



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

DETERMINACIÓN DEL EFECTO EN DIFERENTES NIVELES DE
FERMENTACIÓN DEL CACAO NACIONAL, PARA LA OPTIMIZACIÓN
DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL CHOCOLATE.

LOJA ATARIGUANA ROSA VERONICA
INGENIERA EN ALIMENTOS

MONTESDEOCA LOJA VIRGINIA JUDITH
INGENIERA EN ALIMENTOS

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Determinación del efecto en diferentes niveles de fermentación del cacao nacional, para la optimización del proceso de elaboración del chocolate.

**LOJA ATARIGUANA ROSA VERONICA
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**MONTESDEOCA LOJA VIRGINIA JUDITH
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**MACHALA
2022**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

Determinación del efecto en diferentes niveles de fermentación del cacao nacional, para la optimización del proceso de elaboración del chocolate.

LOJA ATARIGUANA ROSA VERONICA
INGENIERA EN ALIMENTOS

MONTESDEOCA LOJA VIRGINIA JUDITH
INGENIERA EN ALIMENTOS

SIGUENZA TOLEDO JOAQUIN DARWIN

MACHALA, 31 DE AGOSTO DE 2022

MACHALA
2022

DETERMINACIÓN DEL EFECTO EN DIFERENTES NIVELES DE FERMENTACIÓN DEL CACAO NACIONAL, PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL CHOCOLATE.

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	dominiodelasciencias.com Fuente de Internet	<1 %
2	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
3	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
4	www.platicar.go.cr Fuente de Internet	<1 %
5	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
6	repositorio.unan.edu.ni Fuente de Internet	<1 %
7	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
8	cybertesis.uach.cl Fuente de Internet	<1 %

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

Las que suscriben, LOJA ATARIGUANA ROSA VERONICA y MONTESDEOCA LOJA VIRGINIA JUDITH, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Determinación del efecto en diferentes niveles de fermentación del cacao nacional, para la optimización del proceso de elaboración del chocolate., 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.

Las autoras 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.

Las autoras 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 ,

LOJA ATARIGUANA ROSA VERONICA
0750305476

MONTESDEOCA LOJA VIRGINIA JUDITH
0705676815

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación lo dedico en primer lugar a Dios por brindarme la vida, por bendecirme y por permitirme alcanzar este importante y especial momento en mi trayectoria de vida para llegar a conseguir mi título profesional.

Dedico también este proyecto a mis padres y a mis hermanos quienes han sido el soporte fundamental en mi vida, quienes han estado siempre en todo este trayecto de mi vida y jamás me han abandonado, pero en especial se lo dedico a mi madre, ella que siempre ha estado ahí dándome su dedicación, cariño, apoyo y sobre todo por sus consejos los cuales me han impulsado a continuar y a no desistir ante cualquier dificultad que se me haya interpuesto a lo largo de todo este trayecto.

Rosa Verónica Atariguana Loja

Dedico este trabajo de tesis primeramente a Dios y a la Virgen María Auxiliadora por permitirme llegar a esta etapa tan importante en mi vida de obtener mi título profesional, en segundo lugar, a mi querida madre y tío por todo el apoyo incondicional que me han brindado en todos estos años para no desistir en los obstáculos que se me presentaban y que con todo su amor y dedicación que me brindaban fueron mi inspiración para seguir.

Virginia Judith Montesdeoca Loja

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecemos a Dios por habernos mantenido vivos y con buena salud, por ser nuestro guía a lo largo de nuestra trayectoria, y también por ser nuestro apoyo incondicional en el recorrido de nuestros pasos por la universidad. A continuación, agradecemos infinitamente a nuestros familiares por haber sido los protagonistas en la consecución de nuestras metas, por confiar plenamente en nosotros y en los objetivos que nos planteamos, por habernos aconsejado, por los principios y valores que nos enseñaron en cada decisión que hemos tomado.

