proceso de formación profesional.

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación tuvo como propósito evaluar el sistema semiautomatizado y su influencia sobre las características físicas y químicas de dos genotipos de cacao (Nacional y Súper Árbol). Se empleó un diseño factorial completo tipo principales efectos 2^2 , donde los factores seleccionados fueron el genotipo (Nacional y Súper Árbol) y método de fermentación (semiautomatizado y cajas Rohan), a tres réplicas. Las variables físicas evaluadas fueron: porcentaje de fermentación y de testa, peso y número de 100 almendras; químicas: pH de testa y cotiledón, contenido de grasa, índice de fermentación y polifenoles totales (método Folin-Ciocalteu). El modelo empleado fue significativo con un valor R^2 de 0.90 y también la variable método y la interacción, mientras que la variedad no tuvo significancia ($p > 0.05$). Se evidenció que el tiempo de fermentación, a excepción del peso y número de 100 semillas, tuvo influencia en las características físicas. El porcentaje de fermentación fue más alto en el sistema semiautomatizado (89,33%) que en cajas Rohan (78,67%). El peso de 100 almendras fue significativamente mayor en el método Rohan. En las características químicas, durante la fermentación el pH de cotiledón y la concentración de polifenoles disminuyeron, el índice de fermentación aumentó y el contenido graso no tuvo efecto. En el caso de los dos métodos, el pH de cotiledón fue mayor en el sistema semiautomatizado, mientras que el contenido graso y polifenoles no tuvieron diferencias significativas en los dos métodos. Las mejores características de calidad se obtuvieron en el sistema semiautomatizado a las 84 y 96 horas.

PALABRAS CLAVE: *Theobroma cacao* L, polifenoles, calidad, fermentación

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the semi-automated system and its influence on the physical and chemical characteristics of two cocoa genotypes (National and Super Tree). A full factorial design of the main effects type 2² was used, where the selected factors were the genotype (National and Super Tree) and fermentation method (semi-automated and Rohan boxes), at three replications. The physical variables evaluated were: percentage of fermentation and husk, weight and number of 100 almonds; Chemicals: testa and cotyledon pH, fat content, fermentation index and total polyphenols (Folin-Ciocalteu method). The model used was significant with an R² value of 0.90 and also the method variable and the interaction, while the variety had no significance ($p > 0.05$). It was evidenced that the fermentation time, except for the weight and number of 100 seeds, had an influence on the physical characteristics. The fermentation percentage was higher in the semi-automated system (89.33%) than in Rohan boxes (78.67%). The weight of 100 almonds was significantly higher in the Rohan method. In the chemical characteristics, during the fermentation the cotyledon pH and the concentration of polyphenols decreased, the fermentation index increased and the fat content had no effect. In the case of the two methods, the cotyledon pH was higher in the semi-automated system, while the fat and polyphenol content did not have significant differences in the two methods. The best quality characteristics were obtained in the semi-automated system at 84 and 96 hours.

KEYWORDS: *Theobroma cacao* L, polyphenols, quality, fermentation

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. PROBLEMA CIENTÍFICO	3
1.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3. OBJETIVOS	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. <i>Theobroma cacao</i> L.....	4
2.1.1. Clasificación	5
2.1.2. Composición química.....	6
2.2. Beneficiado de <i>T. cacao</i>	8
2.2.1. Fermentación	8
2.3. Métodos de fermentación	11
2.3.1. Fermentación en cajas de madera.....	11
2.3.2. Fermentación en montones.....	11
2.3.3. Fermentación en sacos.....	12
2.3.4. Fermentación en cajas Rohan.....	12
2.3.5. Fermentación en tambores de madera	12
2.4. Efecto de la fermentación sobre las características físicas y químicas de la almendra de cacao.....	13
2.4.1. Características físicas	13
2.4.2. Características químicas	15
2.4.3. Análisis sensorial de cacao.....	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1. Localización.....	21
3.2. Tipo de investigación.....	21
3.2.1. Tipo de investigación descriptivo.....	21
3.2.2. Tipo de investigación experimental.....	21
3.3. Métodos de investigación	22

3.4. Tratamientos de datos.....	22
3.4.1. Proceso de fermentación en un sistema semiautomatizado.....	22
3.4.2. Fermentación en método Rohan.....	24
3.5. Análisis de las características físicas y químicas.....	26
3.5.1. Preparación de las muestras.....	26
3.5.2. Características físicas.....	27
3.5.3. Características químicas.....	28
3.6. Diseño experimental.....	29
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1. Determinación del modelo y significancia de los efectos.....	30
4.2. Análisis de las características físicas en el proceso de fermentación.....	32
4.2.1. Porcentaje de fermentación.....	32
4.2.2. Peso de 100 almendras.....	35
4.2.3. Número de almendras en 100 gramos.....	37
4.2.4. Porcentaje de testa.....	39
4.3. Análisis de las características químicas en el proceso de fermentación.....	42
4.3.1. pH de testa.....	42
4.3.2. pH de cotiledón.....	44
4.3.3. Porcentaje de grasa.....	45
4.3.4. Índice de fermentación.....	48
4.3.5. Polifenoles totales.....	51
4.4. Comparación de las características físicas y químicas del sistema semiautomatizado con el de cajas Rohan.....	54
4.4.1. Características físicas de cacao.....	54
4.4.2. Características químicas.....	57
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	60
5.1. CONCLUSIONES.....	60
5.2. RECOMENDACIONES.....	61
6. BIBLIOGRAFÍA.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquematación del proceso de fermentación de cacao	9
Figura 2. Diagrama de bloques de proceso para la fermentación de cacao en un sistema semiautomatizado	24
Figura 3. Vista lateral de las cajas Rohan con masa de cacao para fermentar durante 5 días ..	25
Figura 4. Diagrama de Pareto para la determinación de los efectos significativos de los factores estudiados en la fermentación de dos variedades de cacao	31
Figura 5. Variación del porcentaje de fermentación durante el proceso poscosecha en cacao Nacional y Súper Árbol.	32
Figura 6. Variación del peso de 100 almendras durante el proceso de fermentación en cacao Nacional y Súper Árbol.	35
Figura 7. Peso de 100 almendras con respecto al tipo de cacao fermentado en un sistema semiautomatizado	36
Figura 8. Número de almendras en 100 g con respecto al cacao Nacional y Súper Árbol	39
Figura 9. Porcentaje de testa de cacao Nacional y Súper Árbol durante 108 horas de fermentación en un sistema semiautomatizado	40
Figura 10. Comparación entre peso de almendra y peso de testa entre los tipos de cacao Nacional y Súper Árbol	42
Figura 11. pH de testa desde cero a 108 horas de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado	43
Figura 12. Comparación del porcentaje de grasa entre cacao Nacional y Súper Árbol	48
Figura 13. Índice y tiempo de fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado entre 0 a 108 horas.....	49
Figura 14. Concentración de polifenoles totales (mg de ácido gálico (AG)/g muestra) durante el proceso de fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol en un módulo de fermentación semiautomatizado	52
Figura AII.1. pH de cotiledón desde las cero hasta las 108 horas de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un módulo semiautomatizado.....	73
Figura AII.2. Porcentaje de grasa en granos de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado entre 0 a 108 horas.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del mucílago de cacao	7
Tabla 2. Tipos de enzimas involucradas en la fermentación de cacao	10
Tabla 3. Características físicas y químicas analizadas en el laboratorio	26
Tabla 4. Variables independientes y niveles considerados en el diseño de experimentos factorial completo (2^2)	29
Tabla 5. Principales parámetros del análisis de varianza del diseño factorial completo para el modelo de principales efectos aplicado al estudio de los dos métodos de fermentación y dos variedades almendras de cacao.....	30
Tabla 6. Porcentaje de fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol cada 12 h	34
Tabla 7. Número de almendras en 100 g de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado	38
Tabla 8. pH del cotiledón desde el inicio hasta la hora 108 de fermentación de cacao Nacional y Súper árbol en un módulo semiautomatizado.....	45
Tabla 9. Variación del contenido del porcentaje grasa de cacao durante la fermentación en un sistema semiautomatizado de cacao Nacional Y Súper Árbol entre 0 y 108 horas.....	47
Tabla 10. Comparación entre el sistema de fermentación semiautomatizado y cajas Rohan en la calidad física del cacao	55
Tabla 11. Comparación entre el método semiautomatizado y cajas Rohan en el desarrollo de las características químicas de cacao durante la fermentación	57
Tabla AI. 1. Diseño de experimento factorial (2^2) tipo principales efectos (Design Expert Version 10.0.2)	68
Tabla AI. 2. Peso de 100 almendras de cacao Nacional y Súper Árbol durante la fermentación	69
Tabla AI. 3. Porcentaje de testa de cacao en función del tiempo de fermentación en un sistema semiautomatizado	70
Tabla AI. 4. pH de testa de cero a 108 horas en cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un módulo semiautomatizado.....	71
Tabla AI. 5. Contenido de polifenoles totales (mg AG/g) durante la fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol en un sistema semiautomatizado	72

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El Ecuador es uno de los principales exportadores de cacao de América Latina y el primer productor de cacao fino de alta calidad en el mundo, por las condiciones geográficas y la riqueza en recursos biológicos que posee (Afoakwa et al., 2008). Comercialmente el cacao ecuatoriano constituye un importante rubro para la economía del país (R. Rivera et al., 2012). De acuerdo con los datos de Anecacao (2019) en ese año, el país exportó alrededor de 260 mil toneladas métricas de cacao en grano y derivados, un 10 % superior con respecto al 2014, generando un ingreso de \$ 812 millones.

De acuerdo a los datos del INEC del año 2019 se contabilizaron 58343 ha plantadas con cacao en la Amazonía ecuatoriana, 48851 ha cosechadas y 18110 t producidas, de las cuales las provincias de Sucumbíos y Orellana tienen la mayor parte, 10147 t y 3959 t respectivamente, seguida por Morona Santiago con 2121 t, Napo, Zamora Chinchipe y Pastaza tienen una producción muy baja y su participación en este rubro no es representativo (INEC-ESPAC, 2019).

Los chocolateros distinguen cuatro tipos de cacao: Criollo, Forastero, Trinitario (un híbrido de Criollo y Forastero) y el Nacional conocido como “Arriba” (De Taeye et al., 2017). Este último se caracteriza porque su almendra tiene un periodo corto de fermentación y por producir excelente sabor y aroma que hace contribuciones únicas y específicas a los perfiles organolépticos de los productos de chocolate (Samaniego et al., 2020). Por su parte, el cacao Súper árbol (ESS) identificado como de la Amazonía norte ecuatoriana, se promueve como de gran resistencia a enfermedades, de alto rendimiento y calidad, sin embargo, solo es información empírica debido a que se carece de información científica publicada del aspecto productivo, poscosecha y calidad física-química de la almendra (Calva y Ramírez, 2016).

En el proceso de poscosecha, la etapa de fermentación juega un rol importante debido a que se producen una serie de reacciones bioquímicas que dan origen a los precursores de sabor y aroma, responsables del color y finura del chocolate (Gutiérrez, 2012). Entre los cambios que se

producen está el desarrollo de la pigmentación marrón y reducción de la astringencia por efecto de la pérdida y reacciones de oxidación de los polifenoles por las enzimas polifenol-oxidasas (PPO) (R. Rivera et al., 2012).

Un inadecuado proceso poscosecha y prácticas de inocuidad deficientes que no garanticen la ocurrencia de todos y cada uno de los cambios físicos y bioquímicos durante el proceso de fermentación del cacao, impiden obtener las mejores características de calidad que el mercado demanda (Romero Cárdenas et al., 2016). La temperatura de la masa de fermentación de cacao al no alcanzar los 40°C por falta de remoción genera una proliferación de bacterias lácticas, estas a su vez producen ácido láctico y este compuesto se transforma en ácido butírico, que provee al cacao con un sabor a podrido y aroma inadecuado (Rivera et al., 2012). El incremento de temperatura se debe a la respiración de las almendras y por la actividad microbiana transforma los azúcares en alcohol y posteriormente en ácido acético por efecto del proceso de glicólisis (Portillo et al., 2006). La remoción ejerce un efecto beneficioso durante la fermentación debido a que propicia la correcta actividad microbiana, lo que impide que se formen metabolitos secundarios perjudicando la calidad de la almendra, también evita el amontonamiento y descenso de la temperatura lo que frena el crecimiento de hongos indeseables en la superficie de la almendra. Otros factores también influyen en la fermentación del grano como la genética de cacao, tiempo de almacenamiento en mazorca, frecuencia de remoción, tipo de fermentador y tiempo de fermentación (Quevedo Guerrero et al., 2018).

Para mejorar y tecnificar el proceso poscosecha se tiene que apoyar en el conocimiento del método de fermentación, las diferencias en el tiempo de fermentación, control de operaciones poscosecha como temperatura y volteos; y en el análisis físico-químico del grano del cacao, que permita estandarizar los procesos de fermentación que garanticen una calidad homogénea del grano de cacao (Pineda et al., 2012).

Existen módulos de poscosecha semiautomatizado que permiten realizar el proceso de fermentación con el control de volteos mecánicos en sistemas rotarios (Teneda, 2016). Sin embargo, es preciso determinar cuál es el día adecuado de fermentación o el número de horas exactas que se debe fermentar el cacao, en el cual se logren reducir recursos y tiempo, y además se obtengan las mejores propiedades físico químicas y organolépticas.

1.1. PROBLEMA CIENTÍFICO

¿Cómo influye la aplicación de un sistema semiautoamizado en el proceso de fermentación de almendras de cacao (Nacional y Súper Árbol) sobre el tiempo de fermentación y los parámetros físicos y químicos de los granos fermentados?

1.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

La aplicación de un sistema semiautomatizado en la fermentación de la almendra de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) influirá en el tiempo de fermentación y en las características físico-químicas.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la aplicación de un sistema semiautomatizado para la fermentación de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) sobre el tiempo de fermentación y los parámetros físicos y químicos de las almendras fermentadas en la Amazonía norte ecuatoriana.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar un sistema semiautomatizado en la fermentación de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol)
- Determinar las principales características físicas y químicas de las almendras de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) en distintos tiempos de fermentación en un sistema semiautomatizado.
- Comparar las principales características físicas químicas de las almendras de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) fermentadas en un sistema semiautomatizado con el tradicional mediante cajas Rohan.

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Theobroma cacao* L.

T. cacao L. es una planta nativa de las regiones tropicales de América, se cultiva principalmente en la parte centro y sur de América. Es un árbol que alcanza una altura de 8 a 15 m, y pertenece a la familia de las Esterculiaceae. Su fruto es una baya que crece desde su tronco y que comúnmente se conoce como mazorca, su forma es ovalada de 15 a 25 cm de largo y de 7 a 10 cm de diámetro, su superficie es lisa o rugosa dependiendo de la variedad o clon, en su interior contiene almendras recubiertas por una pulpa blanca de sabor dulce acidulado llamada mucílago. Las semillas son de forma ovoide y en su interior tienen un color violeta cuando están recién cosechadas y pardas o marrón con estrías arriñonadas después de la fermentación. Estas almendras son la materia prima principal para la industria alimenticia, medicinal y de cosméticos (Vázquez, Ovando, Adriano, Betancur, & Salvador, 2016; Vera et al., 2014).

En el Ecuador se ha venido cultivando cacao desde la época de la colonia española debido a su consumo por la aristocracia europea, sus primeras plantaciones se ubicaron a orillas arriba del río Guayas, razón por la cual se denominó “Arriba”. En el año de 1911 el país se consolidó como el mayor exportador a nivel mundial, luego de la llegada de las enfermedades como la monilla y escoba de bruja, su producción fue mermada (Quingaísa & Riveros, 2007).

En los últimos años el cultivo de cacao ha representado uno de los más importantes rubros dentro de la economía del país. Se estima que el 20% de la producción agrícola nacional le corresponde a cacao. Ocupa el tercer lugar en las exportaciones de los productos no petroleros (Sánchez et al., 2019). En el año 2018 este sector contribuyó con el 5% de la población económicamente activa del país (PEA) y el 15% de la PEA rural. El 70% se distribuyó en manos de pequeños productores, el 20% en medianos y el 10% en los grandes productores. A escala mundial el país ocupa el tercer lugar dentro de los principales productores de cacao (Anecacao, 2019). Su producción se encuentra diversificada en las tres regiones del país, la provincia del Guayas encabeza con el 28%, seguido de la sierra y por último la amazonia (CFN, 2018). De acuerdo al INEC en el año 2019 se contabilizaron 58343 ha plantadas con cacao en la Amazonía

ecuatoriana, 48851 ha cosechadas y 18110 t producidas, de las cuales las provincias de Sucumbíos y Orellana participan con la mayor proporción, 10147 t y 3959 t respectivamente, seguida de Morona Santiago, Napo, Zamora Chinchipe y Pastaza que tienen una producción muy baja y su participación en este rubro no es representativo (INEC-ESPAC, 2019).

2.1.1. Clasificación

Genéticamente el cacao se divide en tres grandes grupos: criollo, forastero amazónico y una mezcla de los anteriores denominado trinitario.

Cacao criollo: es un genotipo que se caracteriza por tener bajo rendimiento, mazorcas con pocas semillas, cáscara gruesa, susceptible a plagas y enfermedades; se cultiva desde México hasta el Perú. Sus semillas son consideradas de alta calidad debido a que tienen un sabor complejo que recuerda a diversas frutas y especias, este cacao se caracteriza por impartir un sabor más acentuado, por eso se conoce como el grano del sabor. En chocolatería se utiliza para elaboración de productos de lujo (De la Cruz et al., 2012).

Cacao forastero: sus ancestros se encuentran en la cuenca alta de Amazonas, estos cacaos no son criollos ni tampoco híbridos, sus semillas son redondeadas y ligeramente aplanadas (Doster et al., 2012). Es un cacao que se encuentra ampliamente difundido a escala mundial, los grandes productores africanos como Ghana y Costa de Marfil producen principalmente este material. Por lo general este cacao es considerado de baja calidad o común, dado que no tiene complejidad de sabor y tampoco en las notas a especias y frutales, pero tiene un sabor más pronunciado a chocolate, razón por la cual los fabricantes suelen mezclar este tipo de cacao en sus formulaciones para crear un fondo a chocolate y añaden el criollo para dar un sabor sea más complejo y rico (De la Cruz et al., 2012).

El cacao Nacional de Ecuador se le ha catalogado por mucho tiempo dentro de este grupo por la forma de la mazorca, pero a diferencia de los demás tiene un sabor muy fino con la incorporación de matices afrutados y florales que los demás de su grupo no tienen (De la Cruz et al., 2012). Sin embargo, en la actualidad hay indicios de que este material se encuentra en el país desde antes de la conquista española. Por eso varios autores con basen en estudios morfológicos, de ADN y organolépticos creen que conserva una distancia genética con los

forasteros, trinitarios y criollos, requiriendo clasificarlo en un grupo aparte de los ya mencionados (Quingaísa & Riveros, 2007).

Cacao trinitario: es originario de Trinidad, un híbrido resultado del cruzamiento entre el criollo y forastero (De la Cruz et al., 2012). Genéticamente es muy heterogéneo y morfológicamente es muy poliformo, lo que dificulta su identificación a través de características generales y comunes, es un cacao de buena producción y resistente a plagas y enfermedades (Doster et al., 2012).

El cacao Súper Árbol por sus siglas (ESS) en honor a su descubridor Edwin Sánchez, es originario de la zona norte de la Amazonía ecuatoriana; este material que se promueve como resistente a enfermedades, de alto rendimiento y buena calidad, sin embargo, se necesitan estudios suficientes para confirmar o negar dicha hipótesis. Los clones de Súper Árbol son cacaos de tipo trinitario, resultado del cruzamiento entre Nacional con Trinitario. Las plantas madre son híbridos trinitarios mientras que los padres son de origen desconocido debido a que se originaron de polinización abierta sin ningún proceso de hibridación diseñado experimentalmente. Existen ocho clones (ESS 1 a ESS 8), y de acuerdo a la categorización realizada por parte de agricultores y empresas productoras, los clones 2, 6 y 8 demuestran las mejores características agro productivas (Calva & Ramírez, 2016).

2.1.2. Composición química

La almendra de cacao está compuesta por células epidérmicas que se ubican en la superficie, las parenquimatosas de reserva que contienen las sustancias químicas como almidones, azúcares, proteínas, grasas y también a las células de pigmentos que contienen a los polifenoles y purinas. El cotiledón es el que confiere sabores y aromas característicos para la industria del chocolate, está compuesto por dos tipos de células de almacenamiento de parénquima. Las células polifenólicas (14-20% del peso de cacao seco) contienen polifenoles y alcaloides, que incluyen cafeína, teobromina y teofilina. Los polifenoles pigmentados, cuando no se alteran, confieren un color violeta a los cotiledones frescos. Las células de lípido-proteína, por otro lado, tienen citoplasmas densamente empaquetados con múltiples pequeñas vacuolas de proteínas y lípidos

y otros componentes como gránulos de almidón, todos estos componentes juegan un papel importante en la definición de los caracteres del sabor y aroma del cacao (Afoakwa, 2010).

