



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

OBTENCIÓN DE LICOR DE CACAO CON ADICIÓN DEL
MICROORGANISMO (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) DURANTE LA
FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y ACÉTICA PARA MEJORAR
ATRIBUTOS.

BAUTISTA CALERO DENNYS FRANCISCO
INGENIERO EN ALIMENTOS

OJEDA PIÑA KELVIN FERNANDO
INGENIERO EN ALIMENTOS

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

OBTENCIÓN DE LICOR DE CACAO CON ADICIÓN DEL
MICROORGANISMO (*Saccharomyces cerevisiae*) DURANTE LA
FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y ACÉTICA PARA MEJORAR
ATRIBUTOS.

BAUTISTA CALERO DENNYS FRANCISCO
INGENIERO EN ALIMENTOS

OJEDA PIÑA KELVIN FERNANDO
INGENIERO EN ALIMENTOS

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

OBTENCIÓN DE LICOR DE CACAO CON ADICIÓN DEL MICROORGANISMO
(*Saccharomyces cerevisiae*) DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y
ACÉTICA PARA MEJORAR ATRIBUTOS.

BAUTISTA CALERO DENNYS FRANCISCO
INGENIERO EN ALIMENTOS

OJEDA PIÑA KELVIN FERNANDO
INGENIERO EN ALIMENTOS

AYALA ARMIJOS JOSE HUMBERTO

MACHALA, 31 DE AGOSTO DE 2022

MACHALA
2022

OBTENCIÓN DE LICOR DE CACAO CON ADICIÓN DEL MICROORGANISMO (*Saccharomyces cerevisiae*) DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y ACÉTICA PARA MEJORAR ATRIBUTOS.

INFORME DE ORIGINALIDAD

3%

INDICE DE SIMILITUD

3%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
2	www.icco.org Fuente de Internet	<1%
3	pdfs.semanticscholar.org Fuente de Internet	<1%
4	roderic.uv.es Fuente de Internet	<1%
5	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%
6	www.uteq.edu.ec Fuente de Internet	<1%
7	idus.us.es Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.espam.edu.ec Fuente de Internet	<1%

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, BAUTISTA CALERO DENNYS FRANCISCO y OJEDA PIÑA KELVIN FERNANDO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado OBTENCION DE LICOR DE CACAO CON ADICION DE MICROORGANISMOS (Saccharomyces cerevisiae) DURANTE LA FERMENTACION ALCOHOLICA Y ACETICA PARA MEJORAR ATRIBUTOS., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

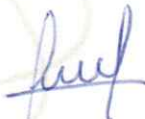
Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 31 de agosto de 2022



BAUTISTA CALERO DENNYS FRANCISCO
0704462555



OJEDA PIÑA KELVIN FERNANDO
0706749702

DEDICATORIA

En primer lugar agradecemos a Dios quien con su fortaleza nos ha ayudado a llegar a este momento tan anhelado para ambos, también va dedicado para nuestras familias las cuales han sido un ancla de apoyo incondicional para cada momento de nuestras vidas, amigos y docentes universitarios quienes con su conocimiento nos dieron todas las herramientas necesarias para desarrollar este trabajo final; el cual significa el fin y a la vez el inicio de una nueva etapa para ambos en nuestra vida profesional.

Dennys Francisco Bautista Calero

Kelvin Fernando Ojeda Piña

AGRADECIMIENTO

Siempre agradecidos con Dios en primer lugar por toda la fortaleza que nos ha dado durante toda nuestra carrera universitaria además de nuestros padres y hermanos los cuales estuvieron ahí con nosotros en cada paso y victoria que logramos dentro de la universidad; muchas de las veces ese apoyo o palabras de ánimo era lo que más necesitábamos para seguir luchando por este sueño que ahora ya es una realidad.

Un agradecimiento especial a nuestro tutor el Ingeniero Ayala Armijos José Humberto por todo su tiempo y compromiso que tuvo para lograr desarrollar con éxito este trabajo juntos como un solo equipo de profesionales con un mismo objetivo demostrar que con sacrificio y valentía todo es posible.

Dennys Francisco Bautista Calero

Kelvin Fernando Ojeda Piña

RESUMEN

La finalidad del presente trabajo investigativo fue lograr modificar el perfil sensorial del cacao arriba esta especie de cacao el cual posee una fruta en forma de baya denominada mazorca, llamada antiguamente por diversas culturas aborígenes “alimento de los dioses”. En el interior del fruto se puede observar alrededor de 20 – 22 semillas de color violeta con subtonos blancos; todo el proceso se realizó durante la fermentación alcohólica con el fin de minimizar las cualidades negativas de esta variedad como lo son astringencia, amargor y acidez presente en el mismo; mediante la adición de un sustrato (*melaza*); denominada así a una sustancia líquida de tono oscuro que muchos investigadores del área alimentaria suelen definirla como el residuo generado a través de la cristalización del azúcar perteneciente a la caña de azúcar; lo que se busca lograr conseguir con este sustrato es el mejoramiento en la calidad tanto sensorial como fisicoquímica del cacao arriba.

Esto debido a que la melaza es un sustrato rico en azúcares fermentables al igual que mucílago de cacao, permitiendo el desarrollo del microorganismo (*Saccharomyces cerevisiae*), dando como resultado la transformación de azúcares reductos a etanol e inhibiendo el desarrollo de otro tipo de microorganismos, y a su vez que no exista ningún otro tipo crecimiento de ácido orgánico presenta en el proceso fermentativo ayudando así a una mejor concentración de compuestos polifenoles los cuales ayudan al perfil sensorial (aroma y sabor).

La fermentación tuvo un tiempo aproximado de 6 días en biorreactores a temperatura ambiente la cual fue ideal para este tipo de fermentación modifica ya que mediante este método logramos ir controlando a través de análisis fisicoquímicos cada día el comportamiento de la fermentación alcohólica; seguidamente se realizó la fermentación acética durante 3 días a una temperatura de 25°C con condiciones anaeróbicas y con sus respectivos análisis fisicoquímicos, dando como resultado la transformación del etanol producido en la fermentación alcohólica en ácido acético, luego de este proceso se procedió a realizar un secado y tostado del grano de cacao a 100 °C por 48 horas en la mufla con el fin de tener una interacción apropiada durante esta etapa ya que es importante para obtener aromas característicos del chocolate, que incluyen las mezclas primarias precursoras de sabor y fragancias normales para el cacao; típicamente un grano de cacao que no ha sido tostado será astringente y amargo además el proceso de tueste tiene como objetivo reducir

el porcentaje de humedad menor al 7%, una vez secadas las almendras de cacao se procedió a realizar el descascarillado.

Por último, se realizó el proceso de molienda y extrusión de las almendras de cacao para la obtención del licor de cacao. Posteriormente a esta etapa se preparó una bebida de cacao con una disolución de 200 ml de agua potable y 8% de licor de cacao de cada tipo de tratamiento, una vez preparadas las muestras de licor de cacao se procedió a realizar el análisis sensorial con una escala de Likert de 5 niveles, obteniendo como resultado la inclinación de preferencia de los panelistas entrenados por la muestra con adición del sustrato melaza, la cual obtuvo una mayor preferencia por parte del panel en los perfiles de sabor, amargor y aroma, logrando así el objetivo principal del tema de investigación.

Palabras clave: Fermentación, Melaza, Licor de cacao, Perfil sensorial, Evaluación sensorial

ABSTRACT

The purpose of this research work was to modify the sensory profile of cocoa above this species of cocoa, which has a berry-shaped fruit called a cob, formerly called "food of the gods" by various aboriginal cultures. Inside the fruit you can see around 20 – 22 violet seeds with white undertones; The entire process was carried out during the alcoholic fermentation in order to minimize the negative qualities of this variety such as astringency, bitterness and acidity present in it; by adding a substrate (molasses); Named like this to a dark colored liquid substance that many researchers in the food area usually define as the residue generated through the crystallization of sugar belonging to sugar cane; What is sought to achieve with this substrate is the improvement in both sensory and physicochemical quality of the cocoa above.

This is because molasses is a substrate rich in fermentable sugars as well as cocoa mucilage, allowing the development of the microorganism (*Saccharomyces cerevisiae*), resulting in the transformation of reduced sugars to ethanol and inhibiting the development of other types of microorganisms. and in turn that there is no other type of growth of organic acid present in the fermentation process, thus helping a better concentration of polyphenol compounds which help the sensory profile (aroma and flavor).

Fermentation lasted approximately 6 days in bioreactors at room temperature, which was ideal for this type of modified fermentation, since by means of this method we managed to control the behavior of alcoholic fermentation every day through physicochemical analysis; then the acetic fermentation was carried out for 3 days at a temperature of 25 ° C with anaerobic conditions and with their respective physicochemical analyses, resulting in the transformation of the ethanol produced in the alcoholic fermentation into acetic acid, after this process we proceeded to carry out a drying and roasting of the cocoa bean at 100 °C for 48 hours in the muffle in order to have an appropriate interaction during this stage since it is important to obtain characteristic aromas of chocolate, which include the primary precursor mixtures of flavor and normal fragrances for cocoa; Typically, a cocoa bean that has not been roasted will be astringent and bitter. In addition, the roasting process aims to reduce the percentage of moisture to less than 7%. Once the cocoa beans are dried, they are husked.

Finally, the grinding and extrusion process of the cocoa beans was carried out to obtain the cocoa liquor. After this stage, a cocoa drink was prepared with a solution of 200 ml of drinking water and 8% of cocoa liquor of each type of treatment, once the cocoa liquor samples were prepared, the sensory analysis was carried out with a Likert scale of 5 levels, obtaining as a result the inclination of preference of the panelists trained by the sample with the addition of the molasses substrate, which obtained a greater preference by the panel in the flavor, bitterness and aroma profiles, thus achieving the main objective of the research topic.

Keywords: Fermentation, Molasses, Cocoa liquor, Sensory profile, Sensory evaluation

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	3
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
JUSTIFICACIÓN	13
OBJETIVOS	14
OBJETIVO GENERAL	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	14
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	15
1.1. Materia prima (<i>Theobroma cacao</i> L.)	15
1.2. Cacao arriba (<i>cacao fino de aroma</i>)	15
1.3. Beneficios del consumo de cacao <i>arriba</i> .	16
1.3.1. Reduce la congestión estomacal	16
1.3.2. Disminuye de enfermedades cardiovasculares	16
1.3.3. Reduce el riesgo de diabetes	17
1.4. Composición química del cacao arriba	17
1.5.2. Extracción y desvenado de las semillas de cacao	18
1.6. Proceso de fermentación alcohólica-acética	19
1.6.1. Etapa 1	20
1.6.2. Etapa 2	20
1.6.3. Temperatura.	20
1.7. Secado del cacao	21
1.8. Tostado del cacao	21
1.9. Mejoramiento de las características organolépticas durante la fermentación	21
1.10. Melaza	22
1.10.1. Composición química de la melaza	22
1.10.2. Proceso de obtención de la melaza	22
2 MATERIALES Y MÉTODOS	24
2.1. Ubicación de la investigación	24
2.2. Obtención de la materia prima	24