Agradecemos sinceramente a nuestro mentor, a quien también consideramos un gran amigo, el Ing. Joaquín Sigüenza Toledo, por habernos guiado, animado y acompañado en todo este proceso, y también por aportar sus experiencias y sabiduría que han sido de gran ayuda a lo largo del trabajo de investigación y elaboración del mismo, a lo largo de esta carrera profesional. También queremos agradecer a los profesores que nos han orientado en este trabajo, ya que nos han sido de gran ayuda. También nos gustaría darle las gracias a los docentes de la Carrera de Ingeniería de Alimentos quienes nos han visto evolucionar como personas y compartir sus saberes, conocimientos, vivencias y sugerencias para superarnos y transformarnos en unos excelentes profesionales. Y finalmente, deseamos dar las gracias a todos nuestros amigos de clase que nos han ayudado de manera desinteresada y nos han proporcionado ese gran apoyo moral para seguir con esa misma entrega y responsabilidad a través de todo este proceso académico.

Loja Verónica y Montesdeoca Virginia

RESUMEN

El chocolate se produce a partir de las almendras de cacao que se someten a varios procesos, como: la fermentación, el secado, tostado, conchado y el templado. El proceso de fermentación es esencial para la degradación del mucílago esto se debe a la producción de etanol que mata los cotiledones de las almendras de cacao, y a la producción de diferentes ácidos orgánicos e importantes compuestos volátiles que se difunden en el interior de la almendra y reaccionan con sustancias responsables del sabor durante el proceso de tostado. Según reportes de la Organización Internacional del Cacao, América Latina es la principal región exportadora de cacao fino o de aroma, países como Ecuador, República Dominicana y Perú son los principales exportadores de cacao fino o de aroma en términos de volumen.

El presente trabajo investigativo se realizó con el propósito de evaluar los diferentes niveles de fermentación en el cacao de la variedad nacional para establecer los parámetros óptimos durante la fermentación y mejorar las características organolépticas del chocolate consiguiendo un producto de calidad.

La influencia de la temperatura y el tiempo de fermentación sobre el contenido de polifenoles totales, fue estudiada empleando la metodología de un diseño factorial de 3 niveles: 3^2 , a su vez, el análisis de varianza realizadas a las muestras del licor de cacao, evidencia que el factor que ejerce una influencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) sobre la reducción del contenido de polifenoles totales es el tiempo de fermentación, con un 95 % del nivel de confianza. Para el análisis sensorial se utilizó el método descriptivo mediante un perfil de sabor.

Los resultados de los análisis físico químicos obtenidos del mucílago de cacao fueron los siguientes: pH 3.00 ± 0.03 ° Brix 18.00 ± 0.08 , % acidez 1.02 ± 0.07 , azúcares reductores 11.52 ± 0.10 (mg/g). Las almendras fermentadas y secadas contaron con pH 4.80 – 5.36, acidez 0.2 – 0.4 %, azúcares reductores en las muestras 1, 4 y 5 contenían 14 mg/g y 11.3 mg/g para la muestra 3, por último, el contenido de polifenoles totales en el licor de cacao, la muestra 6/5 presentó 49.61 mg Ac. Gálico/ g, estos valores nos indica que el aumento significativo del contenido poli fenólico después del tostado se debe por la polimerización o condensación de los flavonoles y las antocianinas, en consecuencia, la muestra 3/2 con un contenido de 37.32 mg Ac. Gálico/ g, esta reducción es causada por

un fenómeno que se atribuye generalmente a la oxidación y degradación térmica de los compuestos fenólicos.

En conclusión, existe una diferencia significativa con respecto al tiempo de fermentación en las muestras de cacao, sin embargo, el presente trabajo experimental ha permitido afirmar que, a través de un análisis sensorial la muestra 3 (5/4) cumple con los atributos sensoriales del chocolate esto se debe a la astringencia y amargor por la presencia de alcaloides y flavonoles, por consiguiente, el aroma se vio vinculada por la acidificación moderada que da lugar a un licor de cacao con mayor potencial de compuestos aromáticos.

Palabras claves: cacao nacional, proceso de fermentación, polifenoles totales, análisis sensorial, azúcares reductores.