La composición física y química de la almendra de cacao depende de la genética del cacao, la ubicación geográfica del cultivo, manejo agronómico, grado de madurez de la mazorca, tratamiento poscosecha y procesamiento. En general, el grano de cacao contiene altos niveles de grasa del 40 % al 50 %, polifenoles alrededor del 10 % al 18 % del peso seco del grano, teobromina 1,3 %, cafeína 1,7 %, almidón 9 %, fibra cruda 3,2 %, nitrógeno total 2,5 % y cenizas 4,2 % (Romero et al., 2016). La manteca de cacao posee ácidos grasos saturados como el palmítico y esteárico con el 34,4%, ácidos grasos insaturados como el oleico 37,3%, los poliinsaturados como ácido linoleico con el 2,1% y trazas de isoleico. Además, contiene más de 300 compuestos aromáticos entre los que se destacan: los ésteres, monocarbonilos, pirroles, pirazinas, entre otros. Entre los componentes de sabor se encuentran: los polifenoles, ésteres alifáticos, carbonilos aromáticos no saturados, dicetopiperazinas, pirazinas, la teobromina y cafeína (De la Cruz et al., 2012).

La almendra en estado fresco está recubierta por una capa blanca mucilaginoso rica en azúcares, agua, pectina y ácido cítrico (tabla 1).

Tabla 1. Composición química del mucílago de cacao

Compuesto	Mucílago (%)
Agua	79,20 - 84,20
Azúcares	12,50 - 15,90
Glucosa	11,60 - 15,32
Pectina	0,9 - 1,19
Ácido cítrico	0,77 - 1,52
Cenizas	0,40 - 0,50
Proteína	0,09 - 0,11

Fuente: Tomado de (Steinau et al., 2016)

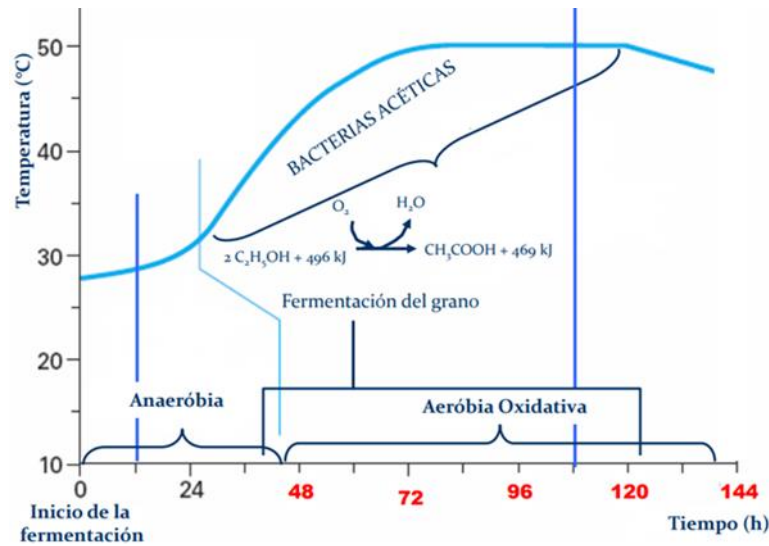
2.2. Beneficiado de *T. cacao*

El beneficiado del cacao es la etapa que comprende aquellas operaciones que van desde la cosecha, quiebre de las mazorcas, desgranado, fermentación y por último secado (Ayestas, Torres, Lanzas, & Astorga, 2014). La cosecha implica la recolección de frutos y la extracción de los granos y la pulpa del interior de la mazorca. Si bien el proceso de maduración ocurre en un período de 7 a 10 días, las vainas se pueden dejar en los árboles con seguridad hasta 2 semanas antes de la cosecha. Sin embargo, hay que tener dos preocupaciones: el desarrollo de enfermedades de la mazorca y la posibilidad de que germine la almendra en la vaina (Afoakwa, 2010).

En la cosecha se usa normalmente cuchillo o tijera podadora. Después de retirar las mazorcas de los árboles, se pueden juntar en montones y abrirlas inmediatamente o dejar reposar unos días, de acuerdo a estudios, es una técnica conocida como almacenamiento de mazorcas, que tiene efectos beneficiosos significativos sobre la calidad del sabor del grano durante la fermentación y procesos posteriores. Después de romper la mazorca se separan a mano los granos y se retira la placenta. En ese momento las semillas frescas no contienen los compuestos necesarios para el desarrollo del sabor a chocolate. Por tanto, el proceso de fermentación es necesario para la formación de constituyentes o precursores del sabor y aroma (Afoakwa, 2010).

2.2.1. Fermentación

La fermentación del cacao es un proceso que involucra una serie de cambios bioquímicos (figura 1), que provoca la modificación de su composición y el desarrollo de los precursores de aroma y sabor (Gutiérrez, 2012). Con la fermentación se consigue el escurrido del mucílago de cacao, la muerte del embrión que impide la germinación, que se lleven a cabo reacciones bioquímicas que conducen a los cambios de color de marrón a café oscuro y disminución del sabor amargo y la astringencia de la almendra de cacao (R. Rivera et al., 2012).



Fuente: Tomado de (Renaud, 2019)

Figura 1. Esquemización del proceso de fermentación de cacao

Entre las transformaciones bioquímicas que se llevan a cabo está la liberación por el exudado de las células pigmentarias que contienen los polifenoles del tipo antocianinas, cambiando de color la almendra, de morado a marrón (Wollgast y Anklam, 2000), la epicatequina y catequina se oxidan a quinonas y ocurre la condensación de las proteínas y polifenoles, disminuyendo la astringencia (Zapata, Tamayo y Rojano, 2013); las metilxantinas se pierden en un 20% lo que ocasiona la disminución del sabor amargo. Todos estos compuestos afectados durante la fermentación además de la acidez volátil (ácido acético) (Rivera et al., 2012) y la fracción volátil provocan un incremento de la calidad organoléptica del cacao, dando como resultado notas florales y frutales (Portillo et al., 2009).

Durante las primeras 24 horas, el proceso de fermentación es anaerobio e inicia con la transformación de los azúcares en alcohol etílico por la acción de las levaduras de los géneros *Saccharomyces* spp., *Dedaryomyces*, *Candida*, *Hansenulaa*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Pichia* y *Torulopsis*, como también ocurre la degradación de las pectinas lo que modifica la textura del grano. En esta etapa las levaduras consumen el oxígeno y crean un ambiente anaerobio lo que favorece el crecimiento de las bacterias lácticas (Wacher, 2011).

En la segunda etapa, que dura de 16 a 48 h, se favorece un acelerado crecimiento de bacterias lácticas y disminución de la concentración de las levaduras, las cuales fermentan los carbohidratos disponibles y consumen el ácido cítrico (Vázquez et al., 2016).

Conforme la aireación de la masa se incrementa y la temperatura sube por encima de 37 °C, las bacterias acéticas se convierten en microorganismos predominantes que, mediante reacciones de oxidación, transforman el etanol en ácido acético. En este punto la reacción es de carácter exotérmica acentuada, lo que provoca que la temperatura alcance su nivel más alto por encima de 50 °C (Vázquez et al., 2016), y la muerte del embrión por la penetración del ácido acético (Wacher, 2011). Si el tiempo de fermentación se incrementa de manera prolongada las bacterias de la putrefacción aparecerán provocando malos olores y disminución de la calidad organoléptica de la almendra (Wacher, 2011). Los métodos de fermentación varían entre zonas y regiones del Ecuador, pero los más conocidos son: en sacos de yute, tinas plásticas, cajones de madera y en montón, con tiempos que van de dos, cuatro hasta siete días (R. Rivera et al., 2012).

Las enzimas son importantes durante la fermentación porque por medio de ellas se favorecen las reacciones hidrolíticas que dan origen a los péptidos aminoácidos por las proteasas; y azúcares por acción de las glicosidasas. Esto da como resultado el desarrollo del aroma y sabor del cacao (Giacometti et al., 2015). En la tabla 2 se muestra los tipos de enzimas que intervienen que cada proceso de fermentación, así como las condiciones óptimas en las que actúa.

Tabla 2. Tipos de enzimas involucradas en la fermentación de cacao

Tipo de enzima	Lugar	Medio en el que actúa	Producto	pH óptimo	Temperatura en la actúa (°C)
Glucosidasa (β -galactosidasa)	Almendra	Glucósidos	Cianidinas y azúcares	De 3,8 a 4,5	45
Invertasa	Cascarilla	Sucrosa	Fructosa y glucosa	De 4 a 5,25	De 37 a 52
Polifenoloxidasa	Almendra	Polifenoles	Quinonas y diquinonas	6	De 31,5 a 34,5
Proteasas	Almendra	Proteína	Aminoácidos y péptidos	4,7	55

Fuente: (Hansen et al., 1998; J. Rivera, 2018)

2.3. Métodos de fermentación

2.3.1. Fermentación en cajas de madera

Los productores utilizan varios métodos de fermentación de cacao, los más tradicionales son en cajas de madera y por montones; además existen otros métodos en canastas, sacos, tambores rotatorios, entre otros (Quevedo Guerrero, Romero López, & Tuz Guncay, 2018; Teneda, 2016).

El método en cajas de madera es el más utilizado a nivel de Latinoamérica debido a su facilidad de construcción por el bajo costo que representa y disponibilidad de la madera. Las dimensiones son variables, dependen del método utilizado y la cantidad de cacao a fermentar. Por lo general los cajones pueden contener de 25 a 300 kg de masa de mucílago, dentro de este método existen dos variantes, las cajas que se encuentran a nivel de piso y el sistema en forma de escalera.

La construcción debe hacerse con divisiones para facilitar el volteo, con extremos móviles para facilidad del descargo, bien sea para bajar de nivel o para descargo del material contenido. La base debe tener orificios de 1,5 cm o una separación de las tablas para facilitar el exudado. La madera utilizada debe ser dura, resistente a la humedad y acidez del mucílago, y no tener olores y sabores amargos y fuertes que contaminen al cacao que se fermenta. La madera utilizada por excelencia es el laurel. En el caso de las cajas de madera situadas a desnivel, estas se colocan en forma de escalera de 4 a 5 escalones dependiendo del tiempo de fermentación, y en cada día o frecuencia de volteo se va bajando de nivel las almendras de cacao. El tiempo de fermentación va a depender mucho del material genético utilizado, de las condiciones ambientales, de las características deseadas por el cliente, entre otros.

2.3.2. Fermentación en montones

Método tradicional utilizado por pequeños y medianos productores, consiste en colocar la masa de cacao a fermentar sobre una superficie de madera que esté sobre el piso con una ligera inclinación para permitir el exudado (Teneda, 2016), se amontona hasta por 4 metros de largo y 50 centímetros de alto, con 450 kg de masa (Protocolo 5 Beneficio Post-Cosecha, 2016). Los montones se tapan con hojas de plátano, plástico o sacos de yute, con el propósito de proteger

de la lluvia, concentrar el calor y por ende alcanzar la temperatura deseada (Quevedo Guerrero et al., 2018).

2.3.3. Fermentación en sacos

Por lo general los agricultores después de la cosecha, le colocan al cacao en sacos de plástico o yute para transportar hacia el lugar de fermentación o centro de acopio, dado que son muy resistentes para transportar. En ocasiones estos se cuelgan para proveer mayor aireación y prevenir el ataque de animales, el tiempo que se puede dejar es de 4 a 5 días. Sin embargo, hay que cuidar que los sacos no sean reciclados de productos químicos (Teneda, 2016).

2.3.4. Fermentación en cajas Rohan

Este método consiste en colocar la masa de cacao en cajas de madera de 128 cm de largo, 87 cm de ancho y 10 cm de alto, con divisiones internas que van hasta 20 de 15x20 cm con una capacidad de 2 kg por cada una (Protocolo 5 Beneficio Post-Cosecha, 2016).

Este método es útil en procesos de investigación debido a que permite conocer los procesos de fermentación en muestras pequeñas de cacao provenientes de árboles o parcelas seleccionadas de reducido tamaño. Pero también se puede fermentar hasta una tonelada de masa, mediante el apilamiento de las cajas hasta por 1,2 m de altura (Jimenez et al., 2011).

2.3.5. Fermentación en tambores de madera

Por medio de este sistema permite fermentar hasta 250 kg de cacao fresco. Consiste de un tambor rotatorio construido de madera y que tiene en su interior unas paletas para facilitar la remoción y un sistema de frenado para carga y descarga. Cuenta con uno canales inferiores que permiten recoger el exudado de la masa de cacao. Durante el proceso de fermentación por la facilidad que provee este sistema se puede hacer cargo 1 para su manipulación. En el caso de calidad, se dice que permite obtener mayor rendimiento y calidad debido a que todo el tiempo permanece tapado lo que impide una contaminación exterior (Teneda, 2016).

2.4. Efecto de la fermentación sobre las características físicas y químicas de la almendra de cacao

2.4.1. Características físicas

El índice de semillas corresponde al peso promedio de 300 almendras de cacao. Es una característica de calidad importante porque está relacionada directamente con el rendimiento en la industria. En este contexto según Jimenez et al. (2011) se acepta un grano que tenga un índice mínimo de 1,2 g, mientras que Quevedo Guerrero et al. (2018) señalan que un índice de grano superior a 1,0 g es adecuado. De acuerdo a estudios realizados por (Vera et al., 2014), a 15 clones de cacao entre Nacional y CCN-51, fermentados por 5 días en micro-fermentación en cajas de madera, encontraron valores de 1,65 g para el cacao Nacional clon DIRCYT-C103 y 1,62 para el CCN-51. En promedio, el índice de semilla fue de 1,32 g, con un rango de variación entre 0,94 a 1,65 g.

De acuerdo a las investigaciones realizadas por (Sanchez et al., 2019) a las almendras de cacao Nacional y CCN-51 del norte de la Amazonía ecuatoriana, encontraron diferencias significativas en el índice de semilla, con valores de 1,34 para cacao Nacional y de 1,61 g para CCN-51. Sin embargo, no hubo variación estadística de acuerdo al método de fermentación (en sacos y cajas Rohan).

El peso de 100 almendras es una característica de calidad importante, de acuerdo a la norma INEN 176, existen tres categorías para clasificar el cacao fino, las cuales van desde la más alta Arriba Superior Summer Selecto (A.S.S.S) con pesos superiores a 130 g, seguido de Arriba Superior Selecto (A.S.S), que va desde 121 a 130 g y la más baja Arriba Superior Época (A.S.E), con un intervalo de 100 a 120 g. En estudios realizados por (Vera et al., 2014) no encontraron diferencias estadísticas significativas entre variedades de cacao, con valores promedios de 136,42 g, sin embargo (Sanchez et al., 2019) reportó significancia con valores de 80,95 g y 65,50 g cacao Nacional y CCN-55, respectivamente. De acuerdo al método de fermentación (Álvarez et al., 2010), obtuvieron variaciones significativas de un cacao trinitario fermentado en cajas de madera y gavetas plásticas, con valores de 157,45 g y 148,89 g, respectivamente.

Mientras que (Sanchez et al., 2019), no encontró diferencias significativas en cacao Nacional y CCN-51 fermentado en bolsas de polipropileno y cajas Rohan.

El porcentaje de fermentación es un atributo físico que evalúa el color de la almendra en función del grado de fermentación que esta ha adquirido. Esta prueba se usa de manera cuantitativa con ayuda de una guillotina especializada para este propósito, para ello se cortan longitudinalmente 100 almendras y se clasifica mediante la observación del color, en diferentes niveles de fermentación que van de violeta a marrón, para ello existen cuatro categorías: bien fermentadas, medianamente fermentadas, violeta y pizarra (Jimenez et al., 2011). La norma INEN 176 establece criterios de calidad de acuerdo al porcentaje de fermentación que la almendra ha alcanzado, es así que para que un cacao sea considerado ASSS debe tener un porcentaje de fermentación mayor al 75 % (NTE INEN 176, 2018).

De acuerdo a (Rivera et al., 2012), el porcentaje de fermentación se incrementa desde el día cero hasta el final de la fermentación, expresado como el cambio de color de violeta a marrón. Estos autores alcanzaron un 75% en el quinto día, también determinaron que durante los primeros tres días de fermentación el color violeta se redujo en un 70%. En lo que se refiere al tipo de fermentador, las cajas de madera mostraron un mayor porcentaje de 73,73% frente a los demás que se mantuvieron por debajo del 70%. Esta misma tendencia se observó en los estudios realizados por (Sanchez et al., 2019), en el cual, las cajas Rohan presentaron un 79,6% frente al 60,40 en sacos de polipropileno al quinto día de fermentación.

El contenido de cascarilla en los granos de cacao varía entre 10% al 14% en peso, este parámetro está relacionado con el rendimiento del chocolate y también por los efectos negativos en la calidad si no es removida adecuadamente. En la norma INEN 176 no establece un criterio para de calidad para medir este parámetro, sin embargo, de acuerdo algunos comercializadores permiten hasta el 12% (Ruíz et al., 2014). De acuerdo a estos autores, al analizar los granos de cacao por épocas de cosecha no encontraron diferencias significativas entre invierno y verano, al analizar los clones Nacional EET-48 y EET-96, se encontraron diferencias entre épocas.

El color del cacao está asociado con el material genético, las almendras de color blanco corresponden a cacao criollo y las violetas bien pigmentadas a cacao del tipo forastero. El

cambio de color durante la fermentación se le atribuye a las enzimas polifenol-oxidasa que actúan sobre los polifenoles, lo que provoca el desarrollo de color marrón (Chire et al., 2016). Existe un modelo cromático que describe todos los colores que el ojo humano puede percibir, esta escala mide en función de las coordenadas cilíndricas (L) y rectangulares L^*a^*b . En este sentido los estudios realizados por (Chire et al., 2016) mostraron que durante el proceso de fermentación los valores que corresponde a luminosidad (L^*) y b^* disminuyeron, mientras que el valor de color de la coordenada a^* se incrementó, lo que conlleva a que los granos se vuelven pardos oscuros.

2.4.2. Características químicas

pH de cacao

El pH es un parámetro de calidad importante usado por la industria, valores bajos indica que hay excesos de producción de ácido acético causando daños al sabor del chocolate, mientras que valores altos son indicativos de sobre fermentación lo que conduce a que se formen aminas biogénicas y ácidos carboxílicos por la descarboxilación enzimática de los aminoácidos presentes en la almendra (Álvarez et al., 2010). De acuerdo a (Portillo et al., 2007) valores de pH inferiores a 4.5 disminuyen el potencial aromático, mientras que valores entre 5,0 a 5,5 incrementa su potencial.

Estudios de (Álvarez et al., 2010) mostraron un pH de cotiledón entre 5,20 a 5,49 de un cacao fermentado en cajones de madera, mientras que en gavetas plásticas, el intervalo de pH fue entre 5,50 a 5,80. De acuerdo a (Sanchez et al., 2019), no existió diferencias significativas entre tipos de cacao, pero si en el método empleado para fermentar, con valores de 4,96 en sacos de polipropileno y 5,61 en cajas Rohan.

Con respecto a pH de testa, en estudios realizado por (Vera et al., 2014) a 15 clones de cacao no encontraron entre tipos de cacao fermentado por cinco días, mientras que (Sanchez et al., 2019) muestra diferencias significativas en el tipo de fermentador utilizado con valores de 6,05 a 7,02 en sacos y cajas Rohan respectivamente.

La fermentación se lleva a cabo de manera espontánea por efecto de microorganismos silvestres que ingresan a la masa de cacao de manera involuntaria. Entre estos organismos se encuentran las levaduras que producen etanol, bacterias lácticas que producen ácido láctico y bacterias acéticas encargadas de generar ácido acético. Durante la primera etapa de fermentación el pH bajo alrededor de 3,5 y la falta de oxígeno favorece el crecimiento de las levaduras del género *Saccharomyces spp.*, *Candida*, *Dedaryomyces*, *Hansenulaa*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Rhodotorula*, y *Torulopsis*, conforme avanza el tiempo de fermentación el pH se incrementa hasta 4,5, en este punto existe mayor aireación por la exudación de la pulpa y el contenido de alcohol sube hasta un 10 %, lo que hace que disminuya la población de las levaduras, pero estas condiciones favorecen el desarrollo de las bacterias lácticas del género *Lactobacilos* (*Lb. fermentum*, *Lb. mali* y *Lb. plantarum*), aunque también se han identificado bacterias como *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc pseudoficulneum*, y *Pediococcus acidilactici*. Luego a la hora 88 cuando el pH ha alcanzado alrededor de 5,5, y hay mayor aireación, se favorece el incremento de las bacterias acéticas de los géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter* (Schwan & Wheals, 2004).