2.3.	Recolección y preparación de la muestra	24
2.5.	Determinación de pH	25
2.6.	Determinación de Sólidos Solubles (°Brix)	25
2.7.	Determinación de azúcares reductores	25
2.8.	Determinación de acidez titulable	26
	Fórmula de porcentaje de acidez	26
2.9.	Investigación Experimental	26
2.9.1.	Diseño Experimental	27
2.9.1.2.	Variables dependientes:	27
2.11.	Materiales de laboratorio	28
2.12.	Reactivos	28
2.13.	Equipos	28
2.14.	Protección personal	28
2.15.	Diagrama de flujo de cada proceso.	29
2.15.1.	Descripción del proceso	30
2.16.	Evaluación Sensorial.	32
3.	RESULTADOS	33
3.1.	Caracterización físico-química de la materia prima (<i>cacao arriba</i>)	33
3.2.	Cambios físico-químicos durante el proceso de fermentación con la adición de microorganismos (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) en el cacao arriba.	33
3.2.1.	Cinética del consumo de azúcares fermentables del mucílago de cacao	33
3.2.2.	Cinética de la conversión de azúcares a etanol	34
3.2.3.	Comportamiento del pH durante la fermentación alcohólica del mucílago de cacao	35
3.2.4.	Fermentación acética-acidez	37
3.2.5.	Gráfica de pH y acidez del licor de cacao	38
3.3.	Análisis sensorial del licor del cacao	38
3.3.1.	Perfil de sabor	38
3.3.2.	Perfil sensorial – Amargor	39
3.3.3.	Perfil sensorial – Aroma	40
3.3.4.	Perfil sensorial – Acidez	41
4.	CONCLUSIONES	43
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
5.	ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición bioquímica de las semillas de cacao arriba	17
Tabla 2 Composición de la melaza	22
Tabla 3 Escala de aceptabilidad	32
Tabla 4 Composición elemental de mucílago	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Planta de cacao arriba (cacao fino de aroma)	15
Figura 2 Cacao arriba (cacao fino de aroma)	16
Figura 3 Mazorca debidamente quebrada con granos limpios.....	19
Figura 4 Obtención de la melaza	23
Figura 5 Cinética del consumo de azúcares fermentables del mucílago de cacao	34
Figura 6 Cinética de la conversión de azúcares a etanol.....	35
Figura 7 Comportamiento del pH durante la fermentación alcohólica del mucílago de cacao	36
Figura 8 Fermentación acética-acidez.....	37
Figura 9 Gráfica de pH y acidez del licor de cacao	38
Figura 10 Análisis sensorial: Perfil de Sabor.....	39
Figura 11 Perfil sensorial: Amargor del licor de cacao	40
Figura 12 Análisis Sensorial de aroma	41
Figura 13 Análisis sensorial: Acidez	42

INDICE DE ANEXOS

Anexo 2 Análisis físico-químico a la materia prima	50
Anexo 3 Análisis físico-químico de cada muestra	50
Anexo 4 Medición de pH y acidez de cada muestra	50
Anexo 5 Análisis sensorial del licor de cacao	50

INTRODUCCIÓN

Ecuador está ubicado en el cuarto puesto de exportación de cacao en grano a nivel mundial, e incluso se sitúa en los principales lugares en la creación y producción de nuevos productos a base de cacao, logrando el 63% de rendimiento en comparación con otros países productores de esta materia prima. Entre los principales países productores se encuentran Norteamérica y Europa. (Sosa Vera, 2019).

Cada año el Ecuador logra satisfacer este porcentaje de rendimiento gracias al cacao arriba (*cacao fino de aroma*); es una variedad que fue reconocida el 13 de febrero del 2009 como denominación de origen (DO) del país; esto debido a sus notas dulces y ácidas, aroma frutal, sabores tostados y notas florales desarrollando perfiles sensoriales únicos en su tipo, una de sus principales diferencias con otras variedades es su coloración amarilla característica de su especie durante su etapa de crecimiento y maduración (Culinario, 2019).

Según las mediciones del MAGAP, en 2011 la región sembrada en su totalidad fue de 521.091 hectáreas, con un valor esperado de recolección de 225.123 TM, con rendimiento de 0.59 TM/ha. En comparación con los espacios plantados, el 60% pertenece a la variedad de cacao arriba; por motivo a su aceptación en el mercado internacional y nacional por sus perfiles sensoriales únicos y diferentes a otras variedades de cacao del país (CEPAL, 2018)

El cacao arriba tiene un mejor rendimiento y comercialización frente a otras variedades de cacao del país esto gracias a su denominación de origen (DO); aunque esta variedad de cacao sea única en su tipo para poder desarrollar todos estos atributos sensoriales debe existir un correcto proceso fermentativo, para desarrollar los principales compuestos del sabor, que generalmente reaccionan durante el proceso de tueste de la almendra de cacao, además de otros tipos de compuestos como alcaloides, polifenoles y acidez volátil (ácido acético) (López Medina, 2017).

Una vez conocido los procesos bioquímicos en la materia prima se han propuesto en la presente investigación la modificación de estas reacciones mediante la adición de microorganismos que modifiquen este proceso y permitan a su vez obtener mejores resultados en el grano de cacao una vez finalizado el proceso de fermentación y tueste (Barrezueta Unda, 2019).

La presente investigación, plantea la mejora de las semillas de cacao arriba, utilizando microorganismos como la *Saccharomyces cerevisiae*; las cuales van a actuar sobre las propiedades organolépticas de la semilla obteniendo así mejores perfiles organolépticos al momento de realizar nuestro producto final (licor de cacao) (Zambrano Alexis, 2017).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cacao arriba siempre se ha caracterizado por perfiles frutales y florales, aroma y sabor característico del mismo siendo esta una de sus ventajas frente a otras variedades de cacao de la zona ayudando así a la creación de nuevos productos a base de esta materia prima; el principal objetivo de la investigación es generar nuevos perfiles aromáticos en esta variedad de cacao todo esto durante el proceso de fermentación con la adición de microorganismos como la *Saccharomyces cerevisiae*; obteniendo así almendras de cacao con características sensoriales superiores a otras especies de cacao como el cacao forastero y trinitario; siendo estas útiles para la obtención de licor de cacao de superior calidad y con mejores perfiles organolépticos (Pérez & Freile, 2017).

Varias investigaciones han revelado que es posible realizar esta modificación en los granos de cacao arriba y que a su vez va a beneficiar a los principales agricultores y productores de zona ecuatoriana; entre ellas El Oro la cual cuenta con 9.404 hectáreas totales de cultivos de cacao según los datos del (MAGAP) denominado así al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca de las cuales un porcentaje del 62% representa la superficie está sembrada por esta variedad de cacao aumentando así las divisas del país y mejorando la vida de muchas personas de la zona donde se cultivan esta variedad de cacao. (Rojas et al., 2021).

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo está centrado en la mejora del grano de cacao arriba durante el ciclo fermentativo; con el fin de encontrar una metodología apta y que a su vez ayude a mejorar de forma significativa esta variedad de cacao solo utilizando microorganismos como la *Saccharomyces cerevisiae*; vamos a obtener grandes beneficios no solo a nivel económico sino además a niveles agrícolas ya que es mucho más factible cultivar cacao arriba que otro tipo de variedades de cacao ecuatoriano. (Herrera Pintado, 2020).

Una vez se analice la mejor metodología aplicable a este proceso vamos a observar de forma inmediata el efecto bioquímico que ocurre en la etapa de fermentación gracias a este microorganismo, obteniendo como resultado almendras de cacao con mejores características sensoriales para ser procesadas en la obtención de licor.

Como sabemos, más de un productor y agricultor de cacao arriba se va a ver beneficiado, ya que al reducir ciertas cualidades que contienen esta variedad de cacao; la comercialización del mismo va a ser mucho más rápida y con menos fluctuaciones durante el proceso de comercio tanto dentro como fuera del país; todo esto gracias a la modificación del ciclo fermentativo con m.o. y sustrato como la (*melaza*).

Además, se resolverán problemas comerciales como el precio del cacao arriba logrando llegar a costar hasta un 30% más que su valor inicial, lo cual es muy beneficioso para los agricultores y productores que cultivan este tipo de variedad de cacao en Ecuador (Andrade et al., 2019).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener licor de cacao arriba con adición de microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*) durante la fermentación alcohólica para mejorar sus atributos sensoriales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar físico-químicamente la materia prima (*cacao arriba*).
- Analizar los cambios físico-químicos (Azúcares Reductores, pH, Sólidos Solubles y Acidez Titulable) durante el proceso de fermentativo con la adición de microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*) en el cacao arriba.
- Determinar la aceptación del licor de cacao a través de un análisis sensorial con catadores entrenados.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Materia prima (*Theobroma cacao* L.)

En términos biológicos, el grano de cacao perteneciente al género *Theobroma cacao* L. proveniente de los bosques tropicales de Sudamérica, la convierte en una planta solo de climas calientes y húmedos. Esto quiere decir que requiere una temperatura constante de alrededor de 24-26°C, además de un suelo con una gran cantidad de nutrientes.

Por lo general este género de planta tiene un crecimiento entre cinco y siete metros de altura con unas hojas lanceoladas y flores cuya característica predominante es su tamaño y ubicación en el tejido maduro de ramas y tronco (Suárez, 2018).

La fruta de esta especie es una baya denominada mazorca, llamada antiguamente por diversas culturas aborígenes “alimento de los dioses”. En el interior del fruto se puede observar alrededor de 20 – 22 semillas de color violeta con subtonos blancos (Afoakwa et al., 2017).



Figura 1 Planta de cacao arriba (*cacao fino de aroma*)

1.2. Cacao arriba (*cacao fino de aroma*)

El cacao arriba es una especie de cacao con denominación de origen (DO) ecuatoriana declarado así en febrero del 2009, por un acuerdo ministerial en el cual explicaba que es una variedad de cacao de una alta productividad para muchos agricultores de la zona. Gracias a esta declaración por el Ministerio de Agricultura del Ecuador se han obtenido resultados muy aceptables en su comercialización y exportación. Esta variedad de cacao en específica desde su crecimiento

presenta una coloración verde, de aspecto rugoso muy características de la planta y cuando alcanza su etapa de maduración su color es amarillo intenso (Chávez et al., 2019).



Figura 2 Cacao arriba (cacao fino de aroma)

1.3. Beneficios del consumo de cacao arriba.

El cacao es uno de los alimentos los cuales concentran una gran cantidad de antioxidantes mucho más superior que la de un vino; lo cual es muy conveniente en una dieta diaria recomendada de hierro; además el cacao presenta en su composición minerales básicos como el fósforo, potasio, calcio y zinc (Cheng et al., 2017).

Entre sus principales beneficios encontramos los siguientes:

1.3.1. Reduce la congestión estomacal

El *Theobroma cacao L.* es uno de los mejores anticongestionantes naturales en el mundo; esto gracias a los flavonoides provenientes del cacao, estos fitonutrientes son compuestos de origen vegetal que benefician a la disminución de la congestión en todo el cuerpo, ayudando así a evitar problemas en la salud de las personas que consumen cacao.

1.3.2. Disminuye de enfermedades cardiovasculares

Por lo general el consumo de cacao según varios estudios ha ayudado a mantener un corazón sano evitando así problemas cardiovasculares esto debido a los flavonoides presentes en el mismo los cuales no solo buscan reducir de forma natural la inflamación del cuerpo sino además a la disminución de muchas enfermedades cardiovasculares (Aguilar et al., 2017).

1.3.3. Reduce el riesgo de diabetes

En diversos países latinoamericanos el cacao lo asocian directamente al término chocolate y lo que provoca este en las personas ya que como todos sabemos el consumo excesivo de chocolate provoca distintas afecciones en el cuerpo humano; pero lo que omiten es que el cacao 100% puro ayuda a regular los niveles de azúcar debido a los flavonoides presentes en el fruto (Payne et al., 2018)

1.4. Composición química del cacao arriba

Los principales componentes químicos del cacao son: grasa, agua, nitrógeno (proteína y purina), compuestos fenólicos, otros carbohidratos y almidón.