ABSTRACT

Chocolate is produced from cocoa beans that undergo several processes, such as fermentation, drying, roasting, conching and tempering. The fermentation process is essential for the degradation of the mucilage due to the production of ethanol that kills the cotyledons of the cocoa beans, and the production of different organic acids and important volatile compounds that diffuse inside the bean and react with substances responsible for the flavor during the roasting process. According to reports of the International Cocoa Organization, Latin America is the main exporting region of fine or flavor cocoa, countries such as Ecuador, Dominican Republic and Peru are the main exporters of fine or flavor cocoa in terms of volume.

The present research work was carried out with the purpose of evaluating the different levels of fermentation in cocoa of the national variety to establish the optimal parameters during fermentation and improve the organoleptic characteristics of the chocolate, achieving a quality product.

The influence of temperature and fermentation time on the content of total polyphenols was studied using the methodology of a factorial design of 3 levels: 3^2 , in turn, the analysis of variance performed on the samples of cocoa liquor, shows that the factor that exerts a statistically significant influence ($p > 0.05$) on the reduction of total polyphenol content is the fermentation time, with a 95% confidence level. The descriptive method was used for the sensory analysis by means of a flavor profile.

The results of the physical-chemical analysis obtained from the cocoa mucilage were as follows: pH 3.00 ± 0.03 ° Brix 18.00 ± 0.08 , % acidity 1.02 ± 0.07 , reducing sugars 11.52 ± 0.10 (mg/g). The fermented and dried almonds had pH 4.80 - 5.36, acidity

0.2 - 0.4 %, reducing sugars in samples 1, 4 and 5 contained 14 mg/g and 11.3 mg/g for sample 3, finally, the content of total polyphenols in the cocoa liquor, sample 6/5 presented 49.61 mg Gallic Ac/g. These values indicate that the significant increase in polyphenolic content after roasting is due to the polymerization or condensation of flavonols and anthocyanins, whereas sample 3/2, with a content of 37.32 mg Gallic Ac/g, this reduction is caused by a phenomenon that is generally attributed to the oxidation and thermal degradation of phenolic compounds.

In conclusion, there is a significant difference with respect to the fermentation time in the cocoa samples, however, the present experimental work has allowed affirming that, through a sensory analysis, sample 3 (5/4) meets the sensory attributes of chocolate, this is due to the astringency and bitterness due to the presence of alkaloids and flavonols, consequently, the aroma was linked by the moderate acidification that results in a cocoa liquor with greater potential of aromatic compounds.

Key words: national cocoa, fermentation process, total polyphenols, sensory analysis, reducing sugars.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
PROBLEMA	2
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVOS.....	4
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1 PRODUCCIÓN DE LAS ALMENDRAS DE CACAO A NIVEL MUNDIAL	5
1.2 CACAO (<i>THEOBROMA CACAO L.</i>)	6
1.3 VARIEDADES DE CACAO	6
1.3.1 <i>Cacao fino o de aroma</i>	6
1.3.2 <i>Criollo</i>	7
1.3.3 <i>Trinitario</i>	7
1.3.4 <i>Nacional</i>	7
1.3.5 <i>Cacao a granel</i>	7
1.3.6 <i>Forastero</i>	7
1.4 COMPOSICIÓN FÍSICA – QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO.....	8
1.5 MÉTODOS DE FERMENTACIÓN	10
1.5.1 <i>Cajones de madera</i> :	10
1.5.2 <i>Sacos</i> :	10
1.5.3 <i>Rumas o montones</i> :	11
1.5.4 <i>Tambor Rotatorio</i> :.....	11
1.6 PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	11
1.6.1 <i>Fase anaeróbica</i>	11
1.6.2 <i>Fase aeróbica</i>	12
1.7 SECADO	13
1.7.1 <i>Secado Natural</i> :.....	13
1.7.2 <i>Secado Artificial</i> :.....	13
1.8 TOSTADO.....	14
1.8.1 <i>Reacción de Maillard</i>	15
1.9 QUÍMICA DEL SABOR DEL CACAO	15
1.9.1 <i>Alcaloides</i>	16
1.9.2 <i>Polifenoles</i>	17
1.9.3 <i>Proteínas</i>	17
1.9.4 <i>Carbohidratos</i>	18
1.10 COMPONENTES VOLÁTILES QUE CONTRIBUYEN AL SABOR DEL CACAO	18