Contenido de grasa

La manteca de cacao es una grasa que se extrae de su almendra, su color es amarillo pálido, el olor es característica a cacao, a temperatura ambiente es sólida, pero se funde entre 26 y 36 °C, esto depende del genotipo de cacao y del proceso que se le haya dado durante la cristalización (Afoakwa, 2010). La composición de la manteca de cacao en la almendra está entre 46% a 56%, de esta, la mayor parte corresponde a los triglicéridos con el 98%. Los ácidos grasos más importantes son los saturados como el esteárico (18:0) con el 35%, palmítico (16:0) con el 25%; y monoinsaturados como el oleico (18:1) con el 35%, mientras que la grasa restante se compone principalmente por el ácido linoleico con el 3% (Lares Amaiz et al., 2012).

De acuerdo a investigaciones realizadas por Lares et al. (2013), encontraron valores relativamente superiores de ácidos grasos saturados e insaturados en cacao fresco que en fermentado y secado al sol. De la misma forma cuando el cacao se tostó el valor de ácidos grasos saturados fue del 52,43% frente al 51,37% en cacaos fermentados y secados. En el caso de los ácidos grasos insaturados, este estudio encontró que estos formaban parte del 34,04% de su

composición, lo que es característico de este tipo de grasas. También en investigaciones realizadas por (Lares Amaiz et al., 2012) reportaron hallazgos de omega 3 y omega 6, que van de 0,24% a 0,26 y 0,08 a 0,13, respectivamente. El punto de fusión depende del grado de saturación de este tipo de grasas, a menor insaturación disminuye esta propiedad. En la industria chocolatera (fabricación de barras y confites) esta propiedad es de suma importancia debido a que bajo ciertas condiciones de temperatura puede verse afectada la firmeza y tender a fluir, el cual es un parámetro indeseado. Esto demuestra la importancia de saber su composición y la relación entre los ácidos grasos insaturados y saturados (Lares et al., 2013). Vera et al. (2014), mencionan que la intensidad floral y sabor medio del cacao podrían encontrarse en los ácidos grasos del tipo oleico y esteárico, lo que se relacionaría con aromas agradables.

De acuerdo a los estudios realizados por (Vera et al., 2014) a 15 clones de cacao, existen diferencias estadísticas entre ellos, pero con valores más bajos en comparación a otros estudios, con un promedio de 30,82%. Un meta análisis y revisión realizado por (Jahurul et al., 2012) indican que el contenido de grasa en las almendras varía entre 50% a 57%, y esta grasa es la responsable de la fusión del chocolate y también del aroma. (Vera et al., 2014) mencionan que el contenido de grasa en la almendra está relacionado con la genética del cacao, y esta influye sobre la fermentación, por lo tanto, a mayor proporción en el grano tarda más en fermentarse. De acuerdo a estudios realizados por (Andrade-Almeida et al., 2019) encontraron que el cacao Nacional tiene un 50,87 % y el CCN-51 51,02%.

Investigaciones realizadas por Pineda et al. (2012) a dos clones de cacao ICS 60 y TSH 565 durante la fermentación, en promedio encontraron un incremento del contenido de grasa al final de la fermentación de 52 a 58%, estabilizándose a partir de las 120 h.

Sin embargo de acuerdo a los resultados de Álvarez et al. (2007) y Teneda (2016) muestran una disminución ligera de 0,64% y 1,42% en el contenido graso durante la fermentación en cacao Nacional y CCN-51 respectivamente.

Polifenoles

Los polifenoles, se encuentran altamente asociados con la actividad antioxidante y con las características físicas y organolépticas de los derivados del cacao como el color, sabor

astringente y amargo (Zapata et al., 2013). Estos pueden variar dependiendo de la fermentación, temperatura, secado o el contenido graso (Castro et al., 2016). Los polifenoles se encuentran almacenados en las células pigmentarias, que van de color blanco a violeta oscuro dependiendo de la concentración de antocianinas. En el cacao, se pueden distinguir tres grupos de polifenoles, las catequinas o flavan-3-oles con el 37%, antocianinas con el 4% y las proantocianidinas con el 58%. Dentro las catequinas, la principal es la (-)-epicatequina que puede llegar hasta el 37% del total de polifenoles (Zapata et al., 2013).

Durante la fermentación ocurre un cambio de color de las almendras, de violeta a marrón oscuro debido exudación de las antocianinas; además la epitecatequina y la catequina se oxidan a quinonas, ocurre la difusión de la (-)-epicatequina hacia el tegumento (Afoakwa, 2015) y la condensación de las proteínas y de los demás polifenoles lo que conduce a la reducción de la astringencia y sabor amargo de la almendra de cacao (Zapata et al., 2013). De acuerdo a (Castro et al., 2016), el contenido de polifenoles se ve influenciado por el tiempo de fermentación. En estudios realizados por (R. Rivera et al., 2012) encontraron que a los cinco días beneficiado contenía un valor promedio de 38,36 mg de ácido gálico/g de grano fermentado, a diferencia del testigo sin fermentar que fue de 98,56 mg de ácido gálico/g.

Índice de fermentación

(Romero et al., 2013) mencionan que es una medida indirecta del contenido de antocianinas, uno de los principales compuestos de polifenoles de grano de cacao que podrían estar relacionados con la medición espectral. De acuerdo a estos autores, el valor adecuado para sugerir que la almendra se encuentra fermentada oscila alrededor de 1. De acuerdo a este estudio, este valor se alcanzó entre 48 y 72 h de fermentación entre los diferentes tipos de muestras analizadas.

Alcaloides de cacao

La teobromina (3,7-dimetilxantina) y la cafeína (1-3-7 trimetrixantina) son componentes importantes que participan en el sabor de cacao. Son parte de las metilxantinas, y se encuentran en los árboles de más de 60 especies; a teobromina está principalmente en el cacao (semilla,

cascarilla), la cafeína forma parte del árbol de café y sus semillas, otro componente dentro de este grupo es la teofilina que se halla en las plantas de té (Vázquez et al., 2016).

En el cacao la teobromina y la cafeína constituyen el 99% de las purinas y el restante corresponde a la teofilina y salsolinol. Durante la fermentación estos alcaloides no se transforman, pero el 20% de la teobromina se pierde por la difusión hacia los tejidos y migración a la cascarilla, cuyo contenido se incrementa después de la fermentación, es por eso que se ve reflejada una disminución del amargor en la almendra de cacao. Además, el genotipo y estado de madurez de la mazorca afecta directamente al contenido de estos alcaloides. El sabor amargo en el cacao está estrechamente relacionado por la sinergia de la teobromina, cafeína y las dicetopiperazinas, además al estar ligados a los taninos se forman un complejo de compuestos que se relacionan con el atributo del sabor (Espín et al., 2007).

La relación entre teobromina y cafeína (T/C) es un parámetro importante, lo que permite establecer la diferenciación de los cacaos por su origen. Valores bajos indican que un cacao es de calidad superior, pero valores altos son interpretados como un cacao corriente de baja calidad. En este contexto, se ha encontrado a algunos genotipos de cacao ecuatoriano en un rango entre 3,2 a 6,9, a los cacaos de Ghana con valores que incluso superan valores de 10 características de los forasteros, y al cacao criollo con un valor alrededor de 2. Estos resultados le ubicarían al cacao ecuatoriano en el grupo de los trinitarios (Espín et al., 2007; Vázquez et al., 2016).

Linalol

La fracción volátil del cacao repercute notablemente sobre el perfil sensorial, uno de sus constituyentes es el Linalool, es un compuesto aromático del grupo de los terpenos que se relaciona con el atributo sensorial floral y alta calidad de cacao (Schmarr & Engel, 2012). La concentración de este compuesto permite clasificar a los cacaos de acuerdo a su origen. Se ha encontrado que un cacao fino de aroma proveniente de Ecuador (Arriba), Venezuela y Trinidad, contiene hasta ocho veces más Linalool que un cacao de otro continente (Portillo et al., 2009). Razón por la cual, a escala internacional, la industria clasifica la proporción de Linalool con el benzaldehído como indicadores para el control de calidad de la almendra de cacao (Schmarr & Engel, 2012).

2.4.3. Análisis sensorial de cacao

La calidad de cacao también puede medirse mediante pruebas sensoriales, con ayuda de jueces semientrenados o entrenados que evalúan mediante la utilización del gusto, tacto y olfato características como: apariencia, aroma, sabor, sensación en boca, sabor residual. El análisis puede hacerse con criterios subjetivos que pueden basarse en gustos y disgustos, mientras que en los objetivos se utilizan escalas de puntuación para evaluar un atributo y normalmente son determinados por un panel capacitado. Estas mediciones también se pueden obtener mediante análisis instrumental, como medidas de corte, reología o estudios de textura. En todos los casos, el desafío es relacionar los datos de los instrumentos con los datos obtenidos por el evaluador o lograr un método mediante el cual los atributos sensoriales puedan probarse reológicamente y ser significativos (Afoakwa, 2010).

Las pruebas organolépticas es un proceso muy importante dentro de industria chocolatera porque permite identificar los diferentes perfiles de aromáticos como: floral, frutal, nuez; e identificar sabores básicos como: cacao, dulce, amargor, acidez y astringencia. Para ello, es necesario contar con un panel sensorial entrenado y tener correctamente realizado un diseño experimental y un buen manejo estadístico (Ruíz et al., 2014). Si bien los consumidores no son expertos catadores, pero pueden identificar fácilmente el sabor ácido, la humedad, apariencia, el fundido, olores y sabores extraños. Los resultados de estos autores muestran que la época y la fermentación permiten que aparezcan aromas específicos y los sabores básicos se dan por la ausencia de fermentación. En este estudio encontraron que los clones de cacao Nacional EET-19, EET-62 y EET-95 cosechados en verano fueron los mejores puntuados mostrando características combinadas de floral, frutal y nuez. Así mismo, los estudios de Vera et al. (2014) identificaron al clon Nacional DIRCYT-C114 como sabor arriba por presentar aroma floral y e intensidad de sabor medio.

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

La fase experimental se realizó en la empresa CacaoExport, ubicada en la Joya de Los Sachas, Parroquia Enokanqui. El cacao nacional se obtuvo de la de la Estación Experimental Central de la Amazonía (EECA) del INIAP y cacao Súper Árbol de la empresa CacaoExport. Los análisis físicos, químicos y bioquímicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Calidad de Alimentos de la EECA situado a una altitud de 285 m.s.n.m., longitud 76°52'35.87" Oeste y latitud 0°21'20.63" Sur, en el km 3 vía San Carlos, cantón Joya de Los Sachas, provincia de Orellana.

3.2. Tipo de investigación

3.2.1. Tipo de investigación descriptivo

De acuerdo a Hernández-Sampieri, Fernández, & Baptista (2014), el tipo de investigación descriptivo detalla a más profundidad las propiedades, características y rasgos importantes de cualquier fenómeno que se analice. Además, describe las tendencias que se producen en un grupo o población.

Los fenómenos que se producen durante la fermentación de cacao son los cambios bioquímicos y se describieron sus características.

3.2.2. Tipo de investigación experimental

Según Hernández-Sampieri et al. (2014), en el método experimental el investigador manipula dos o más variables independientes para analizar el efecto que produce sobre el objeto de estudio.

Los factores estudiados son el tiempo de fermentación y el tipo de cacao fermentado y su efecto sobre las variables de salida que corresponden a las características físicas y químicas de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol).

3.3. Métodos de investigación

Consiste en la construcción de un diseño experimental en que el investigador modifica los niveles de las variables de acuerdo al objeto de estudio (Hernández-Sampieri et al., 2014). El método de investigación es el experimental cuantitativo.

3.4. Tratamientos de datos

3.4.1. Proceso de fermentación en un sistema semiautomatizado

La etapa de semiautomatización durante la fermentación consistió en una climatización controlada durante el proceso de pre-secado, este se realizó después de lavado del mucílago, para ello existió un control automático de temperatura y humedad relativa dentro de la marquesina que se usó para este fin. Este proceso se realiza para detener el proceso anaerobio, mejorar la apariencia de la almendra y para asegurar la homogeneidad de la fermentación del grano de cacao, debido a que en el sistema tradicional las esquinas y superficies de los cajones se enfrían por efecto de la falta de actividad microbiana lo que provoca el crecimiento de hongos y mohos que, si no se maneja adecuadamente y con constancia, puede verse seriamente afectado en su calidad; cosa que no ocurre en el sistema semiautomatizado (Quevedo Guerrero et al., 2018).

El sistema semiautomatizado consta de dos áreas, el área de generación de calor y el área de fermentado de cacao, esta área está dotada por unas mesas donde se realiza el presecado y un espacio para realizar el apilamiento de gavetas para la fermentación anaerobia. En el área de generación de calor se ubica un generador de calor provisto de una turbina con motor, tiene un quemador a diésel y un ducto, por este último entra aire frío que al pasar por el quemador este se calienta, para luego conectar con el área de fermentación. En el área de fermentación existen termómetros que miden la temperatura y un higrómetro para la humedad relativa. Cuando la temperatura llega al límite máximo, se suben las cortinas laterales con ayuda de una polea y enciende un ventilador para permitir la salida de aire caliente y entrada de aire frío y se apagan las maquinas calefactoras, esta operación también sirve para permitir la salida de humedad acumulada al ser generada por el cacao recién pre lavado. La semiautomatización se realiza en

una etapa dentro del proceso de fermentación, después del lavado, en la etapa de pre secado, las almendras se colocan en la marquesina, y se calientan con ayuda de aire forzado hasta 40 °C, y al mismo tiempo se controla que la humedad esté por el 60%. Esto para evitar el crecimiento de mohos y hongos que dañan la calidad por efecto de la baja temperatura que queda después del lavado. A esta misma temperatura se colocan los granos en gavetas y se realiza la fermentación aerobia.

La fermentación en el módulo semiautomatizado se llevó a cabo en la planta de beneficio poscosecha de CacaoExport mediante cinco etapas. Para el estudio se utilizó 200 kg de cacao en baba por cada material clonal, de allí se tomaron submuestras cada 12 horas durante el tiempo de fermentación (Álvarez et al., 2010; Pallares et al., 2016; Teneda, 2016).

El proceso de fermentación se esquematiza en la figura 2 y se describe a continuación.

Fermentación anaerobia. En esta fase la muestra una vez cosechada se colocó en gavetas en donde permaneció por 36 h a una temperatura ambiente de 25 a 35°C y una humedad relativa de 70 a 80%, fase anaerobia.

Remoción: Después de las primeras 24 horas se realizó la remoción para lograr que la fermentación sea más homogénea y la temperatura se distribuya uniformemente.

Lavado del Cacao. Posterior a la primera fermentación se hizo un breve lavado para extraer parte del mucilago, esto se llevó a cabo para mejorar la apariencia del cacao y detener la fase anaerobia.

Presecado. El tiempo fue por 24 horas a una temperatura de 35 a 40 °C y una humedad relativa de 60 ±10%; las muestras se colocaron en una marquesina con control de humedad, temperatura y provista de calefacción artificial.

Fermentación aerobia. En esta etapa la muestra se llevó a una cámara interna por 36 h, donde se incrementó la temperatura de la masa de fermentación hasta 50 a 60°C. Las muestras se apilaron en gavetas en forma de torre y se taparon con plástico y sacos de yute para ayudar a conservar la temperatura interna, y cada 6 h se iban cambiando de posición las gavetas.

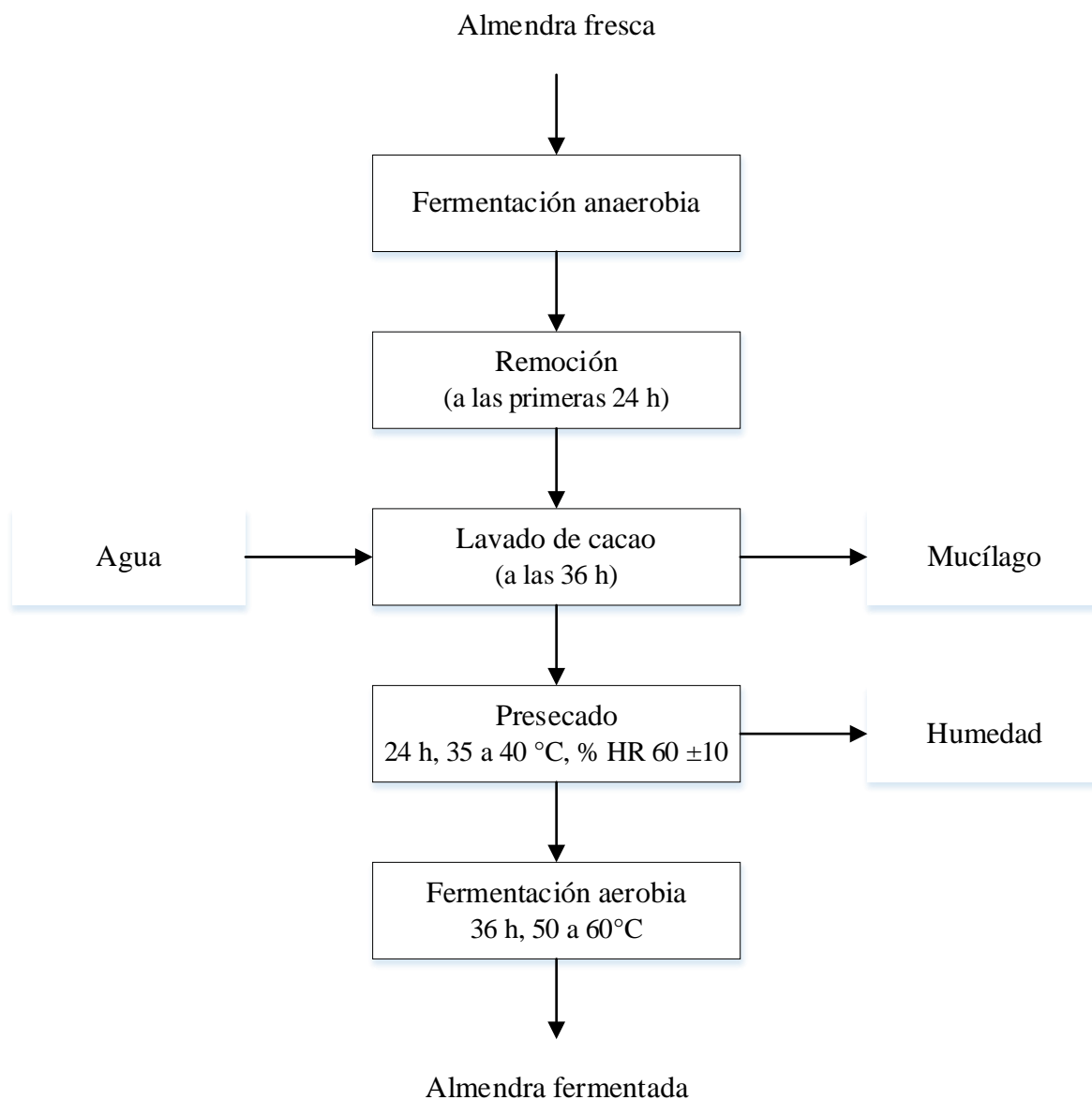


Figura 2. Diagrama de bloques de proceso para la fermentación de cacao en un sistema semiautomatizado

3.4.2. Fermentación en método Rohan

Este método se utilizó como referencia o control (método tradicional) al proceso de fermentación propuesto en el estudio, debido a que es útil en procesos de investigación porque permite realizar los procesos de fermentación en muestras pequeñas de cacao provenientes de

árboles o parcelas seleccionadas de reducido tamaño. Pero también se puede fermentar hasta una tonelada de masa, mediante el apilamiento de las cajas hasta por 1,2 m de altura (Jimenez et al., 2011).

La fermentación por el método Rohan se realizó en unas cajas de madera de laurel de dimensiones de 100x100x15 cm (largo x ancho x altura) con 25 compartimentos cuadrados de 15x15x15 cm (largo x ancho x altura), y una base plana con rendijas de 0,5 cm para permitir el escurrimiento del mucilago (figura 2). Cada compartimiento tuvo una capacidad de fermentar hasta 2,5 kg de masa de cacao. Al contorno existe un espacio de 10 cm de separación para permitir utilizar masa de cacao de cualquier tipo de cacao y con el propósito de generar calor a la masa de cacao que se encuentra fermentándose en el interior de los compartimientos.

La fermentación se realizó por 5 días, con una masa de cacao de 45 kg, en cada compartimiento se colocaron alrededor de 1,8 kg de masa de cacao debidamente identificadas, las cajas se cubrieron con una tela tipo sábana, franelas y por último con hojas de plátano. La primera remoción se realizó a las 24 h luego a las 48 h después de este proceso se volvió a cubrir para aislar el calor interno de la masa. A los 5 días de fermentación el material se extrajo de las cajas y se secó directamente al sol, así como lo hacen los productores.



Figura 3. Vista lateral de las cajas Rohan con masa de cacao para fermentar durante 5 días

3.5. Análisis de las características físicas y químicas

3.5.1. Preparación de las muestras

De la masa total del módulo semiautomatizado de fermentación, se tomaron cada 12 horas tres submuestras de 2 kg de cada material clonal por un periodo de 108 horas. Inmediatamente después de la colecta se analizaron el pH de testa y cotiledón, luego lo restante de muestra se deshidrató hasta el 7% a una temperatura de 65 °C en una estufa con aire forzado durante tres días para detener el proceso de fermentación.