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

Tabla 1 Composición bioquímica de las semillas de cacao arriba

La eliminación de la cantidad de humedad sobrante en el cacao al terminar el ciclo de fermentación es fundamental porque podemos prevenir el crecimiento y desarrollo de mohos los cuales producen el deterioro del cacao arriba; no obstante, la disminución de la humedad debe estar entre los valores menores al 7%, o hasta el 8%, pero en caso de disminución el grano se vuelve bastante quebradizo (Barrezueta & Carrillo, 2017).

1.5. Etapas de cosecha del cacao

1.5.1. Recolección de mazorcas

La cosecha cacao la cual se realiza en un lapso de 15 días planificado de forma ordenada por cada uno de los lotes, obteniendo así mazorcas maduras, este proceso se lo realiza con el fin de que el mucílago o también llamado piel del cacao se encuentre en óptimas condiciones, para el desarrollo de diferentes procesos que se realizan durante la fermentación.

La etapa de recolección de las mazorcas consiste en abrir cada mazorca madura, extraer las almendras de su interior y colocarlas a fermentar en equipos especiales para su debida fermentación.

Por lo general las épocas de mayor producción suelen ser en (junio – diciembre). La madurez de la mazorca en el cacao arriba se aprecia por el cambio de color en tonos amarillos cuando se encuentra maduro.

Algo importante a destacar en el proceso de recolección es la cosecha misma que se debe realizar con el uso de herramientas como hachas, cuchillos además de la herramienta conocida por el nombre de “desjarretadera” para evitar usar las manos y dañar el cojín floral (Bravo & Vélez, 2019).

1.5.2. Extracción y desvenado de las semillas de cacao

Para esta fase del proceso se recomienda dividir las mazorcas que estén en buen estado de las que no lo están, igualmente las grandes de las pequeñas y por último las mazorcas que estén de tonos verdes de las maduras, para que de esta forma se evita extraer las semillas del cacao en mal estado.

Una de recomendaciones a considerar son las siguientes:

- El proceso da inicio en primer lugar separando las mazorcas de cacao conforme el nivel de madurez, la magnitud de la mazorca y los perjuicios físicos de los animales.
- Se debe proteger las extremidades superiores del personal operativo con protecciones con

guantes de plástico, los cuales no impidan realizar la labor.

- Eliminar la placenta o parte de la cuerda (cuerda blanca que une las piezas a la mazorca).
- Las almendras con tamaños poco uniformes, planas, cortadas o pegadas, se deben procesar de forma individual para evitar que la materia prima adquiera un mal aspecto que deteriore la calidad del producto final.



Figura 3 Mazorca debidamente quebrada con granos limpios

1.6. Proceso de fermentación alcohólica-acética

Durante el proceso de fermentación, ocurren importantes procesos microbianos y bioquímicos la degradación o también conocida como fermentación se divide en tres etapas: durante la etapa principal, las levaduras son dinámicas, durante la segunda etapa se crean microorganismos corrosivos lácticos y durante la tercera etapa se crean microbios corrosivos ácidos.

En el momento en que se extraen las almendras de cacao arriba, estas son estériles, pero a su vez se encuentran con la presencia de varios tipos de microorganismos extrínsecos e intrínsecos, las extremidades superiores de los supervisores, bins utilizados para el transporte, insectos o roedores, etc. (Bustamante et al., 2017).

1.6.1. Etapa 1

Los principales m.o. que se originan son las levaduras, debido a las condiciones en el macerado de granos de cacao, por ejemplo, el clima anaeróbico y el bajo nivel de pH.

La etapa comprende un estado realizado por levaduras que tienen cabida en los géneros *Candida.*, *Saccharomyces spp*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* y *Hansenulaa*. (Machuca-Guevara et al., 2019).

Las especies más observadas son *Kloeckera apiculata*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Hansenula anomala*, *Pichia fermentans*, *Candida krusei*, y *S. cerevisiae*

1.6.2. Etapa 2

A partir de los 49°C las levaduras abandonan su etapa de desarrollarse y estas son suplantadas por organismos microscópicos ácidos del género *Gluconobacter* y *Acetobacter*, las cuales aprovechan el etanol y la circulación del aire para crear corrosión ácida.

Todo este proceso es el punto principal, ya que el corrosivo ácido ayuda a la disminución del pH, y este a su vez con el calor del proceso de fermentación, provoca la muerte de los brotes dentro de los granos de cacao arriba, pero no inactiva a los que se han creado durante el desarrollo de los brotes.

Además, los m.o. que se encuentran en el sistema de fermentación producen ésteres derivados del ácido acético lo cual provoca el perfil aromático del cacao arriba.

1.6.3. Temperatura.

La degradación o también conocida como fermentación alcohólica debe llevarse a cabo en una zona cálida que favorecerá al aumento de temperatura, en condiciones anaeróbicas para evitar que una contaminación en ciclo fermentativo, garantizando así un ciclo fermentativo homogéneo en todo el bio-reactor.

Para ello, se debe fabricar una estructura que proteja el bio-reactor de factores externos como el sol, para evitar que la entrada de luz ultravioleta afecte a los microorganismos. Una de las cosas a considerar es evitar el contacto de los contenedores con el agua, ya que daría como resultado la

disminución de la temperatura, eliminando a los m.o. encargados del ciclo fermentativo, y además aporta humedad poco necesaria para el proceso que se realiza (Pérez et al., 2016).

1.7. Secado del cacao

Una vez completada la fase de fermentación, los granos se llevan a una cubierta para comenzar el proceso de secado.

El secado busca reducir la humedad del 6% al 7% para permitir su producción o transformación en productos. Este proceso debe realizarse lentamente para que no afectes a las reacciones químicas que comenzaron durante la fermentación.

De esta forma, se pueden evitar los olores no deseados, un sabor agrio y amargo. Sin embargo, es muy probable que se produzca un secado uniforme en todos los granos de cacao para evitar olores extraños luego de esta etapa, además algo importante a mencionar es la temperatura la cual es muy importante que no supere los 65°C (Pallares, 2017).

1.8. Tostado del cacao

La forma más común de tostar es a fuego lento ya que es un ciclo básico en la creación de los fabricantes de cacao y chocolate, esta interacción es importante para obtener aromas característicos del chocolate, que incluyen las mezclas primarias precursoras de sabor y fragancias normales para el cacao; típicamente un grano de cacao que no ha sido tostado será astringente y amargo.

Como se ha mencionado hasta ahora, esta actividad fomenta las partes fragantes del cacao, pero además ayuda a inactivar algunos microorganismos, incluyendo la Salmonella.

1.9. Mejoramiento de las características organolépticas durante la fermentación

El estado de fermentación comprende una progresión de cambios físico-compuestos que crean el avance del carácter y la fragancia del chocolate a partir del cacao arriba, con:

- Sustitución de color en el interior del grano de cacao arriba a un color café claro.
- Variación en la astringencia de los cotiledones de cacao.
- Cambio de los azúcares dentro del grano de cacao arriba en alcoholes esto debido a las levaduras, que así se transforman en corrosivos ácidos por parte de los microbios corrosivos ácidos.

Durante este ciclo, hay una conexión metódica entre los m.o. y los cambios fluctuantes de temperatura, humedad y pH con el desarrollo de alcoholes, compuestos poli-fenólicos y ácidos que ayudan al deceso de organismo no desarrollados, aportando así a la disminución del amargor y el sabor producen las respuestas bioquímicas que estructuran las propiedades características del cacao (Bustamante et al., 2017).

1.10. Melaza

La melaza o también denominada como miel, es una sustancia líquida de un tono oscuro, muchos investigadores del área suelen definirla como el residuo generado a través de la cristalización del azúcar perteneciente a la caña de azúcar, por lo general sus entre sus funcionalidades destacan el uso como alimento concentrado para animales y adicionalmente como suplemento alimenticio para las personas (Martín, 2018).

1.10.1. Composición química de la melaza

Tabla 2 Composición de la melaza

Componente	Constituyentes	Contenido
Componentes mayoritarios	Materia seca	78%
	Proteínas	3%
	Sacarosa	60-64% p/p
	Azúcares reductores	4-8% p/p
	Agua	16%
	Grasa	0.40%
	Cenizas	9%

1.10.2. Proceso de obtención de la melaza

La melaza se define como el subproducto final obtenido a partir de la azúcar proveniente de la caña de azúcar después de ser sometida a un proceso de transformación en plantas azucareras.

Esta resultada se obtiene durante el ciclo de cocción del jugo de caña hasta llegar al punto de evaporación parcial del agua que esta contiene, dando como resultado un producto meloso semi-cristalizado.

Para una mejor explicación del proceso de obtención de melaza se realizó el siguiente diagrama.

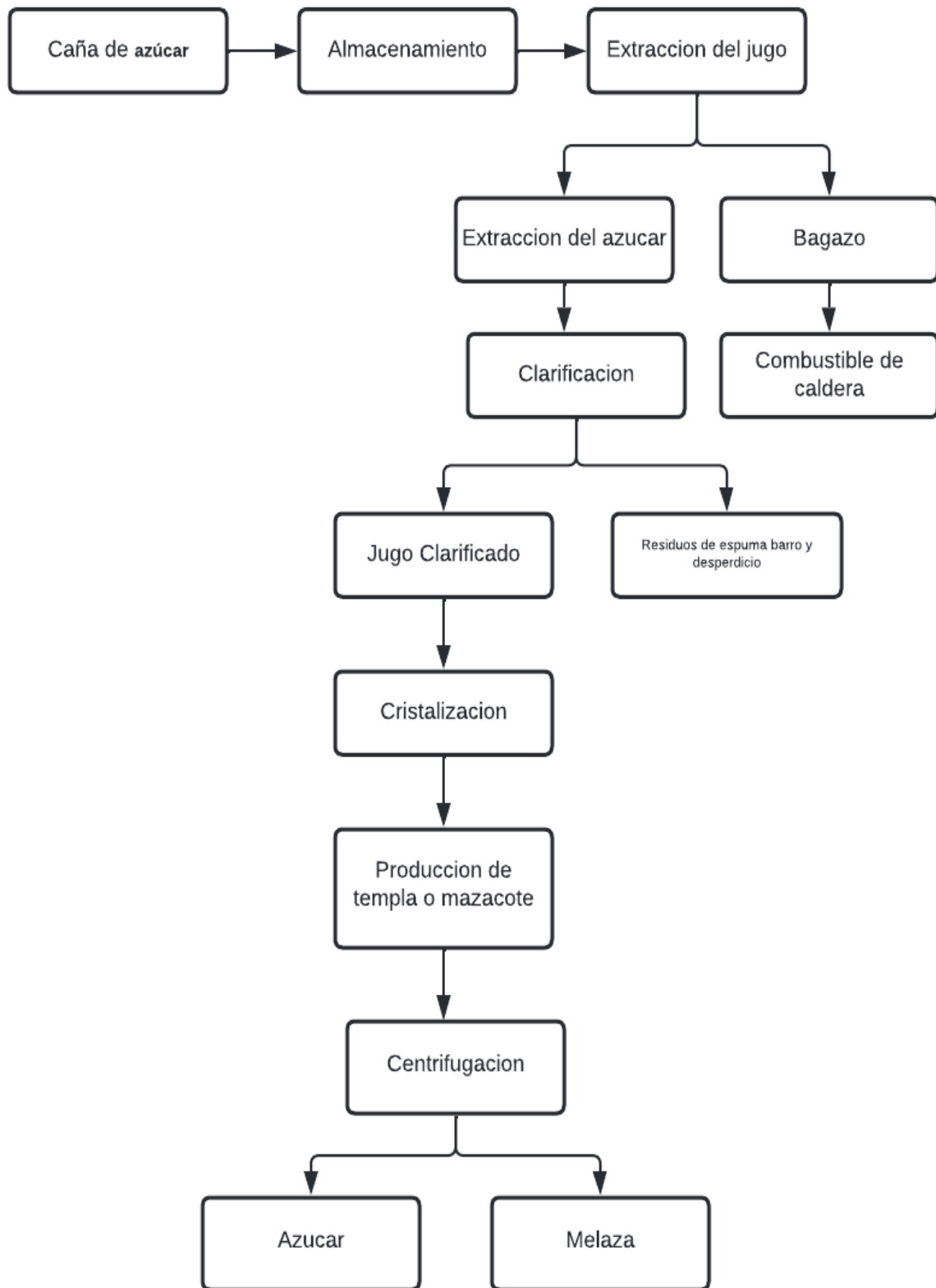


Figura 4 Obtención de la melaza

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación de la investigación

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Bioconversión de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud de la carrera de Ingeniería en Alimentos perteneciente a la UTMACH (Universidad Técnica de Machala) localizada en el Km.5 1/2 vía Machala Pasaje, desde mayo a agosto del 2022.