1.10.1	Alcoholes	18
1.10.2	Aldehídos y cetonas	19
1.10.3	Ésteres	19
1.10.4	Pirazinas	20
1.10.5	Ácidos	20
1.10.6	Otros componentes	20
1.11	LICOR DE CACAO	21
2.	MATERIALES Y METODOS	22
2.1	UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	22
2.2	PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	22
2.3	ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO DEL MUCÍLAGO DE CACAO NACIONAL	22
2.3.1	Determinación de pH por potenciometría	22
2.3.2	Determinación de sólidos solubles por Refractometría.....	22
2.3.3	Determinación de acidez por Volumetría	22
2.3.4	Determinación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico DNS	23
2.4	Fermentación de las almendras de cacao.....	23
2.4.1	Control de temperatura	24
2.5	ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO DE LAS ALMENDRAS DE CACAO DESPUÉS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y SECADO.....	24
2.5.1	Determinación del pH por potenciometría	24
2.5.2	Determinación de acidez titulable por Volumetría	24
2.5.3	Determinación de polifenoles totales por el método Folin–Ciocalteu	24
2.5.4	Determinación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico DNS	25
2.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
2.6.1	Diseño factorial de 3 niveles: 3^2	25
2.7	EVALUACIÓN SENSORIAL	25
2.8	MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	26
2.8.1	Materiales de Laboratorio	26
Reactivos	26
Equipos	26
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
3.1	CARACTERIZACIÓN FÍSICA – QUÍMICA DEL MUCÍLAGO DE CACAO	27
3.2	CARACTERIZACIÓN FÍSICA – QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO DURANTE Y DESPUÉS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y SECADO	27
3.2.1	Temperatura.....	27
3.2.2	Análisis del pH	28
3.2.3	Acidez.....	29

3.2.4 <i>Azúcares Reductores</i>	30
3.2.5 <i>Contenido de Polifenoles Totales</i>	30
3.4 ANÁLISIS SENSORIAL.....	32
4. CONCLUSIONES.....	33
5. RECOMENDACIONES	34
6. BIBLIOGRAFÍA	35
7. ANEXOS	43

TABLAS DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

FIGURA 1. EXPORTACIONES DE CACAO ECUATORIANO 2019 – 2020 (ANECACAO, 2021).....	5
FIGURA 2. CACAO (THEOBROMA CACAO L.) (WOOD & LASS, 2008A)	6
FIGURA 3. PARTES DE LA SEMILLA DEL CACAO (KADOW, 2020).....	8
FIGURA 4. PARTES DEL COTILEDÓN EN LA ALMENDRA DE CACAO (LOPEZ & DIMICK, 1995).....	9
FIGURA 5. PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL CACAO (THEOBROMA CACAO L) (KADOW ET AL., 2015)	12
FIGURA 6. COMPONENTES NO VOLÁTILES QUE CONTRIBUYEN AL SABOR DEL CACAO (APROTOSOAIE ET AL., 2016).	16
FIGURA 7. CRONOGRAMA DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN (ANAERÓBICA Y AERÓBICA) EN LAS ALMENDRAS DE CACAO NACIONAL.....	23
FIGURA 8. TEMPERATURA DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LAS ALMENDRAS DE CACAO.	28
FIGURA 9. ANÁLISIS DE PH DESPUÉS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y DEL SECADO.	29
FIGURA 10. ANÁLISIS DE ACIDEZ DE LAS ALMENDRAS DE CACAO DESPUÉS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y DEL SECADO.	29
FIGURA 11. ANÁLISIS DE AZÚCARES REDUCTORES DESPUÉS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y DEL SECADO.....	30
FIGURA 12. ANÁLISIS SENSORIAL DEL PERFIL DEL SABOR EN EL LICOR DE CACAO.....	32