Luego cada una de las muestras se almacenaron en congelación hasta continuar con los análisis físicos de laboratorio. En el caso de los análisis químicos, a las muestras congeladas se quitaron la testa o cascarilla y se procesaron en un molino destinado para café y se tamizaron a 1 mm de tamaño de partícula. La tabla 3 ilustra los componentes analizados con sus metodologías.

Tabla 3. Características físicas y químicas analizadas en el laboratorio

Variable	Característica	Metodología
	Porcentaje de fermentación	Jiménez et al. (2011)
Características físicas	Peso de 100 almendras	(Jiménez et al., 2011; Vera et al., 2014)
	Número de almendras en 100 g	(Jiménez et al., 2011; Vera et al., 2014)
	Porcentaje de testa	(Álvarez et al., 2010)
Características químicas	pH de testa y cotiledón	(Vera et al., 2014)
	Porcentaje de grasa	(Espín y Samaniego, 2016)
	Índice de fermentación	(Espín y Samaniego, 2016)
Características químicas	Polifenoles totales	(Espín y Samaniego, 2016)

En el caso de la fermentación mediante cajas Rohan, las muestras se tomaron al final del periodo de fermentación de 5 días. El proceso de acondicionamiento y análisis de laboratorio fue el mismo para los dos métodos.

3.5.2. Características físicas

Porcentaje de fermentación

Se determinaron en almendras secas, utilizando la prueba de corte, de acuerdo a (Jimenez et al., 2011). Para la cual se utilizó una guillotina donde se realizó un corte longitudinal en 100 almendras tomadas al azar por cada muestra. Luego se colocó sobre una base de color blanco y se diferenció de acuerdo con las características mencionadas a continuación:

- Almendras bien fermentadas: Grano fermentado cuyos cotiledones presentan en su totalidad una coloración marrón o marrón rojiza y estrías de fermentación profunda.
- Almendras medianamente fermentadas: Se identificaron aquellas, cuyos cotiledones presentaron una coloración medianamente marrón.
- Almendras violetas: Se definió por el porcentaje de granos cuyos cotiledones presentaron una coloración violeta intenso.
- Almendras pizarras: Se consideraron aquellas, cuyos cotiledones presentaron un color gris negruzco y de aspecto compacto.

Porcentaje de fermentación total: Se obtuvieron sumando los porcentajes de almendras bien fermentadas y medianamente fermentadas.

Peso de 100 almendras

Se recolectaron al azar 100 almendras fermentadas y secas y se registraron su peso en gramos, usando una balanza de precisión. Se usaron las mismas que fueron utilizadas en la prueba de corte para obtener el porcentaje de fermentación (Jimenez et al., 2011; Vera et al., 2014).

Porcentaje de testa

Las almendras tomadas cada 12 horas de fermentación, una vez secas en la estufa y congeladas, se tomaron 10 granos por cada muestra, luego se procedieron a descascarillar de forma manual

utilizando un cuchillo, y cuidando que no se afecte la almendra con el chuchillo. Se tomó el peso de la cascarilla de todas las almendras peladas y de los cotiledones con cascarilla para calcular el porcentaje de testa (Álvarez et al., 2010).

3.5.3. Características químicas

pH de testa y cotiledón

El valor del pH de la testa y del cotiledón se registró en 10 almendras de cacao sin deshidratar. Se separó la testa del cotiledón; posteriormente el cotiledón como la testa, individualmente se trituraron usando una licuadora, se colocó en 100 ml de agua destilada por un tiempo de 3 min y con la ayuda de un potenciómetro se procedió a realizar la lectura del pH. Esta variable se registró cada 12 h durante todo el beneficio del cacao (Vera et al., 2014).

Porcentaje de grasa

La materia grasa se extrajo del polvo de cacao con éter de petróleo mediante extracción continua en Soxhlet por 8 h, luego se recuperó el solvente del extracto etéreo y a continuación se secó la grasa en una estufa por 2 h, la grasa seca se pasó a un desecador a enfriar y posterior pesado (Espín & Samaniego, 2016).

Índice de fermentación

Los granos molidos, tamizados y desengrasados con éter de petróleo fueron sometidos a un proceso de extracción de sus componentes con una solución ácido clorhídrico en metanol, el extracto fue medido en un espectrómetro Uv/visible a una absorbancia de 460 nm y 525 nm y se determinó como índice de fermentación a la relación: DO_{460}/DO_{525} (Espín & Samaniego, 2016).

Polifenoles totales

Los polifenoles totales se extrajeron del polvo de cacao desengrasado con una solución acuosa de metanol al 70%, mediante agitación magnética continua por 45 min, el extracto obtenido se filtró, y se tomó una alícuota del mismo y se realizó una reacción colorimétrica con el reactivo

de Folin-Ciocalteu obteniendo una coloración azul, la misma que se cuantificó en un Espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de Onda de 760 nm ((Espín & Samaniego, 2016).

3.6. Diseño experimental

Es posible investigar una serie de variables y sus efectos utilizando un diseño factorial. El diseño factorial más simple involucra dos factores, cada uno en dos niveles (2^2). La ventaja del estudio de dos factores es la reducción de la cantidad de corridas experimentales, para obtener la misma precisión para la estimación del efecto en comparación con otros diseños. El punto es que un diseño factorial proporciona contrastes de promedios, asignando así poder estadístico a las estimaciones del efecto (Anderson & Whitcomb, 2016). En este estudio se aplicó un diseño factorial completo tipo principales efectos, con 3 réplicas, con un total de 12 corridas experimentales (ver anexo tabla AI.1). Como factores se consideró, el método de fermentación y la variedad de cacao (ver tabla 4).

Tabla 4. Variables independientes y niveles considerados en el diseño de experimentos factorial completo (2^2)

Variables independientes	Símbolo	Niveles	
Método de fermentación	A	Rohan	Semiautomático
Variedad de cacao	B	Nacional	Super Árbol

El porcentaje de fermentación se seleccionó como variable independiente o de respuesta. El Análisis de varianza (Anova) fue aplicado para determinar la significancia del modelo y las variables. Esto permitió identificar y cuantificar los factores significativos sobre las variables de respuesta. Se utilizó el software estadístico *Design Expert* Versión 10.0.2 (Stat Ease, EE. UU). *Design Expert* aleatoriza el orden de ejecución del diseño de los experimentos, lo que contribuye a garantizar que el modelo cumpla con algunos supuestos estadísticos y también puede contribuir a reducir los efectos de factores no incluidos en el estudio.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación del modelo y significancia de los efectos

La tabla 5 muestra los principales parámetros del análisis de varianza aplicado a los datos del diseño factorial completo para un modelo tipo principales efectos, aplicado al estudio de los dos métodos de fermentación y dos variedades almendras de cacao.

Tabla 5. Principales parámetros del análisis de varianza del diseño factorial completo para el modelo de principales efectos aplicado al estudio de los dos métodos de fermentación y dos variedades almendras de cacao.

Parámetro	Suma de cuadrados	G.L	Cuadros medios	F-Valor	p-valor Prob > F
Modelo	419,67	3	139,89	24,69	0,0002
A-Método	243,00	1	243,00	42,88	0,0002
B-Variedad	0,33	1	0,33	0,059	0,8145
AB	176,33	1	176,33	31,12	0,0005
Error puro	45,33	8	5,67		
Total corregido	465,00	11			

El p-valor obtenido demostró que el modelo es significativo y logra describir el comportamiento de los factores considerados. Con coeficientes de determinación de R^2 (0.90), R^2 ajustado (0.86) y un R^2 predicho (0.78). Estos valores están dentro del rango sugerido por Anderson & Whitcomb (2016). Además, el método de fermentación resultó altamente significativo con un efecto positivo sobre la variable respuesta seleccionada ($p < 0.002$). Mientras que la variedad de cacao no influyó significativamente sobre el porcentaje de fermentación. Lo cual se puede corroborar de manera gráfica en diagrama de Pareto de la figura 4.

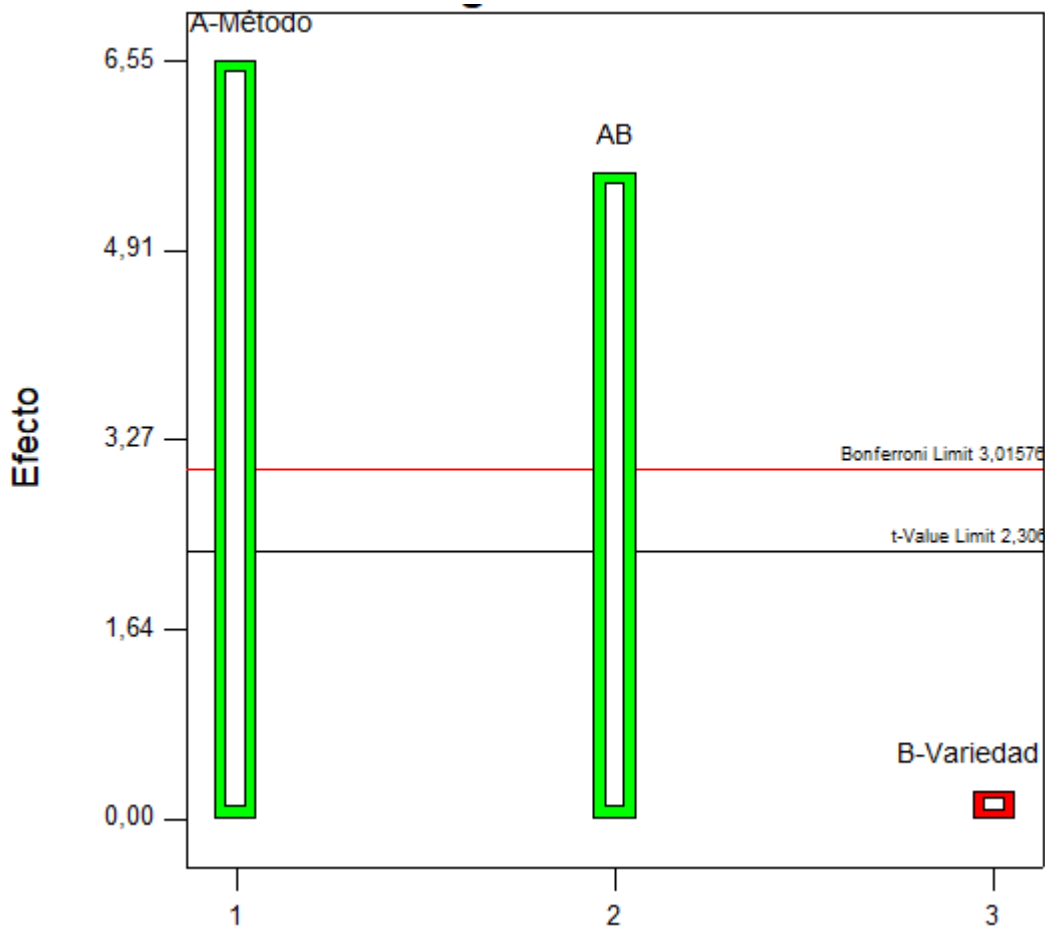


Figura 4. Diagrama de Pareto para la determinación de los efectos significativos de los factores estudiados en la fermentación de dos variedades de cacao

En la figura 4, se puede apreciar que además del sistema de fermentación, el efecto entre la interacción de las 2 variables independientes fue altamente significativo, sobrepasando el límite de Bonferroni determinado. Los efectos calculados representados en color verde son positivos y en rojo negativo. De esta forma se validó estadísticamente la significancia que los cambios introducidos como parte del sistema semiautomático de fermentación influyeron positivamente sobre el porcentaje de fermentación en las almendras de cacao. Sin embargo, la variedad de cacao (Nacional y Super árbol) no influyó. Para profundizar en los otros parámetros relacionados con la calidad, se realizó un estudio de la variación en el tiempo de cada una de ellas para ambos sistemas de fermentación. Los resultados se presentan en el siguiente epígrafe.

4.2. Análisis de las características físicas en el proceso de fermentación

4.2.1. Porcentaje de fermentación

El porcentaje de fermentación (figura 5) se incrementó con el tiempo de fermentación, en el día cero las almendras presentaron cero granos de color marrón (característica típica de un grano fermentado), mientras que en la hora 108, los resultados mostraron un porcentaje de fermentación del 89,33% para cacao Nacional y Súper Árbol, lo que indica que los granos se encontraron bien fermentados porque tuvieron un grado de fermentación por encima de la exigencia de la norma técnica ecuatoriana, cuyo valor mínimo establecido es del 75% para que un cacao sea categorizado como Arriba Superior Summer Selecto (ASSS) es decir de calidad superior (NTE INEN 176, 2018).

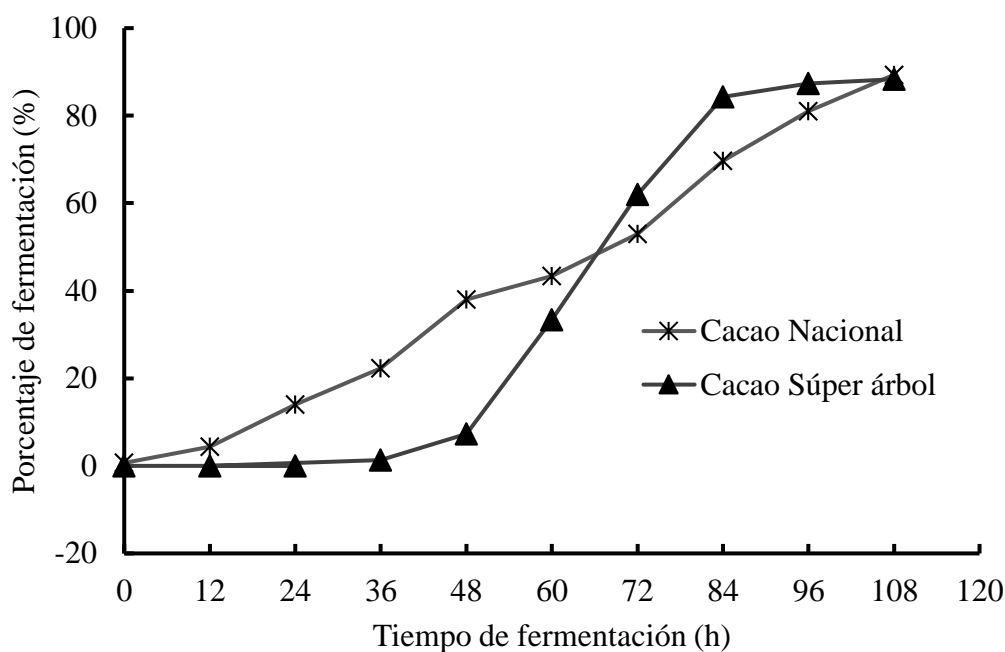


Figura 5. Variación del porcentaje de fermentación durante el proceso poscosecha en cacao Nacional y Súper Árbol.

Valores por arriba del 90% indicaría una sobrefermentación y por ende pérdida de la calidad (Álvarez et al., 2010). Resultados más bajos se encontraron en el estudio realizado por Rivera et al. (2012) al analizar el efecto del tiempo de fermentación con el tipo de fermentador (cajones

de madera, saco de yute, montón y tina plástica) sobre calidad física y química de cacao tipo Nacional. Los resultados de aquella investigación mostraron que el tiempo de fermentación influyó sobre la calidad física del grano, alcanzando a los cinco días de fermentación un 75% de granos de color marrón y por ende una disminución del color violeta en el interior de las almendras. De la misma forma Sanchez et al. (2019) lograron un 70,8% de fermentación en un proceso de cinco días con cacao Nacional, mientras que en cajas Rohan alcanzaron un 79,6%. Así mismo Álvarez et al. (2010) obtuvieron 84% en cajas de madera y 83% en gavetas plásticas en cacao trinitario fermentado por cinco días.

Al comparar los resultados de estos autores con los del estudio, mediante el proceso de fermentación propuesto, para el caso de cacao Nacional se observa (tabla 6) que entre la hora 84 y 96 ya se consiguen los niveles encontrados por estos autores. En el caso de cacao Súper Árbol la tendencia fue la misma, solo que el tiempo fue menor, entre la hora 72 a 84 se consiguieron niveles de almendras marrón del 62,00 a 84,33% respectivamente. El cambio de color durante la fermentación, de violeta a marrón oscuro, se debe a la hidrólisis de las antocianinas (células pigmentarias de los polifenoles), luego oxidación de las agliconas que quedan a compuestos quinónicos (Álvarez et al., 2010), estos cambios son un indicativo de que el cacao está bien fermentado y por lo tanto ha adquirido los precursores de aroma y sabor (R. Rivera et al., 2012). Por lo tanto, el color en el grano de cacao, por la prueba de corte, fue una característica determinante del grado de fermentación, la presencia de color violeta significó una fermentación incompleta (Álvarez et al., 2010). Los resultados sugieren que mediante el proceso de fermentación propuesto se logra reducir el tiempo de fermentación en comparación con los demás estudios publicados que corresponden a métodos en cajas Rohan, cajones de madera, gavetas plásticas, sacos de yute y montón.

En cuanto a la variación del porcentaje fermentación cada 12 horas, se encontró (figura 5) diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en los dos materiales clonales de cacao (tabla 6). Para cacao Nacional desde la hora 12 existe un incremento pronunciado y constante de la fermentación hasta la hora 108, mientras que en cacao Súper Árbol hasta la hora 36 la fermentación es reducida, pero a partir de la hora 48 hasta la 84 existe un incremento prominente, pasando de 7,33% a 84,33% en 36 horas, es decir un incremento del 77%.

Tabla 6. Porcentaje de fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol cada 12 h

Tiempo fermentación (h)	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	0,67 ^a	0,00 ^a
12	4,33 ^a	0,00 ^a
24	14,00 ^{ab}	0,00 ^a
36	22,33 ^{ab}	1,33 ^a
48	38,00 ^{abc}	7,33 ^a
60	43,33 ^{abc}	33,33 ^{ab}
72	53,00 ^{bcd}	62,00 ^{bc}
84	69,67 ^{cd}	84,33 ^c
96	81,00 ^{cd}	87,33 ^c
108	89,33 ^d	89,33 ^c
ρ Valor	< 0,0001	< 0,0001
EEM	8,76	9,27
CV (%)	36,52	44,13

^{abcd} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

Al comprar con los dos materiales clonales estudiados, los resultados muestran que durante todo el tiempo de fermentación no existió diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ellos, lo que quiere decir que tuvieron un comportamiento similar, sin embargo, para cacao Súper árbol se puede apreciar que a partir de la hora 84 la curva de comportamiento de fermentación tiende a permanecer constante sin cambios importantes.

De acuerdo al estudio realizado por Rivera et al. (2012) hasta el tercer día (72 h) tuvieron un incremento considerable, pero entre el cuarto (96 h) y quinto día (120 h) obtuvieron una tendencia más pronunciada en el desarrollo de color marrón del grano.

4.2.2. Peso de 100 almendras

El peso de 100 almendras (figura 6) muestra un ligero decrecimiento mientras transcurre el tiempo de fermentación, pasando de 149,21 g en la hora cero a 125,33 g en la hora 108 para cacao Nacional, es decir hay una disminución del 16% en su peso con respecto a la almendra sin fermentar en el día cero. En el caso de cacao Súper Árbol la disminución de su peso parte desde 120,68 g hora cero hasta 101,34 g (ver anexo tabla AI.2) en la hora 108, es decir una disminución del peso en un 16% al igual que el otro clon. Sin embargo, para los dos casos su disminución de peso en el tiempo de fermentación no tuvo efecto estadístico significativo ($p > 0,05$) (ver tabla anexo AI.2).