2.2. Obtención de la materia prima

La recolección de las muestras del cacao arriba se realizó en el cantón Machala-sitio Corralitos, se recolectaron muestras en óptimo estado de madurez de la variedad Arriba, las almendras fueron sacadas de la mazorca y almacenadas en fundas ziploc estériles para su traslado al laboratorio, y refrigeradas hasta el momento de procesarlas.

2.3. Recolección y preparación de la muestra

Los granos de cacao arriba se recogieron cuando llegaron al desarrollo fisiológico, entonces, en ese momento, se procedió a quitar su corteza y colocar los granos de cacao con el mucílago en los contenedores correspondientes para cada uno según el tipo de tratamiento correspondiente retratado más adelante en el diseño experimental (William Fabián Teneda Llerena, 2017). La preparación de la muestra comenzó con la forma más común de recoger y colocar los granos de cacao en bio-reactores experimentales que no desprenden sustancias desconocidas, como taninos que influyen directamente en la calidad del cacao. (Pallares et al., 2017).

El periodo de fermentación alcohólica y acética se estableció acorde a los tiempos establecidos en el diseño experimental, en cualquier caso, éstas superaron las 48 horas, siendo el tiempo imprescindible para que la muerte del embrión se complete de forma efectiva.

El secado se realizó de forma normal, sometiendo los granos al secado en mufla, y posteriormente se almacenaron los granos teniendo en cuenta que al final del almacenamiento estos deben tener un 7% de humedad (Rodríguez et al., 2018).

2.4. Caracterización físico-química al cacao arriba

La caracterización que se le realizó a la materia prima se realizó en el laboratorio de Investigación y Bioconversión de la carrera de Ingeniería en Alimentos perteneciente a la Universidad Técnica de Machala. Los análisis que se le realizaron al mucílago de cacao arriba (cacao fino de aroma) son los siguientes:

- pH
- Sólidos Solubles
- Acidez Titulable
- Azúcares Reductores

2.5. Determinación de pH

Para determinar el pH en las muestras se utilizó el método denominado potenciométrico, el mismo que consiste en colocar 20 ml de la muestra (líquido de la almendra de cacao con el mucílago) producido por el en proceso de fermentación del mismo en un vaso de precipitación de 150 ml, colocando el electrodo del pH-metro digital para luego proceder a tomar la lectura (Zambrano, 2017).

2.6. Determinación de Sólidos Solubles (°Brix)

Los grados °Brix permiten determinar el número de sólidos solubles presentes en líquidos como jugos o extractos de pulpa utilizando el método de reflectometría, expresados en porcentaje de sacarosa. Este tipo de análisis se realizó por medio de un refractómetro digital; colocando una gota de la muestra en el prisma principal para luego proceder con la respectiva lectura obtenida (Negrulescu et al., 2017).

2.7. Determinación de azúcares reductores

Para la determinar los azúcares reductores se utiliza el ácido 3,5-dinitrosalicílico, cuyo compuesto permite la reacción de los azúcares reductores presentes en la muestra en cada una de las muestras a analizar utilizando el calor y disminuyendo así el ácido a 3-amino-5 nitrosalicílico, y modificante el color de la muestra por la oxidación en apariencia amarilla-café. El valor de los azúcares reductores en cada muestra se puede determinar aplicando la ley de Beer Lambert la cual se describe a continuación:

$$A = -\log_{10} \frac{P}{P_0} = abc$$

Donde:

A: Absorbancia.

P: La intensidad o coeficiente de extensión.

b: Longitud en el medio absorbente

c: Concentración de la especie absorbente.

2.8. Determinación de acidez titulable

El método a usarse es el volumétrico, tomando como referencia el ácido predominante durante la fermentación el cual es el ácido cítrico (0.064 Meq.). Para realizar esta medición vamos a necesitar en un Erlenmeyer de 250 ml, se tomó 3 a 5 ml de muestra y se añade 3 gotas del indicador fenolftaleína, además de que con la ayuda de una probeta se añadió 50 ml de agua destilada libre de CO₂, se homogeniza y se lleva a cabo la titulación con una solución básica de NaOH al 0.1 N, hasta coloración rosa suave (Lisseth et al., 2016).

Fórmula de porcentaje de acidez

$$\% \text{ acidez} = B * N * K * 100 / W$$

En donde:

B = NaOH consumido en la titulación (mL)

N = Normalidad del NaOH

K = Constante de acidez (ácido cítrico) (0,064)

W = Tamaño de la muestra.

2.9. Investigación Experimental

La investigación experimental se basa en la manipulación por parte del investigador de una o más variables de estudios, con el fin de controlar la disminución o el aumento de esas variables y el efecto que pueden producir en el producto final. Explicado de una forma más sencilla la investigación experimental consiste en realizar un cambio en una variable la cual se la conoce como variable dependiente y así observar el efecto que esta tiene en la otra variable conocida como variable independiente. Por lo general este tipo de investigación se realiza en condiciones controladas con el fin de poder describir que sucede en cada fase o etapa de dicha investigación.

2.9.1. Diseño Experimental

El diseño experimental que se ha planteado cuenta con variables dependientes e independientes las cuales se encuentran planteadas a continuación:

2.9.1.1. Variables independientes:

Tipo de Fermentación: Trabajaremos con 3 tipos de fermentaciones; Fermentación espontánea y Fermentación con adición de melaza y Fermentación con adición de melaza e inoculada con levadura.

2.9.1.2. Variables dependientes:

- Azúcares Reductores
- Sólidos Solubles
- Acidez Titulable
- pH

2.10. Diseño Experimental

PARÁMETROS	TIPO DE FERMENTACIÓN		
	F. Espontánea	Adición de sustrato (Melaza)	Adición de sustrato + Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
Sólidos Solubles	-	-	-
pH	-	-	-
Azúcares Reductores	-	-	-
Acidez Titulable	-	-	-

Se trabajará con 3 experimentos de los cuales 2 de ellos se los realizo por fermentación espontánea a una misma temperatura sin adicción de ningún microorganismo extrínseco de la fermentación

alcohólica, y de igual manera en la fermentación controlada en la cual se usaron las muestras restantes a la misma temperatura, pero con el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (3g/L).

2.11. Materiales de laboratorio

- Vaso de Precipitación de 150 ml – 250 ml
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Celdas de cuarzo
- Respiradores

2.12. Reactivos

- ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)
- ácido gálico

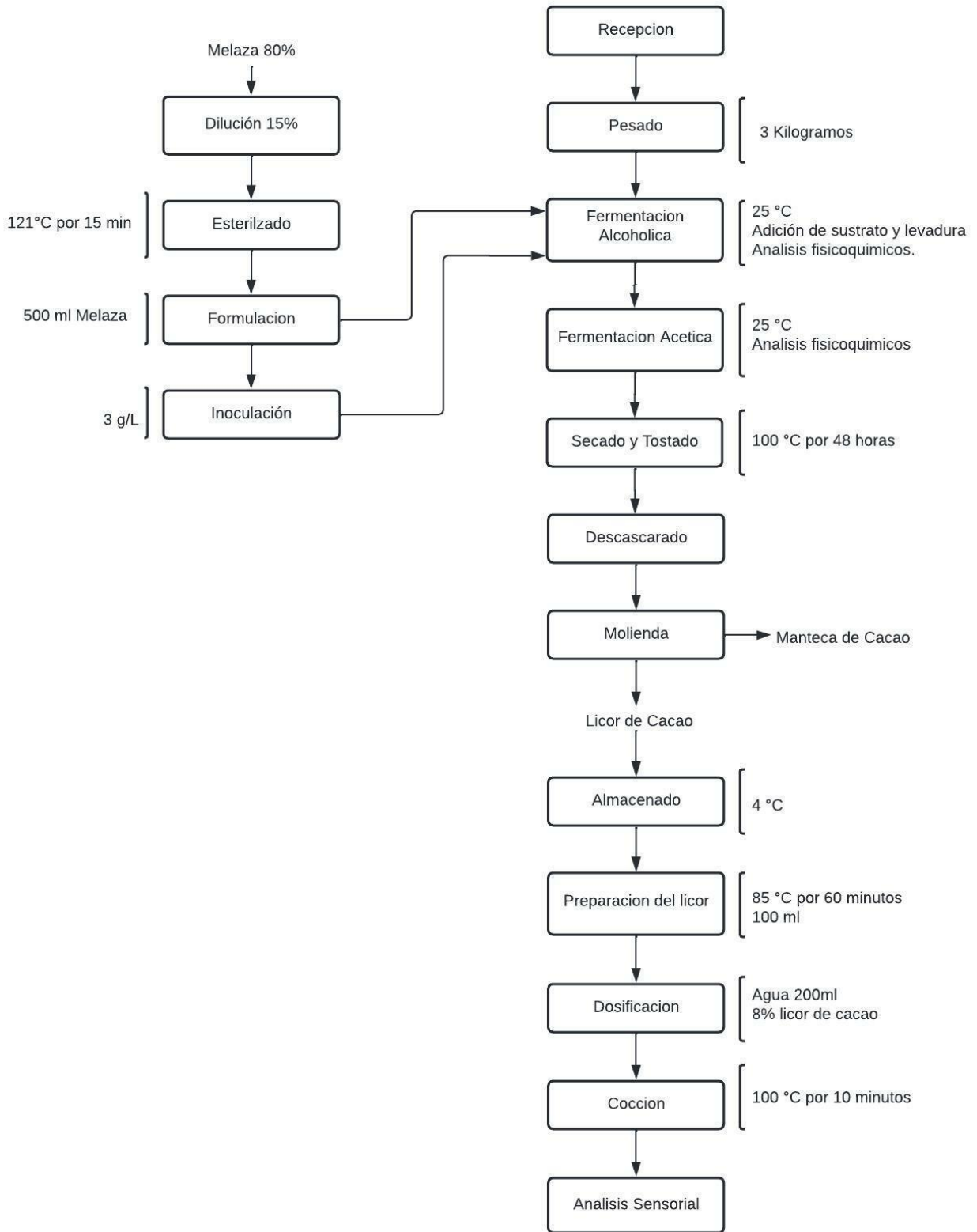
2.13. Equipos

- Refractómetro digital
- pH-metro Bante 901 ®.
- Thermo Scientific™ Espectrofotómetros Evolution™ UV Vis

2.14. Protección personal

- Guantes
- Mandil
- Cofia
- Mascarilla

2.15. Diagrama de flujo de cada proceso.



2.15.1. Descripción del proceso

Recepción de materia prima: Se receipta la mazorca de cacao, y se almacena en condiciones óptimas.