TABLAS

TABLA 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS ALMENDRAS FRESCAS DE CACAO (PEREA, 2019).....	9
TABLA 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MUCÍLAGO DE CACAO (RAY & WARD, 2008).....	10
TABLA 3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA - QUÍMICA DEL MUCÍLAGO DE CACAO.....	27
TABLA 4. ANÁLISIS DE POLIFENOLES TOTALES DEL LICOR DE CACAO DE LA VARIEDAD NACIONAL..	31
TABLA 5. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA COMPUESTOS POLIFENOLES TOTALES DEL CACAO NACIONAL	32

ANEXOS

ANEXO 1. RECOLECCIÓN DE LAS VAINAS DE CACAO DE LA VARIEDAD NACIONAL.	43
ANEXO 2. PROCESO DE FERMENTACIÓN ANAERÓBICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO.	43
ANEXO 3. PROCESO DE FERMENTACIÓN ANAERÓBICA DE LAS ALMENDRAS DE CACAO.	43
ANEXO 4. CONTROL DE TEMPERATURA DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN.	43
ANEXO 5. PROCESO DE SECADO.	43
ANEXO 6. PESAJE DE LAS ALMENDRAS FERMENTADAS Y SECADAS.	43
ANEXO 7. ANÁLISIS DE ACIDEZ TITULABLE EN EL MUCÍLAGO DE CACAO.....	44
ANEXO 8. ANÁLISIS DE ACIDEZ TITULABLE EN LAS ALMENDRAS DE CACAO FERMENTADAS Y SECADAS..	44
ANEXO 9. ANÁLISIS DE pH EN LAS ALMENDRAS DE CACAO FERMENTADAS Y SECADAS	44
ANEXO 10. RESULTADOS DE LOS AZÚCARES REDUCTORES EN LAS ALMENDRAS DE CACAO FERMENTADAS Y SECADAS.	44
ANEXO 11. LICOR DE CACAO DE LOS DIFERENTES NIVELES DE FERMENTACIÓN.	44
ANEXO 12. RESULTADO DEL ANÁLISIS DE POLIFENOLES TOTALES DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DEL LICOR DE CACAO NACIONAL.....	45

INTRODUCCIÓN

Según reportes de la Organización Internacional del Cacao América, Latina es la principal región exportadora de cacao fino o de aroma, representando el 90 % de las exportaciones mundiales. Ecuador, República Dominicana y Perú son los tres principales exportadores de cacao fino o de aroma en términos de volumen.

El chocolate se produce a partir de las almendras de cacao que se someten a varios procesos, como: la fermentación, el secado, tostado, conchado y el templado. En las primeras etapas, las mazorcas de cacao se arrancan de los árboles (*Theobroma cacao L.*), se amontonan e inmediatamente se abren o se dejan reposar unos días, después de la cosecha, las almendras junto con el mucílago se extraen de la vaina, se fermentan, se secan y se tuestan para obtener efectos positivos en la calidad del producto final (Beg *et al.*, 2017).

El proceso de fermentación es esencial para la degradación del mucílago esto se debe a la producción de etanol que mata los cotiledones de las almendras de cacao, y a la generación de distintos ácidos orgánicos e importantes compuestos volátiles que se encuentran en el interior de la almendra y reaccionan con sustancias responsables del sabor durante el proceso de tostado (Afoakwa, 2016).

El presente trabajo, busca optimizar el proceso de fermentación en el cacao nacional fino y de aroma, estableciendo la importancia del monitoreo de las variables involucradas en dicho proceso, de tal manera que se obtenga un producto de calidad.

PROBLEMA

Ecuador cuenta con un estimado de 400 - 600 mil hectáreas de las zonas agrícolas cacaoteras, de las cuales se ha tenido una producción exportable de 342.000 toneladas, esto refleja que las cifras de producción periódicamente van en aumento (Anecacao, 2021).