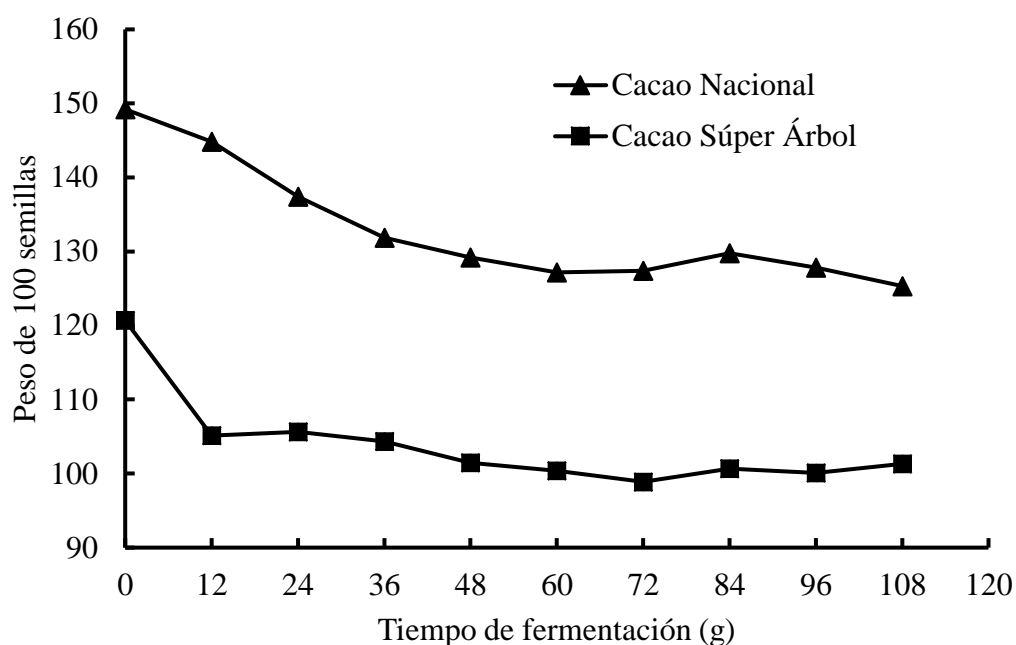


Figura 6. Variación del peso de 100 almendras durante el proceso de fermentación en cacao Nacional y Súper Árbol.

Al comparar con la norma técnica ecuatoriana INEN 176, los granos de cacao Nacional dentro de la hora cero a la 36 entran en la categoría ASSS de calidad superior dado que su peso es mayor a 130 g, mientras desde la hora 48 a la 108 se categorizan como arriba superior selecto (ASS) porque su peso se encuentra entre 120 y 130 g. En el caso de cacao Súper árbol, se evidenció que su almendra es de menos peso dado que la única muestra que entra dentro de la

categoría de ASS es la del cacao sin fermentar es decir de la hora cero, las demás muestras al estar dentro del intervalo entre 100 a 120 g se categorizan como arriba superior época. Estos resultados muestran que el peso de almendra depende del material clonal independientemente del tiempo de fermentación.

El peso de almendra encontrado en esta investigación difiere de los resultados reportados por Álvarez et al. (2010), en los cuales obtuvieron un peso de 157,45 g a los cinco días de fermentación en cajones de madera y un peso de 148,49 g en cacao fermentado en cestas plásticas, además presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre dos métodos de fermentación utilizados. Sin embargo Vera et al. (2014) presentaron resultados similares con un peso promedio total de 136,42 g en cacao Nacional fermentado por cinco días. Al analizar el promedio obtenido de los dos materiales se pudo evidenciar que existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) con respecto al factor tipo de cacao (figura 7).

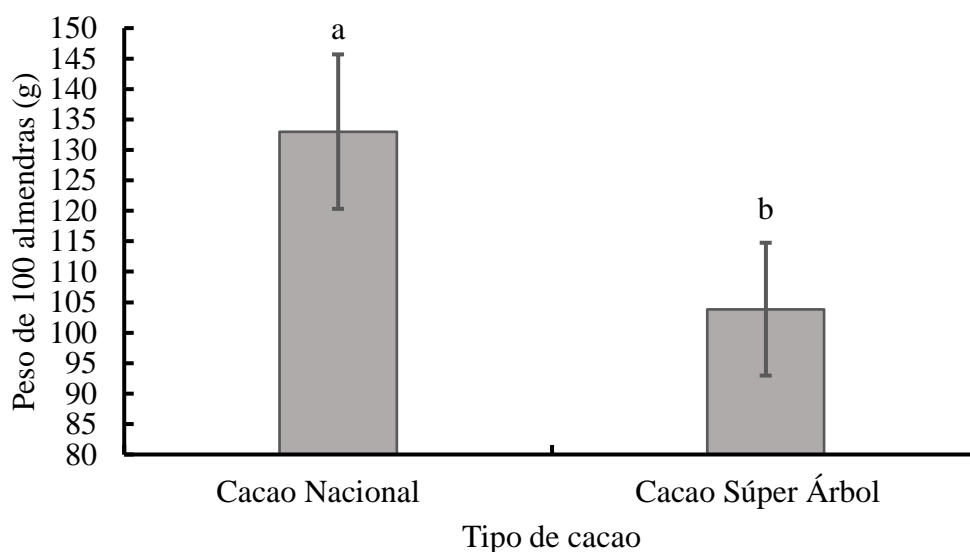


Figura 7. Peso de 100 almendras con respecto al tipo de cacao fermentado en un sistema semiautomatizado

El mayor peso de almendra se obtuvo en cacao Nacional con 133,01 g y 103,86 g para cacao Súper Árbol. Al comparar con la norma INEN 176, en el primer caso se clasifica como ASSS o de alta calidad, mientras que el cacao Súper Árbol se categoriza como arriba superior época

(ASE), la calificación más baja dentro de esta categoría de cacao finos. Estos resultados muestran que el genotipo influencia marcadamente en el peso de la almendra de cacao.

4.2.3. Número de almendras en 100 gramos

El número de almendras se observó que tiende a incrementarse conforme transcurre el tiempo de fermentación, pero con una estabilización a partir de la hora 12 para cacao Nacional, mientras que para Súper Árbol se puede observar que tiende a hacerse constante a partir de la hora 24. En el caso de cacao Nacional a la hora cero de fermentación se contabilizó un total de 68 almendras, mientras que al final de la fermentación a la hora 108 se obtuvieron 80,67 almendras (tabla 7), lo que quiere decir que la almendra va perdiendo peso a medida que se va fermentando. Esto puede deberse a la pérdida del mucílago por la migración hacia el exterior y a la serie de reacciones bioquímicas que se van dando en el interior de la almendra, lo que ocasiona cambios físicos y químicos (Wollgast & Anklam, 2000).

El cacao Súper Árbol en comparación con el Nacional tiene mayor número de almendras desde el inicio hasta el final de la fermentación, es así que en la hora cero se registraron 83,33 almendras y a la hora 108 se contabilizaron 100 almendras (tabla 7), es decir cada almendra pesó en promedio 1 g. De la misma forma la tendencia a incrementarse persiste al igual que el caso del cacao Nacional. De acuerdo a Sanchez et al. (2019) las variables físicas evaluadas como el peso son indicativos determinantes en el rendimiento chocolatero y calidad. Además, son criterios de calidad exigidos en la industria porque permite definir el tiempo, método de tostado, la cantidad y características de la manteca de cacao (Larez et al., 2013).

Los resultados de cacao Nacional son análogos a los reportados por Zambrano et al. (2010), los cuales obtuvieron valores de 66 para forastero y 78 para trinitario por cada 100 g de semilla, considerando que el cacao Nacional es un ancestro del forastero (Acebo, 2016). De la misma forma estos datos son consecuentes con los resultados publicados por Sanchez et al. (2019), en los cuales a los cinco días de fermentación reportaron valores de 80,95 para cacao Nacional.

Tabla 7. Número de almendras en 100 g de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	68.00 ^a	83.33 ^a
12	68.00 ^a	96.00 ^a
24	74.67 ^a	95.67 ^a
36	76.67 ^a	97.00 ^a
48	78.33 ^a	100.33 ^a
60	80.33 ^a	100.33 ^a
72	79.67 ^a	102.67 ^a
84	78.00 ^a	101.00 ^a
96	79.00 ^a	101.67 ^a
108	80.67 ^a	100.00 ^a
ρ Valor	0.3584	0.5196
EEM	4.36	5.82
CV (%)	9.38	10.31

^a Medias con letras iguales entre columnas son estadísticamente iguales ($p > 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

Al analizar la tabla 7 se observa que durante todo el proceso de fermentación no existieron cambios significativos ($p > 0,05$) en cuanto al número de almendras en 100 g en los dos materiales estudiados, aunque con ligeras tendencias a incrementar su valor, pero con una pendiente reducida; al analizar el comportamiento de este parámetro con el del peso de 100 semillas se puede notar que sus resultados son inversamente proporcionales.

Al comparar los dos materiales (figura 8) por separado se puede observar que son significativamente diferentes en este parámetro. El cacao Nacional tiene un promedio de 76,33 y 97,33 para Súper Árbol es decir una diferencia del 27,51%. Esto quiere decir que al haber menor cantidad almendras en 100 g la semilla tiende a ser más grande y con mayor peso; las barras del gráfico representan un efecto beneficioso inverso.

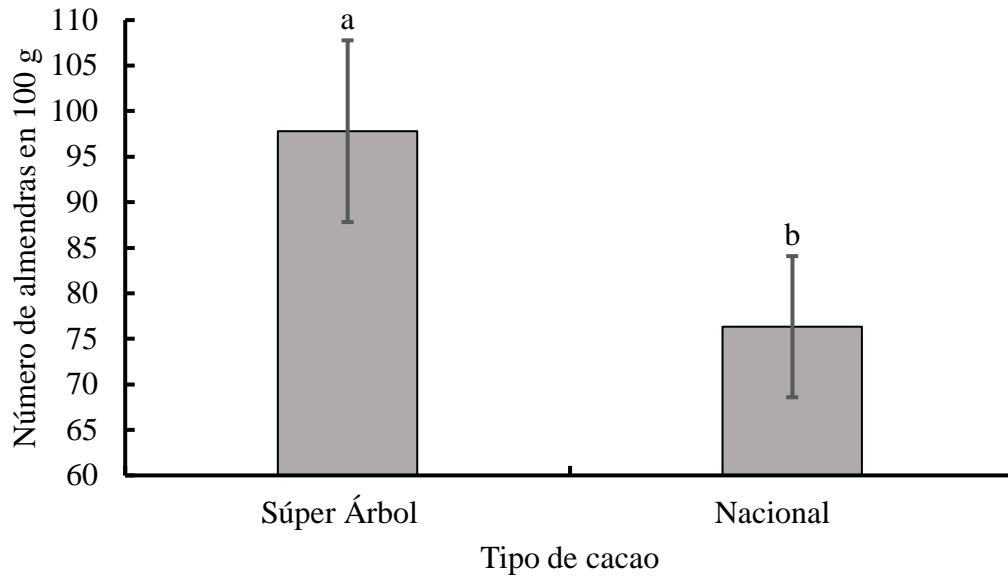


Figura 8. Número de almendras en 100 g con respecto al cacao Nacional y Súper Árbol

Al igual que en este estudio, Sanchez et al. (2019) y Zambrano et al. (2010) presentaron diferencias significativas en este parámetro en los materiales de cacao criollo, forastero, trinitario, Nacional y CCN51, lo que indica que el desarrollo esta característica depende del material genético de cacao antes que el método de fermentación empleado.

4.2.4. Porcentaje de testa

El porcentaje de testa o cascarilla es un parámetro muy importante en la industria, debido que se encuentra relacionado directamente con el rendimiento (Larez et al., 2013), la generación de desechos, además con la calibración de los equipos durante el tostado y descascarillado, así mismo se le ha relacionado con la pérdida de manteca debido a que durante el tostado tiende a migrar hacia a la cascarilla que luego se desecha (Álvarez et al., 2010). La figura 9 muestra el comportamiento del porcentaje de testa durante la fermentación de los dos tipos de cacao estudiados en un sistema semiautomatizado.

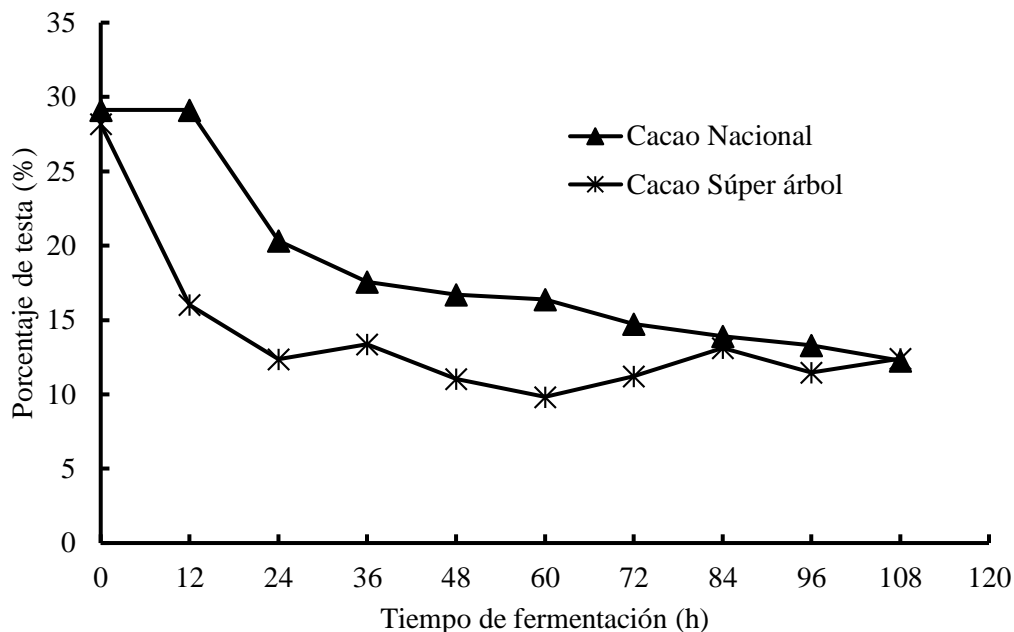


Figura 9. Porcentaje de testa de cacao Nacional y Súper Árbol durante 108 horas de fermentación en un sistema semiautomatizado

Se puede apreciar que la gráfica tiene un comportamiento decreciente desde la hora cero hasta la 108 de fermentación con una estabilización desde la hora 24 para cacao Súper Árbol. Al inicio de la fermentación el porcentaje de testa o cascarilla fue de 29,13% para cacao Nacional y 28,17% para cacao Súper Árbol (ver anexo tabla AI.3).

El porcentaje de testa presentó variación estadística significativa ($p < 0,05$) durante las primeras horas de fermentación (ver anexo tabla AI.3). El mayor decrecimiento se dio (figura 9) desde la hora 12 hasta la 36 con una disminución del 39,68% para cacao Nacional, mientras que para el segundo tipo de cacao se dio desde de la hora cero hasta la hora 24, en este intervalo de tiempo se redujo en un 58,06% el porcentaje de testa.

Al comparar los dos materiales de cacao durante la fermentación y al final del periodo poscosecha no se encontraron diferencias estadísticas significativas, los valores que se obtuvieron fueron de 12,27% para cacao Nacional y 12,40% para cacao Súper Árbol. Si bien la norma INEN 176 no establece como criterio de calidad al porcentaje de testa, sin embargo, el mercado exportador permite hasta un 12%. Al analizar estos parámetros se puede observar que

los dos tipos de materiales de cacao estarían cumpliendo con este requerimiento (Ruíz et al., 2014).

Resultados similares se obtuvieron por Sanchez et al. (2019) con 12% para cacao Nacional y 11,9% para CCN51, sin influencia del método de fermentación utilizado (cajas Rohan y fundas de yute), quienes a su vez indican que este porcentaje varía según el tipo de cacao y prácticas poscosecha. De la misma forma Álvarez et al. (2010) no tuvieron efecto significativo entre la fermentación en cajas de madera y cestos plásticos en un cacao trinitario en el estado de Miranda Venezuela, sin embargo presentaron valores entre 13,78 y 14,16% respectivamente, los cuales son proporciones más altas a las de este estudio. De la misma forma valores superiores fueron encontrados por Vera et al. (2014) al fermentar por cinco días a 15 clones de cacao Nacional, los resultados mostraron un promedio de 18,92%. Los valores de testa de cacao se encuentran dentro de los porcentajes más bajos de los estudios mencionados, lo que es una característica positiva para este estudio.

Al contrastar los pesos de la almendra con el porcentaje de cascarilla (figura 10), se pudieron encontrar que guardan una relación directa no significativa, es decir a mayor tamaño de grano mayor porcentaje de testa y a menor tamaño de grano menor porcentaje de testa. Estos resultados se contraponen con Sanchez et al. (2019), Andrade-Almeida et al. (2019) y Álvarez et al. (2010), los cuales mencionan que el peso o tamaño del grano guarda una relación inversa con el porcentaje de testa. Pero tienen concordancia con los resultados de Vera et al. (2014), el cual encontraron que las almendras grandes también tenían mayores valores de porcentaje de testa. Estos resultados inversos posiblemente se aplican al comprar materiales del mismo genotipo y no de genotipos distintos.

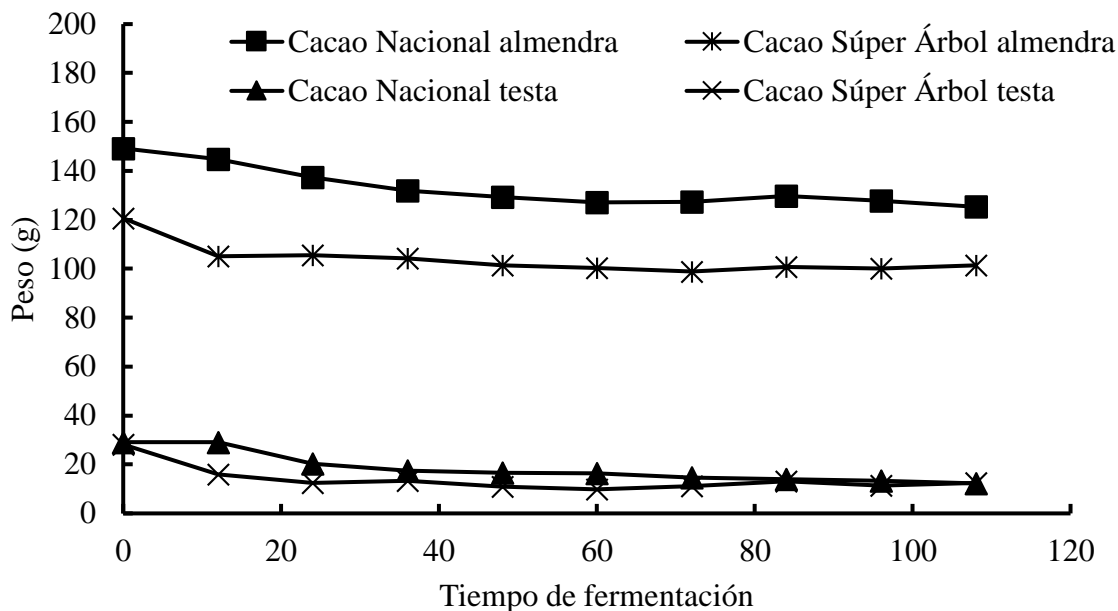


Figura 10. Comparación entre peso de almendra y peso de testa entre los tipos de cacao Nacional y Súper Árbol

4.3. Análisis de las características químicas en el proceso de fermentación

4.3.1. pH de testa

En los dos tipos de cacao se observa (figura 11) que el pH de testa es bajo con 3,89 pero va incrementándose progresivamente conforme se fermenta el cacao, el mayor incremento significativo ($p < 0,05$) se dio de cero a 12 horas en cacao Súper Árbol, mientras que en el caso de cacao Nacional no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) desde el inicio hasta final de la fermentación (ver anexo tabla AI.4).

Al inicio de la fermentación el pH bajo favorece el crecimiento de *D. melanogaster*. M., una mosca de la fruta que se alimenta del exudado y transporta esporas de microorganismos por toda la masa que se está fermentando (Quevedo Guerrero et al., 2018). El mayor valor de pH se dio en el caso de cacao Súper árbol con un resultado final de 5,92 con respecto a 5,27 en cacao Nacional. En general los dos tipos de cacao presentan diferencias significativas en sus medias ($p < 0,05$), con valores de 5,18 para Súper Árbol y 4,35 para Nacional (ver anexo tabla AI.4).

Esto puede deberse a la mayor producción de ácido acético producido por este material de cacao que migra hacia el interior de la almendra, en el cual se queda retenido una importante cantidad en la membrana de la cascarilla (Vera et al., 2014).