Pesado: Se realiza el pesado de 3 kilogramos de la pulpa de cacao para cada proceso de fermentación alcohólica.

Inoculación: En el tercer tratamiento se inoculó 3 gramos por kilogramo de cacao.

Fermentación Alcohólica: Se fermenta el mucílago de cacao en biorreactores experimentales en condiciones anaeróbicas a 25°C durante 6 días. Se realizaron análisis fisicoquímicos como: pH, Acidez, Azucres Reductores, Temperatura, Grados Brix.

Fermentación Acética: Transcurrido los 6 días de fermentación alcohólica, se procedió a extraerlas del bio-fermentador para proceder a colocarlas en unas bandejas de acero inoxidable, esto para que se pueda dar la fermentación acética en condiciones aeróbicas, a temperatura ambiente. Se realizaron análisis fisicoquímicos como: pH, acidez.

Secado y tostado: Pasado los 3 días de fermentación acética, se procedió a secarlas y tostarlas en la estufa a 100°C por 48 horas, esto para eliminar la humedad externa del grano de cacao.

Descascarado: Se procedió a eliminar las cáscaras de la semilla de cacao secadas.

Molienda: Se realizó el molido del grano del cacao en un extrusor de aceite Xiushi Oil Press, para separar el aceite del cacao y obtener el licor de cacao.

Almacenamiento: Seguido se procedió a almacenar el licor de cacao y la grasa de cacao en refrigeración.

Preparación de la bebida de cacao: Se fundió el licor de cacao a una temperatura de 85°C por 60 minutos con adición de 100ml de agua potable.

Dosificación: Se dosifico con 200ml de agua potable y 8% de licor de cacao para cada una de las 3 muestras.

Cocción: Se procedió a llevar a cocción la bebida de cacao a 100°C por 10 minutos, se adicióno agua potable y licor de cacao, para homogeneizar mejor las muestras.

Análisis Sensorial: Se realizó el análisis sensorial con varios panelistas entrenados, para mediante la escala de Likert determinar cuál de las 3 fermentaciones tuvo mejor aceptación.

2.16. Evaluación Sensorial.

Para el desarrollo del análisis sensorial se consideró a catadores entrenados pertenecientes a la Universidad Técnica de Machala, a los cuales se les consultó el grado de aceptación o rechazo del licor de cacao con referencia a los atributos como el SABOR, AROMA y ASTRINGENCIA del licor por medio de la aplicación de una escala de Likert (5 niveles) que se detalla a continuación. Para la evaluación sensorial se facilitó una hoja de evaluación sensorial a cada catador, para una mejor comprensión y facilidad de los catadores se dispuso un código a cada licor:

- F.E (Fermentación Espontánea)
- F.M (Fermentación con Melaza)
- F.M.L (Fermentación con Melaza y Levadura)

Tabla 3 Escala de aceptabilidad

Escala de aceptabilidad	
Desagrada mucho	1
Desagrada poco	2
No agrada, ni desagrada	3
Agrada un poco	4
Agrada mucho	5

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización físico-química de la materia prima (*cacao arriba*)

Los datos obtenidos a través de la caracterización físico-química de la materia prima (*cacao arriba*) fueron los siguientes: pH 3,18, con una acidez total de 1.53% el mismo que representa el 0.095% del ácido cítrico presente en el mucílago del *cacao arriba*, 15 °Brix y un valor de 0,782 g/L perteneciente a los azúcares reductores.

Estos valores obtenidos tienen concordancia con los datos reportados por (González, 2011) en referencia al pH y acidez total obtenido durante el proceso, sin embargo, el valor de los °Brix no coincide con nuestro valor analizado encontrando un margen de error del 1.2% el cual puede deberse a la zona donde se cosecha el *cacao* o el estado de maduración del mismo.

Muestra	N.º SAI	Peso (mg)	% N	% C	% H	% S
Nacional 1	2018/10098	2,096	0,83	45,92	5,39	< 0,05
CCN2	2018/10099	2,045	0,80	45,03	5,40	< 0,05

Tabla 4 Composición elemental de mucílago

3.2. Cambios físico-químicos durante el proceso de fermentación con la adición de microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*) en el *cacao arriba*.

3.2.1. Cinética del consumo de azúcares fermentables del mucílago de *cacao*

La fermentación alcohólica es la conversión de los azúcares reductores presentes en el mucílago de *cacao* en etanol, mediante la utilización de levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

A continuación, en la figura 4 se muestran los resultados del consumo de azúcares fermentables en los tres experimentos realizados durante la investigación.

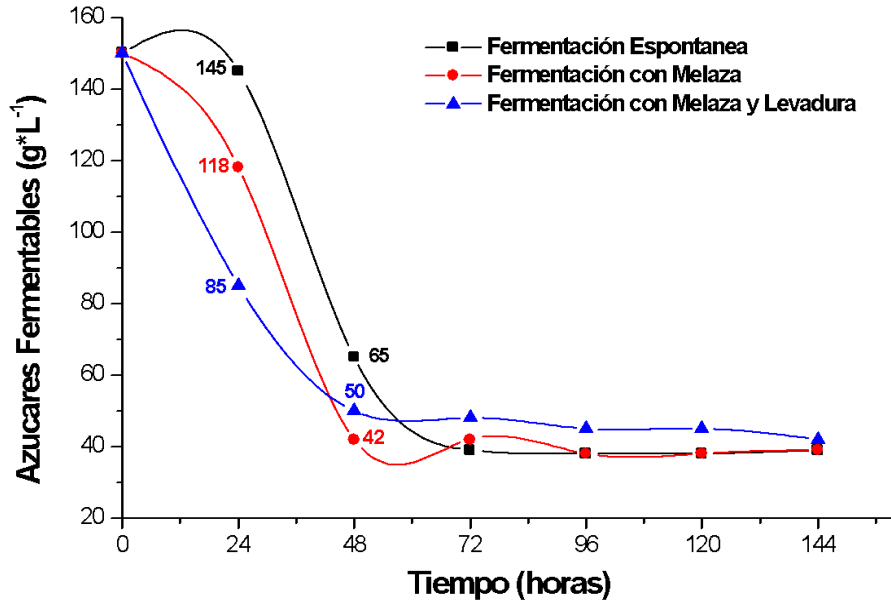


Figura 5 Cinética del consumo de azúcares fermentables del mucílago de cacao

Como podemos apreciar en la figura 5 el consumo de azúcares fermentables en el experimento donde se adiciona la melaza + levadura ($150 \text{ g} * \text{L}^{-1}$), el consumo fue de $65 \text{ g} * \text{L}^{-1}$ en las primeras 24 horas de fermentación alcohólica, llegándose a estabilizar a $50 \text{ g} * \text{L}^{-1}$ a las 48 horas, mientras que en el experimento donde se adiciono melaza, hubo un consumo de $32 \text{ g} * \text{L}^{-1}$ en las primeras 24 horas, al cabo de 48 de fermentación quedaros $42 \text{ g} * \text{L}^{-1}$ de azúcares residuales.

El experimento donde se desarrolló un consumo lento de azúcares fue aquel donde la fermentación fue espontánea, en este experimento solo hubo un consumo de $5 \text{ g} * \text{L}^{-1}$ de azúcares fermentables en las primeras 24 horas de proceso, llegando a obtener $40 \text{ g} * \text{L}^{-1}$ de azúcares residuales.

Investigaciones similares indican que los sustratos que contienen nutrientes como el nitrógeno, el proceso de fermentación alcohólica se desarrolla satisfactoriamente, debido al eficiente crecimiento de la levadura que requieren de este nutriente (Ayala et al., 2022).

3.2.2. Cinética de la conversión de azúcares a etanol

La fermentación alcohólica es la bioconversión de la glucosa en etanol (alcohol etílico), los principales organismos que actúan son las *Saccharomyces cerevisiae* (levadura), esto se da por medio de una reacción:

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 2 ATP$ (La energía liberada es 118 kJ por mol). La energía producida es 5 veces mayor que la energía producida por fermentación anaeróbica de alcohol (Roini et al., 2019).

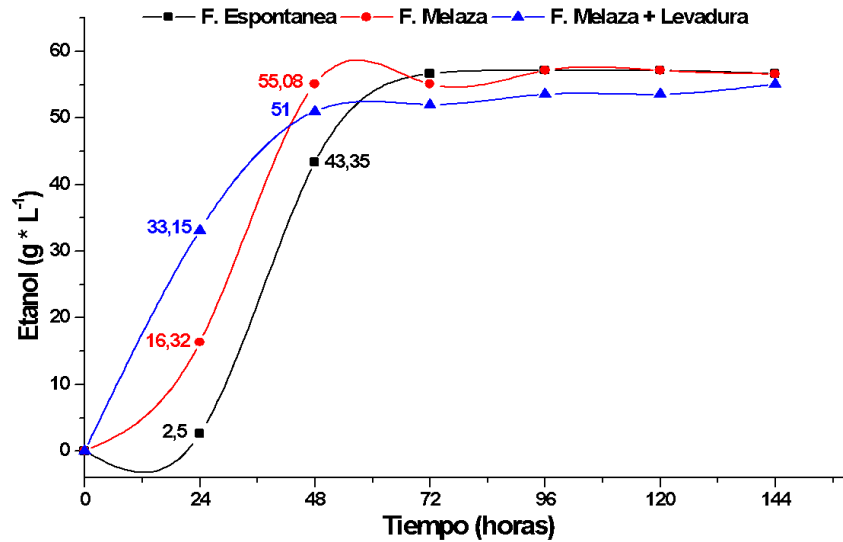


Figura 6 Cinética de la conversión de azúcares a etanol

Como podemos observar en la figura 6 durante las primeras 24 horas hubo un incremento exponencial de etanol en las 3 muestras, siendo la de mayor crecimiento la fermentación de melaza con levadura (33,15), y la de menor crecimiento la de fermentación espontánea, pasada las 72 horas existió una fase estacionaria de la producción de etanol, dándonos como resultado valores similares en las 3 muestras.

Estudios similares demuestran que el crecimiento exponencial de la levadura está determinado por la cantidad del inóculo y la velocidad de fluctuación de la temperatura en el ciclo fermentativo alcohólica, mientras que otros factores, como el pH, nitrógeno libre y niveles de oxígeno, no influyen en el aumento de la levadura y producción de etanol (Kouamé et al., 2021).

3.2.3. Comportamiento del pH durante la fermentación alcohólica del mucílago de cacao

El pH es el $-\log [H^+]$, que refleja el grado de acidez de una sustancia, en la fermentación del mucílago de cacao, ocurre una discusión debido a la hidrólisis del mucílago que deja libre los ácidos contenidos en el mismo. A continuación, en la figura 5 se observan los resultados del pH en los tres experimentos estudiados.

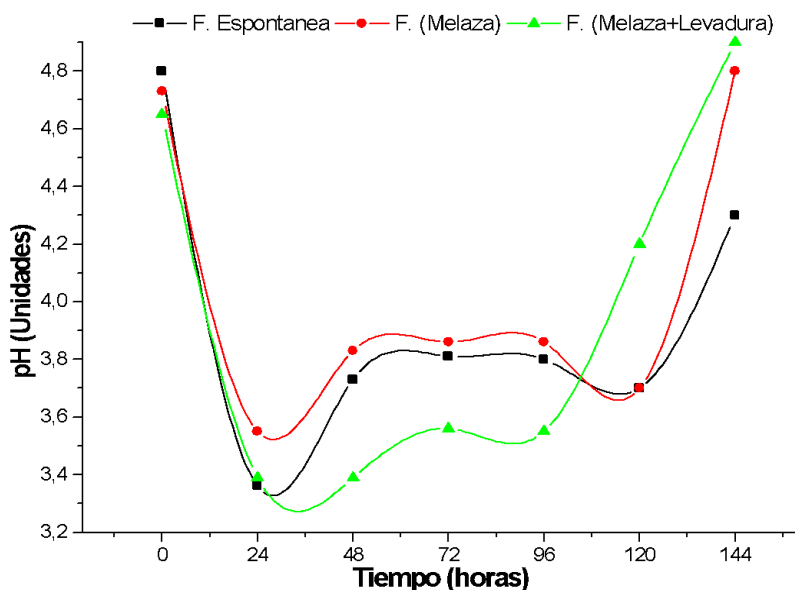


Figura 7 Comportamiento del pH durante la fermentación alcohólica del mucílago de cacao

Como podemos apreciar en la figura 7 el contenido de pH disminuye, debido a la hidrólisis enzimática del mucílago de cacao que deja libre el ácido cítrico contenido en el mucílago del cacao durante la fermentación alcohólica:

Se observaron en las primeras 24 horas de la fermentación alcohólica, hubo una disminución de pH en los 3 experimentos estudiados (F. Espontánea, F. Melaza, F. Melaza y Levadura) con concentraciones distintas (3,36 - 3,55 - 3,39), en el tercer día existió un incremento de ph, esto debido al inicio de la fermentación alcohólica y la formación de etanol de carácter alcalino.

Existen 4 variables que intervienen en la fermentación alcohólica, los cuales son: pH, la combinación de pH-Concentración de levadura, concentración de levadura y finalmente la temperatura (Camu et al., 2007).

Con esto podemos corroborar el incremento exponencial del pH, en las diferentes muestras siendo el de mayor incremento la muestra con melaza y levadura, dando como resultado 4,9 unidades, esto debido a la reducción de azúcares fermentables de la melaza, y la adición de levadura (3 g/L).

3.2.4. Fermentación acética-acidez

La fermentación acética es la bioconversión del etanol producido en la fermentación alcohólica a ácido acético mediante las bacterias acéticas endógenas (*Acetobacter acetii*) presentes en el mucílago de cacao. En la figura 8 se muestran los resultados del pH en los tres experimentos estudiados.

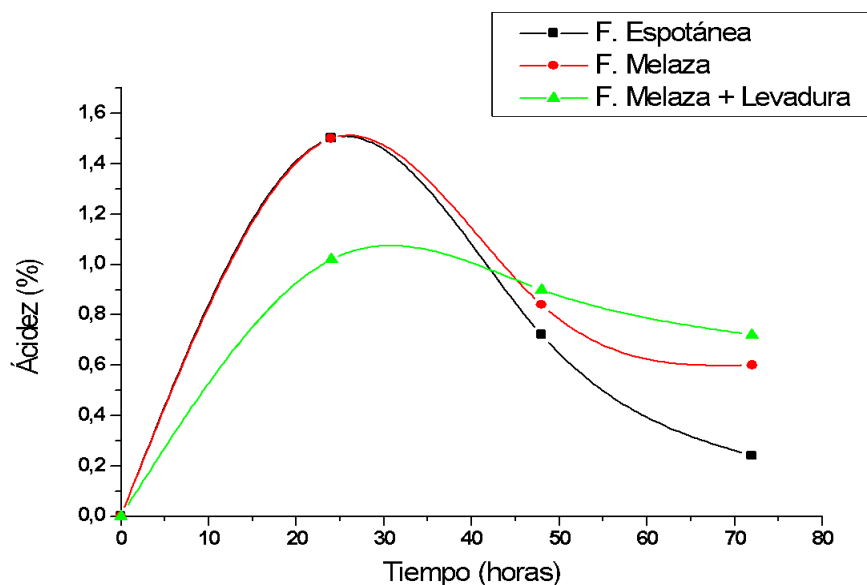


Figura 8 Fermentación acética-acidez

Una vez culminada la fermentación alcohólica, se produjo la fermentación acética espontánea, debido al contacto con el oxígeno de las almendras de cacao fermentadas.

La producción de ácido acético inicio desde el instante de entrar en contacto con el oxígeno, en las primeras 24 horas se produjo un incremento en las 3 tratamientos experimentales (F. Espontanea: 1,5% - F. Melaza: 1,5% - F. Melaza y levadura: 1,02%), después de las 24 horas hasta las 72 horas que se dio por culminado el proceso de fermentación acética, comienza a disminuir la concentración de ácido acético llegando a niveles (F. Espontánea: 0,24% - F. Melaza: 0,6% - F. Melaza y levadura: 0,72%).

Investigaciones similares sobre fermentaciones acéticas sobre esta materia prima indican haber obtenidos resultados superiores en la producción de ácido acético, debido a la proliferación de otros organismos aerobios que también producción ácido succínico y ácido cítrico (Streule et al., 2022).

3.2.5. Gráfica de pH y acidez del licor de cacao

El licor de cacao se define como el producto obtenido por la desintegración mecánica de almendras de cacao, previamente fermentados, secados y tostados (INEN, 2020). La figura 7 nos muestra los porcentajes de acidez y pH de los tres experimentos estudiados.

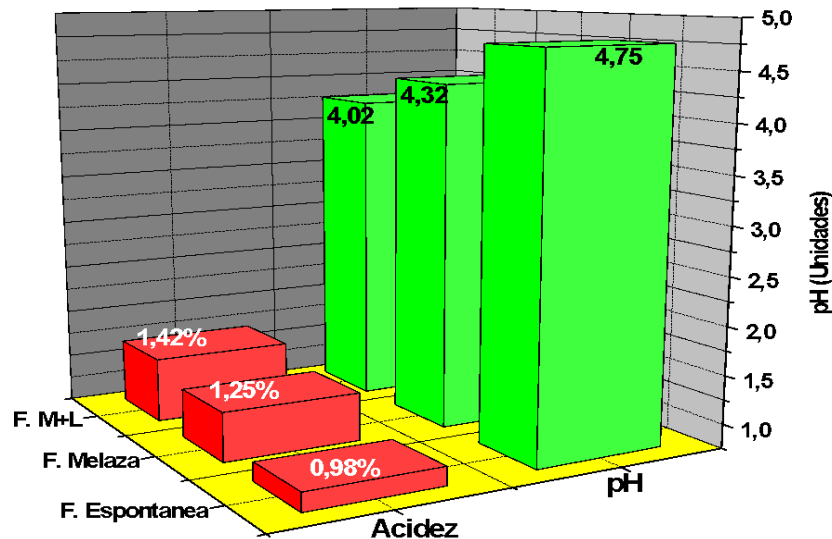


Figura 9 Gráfica de pH y acidez del licor de cacao

Como podemos observar en la figura 9, el pH obtenido en los tres experimentos es inversamente proporcional a los porcentajes de acidez, encontrándose en el mayor de los casos en la fermentación donde se adiciono melaza (15 °Brix) y levadura (3 g*L⁻¹) porcentajes de acidez de 1,42% y pH 4,02.

Estudios similares indican que el comportamiento del pH y acidez acética sobre esta materia prima indican haber obtenido resultados similares en la producción de ácido acético, durante la etapa del secado (Apriyanto et al., 2016).

3.3. Análisis sensorial del licor del cacao

3.3.1. Perfil de sabor

Los sentidos como el olfato y el gusto de los panelistas influyen directamente en el resultado del análisis sensorial. Sabores como acidez y astringencia, son menos comunes que el sabor a cacao, influye sobre la intensidad sensorial de ambos (Chávez et al., 2015). La descripción gráfica de los

resultados del análisis sensorial con barras nos permitió visualizar con más facilidad y exactitud las muestras con mayor aceptación y rechazo

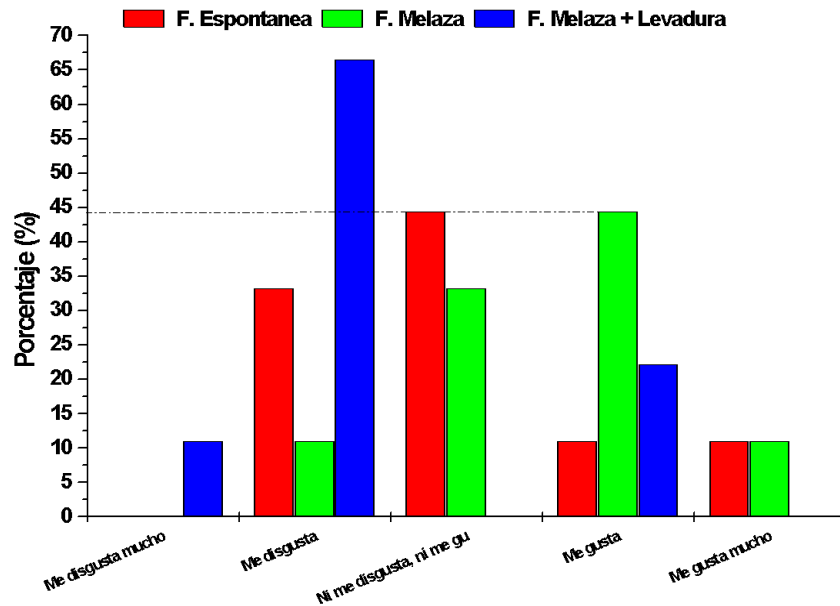


Figura 10 Análisis sensorial: Perfil de Sabor

Investigaciones similares sobre fermentaciones acéticas en el grano de cacao indican haber obtenidos resultados similares en la producción de ácido acético, en el atributo de sabor a cacao, dando como resultado relación entre características bromatológicas y compuestos de fracción volátil, específicos para cada pH y contenido de ácido acético (Cuellar et al., 2018).

3.3.2. Perfil sensorial – Amargor

El sabor del chocolate está dado por compuestos como los flavonoides, metilxantinas y metilxantinas, como teobromina, cafeína y flavonoides de peso molecular bajo, el contenido de amargor presente en el cacao, puede ser disminuido por sabores dulces, salados y umami (McClure et al., 2022).