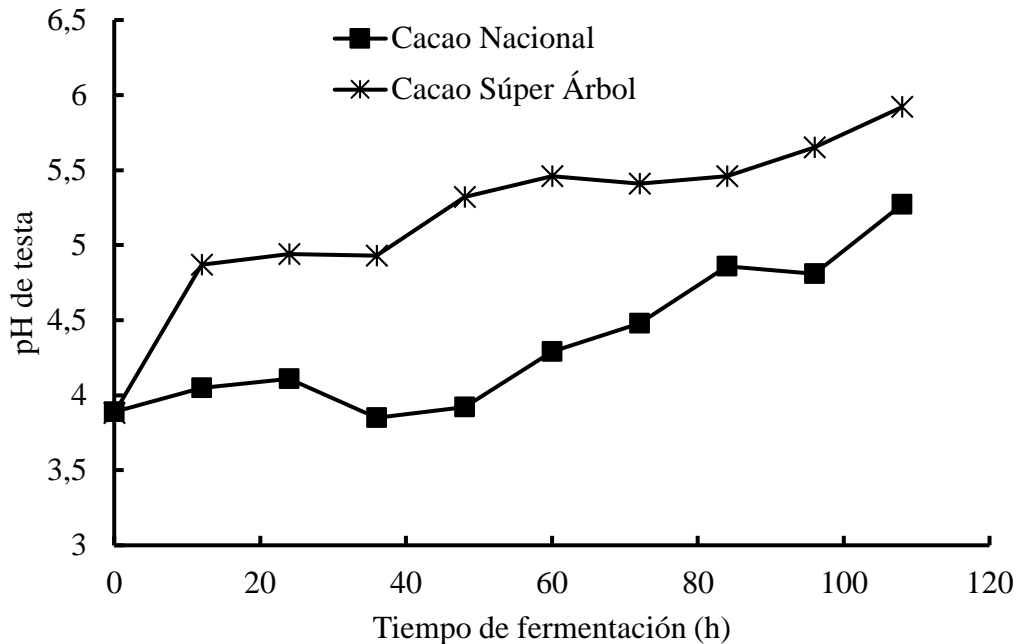


Figura 11. pH de testa desde cero a 108 horas de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado

El mayor valor de pH se dio en el caso de cacao Súper árbol con un resultado final de 5,92 con respecto a 5,27 en cacao Nacional. En general los dos tipos de cacao presentan diferencias significativas en sus medias ($p < 0,05$), con valores de 5,18 para Súper Árbol y 4,35 para Nacional. Esto puede deberse a la mayor producción de ácido acético producido por este material de cacao que migra hacia el interior de la almendra, en el cual se queda retenido una importante cantidad en la membrana de la cascarilla (Vera et al., 2014).

Esta tendencia a incrementar el pH es consecuente con Quevedo Guerrero et al. (2018), los cuales obtuvieron a las 24 horas valores de pH de 3,83 con aumento a 4,87 a las 72 horas, en cacao del complejo Nacional x Trinitario fermentado en cajas de madera. Sin embargo Sanchez et al. (2019) reportaron valores de 6,53 para cacao Nacional y CCN51 fermentado en cajas Rohan, al igual que Vera et al. (2014), encontraron valores altos entre 5,43 a 6,88 en 15 clones

de cacao Nacional. Esta variabilidad en los resultados podría deberse a la variabilidad genética entre diferentes zonas de país y por los diferentes métodos de fermentación empleados.

4.3.2. pH de cotiledón

El pH de cotiledón, al contrario que el de cáscara, tiende a disminuir a medida que se incrementa el tiempo de fermentación. En los dos casos la tendencia (ver anexo figura AII.1) se comporta de manera similar, pero con patrones diferentes. El cacao Súper Árbol (tabla 8) en un inicio tuvo un pH de 6,53 y decreció un 9,34% hasta las 24 horas, a partir de la hora 36 hasta la 84 disminuyó desde 6,25 a 5,85 es decir un decrecimiento menos pronunciado del 6,4%. En el cacao Nacional el comportamiento fue similar, pero se desde la hora 48 empieza a tener el primer mayor descenso, luego el segundo descenso se da entre la hora 84 a 96 para luego subir 6,06. Tendencias similares se encontraron en los estudios publicados por Quevedo Guerrero et al. (2018), en el cual tuvieron un descenso del 28% en 72 horas de fermentación partiendo de 6,56.

En el estudio de Morales Rodriguez et al. (2016) se manifiesta que el pH desciende hasta el final de la fermentación para luego ascender al igual que ocurrió en este estudio. El incremento podría deberse a la pérdida por la migración hacia el tegumento de los ácidos contenidos en el cotiledón y por las reacciones bioquímicas que ocurren en el interior de la almendra.

Al final de la fermentación el pH en el cacao Nacional descendió un 3,34% y en Súper Árbol un 6,28%, pero en los dos materiales se mantuvo por encima de 5,9. El incremento de acidez se debe por la producción de los ácidos láctico y acético por la degradación del mucílago y que se acumulan en el interior de la almendra durante la fermentación (Quevedo Guerrero et al., 2018).

Los resultados de este estudio concuerdan Homem de Abreu Loureiro, Reis de Araujo, René Valle, Andrade-Sodré, & Moreira de Souza (2017), quienes reportaron valores en un rango entre 5,2 a 6,3 en granos de cacao del clon PH-16 fermentados por 7 días en una región de Brasil. De la misma forma Álvarez et al. (2010) reportaron entre 5,20 a 5,49 en un cacao fermentado en cajas de madera y entre 5,50 y 5,80 en cacao fermentado en cestas plásticas. Estos valores están ligeramente más ácidos en comparación con el estudio realizado por el método de fermentación propuesto.

Tabla 8. pH del cotiledón desde el inicio hasta la hora 108 de fermentación de cacao Nacional y Súpero árbol en un módulo semiautomatizado

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	6.27 ^a	6.53 ^a
12	6.37 ^a	6.36 ^{ab}
24	6.39 ^a	5.92 ^{ab}
36	6.29 ^a	6.25 ^{ab}
48	6.12 ^a	6.07 ^{ab}
60	6.32 ^a	6.02 ^{ab}
72	6.21 ^a	5.94 ^b
84	5.98 ^a	5.85 ^{ab}
96	5.96 ^a	6.01 ^{ab}
108	6.06 ^a	6.12 ^{ab}
<i>p</i> Valor	0.3251	0.0378
EEM	0.14	0.13
CV (%)	3.91	3.75

^{ab} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar dla media; CV (%): Coeficiente de variación.

El valor del pH es una variable importante en la industria, debido que a al tener exceso de acidez puede provocar la reducción de la calidad sensorial. Valores entre 4,0 a 5,0 reflejan exceso de acidez por la presencia de ácido láctico y ácidos volátiles lo que conlleva a la reducción del potencial del sabor y aroma. Los valores ideales de pH se encuentran entre 5,0 a 5,4 (Morales Rodriguez et al., 2016) En esta investigación los valores se encuentran por encima de 5,0 lo que indica que tiene calidad organoléptica.

4.3.3. Porcentaje de grasa

El porcentaje de grasa durante la fermentación para los dos materiales de cacao presenta ligeras variaciones en su composición (ver anexo figura AII.2), pero sin una significancia estadística (p

> 0,05) (tabla 9). En el caso de cacao Súper Árbol el comportamiento de la curva de tendencia del porcentaje de grasa es más uniforme, sin variaciones importantes, es decir desde la hora cero hasta la 108 se determinó una ligera variación no significativa, con tendencia a disminución del 0,67% en su contenido graso. De la misma forma se comportó la curva para cacao Nacional, con una ligera disminución entre el primero y el último día de fermentación, en el cual se encontró una variación no significativa del 0,55%. Esto quiere decir que el contenido graso permanece constante en todo el proceso de fermentación de cacao independientemente del material genético utilizado.

Los resultados de esta investigación concuerdan con Teneda (2016), este estudio encontró que el cacao Nacional presentó un 47,81% de grasa al inicio de la fermentación y al final del proceso hubo una reducción no significativa del 0,64% en el contenido graso, y también con Larez et al. (2013), quienes reportan valores de 45,45% a 52,85%, esto quiere decir que en este intervalo entraría el cacao Nacional más no el otro material genético estudiado. Valores más bajos fueron encontrados por Vera et al. (2014) en un estudio realizado a 15 clones de cacao y fermentado por 5 días, cuyo promedio reportado es de 38,82%. Sin embargo Andrade-Almeida et al. (2019) encontraron valores relativamente más altos de grasa en cacao Nacional con un 50,81% y 51,02% para CCN1, además indican que el proceso de fermentación tiene una relación negativa con este parámetro, es decir un cacao sin fermentar va a tener mayor cantidad de grasa. Esta aseveración es contraria a los resultados de los autores ya mencionados y de los resultados de esta investigación (tabla 9).

Un meta análisis realizado por Jahurul et al. (2012) mencionan que el porcentaje de grasa en las almendras varía entre 50% a 57%, y esta grasa es la responsable de la fusión del chocolate y también del aroma. Esta aseveración concuerda con Álvarez et al. (2007) y Ruíz et al. (2014) con valores entre 52 a 56%. En este contexto los cacaos tipo forasteros tienen mayor al 52% mientras que los finos su contenido estaría por debajo del 50% (Vera et al., 2014). Para la industria chocolatera es beneficioso el alto contenido de grasa, no solo porque contribuye al sabor sino porque permite incrementar los rendimientos y además porque facilita el transporte de la masa de chocolate a través de tuberías y bombas (Andrade-Almeida et al., 2019).

Tabla 9. Variación del contenido del porcentaje grasa de cacao durante la fermentación en un sistema semiautomatizado de cacao Nacional Y Súper Árbol entre 0 y 108 horas

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	47.54 ^a	42.72 ^a
12	46.54 ^a	42.00 ^a
24	48.08 ^a	42.42 ^a
36	48.20 ^a	42.21 ^a
48	48.62 ^a	42.13 ^a
60	49.23 ^a	42.92 ^a
72	47.4 ^a	41.63 ^a
84	47.01 ^a	41.65 ^a
96	48.69 ^a	41.39 ^a
108	48.09 ^a	42.05 ^a
ρ Valor	0.8528	0.9706
EEM	1.15	0.90
CV (%)	4.17	3.72

^a Medias con letras iguales entre filas son estadísticamente iguales ($p > 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

Al analizar el contenido de grasa entre los dos materiales clonales se obtuvo diferencias estadísticas significativas para los dos materiales (figura 12), con un promedio del 47,94% para cacao Nacional y 42,11% para cacao Súper Árbol, es decir con una diferencia importante del 5,83%. Esta diferencia es muy importante en la industria los cacaos de alto contenido graso permiten incrementar los rendimientos del chocolate (Andrade-Almeida et al., 2019) y además está relacionado con la fusión y el aroma del chocolate (Jahurul et al., 2012). Vera et al. (2014) menciona que el contenido de grasa tiene una relación inversa con el tiempo de fermentación, por eso los forasteros tardan más tiempo en fermentarse que los criollos. Estas aseveraciones concuerdan con este estudio, en el cual para el cacao Súper Árbol que contiene menor contenido

graso que el Nacional, a partir de la hora 84 presentó alto porcentaje de fermentación, y el cacao Nacional fue a partir de la hora 96.

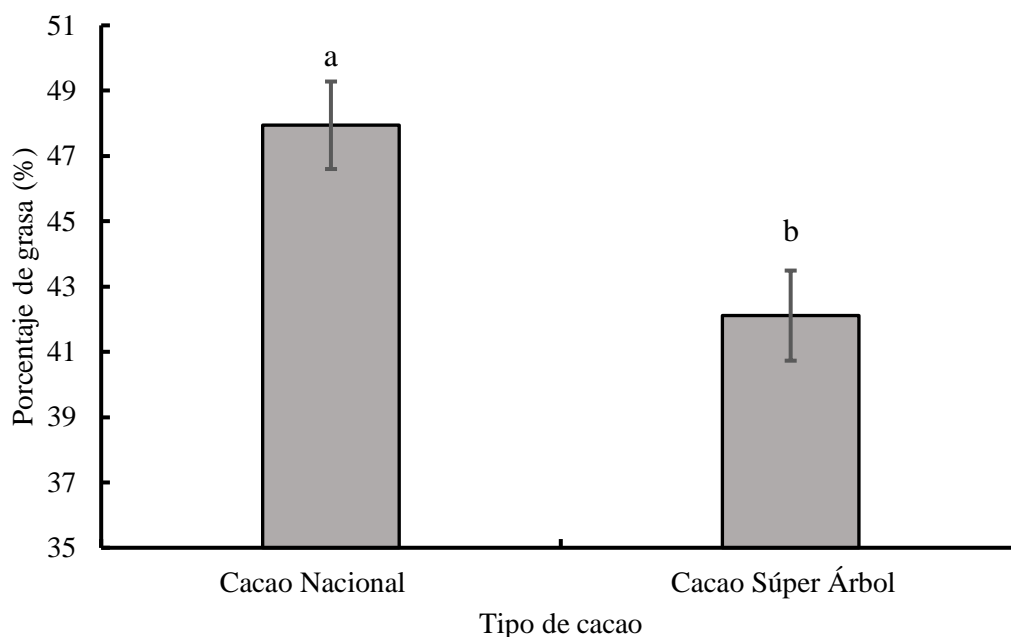


Figura 12. Comparación del porcentaje de grasa entre cacao Nacional y Súper Árbol

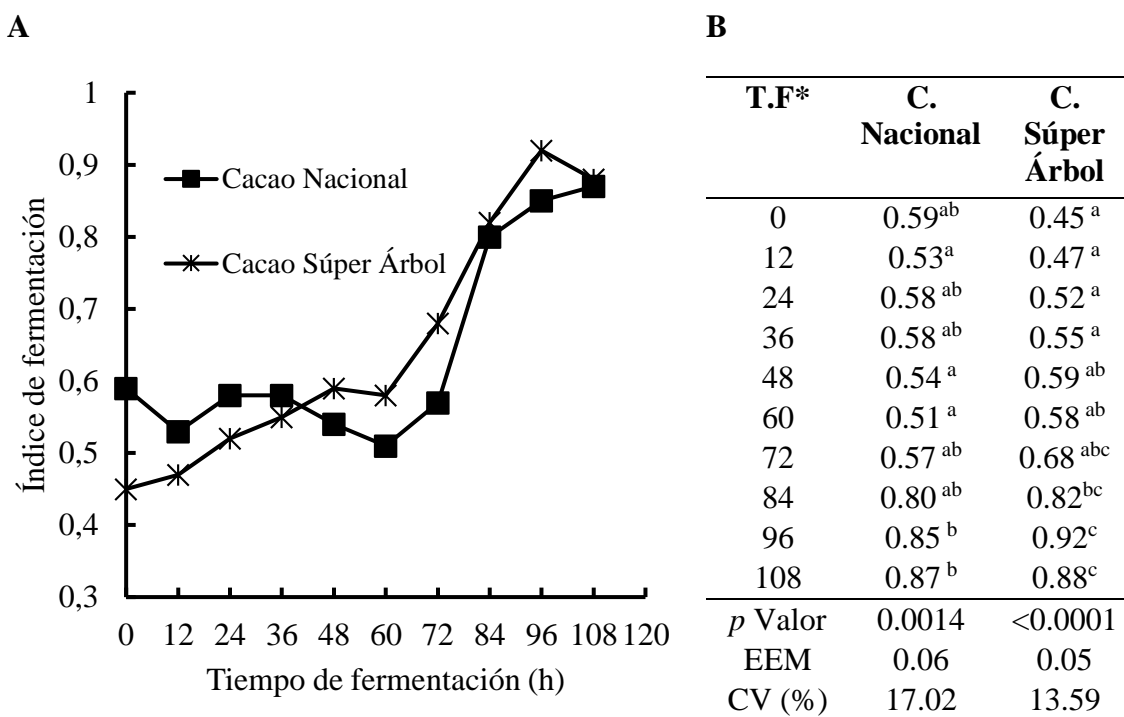
Por otro lado, de acuerdo los resultados de este estudio no hay diferencias durante el tiempo de fermentación pero si entre genotipos de cacao; de acuerdo a Teneda (2016) al comparar con la variedad encontraron diferencias más no con el proceso de fermentación. En este mismo sentido Vera et al. (2014) encontraron diferencias significativas entre clones de cacao Nacional, los cuales menciona que los porcentajes de grasa están en relación al factor genético.

4.3.4. Índice de fermentación

El índice de fermentación es una medida objetiva del grado de fermentación que ha alcanzado la almendra de cacao beneficiada. Es el resultado de la relación entre la absorbancia a 460 nm y 525 nm. Es como la medida indirecta del contenido de antocianinas (525 nm), uno de los principales compuestos de los polifenoles del grano de cacao, podría estar relacionado con la medición espectral; y con las reacciones de oxidación y condensación (460 nm). Valores

alrededor de 1 son un indicativo que la fermentación ha concluido (Espín & Samaniego, 2016; Romero et al., 2013).

El índice de fermentación encontrado en este estudio presentó una tendencia creciente durante el tiempo de fermentación para todos los tratamientos (figura 13a), se observó esta misma tendencia al evaluar el porcentaje de fermentación en el acápite 4.1.1., mediante la determinación visual del cambio de color a marrón. Al final de la fermentación, en la hora 108, los índices de fermentación medidos fueron de 0,87 para cacao Nacional y de 0,88 para el otro material.



*Tiempo de fermentación. ^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación

Figura 13. Índice y tiempo de fermentación de cacao Nacional y Súpero Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado entre 0 a 108 horas

Al analizar la curva de fermentación, para el cacao Nacional desde la hora cero hasta la 72 no existe un crecimiento significativo en su fermentación, mientras que de la 72 a la hora 96 existe

un incremento muy pronunciado en su fermentación de 0,28 puntos yendo desde 0,57 a 0,85. De la misma forma para cacao Súper árbol, la curva muestra que desde la hora cero hasta la 60 existe un ligero incremento de solo 0,13 puntos, pero de la 60 hasta la 96 creció drásticamente en 0,34 puntos, partiendo de 0,58 hasta 0,92 (figura 13b). Esto quiere decir que durante este periodo existen mayores cambios por la descomposición de los pigmentos de antocianina, con la formación subsiguiente productos de la condensación de las antocianinas, como cianidina-3- β -D-galactosida y cianidina-3- α -L-arabinoside a medida que avanza la fermentación (Afoakwa et al., 2012).

La figura 13b muestra los resultados medios del índice de fermentación de diferentes horas de fermentación de las almendras. Los resultados de las mediciones de las fracciones espectrales de la fracción de color mostraron que los granos de cacao de todos los tratamientos tuvieron valores bajos de este índice en la hora cero, resultado de la presencia de altas cantidades de antocianinas de las almendras antes de la fermentación (granos sin fermentar). El aumento del tiempo de fermentación de los granos condujo a que haya diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre la hora 60 y 96 en cacao Nacional y entre la hora 36 con la 96 para cacao Súper Árbol, con una estabilización sin que haya diferencias significativas ($p > 0,05$) a partir de la hora 96 para los dos materiales de cacao. Esta estabilización podría deberse a que han cesado las reacciones y de oxidación y la exudación de las antocianinas.

Esta tendencia creciente de la curva coincide con los resultados de los estudios realizados por Romero et al. (2013) en Huimanguillo, Tabasco, México, en el que en un día tuvieron un incremento de 0,45 en su índice en un cacao fermentado por 6 días en cajones de madera; y con Caporaso, Whitworth, Fowler, & Fisk (2018), quienes mostraron un incremento del grado de fermentación, mientras el tiempo de fermentación aumentó.

En este contexto, los resultados de este estudio difieren con Teneda (2016), quién obtuvo un índice de 1,02 a las 60 horas de fermentación de cacao Nacional fermentado en cajas. Mientras que Afoakwa et al. (2012) obtuvieron un valor de 0,77 a los 4 días de fermentación y de 1,02 a los 6 días de fermentación de un cacao forastero cultivado en Ghana. De la misma forma, resultados diferentes se encontraron en las investigaciones realizadas por Kresnowati & Febriami (2015), en los cuales a los 4 días de fermentación el índice sobrepasaba el valor de 1,

en un cacao fermentado adicionado microorganismos iniciadores de fermentación como levaduras y bacterias.

A pesar de que el cacao de esta investigación llega a 0,88, se comprobó en la prueba de corte que para este mismo tiempo de fermentación el cacao fue del 88,33%, es decir tiene una buena fermentación, porque valores que sobrepasan al 90% indicaría que posiblemente ya está sobre fermentado. Estas diferencias podrían deberse a que en Teneda (2016) el valor al inicio de fermentación era alto de 0,72 mientras que en el estudio fue bajo de 0,59 para cacao Nacional y 0,45 para cacao Súper Árbol. Además en el estudio de Kresnowati & Febriami (2015) en todos los casos utilizaron cultivos iniciadores para acelerar el proceso de fermentación.

En contraste, se encontró valores similares de 0,78 en la investigación realizada por Garcia (2019) en un cacao de Colombia, mezcla de variedades, fermentado por 5 días en baldes plásticos. El grado de fermentación depende de la correcta clasificación de los granos y de los materiales genéticos, los criollos requieren menos tiempo que los forasteros.

4.3.5. Polifenoles totales

Las altas concentraciones de polifenoles proveen un sabor astringente a un chocolate. Los polifenoles al reaccionar con azúcar y aminoácidos aportan sabor y color a los granos de cacao y los alcaloides el amargor (Afoakwa, 2010). Los resultados de este estudio (figura 14) mostraron que el contenido de polifenoles totales fue influenciado estadísticamente ($p < 0,05$) por el tiempo de fermentación; se observó una tendencia decreciente desde la hora cero hasta la 108 para los dos tipos de cacao.