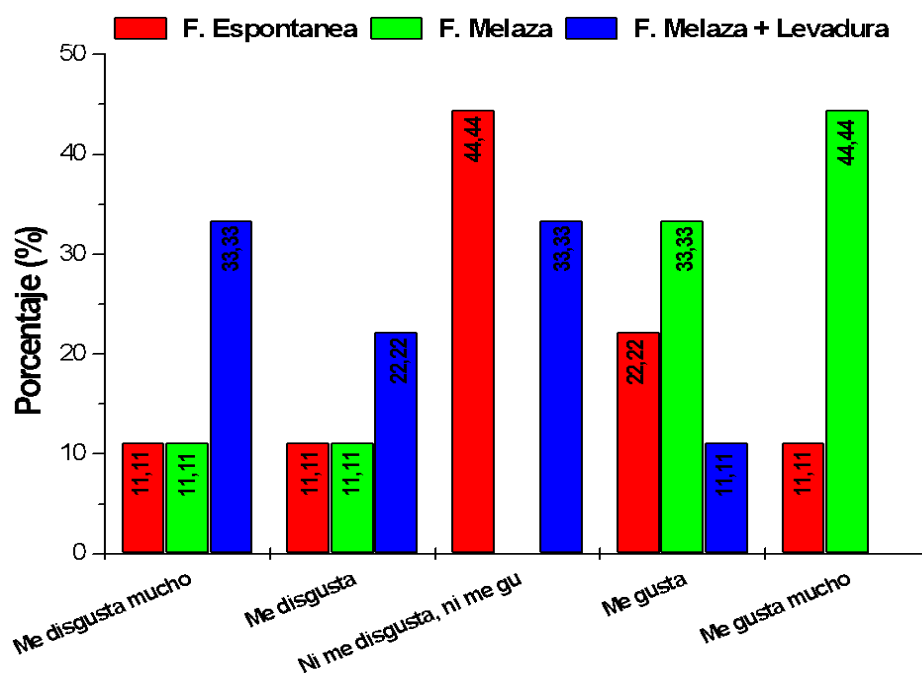


Figura 11 Perfil sensorial: Amargor del licor de cacao

Como podemos observar en la figura 11, la muestra con un mayor porcentaje de aceptación en el perfil de amargor fue la fermentación con melaza (44,44%) eso debido a que el sabor amargo no fue tan intenso, porque se enmascara con el sabor de la melaza al 15%, y la muestra con menor aceptación fue la fermentación con melaza y levadura (33,33%), esto debido a que el amargor presente en los granos del cacao fue muy intenso.

Investigaciones similares del grano del cacao seco, fundamentan que las infusiones realizadas con café molido, obtienen contenidos mayores de CGA (Cafeína y ácidos clorogénicos) y cafeína, los cuales contribuyen al amargor del café (Zhang et al., 2022).

3.3.3. Perfil sensorial – Aroma

El perfil aromático del cacao es un aspecto fundamental en los atributos que delimitan la aceptabilidad y valor económico del chocolate y sus derivados. El aroma, calidad de sabor, apariencia y textura de las semillas del cacao depende del origen geográfico, genotipo y el procesamiento post-cosecha (fermentación alcohólica, secado, tostado, molienda) (Dulce et al., 2021).

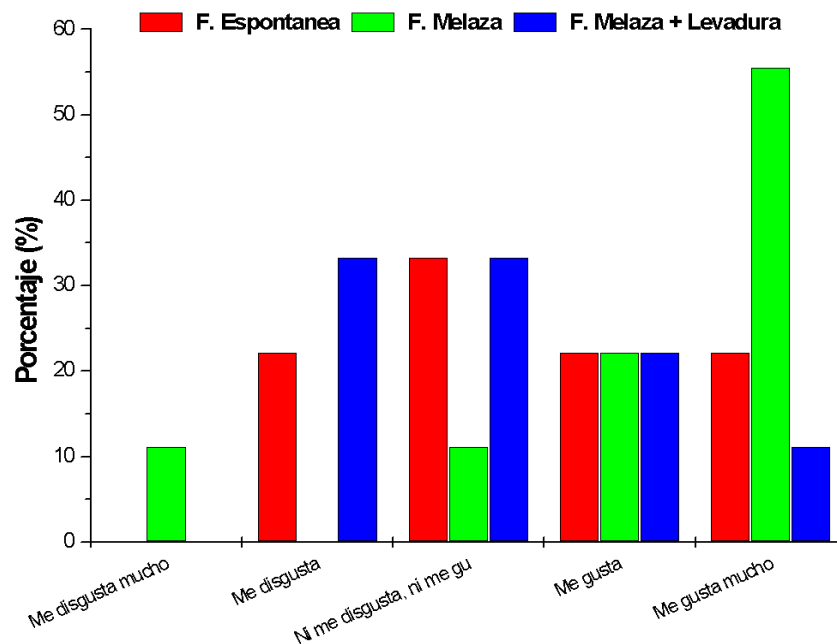


Figura 12 Análisis Sensorial de aroma

Como podemos observar en la figura 12, la muestra con un mayor porcentaje de aceptación en el perfil de sabor fue la fermentación con melaza (55,55%), debido a que obtuvimos un mayor porcentaje de aceptación entre los panelistas y la muestra con menor aceptación fue la fermentación con melaza y levadura (33,33%).

Investigaciones similares sostienen que la fermentación del azúcar presente en el mucílago de cacao, pueden producir altos niveles de ácidos, en especial el ácido acético, el cual es importante para obtener perfiles de sabor y aroma al chocolate tradicional (Liu et al., 2017).

3.3.4. Perfil sensorial – Acidez

Durante la fermentación acética, existe una disminución en el pH y un aumento en la acidez titulable producido por la transformación del etanol en ácido acético.

El ácido acético y el etanol se difunden en el grano causando la muerte del embrión y la ruptura de la pared celular con liberación de enzimas endógenas, provocando la secuencia de reacciones enzimáticas (Deus et al., 2021).

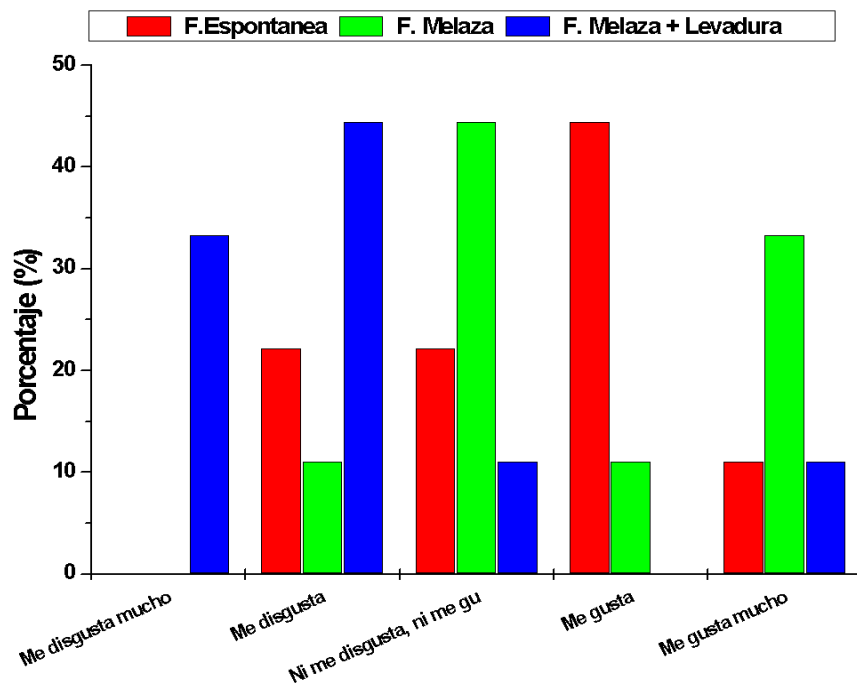


Figura 13 Análisis sensorial: Acidez

Como podemos observar en la figura 13, la muestra con un mayor porcentaje de aceptación en el perfil de sabor fue la fermentación espontánea (44,44%), debido a que obtuvimos una mejor acidez al gusto de los panelistas y la muestra con menor aceptación fue la fermentación con melaza y levadura (44,44%) debido a que presentó un mayor porcentaje rechazo de las tres muestras.

Investigaciones similares sobre análisis sensorial en cacao arriba, indican haber obtenidos resultados similares en valores de acidez, siendo esta un factor directo en el perfil sensorial, dando como resultado una buena aceptación por parte de los panelistas (Torres et al., 2018).

4. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos de la materia prima (*cacao arriba*); nos permitió determinar la obtención un producto en óptimas condiciones para realizar la investigación que tiene como objetivo mejorar las características sensoriales del cacao mediante la adición del sustrato (*melaza*), nos brindó las condiciones favorables para que crezca la levadura la cual ayudó para la transformación de los azúcares en etanol y este etanol ayudó a la lixiviación de los compuestos poli-fenólicos los cuales son los principales responsables del perfil aromático de las almendras de cacao, además de contar con una acidez total de 1.53% el mismo que representa el 0.095% del ácido cítrico presente en el mucílago del cacao arriba y un valor de 0,782 g/L perteneciente a los azúcares reductores.
- La adición de melaza al mucílago de cacao, permitió que solo se puedan desarrollar un solo tipo de microorganismo (*Saccharomyces cerevisiae*), permitiendo así el único desarrollo de los azúcares en etanol, lo cual permite una mayor extracción de sustancias poli-fenólicos, el cual se ha determinado mediante análisis de pH, acidez, y análisis sensorial, siendo esta la de mayor aceptación en el perfil de amargor, acidez y astringencia.
- El análisis sensorial de aceptabilidad del licor de cacao con respecto al sabor y amargor nos otorgó un porcentaje del 44% que me gusta mucho y un 33% con un me gusta; ambos representando valores positivos para el licor de cacao los que están asignados con valor 4 y 5; permitiendo así escoger el presente diseño.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afoakwa, E. O., Quao, J., Budu, A. S., Takrama, J., & Saalia, F. K. (2017). 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>
- Aguilar, H., Lima, L., Septiembre De, C. A., & Suiza, C. (2017). *Guía de Buenas Prácticas de Poscosecha de Cacao HELVETAS Swiss Intercooperation HONDURAS FUNDACIÓN HELVETAS HONDURAS Schweizerische Eidgenossenschaft Confédération suisse Confederazione Svizzera Confederaziun svizra HELVETAS Swiss Intercooperation HONDURAS FUNDACIÓN HELVETAS HONDURAS Schweizerische Eidgenossenschaft Confédération suisse Confederazione Svizzera Confederaziun svizra.*
- Andrade, J. A., Rivera-García, J., Chire-Fajardo, G. C., & Ureña-Peralta, M. O. (2019). Physical and chemical properties of cacao cultivars (*Theobroma cacao* L.) from Ecuador and Peru. *Enfoque UTE*, 10(4 SE-), 1–12. <https://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/view/462>
- Andrea Pallares Pallares, J. A. P. V. L. J. L. G. (2017). Impacto de las condiciones de beneficio sobre los compuestos precursores de aroma en granos de cacao (*Theobroma cacao* L) del clon CCN-51. *Octubre*, 1, 120–133.
- Apriyanto, M., Sutardi, Supriyanto, & Harmayani, E. (2016). Study on effect of fermentation to the quality parameter of cocoa bean in Indonesia. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 35(2). <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v35i2.10724>
- Ayala, H., Kaiser, D., Pavón, S., Molina, E., Siguenza, J., Bertau, M., & Lapo, B. (2022). Valorization of cocoa's mucilage waste to ethanol and subsequent direct catalytic conversion into ethylene. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, April. <https://doi.org/10.1002/jctb.7095>
- Barrezueta-Unda, S. (2019). Propiedades de algunos suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *CienciaUAT*, 14(1), 155. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1210>
- Barrezueta-Unda, S., & Chabla-Carrillo, J. (2017). Características sociales y económicas de la producción de cacao en la provincia El Oro, Ecuador Social and economic characteristics of the cocoa in the province of El Oro, Ecuador. *Revista La Técnica*, 25–34.
- Benemir Erkan, S., Bugra Coban, H., & Turhan, I. (2022). Evaluation of the inhibitory effect of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) on ethanol fermentation by using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in stirred-tank bioreactor and mathematical modeling. *Fuel*, 317, 123499. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2022.123499>
- Bravo, Á., & Velez, R. (2019). *Técnicas De Fermentación Del Cacao Ccn-51 Y Nacional Usando La Enzima Pectin Trans Eliminasa Como Precursor Sensorial De La Almendra Y Licor De Cacao*. 91. <http://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/1076/1/TTMZ3.pdf>
- Burgos Montañez, L. J. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Questionar: Investigación Específica*, 7(1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
- Caballero-Pérez, J. F., Avendaño-Arrazate, González-Ávila, N. A., & López-Escobar. (2016). *INFLUENCE OF THE TYPE OF CACAO (Theobroma cacao L.) IN THE CHARACTERISTICS OF FERMENTING AND DRYING CORE View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk provided by Revista Agro Productividad (Vol. 9, Issue 1).*

- Camu, N., de Winter, T., Verbrugghe, K., Cleenwerck, I., Vandamme, P., Takrama, J. S., Vancanneyt, M., & de Vuyst, L. (2007). Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1809–1824. <https://doi.org/10.1128/AEM.02189-06>
- CEPAL. (2018). Diagnóstico de la Cadena Productiva del Cacao en el Ecuador. *Resumen Elaborado Por La Secretaría Técnica Del Comité Interinstitucional Para El Cambio de La Matriz Productiva - Vicepresidencia Del Ecuador.*, 10 pp. <https://www.vicepresidencia.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Resumen-Cadena-de-Cacao-rev.pdf>
- Chávez, R., Carbo, S., García, E., & Cobos, F. (2019). Estudio Socio-Económico Del Cultivo De Cacao (*Theobroma cacao* L.) En La Parroquia Febres Cordero, Cantón Babahoyo Los Ríos-Ecuador. *Observatorio de La Economía Latinoamericana*, 3. <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/02/cultivo-cacao-ecuador.html>
- Cheng, H., Wei, K., & Wang, L. (2017). The Impact of Variety, Environment and Agricultural Practices on Catechins and Caffeine in Plucked Tea Leaves. *Processing and Impact on Active Components in Food, December*, 597–603. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00072-X>
- Christian Amable Vallejo Torres, Gabriela Lisseth Loayza Flores, Wiston Morales Rodríguez, & Jaime Vera Chang. (2018). *PERFIL SENSORIAL DE GENOTIPOS DE CACAO (Theobroma cacaoL.) EN LA PARROQUIA VALLE HERMOSO-ECUADOR*. 103–113.
- Cuellar, L. M., Espinosa, C. M. O., Sánchez, Y. K. A., Cruz, L. G., & Salazar, J. C. S. (2018). Organoleptic quality assessment of *Theobroma cacao* L. in cocoa farms in northern Huila, Colombia. *Acta Agronomica*, 67(1), 46–52. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n1.66572>
- Culinario, A. (2019). *Investigación del cacao de Santo Domingo de los Tsáchilas para sus múltiples usos en la gastronomía Paula Nikole Velastegui Ruiz*.
- Deus, V. L., Bispo, E. S., Franca, A. S., & Gloria, M. B. A. (2021). Understanding amino acids and bioactive amines changes during on-farm cocoa fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97(July 2020), 103776. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103776>
- Diana Lisseth, Nossa González, Yudy Verónica, Talero Pérez, Wilson Elías, & Roza Núñez. (2017). Determination of polyphenols and antioxidant activity of polar extracts of comfrey (*Symphytum officinale* L). In *Revista Cubana de Plantas Medicinales* (Vol. 21, Issue 2). <http://scielo.sld.cu>
- Dulce, V. R., Anne, G., Manuel, K., Carlos, A. A., Jacobo, R. C., Sergio de Jesús, C. E., & Eugenia, L. C. (2021). Cocoa bean turning as a method for redirecting the aroma compound profile in artisanal cocoa fermentation. *Heliyon*, 7(8). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07694>
- Eddyn Solórzano Chavez, Freddy Amores Puyutaxi, Juan Jiménez Barragan, Claire Nicklin, & Sonia Barzola Miranda. (2015). Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Junio*, 1, 37–47.
- Gonzalez Apolo Diana. (2011). *Cacao Fino y de Aroma del Ecuador “Cacao Arriba.”*
- HERRERA PINTADO, B. S. (2020). *EFFECTO DE REGULADORES FITO-HORMONALES EN LA PRODUCCIÓN DE CACAO (Theobroma cacao) CCN51*. 89.
- Javier Morales Rodríguez, W., Amable Vallejo Torres, C., David Sinche Bósquez, P., Guiselli Torres Navarrete, Y., Fabián Vera Chang, J., Daniel Anzules Cedeño, E., Ruiz Mora, A., Chone, V., & Domingo de los Tsáchilas -Ecuador, S. (2018). *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.

- Kouamé, C., Loiseau, G., Grabulos, J., Boulanger, R., & Mestres, C. (2021). Development of a model for the alcoholic fermentation of cocoa beans by a *Saccharomyces cerevisiae* strain. *International Journal of Food Microbiology*, 337. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108917>
- Lisseth, D., González, N., Verónica, Y., Pérez, T., Elías, W., & Núñez, R. (2016). Determination of polyphenols and antioxidant activity of polar extracts of comfrey (*Symphytum officinale* L.). In *Revista Cubana de Plantas Medicinales* (Vol. 21, Issue 2). <http://scielo.sld.cu>
- Liu, M., Liu, J., He, C., Song, H., Liu, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Guo, J., Yang, H., & Su, X. (2017). Characterization and comparison of key aroma-active compounds of cocoa liquors from five different areas. *International Journal of Food Properties*, 20(10), 2396–2408. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1238929>
- López Medina, S. E. (2017). Características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao." *Arnaldoa*, 24(2), 609–618. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24212>
- MacHuca-Guevara, J. I., Suárez-Penã, E. A., Darricau, E. M., & Mialhe-Matonnier, E. L. (2019). Molecular characterization of microorganisms during cocoa-bean fermentation process (*Theobroma cacao*). *Revista Peruana de Biología*, 26(4), 535–542. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i4.17220>
- Martín, P. C. (2018). *La melaza en la alimentación del ganado vacuno*. 8, 1–13.
- McClure, A. P., Hopfer, H., & Grün, I. U. (2022). Optimizing consumer acceptability of 100% chocolate through roasting treatments and effects on bitterness and other important sensory characteristics. *Current Research in Food Science*, 5(November 2021), 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.005>
- Negrulescu, A., Patrulea, V., Mincea, M. M., Ionascu, C., Vlad-Oros, B. A., & Ostafe, V. (2017). Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(12), 2176–2182. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532013005000003>
- NTE INEN 3187: 2020-03. *NORMA PARA LA MASA DE CACAO (LICOR DE CACAO/LICOR DE CHOCOLATE) Y TORTA DE CACAO (CODEX STAN 141-1983, MOD)*.
- Pallares Pallares, A., Estupiñán A, M. R., Perea Villamil, J. A., & López Giraldo, L. J. (2017). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7–21. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001>
- Payne, M. J., Hurst, W. J., Miller, K. B., Rank, C., & Stuart, D. A. (2018). Impact of fermentation, drying, roasting, and dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10518–10527. <https://doi.org/10.1021/jf102391q>
- Pérez, Guillermo., & Freile, Jorge. (2017). Adaptabilidad de clones promisorios de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.), en el cantón Arosemena Tola de Ecuador. *Centro Agrícola*, 44(2), 44–51. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852017000200006&nrm=iso
- Roini, C., Asbirayani Limatahu, N., Mulya Hartati, T., & Sundari. (2019). Characterization of Cocoa Pulp (*Theobroma cacao* L) from South Halmahera as an Alternative Feedstock for Bioethanol Production. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 276(1), 22–27. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/276/1/012038>

- Rojas, K., Hernández, C., & Mencía, A. (2021). Transformaciones bioquímicas del cacao (*Theobroma cacao*.) durante un proceso de fermentación controlada. *Agronomía Costarricense*, 45(1), 53–65. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/45694/45716>
- Sandhya, M. V. S., Yallappa, B. S., Varadaraj, M. C., Puranaik, J., Rao, L. J., Janardhan, P., & Murthy, P. S. (2016). Inoculum of the starter consortia and interactive metabolic process in enhancing quality of cocoa bean (*Theobroma cacao*) fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 731–738. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.002>
- Sosa Vera, A. (2019). Estudio del cacao fino de aroma. *Facultad de Artes y Humanidades*, 48.
- Streule, S., Freimüller Leischfeld, S., Galler, M., & Miescher Schwenninger, S. (2022). Monitoring of cocoa post-harvest process practices on a small-farm level at five locations in Ecuador. *Heliyon*, 8(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09628>
- Suárez, J. (2018). Guía técnica para el establecimiento y manejo del cultivo de Cacao. *Corporación PBA*, 1–54. <https://bit.ly/3BSKdcS>
- William Fabián Teneda Llerena. (2017). *Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao (Theobroma cacao L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51*.
- Zambrano Alexis, et al. (2017). Caracterización De Parámetros Físicos De Calidad. *Agronomía Tropical*, 60(4), 389–396. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2010000400009
- Zambrano Cruz Jonathan Carlos. (2017). Relaciones filogenéticas entre tipos de cacao(*theobroma cacao*.):forastero, trinitario y nacional, basadas en marcadores morfológicos y secuencias nucleotídicas de la región ITS; y su posible uso en la identificación de clones. *Journal of Tropical Ecology*, 19–25. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5311/1/T-UTEQ-0093.PDF>
- Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A., & Benjamín Alberto Rojano, C. (2017). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano Effect of fermentation on the antioxidant activity of different Colombian cocoa clones. In *Revista Cubana de Plantas Medicinales* (Vol. 18, Issue 3). <http://scielo.sld.cu>
- Zhang, L., Wang, X., Manickavasagan, A., & Lim, L. T. (2022). Extraction and physicochemical characteristics of high pressure-assisted cold brew coffee. *Future Foods*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100113>



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD
CARRERA DE ALIMENTOS

NOMBRE:

FECHA:

Frente a usted hay muestras de CHOCOLATE, la cual debe observar, degustar y analizar sus atributos para mediante una escala hedónica de satisfacción valore sus características evaluadas. Marque con una X sobre la casilla de la valoración según el grado de satisfacción que usted considere.

MUESTRA:

ATRIBUTOS	ME DISGUSTA MUCHO	ME DISGUSTA	NI ME DISGUSTA NI ME GUSTA	ME GUSTA	ME GUSTA MUCHO
Aroma a chocolate					
Aroma a frutal					
Aroma floral					
Sabor a chocolate					
Acidez					
Amargor					
Astringencia					
Impresión general					

MUESTRA:

ATRIBUTOS	ME DISGUSTA MUCHO	ME DISGUSTA	NI ME DISGUSTA NI ME GUSTA	ME GUSTA	ME GUSTA MUCHO
Aroma a chocolate					
Aroma a frutal					
Aroma floral					
Sabor a chocolate					
Acidez					
Amargor					
Astringencia					
Impresión general					

MUESTRA:

ATRIBUTOS	ME DISGUSTA MUCHO	ME DISGUSTA	NI ME DISGUSTA NI ME GUSTA	ME GUSTA	ME GUSTA MUCHO
Aroma a chocolate					
Aroma a frutal					
Aroma floral					
Sabor a chocolate					
Acidez					
Amargor					
Astringencia					
Impresión general					

COMENTARIOS:

.....

.....

.....

5. ANEXOS



Sample No.	ABS	Conc.
1	0.782	0.7817
2	2.369	2.3693
3	2.498	2.4984
4	2.436	2.4362
5	2.369	2.3693
6	1.349	1.3486
7	1.712	1.7119



Anexo 1 Análisis físico-químico a la materia prima

Anexo 2 Análisis físico-químico de cada muestra

Anexo 3 Medición de pH y acidez de cada muestra



Anexo 4 Análisis sensorial del licor de cacao