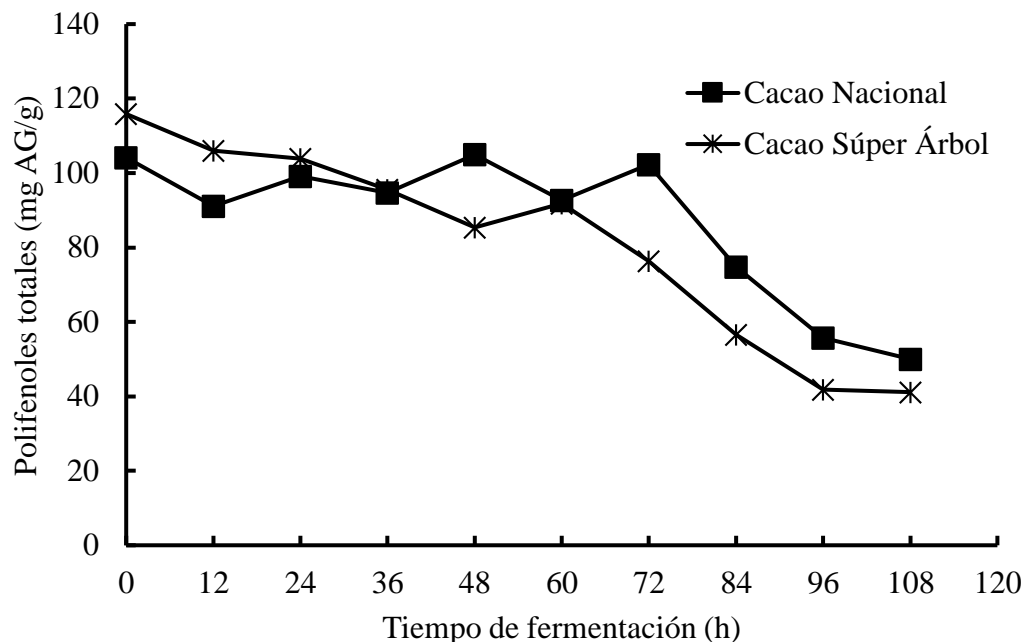


Figura 14. Concentración de polifenoles totales (mg de ácido gálico (AG)/g muestra) durante el proceso de fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol en un módulo de fermentación semiautomatizado

Los resultados de las muestras desengrasadas al inicio de la fermentación evidenciaron que el cacao tuvo un contenido alto de 104,2 mg AG/g y llegó hasta 50,02 mg AG/g a la hora 108 en cacao Nacional con una reducción del 52%; así mismo de 115,86 mg AG/g en la hora cero a 41,14 mg AG/g en la hora 108 en cacao Súper Árbol, con un descenso del 64,49% (ver anexo tabla AI.5). Estos resultados muestran que el cacao Súper Árbol tuvo cantidades más altas de polifenoles que el Nacional al inicio de la fermentación, mientras que la fermentación afectó mayoritariamente al cacao Súper Árbol, quien el final del proceso postcosecha mostró niveles más bajos que el Nacional, producto de una reducción mayor y más temprana (hora 60 a 96) y más tardía para cacao Nacional (hora 72 a 96). Esto quiere decir que las reacciones de oxidación de la polifenol oxidasa (PFO) y degradación de las antocianinas fueron más pronunciadas para el cacao Súper Árbol, esto podría explicarse el menor tiempo que necesitó para alcanzar una fermentación adecuada.

Al analizar la curva, desde la hora 60 a la 96 existió un descenso muy pronunciado del 43,18%, superior a los demás intervalos de tiempo estudiados en cacao Súper Árbol, del mismo modo ocurrió en el cacao Nacional, la curva tuvo un decrecimiento alto entre la 72 a la 96 de un 44,69%, todos estos resultados se dieron en la fase aerobia de fermentación. Estos resultados son consecuentes con Afoakwa et al. (2012) quienes mencionan que durante la fermentación, se produce la actividad de la enzima oxidativa principalmente de la PFO, siendo más frecuente en la fase aeróbica, pero continuando hasta bien entrado el secado del cacao. Esta misma tendencia encontraron Rivera et al. (2012), en el que el tiempo de fermentación tuvo una correlación negativa con el contenido de polifenoles en un cacao Nacional fermentado por 5 días, al igual que en los estudios de Pallares, Estupiñán, Perea, & López (2016), al fermentar cacao CCN51 por 6 días. Estos resultados permiten concluir que el tiempo de fermentación influye en el contenido de polifenoles totales.

Valores similares de polifenoles fueron reportados por Rivera et al. (2012) con un promedio de 98,56 mg AG/g al inicio de la fermentación y después de 5 días con un valor de 38,36 mg AG/g, mientras que en el día cuarto su resultado fue alrededor de 50 mg AG/g. De la misma forma Samaniego et al. (2020) encontraron valores de 49,39 mg AG/g y 50,39 mg AG/g en cacaos del tipo Nacional a las 96 horas de fermentación provenientes de El Coca y Joya de Los Sachas, respectivamente. Estos últimos valores son similares al cacao Nacional pero superiores al cacao Súper Árbol evaluados en este estudio mediante un proceso de fermentación en un sistema semiautomatizado. Resultados similares encontraron en un cacao de los Ríos con 43,4 mgAG/g. En este estudio se reportan un rango de valores que van desde $33,55 \pm 5,74$ a $71,66 \pm 3,94$ mg AG/g en cacaos de las tres regiones del Ecuador. Los resultados de este estudio en beneficio semiautomatizado se encuentra dentro del intervalo de este reporte, sin embargo, los límites superiores fueron más altos que este estudio, esta variación podría deberse a la variabilidad genética, al método de fermentación utilizado y a la temporada de cosecha (Samaniego et al., 2020).

El proceso de beneficiado de las almendras de cacao es decisivo para el desarrollo de los precursores del sabor del chocolate. La formación de taninos de alto peso molecular y sus interacciones con las proteínas impactan en la calidad general del cacao fermentado, atributo importante en el chocolate. Durante la fermentación, los polifenoles se difunden de las células

contenidas y se oxidan enzimáticamente por la PFO a taninos condensados de alto peso molecular, mayoritariamente insolubles (Vázquez et al., 2016).

La reducción de los polifenoles es importante porque está relacionado con la calidad organoléptica por el efecto de la astringencia (sabor desagradable del grano) y sabor amargo antes de la fabricación de chocolates, porque en procesos posteriores a la poscosecha no se pueden eliminar. Sin embargo, en los últimos tiempos los polifenoles cobran protagonismo por el descubrimiento de los múltiples beneficios que tienen para la salud en los productos de cacao, debido a que se encuentran fuertemente ligados a los antioxidantes. Por lo tanto, se requiere una cierta reducción en el nivel de polifenoles para lograr granos de cacao con buen sabor, pero al mismo tiempo manteniendo el equilibrio para no perder las características funcionales (actividad antioxidante) (Afoakwa et al., 2012). De acuerdo a Rivera et al. (2012), proponen un nivel alrededor de 50 mg AG/g para lograr el equilibrio buscado.

Al respecto, al analizar la capacidad antioxidante ORAC ($\mu\text{m Trolox/ g MS}$) durante la fermentación Pallares et al. (2016) encontraron el mismo comportamiento decreciente al igual que los polifenoles, y además reportaron una correlación lineal directa con ajuste R^2 de 0,95. Esto demuestra que la fuerte relación que tienen los polifenoles con la capacidad antioxidante.

4.4. Comparación de las características físicas y químicas del sistema semiautomatizado con el de cajas Rohan

4.4.1. Características físicas de cacao

Al comparar el método semiautomatizado fermentado por 4,5 días con el tradicional mediante cajas Rohan fermentado por 5 días, se pudo evidenciar (tabla 10) que el porcentaje de fermentación fue significativamente ($p < 0,05$) mayor en el sistema semiautomatizado que en cajas Rohan, es decir alcanzó, a los 4,5 días de beneficiado, una diferencia superior del 10,66% con respecto al de cajas Rohan fermentado por 5 días. Al comparar los resultados de los dos métodos con la norma INEN 176, estos sobrepasan al valor mínimo establecido del 75%, sin embargo, se puede apreciar que el método semiautomatizado resultó ser más eficiente en tiempo

que el de cajas Rohan, ya que se consiguieron valores más altos en menos tiempo. En este contexto Vera et al. (2014) obtuvieron diferencias significativas entre tipos de fermentadores, pero en el de cajas de madera obtuvieron su valor más alto de 73,3% a los 5 días de fermentación, de la misma forma Sanchez et al. (2019) reportaron 79,6% fermentado en cajas Rohan por días, estos valores son similares y consecuentes con los resultados de este estudio.

Tabla 10. Comparación entre el sistema de fermentación semiautomatizado y cajas Rohan en la calidad física del cacao

Método de fermentación	Tiempo de fermentación (días)	Porcentaje de fermentación (%)	Peso de 100 almendras (g)	Número de almendras en 100 g	Porcentaje de testa (%)
Semiautomatizado	4.5	89.33 ^a	113.34 ^a	90.33 ^a	12.33 ^a
Cajas Rohan	5	78.67 ^b	137.33 ^b	73.83 ^b	14.69 ^a
ρ Valor		0.0461	0.0394	0.0464	0.1042
EEM		3.31	7.16	5.14	0.93
CV (%)		9.66	14.00	15.32	16.89

^{ab} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

En el caso del peso de 100 almendras, la norma INEN 176, clasifica en tres categorías, la más baja están entre 100 a 120 g como arriba superior época (A.S.E), categoría media > 120 a 130 como arriba superior selecto (A.S.S) y categoría alta o de mayor calidad > 130 g como arriba superior summer selecto (A.S.S.S). En este contexto la fermentación en cajas Rohan entra dentro de la categoría más alta ya que sobrepasan el peso de 130 g en el peso de 100 almendras, mientras que la fermentación en un sistema semiautomatizado solo llega a 113,34 g, el cual entraría dentro de la más baja categoría. La diferencia en sus pesos es de 23,99 g por cada 100 g de almendras entre los dos métodos. Estos resultados concuerdan con Álvarez et al. (2010), en los cuales, obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre tipos de fermentadores, en encontrando valores más altos en cajas de madera que en cestas plásticas, de 157,45 g y 148,89 g, respectivamente, con una diferencia de tan solo 8,56 g. Si bien hay una diferencia entre tipos de fermentadores analizados, sin embargo, también se debería tener presente el genotipo, ya que

influencia directamente en el peso del grano, así como se encontró en los resultados de este estudio y en los estudios de Álvarez et al. (2007).

En el caso de del número de almendras en 100 gramos, se pueden observar (tabla 10) que existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los dos métodos de fermentación, obteniéndose mayor número de granos en el sistema semiautomatizado, con una diferencia de 16,5 almendras. Esto resultados se esperaban ya que guardan una relación inversa con el peso de 100 almendras. Es decir, a mayor número menor peso de grano por cada grano. Estos parámetros son muy importantes en la industria ya que define, junto a otros factores, el rendimiento del chocolate (Larez et al., 2013). Resultados similares obtuvieron Sanchez et al. (2019) al fermentar en cajas Rohan con valores de 76,1 granos, superior a la fermentación en sacos, y dentro del rango encontrado en este estudio entre los dos tipos de fermentadores utilizados. En este contexto, Zambrano et al. (2010) mostraron diferencias significativas entre cacao criollo, forastero y trinitario con valores que se encontraron de 66 para forastero, 78 trinitario y de 65 a 74 para criollo. Estos datos refuerzan la teoría de que el desarrollo de esta característica está fuertemente influenciado por la parte genética antes que el método de fermentación utilizado.

El peso de la testa encontrado en este estudio no tuvo diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre los dos métodos empleados, con valores que van desde 12,33% a 14,69%. La cascarilla es un parámetro de rendimiento por generación de desechos en la industria, y la pérdida de manteca de cacao (Álvarez et al., 2010). Si bien, la norma INEN 176 no establece un criterio de calidad para este parámetro, pero el mercado exportador acepta hasta un 12% (Ruíz et al., 2014). Estos resultados son concordantes con Álvarez et al. (2010) debido a que no tuvieron efecto significativo entre dos tipos de fermentadores (cajas de madera y cestos plásticos) en un cacao trinitario en el estado de Miranda Venezuela, los valores que presentaron fueron entre 13,78 y 14,16% respectivamente. Sin embargo, resultados superiores se observaron en los estudios de Vera et al. (2014), con un promedio de 18,92% en 15 clones de cacao Nacional. Entre menor sea este parámetro es más positivo para la calidad del cacao, lo cual representa una ventaja para la industria.

4.4.2. Características químicas

Al analizar los dos métodos de fermentación el contenido químico, se observa (tabla 11) que el valor de pH de cotiledón es estadísticamente ($p < 0,05$) más alto en el sistema semiautomatizado que en el método de cajas Rohan, con una diferencia de 0,58 puntos. Estos resultados son concordantes con Quevedo Guerrero et al. (2018), quienes encontraron diferencias significativas al fermentar cacao en diferentes métodos como: saco de yute, rotor de madera, montón, caja de madera y balde plástico; con valores más altos de 5,47 en rotor de madera, sin embargo los resultados de estos autores son ligeramente más bajos (entre 5,07 a 5,47) a los encontrados en este estudio. De la misma forma en los resultados encontrados por Morales Rodríguez et al. (2016), tuvieron un pH de 4,98 al evaluar materiales de cacao CCN-51 con diferentes cultivos iniciadores. La acidez en el cacao es un parámetro muy importante que hay que controlar, valores de pH menores a 5,0 es un sinónimo de una deficiente fermentación y, por lo tanto, repercute en la calidad sensorial.

En este contexto, resultados similares entre 5,2 a 6,3 fueron encontrados por Homem de Abreu Loureiro et al. (2017) al fermentar cacao de los clones PH-16 en cajas de poliestireno durante 7 días en una región de Brasil. De la misma forma Álvarez et al. (2010) encontraron valores entre 5,20 a 5,49 y 5,50 a 5,80 de pH en cacao fermentado en cajas de madera y tinas plásticas, respectivamente. Estos valores son más bajos a los encontrados en el sistema semiautomatizado, y concordantes con el sistema en cajas Rohan.

Tabla 11. Comparación entre el método semiautomatizado y cajas Rohan en el desarrollo de las características químicas de cacao durante la fermentación

Método de fermentación	Tiempo de fermentación (días)	pH de cotiledón	pH de testa	Grasa (%)	Polifenoles totales (mg AG/g)
Semiautomatizado	4.5	6.09 ^a	5.59 ^a	45.07 ^a	45.58 ^a
Cajas Rohan	5	5.51 ^b	6.66 ^b	45.39 ^a	45.21 ^a
ρ Valor		0.046	0.0422	0.8487	0.9591
EEM		0.18	0.32	1.15	4.91
CV (%)		7.63	12.94	6.20	26.52

^{ab} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

El pH de la testa (tabla 11) muestra diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los métodos analizados, esta vez a diferencia del pH de cotiledón, el mayor valor se encontró en las cajas Rohan con una diferencia de 1,07 puntos. Esto es consecuente con el bajo valor de pH encontrado, esto quiere decir que hubo una alta permeabilización de los ácidos formados hacia el interior de la almendra. Estos resultados está acorde con Quevedo Guerrero et al. (2018), quienes obtuvieron diferencias significativas entre tipos de fermentadores utilizados con un rango entre 5,13 a 5,47 en sacos de yute y cajas de madera, respectivamente. De la misma forma Sanchez et al. (2019), publicaron valores más altos que están entre 6,05 y 7,02 en sacos de plástico y cajas Rohan, respectivamente. En este mismo contexto Vera et al. (2014) reportaron valores más altos con un promedio de 6,31 pero sin diferencias significativas entre clones de cacao.

En el caso del porcentaje de grasa, al analizar el tipo de fermentador utilizado se encontró (tabla 11) que no tiene efecto significativo ($p > 0,05$) entre los dos métodos empleados, sus valores fueron similares. Este mismo resultado se obtuvo en un estudio realizado por Teneda (2016) quien no encontró diferencias significativas entre un rotor de madera y un cajón, pero con valores relativamente diferentes con un 48,44% para cacao fermentado en cajón y con un 48,51% para rotor de madera, respectivamente. Los resultados del estudio muestran que esta característica es influenciada por el material genético antes que por el método poscosecha utilizado. Esta aseveración es concordante con Vera et al. (2014) quienes obtuvieron diferencias significativas en el contenido de grasa entre clones de cacao, con un valor promedio de 30,82%, el cual es inferior al de este estudio. De la misma forma Perea, Ramirez, & Villamizar (2011), encontraron diferencias significativas entre clones de cacao con valores que van desde 51,4% a 57,7%, este valor es superior a los resultados obtenidos en este estudio.

En cuanto a los resultados de las características químicas (tabla 11), se puede apreciar que el contenido de polifenoles no difiere estadísticamente ($p > 0,05$) entre los dos métodos de fermentación utilizados, con una variación mínima de 0,37 puntos, con respecto al mayor resultado que corresponde al sistema semiautomatizado. Estos resultados sugieren que el

método que se usa para fermentar no influye en el contenido de polifenoles, más bien, lo que podría alterar es el tiempo de fermentación, el genotipo y la época de cosecha (Samaniego et al., 2020). Estos resultados y aseveraciones son consecuentes con los estudios de Rivera et al. (2012), quienes tuvieron una disminución significativa en el contenido de polifenoles durante el tiempo de fermentación, partiendo de 98,56 mg AG/g al inicio de la fermentación y llegando al quinto día a 38,36 mg AG/g, es decir una disminución del 61%. Sin embargo, al analizar los métodos de fermentación en sacos de cabuya, montón, caja de madera y tina plástica, encontraron que no había diferencias significativas en su contenido final a los 5 días de fermentación. Resultados ligeramente superiores de 49,39 mg AG/g, 50,39 mg AG/g y 43,57 mg AG/g fueron reportados por Samaniego et al. (2020) en cacao Nacional proveniente de El coca, Joya de los Sachas y Loreto, respectivamente; y fermentado en micro fermentación en cajas de madera por 96 horas. De igual forma, estos resultados son comparables a los alcanzados por Pedan et al. (2018) para 31 muestras de cacao fermentado de diferentes orígenes de Centro y Sudamérica, quienes reportaron valores que oscilan entre 32,76 y 61,13 mg AG/g.

El contenido de polifenoles se relaciona de forma directa con la calidad sensorial por el efecto de la astringencia (sabor desagradable del grano) y sabor amargo que le confiere en el momento de la fabricación de chocolate. Pero en la actualidad, estos componentes cobran mucha importancia debido que forman parte de los compuestos funcionales porque se asocian directamente con la actividad antioxidante, una característica beneficiosa para la salud Afoakwa et al. (2012), por eso hay propuestas de autores como Rivera et al. (2012) para que se mantenga un equilibrio entre calidad sensorial y calidad funcional, para que no se pierda esta característica beneficiosa para la salud pero a la vez sin desmejorar su sabor. Estos autores sugieren que ese equilibrio podría fluctuar por los 50 mg AG/g.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Los cambios de medición y control introducidos en el sistema de fermentación (semiautomatizado), fue aplicado satisfactoriamente a los genotipos de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) e influyó significativamente sobre el porcentaje de fermentación en comparación con el sistema tradicional; mejorando algunas de los parámetros de calidad físico-químico en el grano fermentado.
- Los valores de las principales características físicas y químicas determinadas para las almendras de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) mediante el sistema semiautomatizado aplicado, se encuentran en el rango de los valores reportados en la literatura y de la norma INEN 176.
- Al comparar los resultados de las principales características físicas químicas de las almendras de *T. cacao* (Nacional y Súper Árbol) fermentadas por ambos métodos, se comprobó que hubo una reducción en el tiempo de fermentación con respecto al de cajas Rohan, lo cual es una ventaja para el proceso de producción. Así mismo el método propuesto influyó positivamente en el pH de testa y cotiledón y porcentaje de cascarilla, mientras que, en el peso de 100 semillas, el porcentaje de polifenoles y contenido graso se obtuvo valores similares al sistema tradicional.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar el análisis de componentes químicos más específicos como alcaloides, polifenoles específicos, ácidos grasos, perfiles aromáticos y de sabor, y otros parámetros de calidad como el color a las almendras fermentadas obtenidas en el sistema semiautomatizado.
- Introducir elementos de control automáticos en las otras etapas del sistema de fermentación para mejorar el proceso de fermentación de cacao.
- Recomendar el sistema de fermentación semiautomatizado como alternativa tecnológica de beneficio poscosecha de cacao, debido a que es práctico por reduce el tiempo de fermentación sin desmejorar la calidad, además permite homogenizar la calidad de los granos de cacao en todos sus parámetros evaluados.

CAPÍTULO VI

6. BIBLIOGRAFÍA

- Acebo, M. (2016). Estudios industriales y orientación estratégica para la toma de decisiones para la Industria de cacao. *Escuela Politécnica Del Litoral*, 42. <https://url2.cl/1Ug8n>
- Afoakwa, E. O. (2010). Chocolate Science and Technology. In *Chocolate Science and Technology*. <https://doi.org/10.1002/9781444319880>
- Afoakwa, E. O. (2015). Changes in Biochemical and Physico-chemical Qualities during Drying of Pulp Preconditioned and Fermented Cocoa (*Theobroma cacao*) Beans. *Journal of Nutritional Health & Food Science*, 2(3). <https://doi.org/10.15226/jnhfs.2014.00121>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 840–857. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>
- Afoakwa, E. O., Quao, J., Budu, A. S., Takrama, J., & Saalia, F. K. (2012). Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 19(1), 127–133. <http://www.cabdirect.org/abstracts/20123125723.html>
- Álvarez, C., Pérez, E., & Lares, M. (2007). Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado Aragua. *Agronomía Trop.*, 57(4), 249–256. <https://url2.cl/z9BKt>
- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., Sánchez, P., Girón, C., & De Fareas, A. (2010). Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *Revista Científica UDO Agrícola*, 10(1), 76–87.
- Anderson, M. J., & Whitcomb, P. J. (2016). *DOE Simplified: Practical Tools for Effective Experimentation* (P. CRC (ed.); Third edit).
- Andrade-Almeida, J., Rivera-Gracia, J., Chire-Fajardo, G., & Ureña-Peralta, M. (2019). Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú. *Enfoque UTE*, 10(4), 1–12. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v10n4.462>
- Anecacao. (2019). *Sector exportador de cacao*. <https://url2.cl/ZVgcD>
- Calva, A., & Ramírez, P. (2016). Guía técnica para el establecimiento y manejo del cacao Súper Árbol. In *Psikologi Perkembangan* (Issue October 2013). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Caporaso, N., Whitworth, M. B., Fowler, M. S., & Fisk, I. D. (2018). Hyperspectral imaging for

- non-destructive prediction of fermentation index , polyphenol content and antioxidant activity in single cocoa beans. *Food Chemistry*, 258(November 2017), 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.039>
- Castro, M., Hernández, J., Marcilla, S., Córdova, J., Solari, F., & Chire, G. (2016). Efecto del contenido de grasa en la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de *Theobroma cacao* L. “Cacao.” *Ciencia e Investigación*, 19(1), 19–23.
- CFN. (2018). Ficha Sectorial: Cacao y Chocolate. *Reporte de La Corporación Financiera Nacional*, 30. <https://url2.cl/2yeT1>
- Chire, G., Verona, P., & Guzmán, J. (2016). Cambios en el color durante el beneficio del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) peruano procedente de Piura. *Ciencia e Investigación*, 19(1), 29–34. <https://bit.ly/2SZIAFw>
- De la Cruz, J., Vargas, M. A., & Del Angel, O. (2012). *CACAO: Operaciones Poscosecha*. Instituto Tecnológico de Veracruz. <http://www.fao.org/3/a-au995s.pdf>
- De Taeye, C., Bodart, M., Caullet, G., & Collin, S. (2017). Roasting conditions for preserving cocoa flavan-3-ol monomers and oligomers: interesting behaviour of Criollo clones. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 97(12), 4001–4008. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8265>
- Doster, N., Roque, J., Cano, A., La Torre, M., & Weigend, M. (2012). *Hoja botánica: Cacao*. Botconsult GmbH. <https://url2.cl/54WGb>
- Espín, S., & Samaniego, I. (2016). *Manual para el análisis de parámetros químicos, asociados a las calidad del cacao*. Manual Nro 105, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina. Quito. <https://url2.cl/KppVc>
- Espín, S., Samaniego, I., Wakao, H., & Jiménez, J. (2007). Relación teobromina-cafeína con calidad.pdf. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(2), 107–109. <https://url2.cl/Uby4W>
- García, E. (2019). Estudio de la fermentación espontánea de cacao (*Theobroma Cacao* L.) y evaluación de la calidad de los granos en una unidad productiva a pequeña escala Resumen Introducción. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 41–51. <https://url2.cl/1qkjM>
- Giacometti, J., Mazar, S., & Josic, D. (2015). Cocoa Processing and Impact on Composition. *Processing and Impact on Active Components in Food*, 4, 597–603. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00073-1> 605
- Gutiérrez, M. (2012). Efecto de la frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en cajón cuadrado sobre la temperatura y el índice de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4), 914–918. <http://www.bioline.org.br/pdf?cg12104>

- Hansen, C. E., Del Olmo, M., & Burri, C. (1998). Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(2), 273–281. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199806\)77:2<273::AID-JSFA40>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199806)77:2<273::AID-JSFA40>3.0.CO;2-M)
- Hernández-Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, M. P. (2014). *Metodología de la investigación* (5 ta).
- Homem de Abreu Loureiro, G., Reis de Araujo, Q., René Valle, R., Andrade-Sodré, G., & Moreira de Souza, S. M. (2017). Influencia de factores agroambientales sobre la calidad del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) PH-16 en la región cacaotera de Bahia, Brasil. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(12), 579. <https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1274>
- INEC-ESPAC. (2019). *Tabulados ESPAC 2019* (p. 79). <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2>
- Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. A. N., Sahena, F., Jinap, S., Azmir, J., Sharif, K. M., & Mohd Omar, A. K. (2012). Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 467–476. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.09.024>
- Jimenez, J., Amores, F., Nicklin, C., Rodríguez, D., Zambrano, F., Bolaños, M., Reynel, V., Dueñas, A., & Cedeño, P. (2011). *Micro fermentación y análisis sensorial para la selección de árboles superiores de cacao*. <https://url2.cl/7bAMC>
- Protocolo 5 Beneficio post-cosecha, (2016). <https://url2.cl/c83dQ>
- Kresnowati, P., & Febriami, H. (2015). Mapping the Effects of Starter Culture Addition on Cocoa Bean Fermentation. *ASEAN Engineering Journal*, 5(1), 25–37. <http://www.cabdirect.org/abstracts/20123125723.html>
- Lares Amaiz, M., Gutiérrez, R., Pérez, E., & Álvarez, C. (2012). Efecto del tostado sobre las propiedades físicas, fisicoquímicas, composición proximal y perfil de ácidos grasos de la manteca de granos de cacao del estado Miranda, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(2), 439–446.
- Lares, M., Pérez, E., Álvarez, C., Perozo, J., & El Khori, S. (2013). Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao , durante el beneficio. *Agronomía Tropical*, 63(1–2), 37–47.
- Larez, M., Pérez, E., Álvarez, C., Perozo, J., & El Khori, S. (2013). Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio. *Agronomía Tropical*, 63(1–2), 37–47.
- Morales Rodriguez, W., Vallejo Torres, C., Sinche Bósquez, P., Torres Navarrete, Y., Vera

- Chang, J., & Anzules Cedeño, E. (2016). Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 5(2), 169–181. <https://url2.cl/STqt5>
- NTE INEN 176. (2018). *Granos De Cacao. Requisitos*. 8.
- Pallares, A., Estupiñán, M., Perea, J., & López, L. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Rev. Ion*, 29(2), 7–21. <https://doi.org/cocoa, post-harvest process, CCN-51, total polyphenols, antioxidant capacity>
- Pedan, V., Weber, C., Do, T., Fischer, N., Reich, E., & Rohn, S. (2018). HPTLC fingerprint profile analysis of cocoa proanthocyanidins depending on origin and genotype. *Food Chemistry*, 267, 277–287. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.109>
- Perea, J., Ramirez, O., & Villamizar, A. (2011). Caracterización físicoquímica de materiales regionales de cacao Colombiano. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 9(1), 35–42.
- Pineda, R., Chica, M., Echeverri, L., Ortiz, A., Olarte, H., & Riaño, N. (2012). Influencia de la fermentación y el secado al sol sobre las características del grano de cacao TSH 565 E ICS 60. *Vitae*, 19(1), S288–S290.
- Portillo, E., Graziani de Farinas, L., & Betancourt, E. (2007). Análisis Químico del Cacao Criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L .) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 24, 522–546.
- Portillo, E., Graziani de Fariñas, L., & Cros, E. (2006). Efecto de algunos factores post-cosecha sobre la calidad sensorial del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.). *Revista de La Facultad de Agronomía de La Universidad Del Zulia*, 23(1), 49–57. <https://bit.ly/2IyjkV8>
- Portillo, E., Labarca, M., Grazziani, L., Cros, E., Assemat, S., Davrieux, F., Boulanger, R., & Marcano, M. (2009). Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2), 458–468.
- Quevedo Guerrero, J. N., Romero López, J. A., & Tuz Guncay, I. G. (2018). Calidad físico química y sensorial de granos y licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando cinco métodos de fermentación. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 115–127. <https://doi.org/10.16309/j.cnki.issn.1007-1776.2003.03.004>
- Quingaísa, E., & Riveros, H. (2007). Estudio de caso: denominación de origen “cacao arriba.” *Fao-Iica*, 1–70. <https://url2.cl/GAQpc>
- Renaud, B. (2019). La importancia de la fermentación sobre la calidad final del chocolate. *I*

Simposio Internacional Innovaciones Tecnológicas Para Fortalecer La Cadena de Cacao En La Amazonía Ecuatoriana, 1–32. <https://url2.cl/bFvmB>

- Rivera, J. (2018). *Correlación de la porosidad con el grado de fermentación del grano de cacao peruano (Theobroma cacao L.)* [Universidad Agraria La Molina]. <https://bit.ly/3nVSZ3r>
- Rivera, R., Macías, F., Guzmán, Á., Cedeño, G., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, A., & Nivelá, P. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao L.*) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología*, 1(5), 7–12. <https://url2.cl/CfBbn>
- Romero Cárdenas, E., Fernández, M., Macías, J., & Zuñiga, K. (2016). Producción y comercialización del cacao y su incidencia en el desarrollo socioeconómico del cantón Milagro. *Ciencia Unemi*, 9(17), 56. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss17.2016pp56-64p>
- Romero, T., Salgado, M. A., García, P., García-Alvarado, M., Rodríguez, G., Hidalgo, M., & Robles, V. (2013). Relationship between fermentation index and other biochemical changes evaluated during the fermentation of Mexican cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *J Sci Food Agric*, 93, 2596–2604. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6088>
- Ruíz, M., Mera, O., Prado, Á., & Cedeño, W. (2014). Influencia de La época de cosecha en la calidad del licor de cacao tipo Nacional. *Espamciencia*, 5(2), 79–87. http://espaamciencia.espaam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/85/71
- Samaniego, I., Espín, S., Quiroz, J., Ortiz, B., Carrillo, W., García-Viguera, C., & Mena, P. (2020). Effect of the growing area on the methylxanthines and flavan-3-ols content in cocoa beans from Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis*, 88(June 2019), 103448. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103448>
- Sanchez, M., Mestanza, C., Burbano, R., Vargas, Y., Calero, A., & Ramirez, C. (2019). Evaluation of the Cocoa Bean (*Theobroma Cacao L.*), using Two Fermentators, Orellana and Sucumbios Provinces, Ecuador. *International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT)*, 8(07), 278–283.
- Sánchez, V., Zambrano, J., Iglesias, C., Rodríguez, E., Villalobos, V., Díaz, F., Carrillo, N., Gutierrez, A., Camacho, A., & Rodríguez, O. (2019). La cadena de valor del cacao en América Latina y El Caribe. In *La cadena de valor del cacao en América Latina y el Caribe*. <https://url2.cl/XtYKE>
- Schmarr, H.-G., & Engel, K.-H. (2012). Analysis and stereodifferentiation of linalool in *Theobroma cacao* and cocoa products using enantioselective multidimensional gas chromatography. *European Food Research and Technology*, 235(5), 827–834. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1812-x>

- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Steinau, I., González, S., & Castañeda, V. (2016). cacao trinitario en Caluco , Sonsonate , El Salvador. *Agrociencia*, 1, 11–25. <https://bit.ly/31ebWEC>
- Teneda, W. (2016). Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51. *Universidad Internacional de Andalucía*, 140. <https://url2.cl/VB8Tk>
- Vázquez, A., Ovando, I., Adriano, L., Betancur, D., & Salvador, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao , mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 239–254.
- Vera, J., Vallejo, C., Párraga, D., Morales, W., Macías, J., & Ramos, R. (2014). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21–34. <https://url2.cl/KyXaV>
- Wacher, M. del C. (2011). Microorganismos y chocolate. *Revista Digital Universitaria*, 12(4), 1–9.
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423–447. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
- Zambrano, A., Gómez, Á., Ramos, G., Romero, C., Lacruz, C., & Rivas, E. (2010). Caracterización de parámetros físicos de calidad en almendras de cacao criollo, trinitario y forastero durante el proceso de secado. *Agronomía Tropical*, 60(4), 389–396. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2010000400009
- Zapata, S., Tamayo, A., & Rojano, B. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 391–404.

ANEXOS

ANEXO I

Tabla AI. 1. Diseño de experimento factorial (2^2) tipo principales efectos (Design Expert Version 10.0.2)

No. Exp	A	B	Fermentación (%)
1	Nivel 1 de A	Nivel 1 de B	87
2	Nivel 2 de A	Nivel 2 de B	97
3	Nivel 2 de A	Nivel 1 de B	88
4	Nivel 1 de A	Nivel 1 de B	89
5	Nivel 1 de A	Nivel 1 de B	88
6	Nivel 2 de A	Nivel 2 de B	98
7	Nivel 2 de A	Nivel 2 de B	95
8	Nivel 1 de A	Nivel 2 de B	80
9	Nivel 2 de A	Nivel 1 de B	87
10	Nivel 1 de A	Nivel 2 de B	77
11	Nivel 2 de A	Nivel 1 de B	93
12	Nivel 1 de A	Nivel 2 de B	83

TABLAS DE LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS DE CACAO

Tabla AI. 2. Peso de 100 almendras de cacao Nacional y Súper Árbol durante la fermentación

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	149,21 ^a	120,68 ^a
12	144,80 ^a	105,15 ^a
24	137,44 ^a	105,63 ^a
36	131,88 ^a	104,34 ^a
48	129,22 ^a	101,47 ^a
60	127,19 ^a	100,35 ^a
72	127,37 ^a	98,89 ^a
84	129,78 ^a	100,65 ^a
96	127,83 ^a	100,08 ^a
108	125,33 ^a	101,34 ^a
ρ Valor	0,2562	0,4575
EEM	6,91	6,28
CV (%)	9,00	10,47

^a Medias con letras iguales entre columnas son estadísticamente iguales ($p > 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

Tabla AI. 3. Porcentaje de testa de cacao en función del tiempo de fermentación en un sistema semiautomatizado

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	29.13 ^a	28.17 ^a
12	29.13 ^a	16.03 ^b
24	20.33 ^{ab}	12.37 ^b
36	17.57 ^b	13.37 ^b
48	16.70 ^b	11.03 ^b
60	16.37 ^b	9.83 ^b
72	14.73 ^b	11.23 ^b
84	13.90 ^b	13.10 ^b
96	13.30 ^b	11.47 ^b
108	12.27 ^b	12.4 ^b
ρ Valor	<0.0001	<0.0001
EEM	2.03	1.26
CV (%)	19.15	15.65

^{ab} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

Tabla AI. 4. pH de testa de cero a 108 horas en cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un módulo semiautomatizado

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	3.89 ^a	3.88 ^a
12	4.05 ^a	4.87 ^{ab}
24	4.11 ^a	4.94 ^{ab}
36	3.85 ^a	4.93 ^{ab}
48	3.92 ^a	5.32 ^b
60	4.29 ^a	5.46 ^b
72	4.48 ^a	5.41 ^b
84	4.86 ^a	5.46 ^b
96	4.81 ^a	5.65 ^b
108	5.27 ^a	5.92 ^b
ρ Valor	0.1591	<0.0001
EEM	0.37	0.24
CV (%)	14.9	8.01

^{ab} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

Tabla AI. 5. Contenido de polifenoles totales (mg AG/g) durante la fermentación de cacao Nacional y Súper Árbol en un sistema semiautomatizado

Tiempo fermentación	Cacao Nacional	Cacao Súper Árbol
0	104.2 ^{ab}	115.86 ^a
12	91.11 ^{ab}	106.04 ^a
24	99.17 ^{ab}	103.87 ^a
36	94.75 ^{ab}	95.5 ^{ab}
48	104.94 ^a	85.32 ^{ab}
60	92.72 ^{ab}	91.87 ^{ab}
72	102.28 ^{ab}	76.32 ^{abc}
84	74.73 ^{bc}	56.61 ^{bc}
96	55.71 ^c	41.84 ^c
108	50.02 ^c	41.14 ^c
ρ Valor	<0.0001	<0.0001
EEM	5.91	8.29
CV (%)	11.78	17.64

^{ab} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente ($p < 0,05$); EEM: Error estándar de la media; CV (%): Coeficiente de variación.

ANEXO II

FIGURAS DE LOS RESULTADOS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE CACAO DURANTE LA FERMENTACIÓN

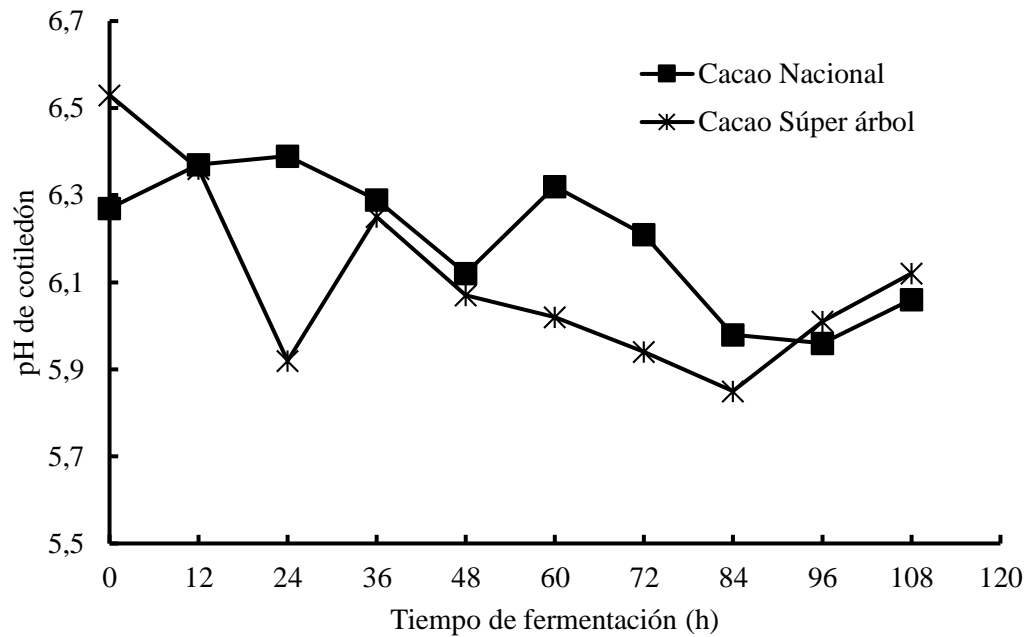


Figura AII.1. pH de cotiledón desde las cero hasta las 108 horas de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un módulo semiautomatizado

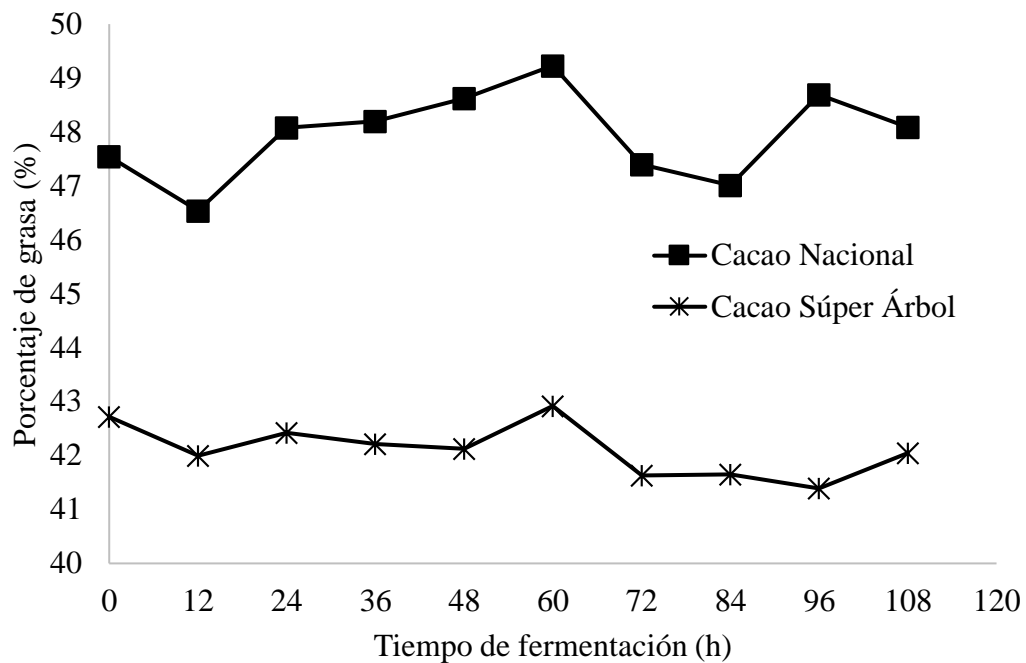


Figura AII.2. Porcentaje de grasa en granos de cacao Nacional y Súper Árbol fermentado en un sistema semiautomatizado entre 0 a 108 horas