En los mercados de calidad ha experimentado el mayor porcentaje de crecimiento en comparación con otros segmentos de cacao, ésta demanda ha sido impulsada por tendencias de consumo en busca de chocolate más saludable, de origen único y con propiedades organolépticas diferenciadas (Ríos *et al.*, 2017). Es por ello que se menciona que la transformación post cosecha del cacao debe ir encaminada a la producción del cacao nacional fino y de aroma, controlando las condiciones de procesamiento de acuerdo a las características de calidad que demanda en el mercado (Santander *et al.*, 2019).

En este sentido, varios factores influyen significativamente en la consecución de un cacao homogéneo y de calidad deseada del chocolate. No obstante, los productores de la provincia de El Oro no conocen con exactitud los métodos y el manejo de la postcosecha, es decir la composición de las almendras de cacao fermentado y seco, realizando la fermentación tradicional de una manera versátil de acuerdo a la habilidad personal, y a su vez por el desconocimiento de la importancia del proceso fermentativo, ya que directamente pasan las almendras frescas de cacao al proceso de secado razón por la cual, no se desarrollan los componentes principales del aroma y el sabor, que influyen directamente en la calidad del cacao.

JUSTIFICACIÓN

En Ecuador existen diferentes variedades de cacao, pero la principal variedad exportada mundialmente es el denominado cacao nacional fino de aroma o sabor arriba por sus características organolépticas que presenta. La calidad del grano de cacao depende del proceso postcosecha empleado.

Durante las etapas como la fermentación y secado se forman los precursores del aroma que se desarrollan durante el tostado, los compuestos aromáticos como aminoácidos, pirazinas, furanos contribuyen al típico sabor a chocolate (Hamdouche *et al.*, 2019).

El presente trabajo busca determinar los componentes fenólicos en los diferentes niveles de fermentación y características sensoriales en el tiempo transcurrido.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar los efectos de los diferentes niveles de fermentación en las almendras de cacao nacional fino y de aroma, a través de la experimentación, para mejorar las características organolépticas del chocolate.

Objetivos Específicos

- Analizar las características físico-químicas del mucílago del cacao nacional fino y de aroma.
- Establecer las mejores condiciones de fermentación a través de las características químicas de las almendras de cacao después del proceso de fermentación.
- Evaluar las características organolépticas en los diferentes niveles de fermentación del licor de cacao nacional fino y de aroma.

HIPÓTESIS.

H1: Los diferentes niveles de fermentación tienen una influencia positiva directa sobre las características sensoriales del cacao.

H0: Los diferentes niveles de fermentación no tienen una influencia positiva directa sobre las características sensoriales del cacao.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Producción de las almendras de cacao a nivel mundial

Los países tradicionalmente consumidores de cacao de Europa Occidental (Bélgica, Francia, Alemania, Italia, Suiza y Reino Unido) así como Japón son los principales consumidores de cacao fino o de aroma, mientras que Estados Unidos utilizan este tipo de cacao en menor medida (ICCO, 2021). Ecuador sigue abasteciendo con éxito a los nuevos mercados asiáticos como: Indonesia, Malasia, Japón, China, etc. y compite con países africanos sobre todo con Costa de Marfil, debido al suministro de un producto con buenas características industriales. Por otra parte, Ecuador ha tenido dos años consecutivos de producción exportable récord de 322.000 toneladas durante 2018 - 2019 y 342.000 toneladas en 2019 – 2020 (Fountain & Huetz, 2020).

Actualmente, Ecuador es uno de los principales productores de cacao alcanzando el tercer a nivel mundial, representando el 7 % de la producción total. El continente africano, por su parte, lidera la producción mundial con el 73,3 %, seguido por el continente americano y Asia con el 16.7 % y Oceanía con un 10 % (Miller, 2021).

Una importante ventaja del cacao ecuatoriano es su gran diversidad y riqueza varietal, esto se asocia con el patrimonio y los recursos genéticos, ya que está considerado como el centro de origen genético de la variedad nacional. A su vez cuenta con las condiciones ideales para la producción, que han ayudado a compensar las deficiencias de sus sistemas productivos (Loor *et al.*, 2009).

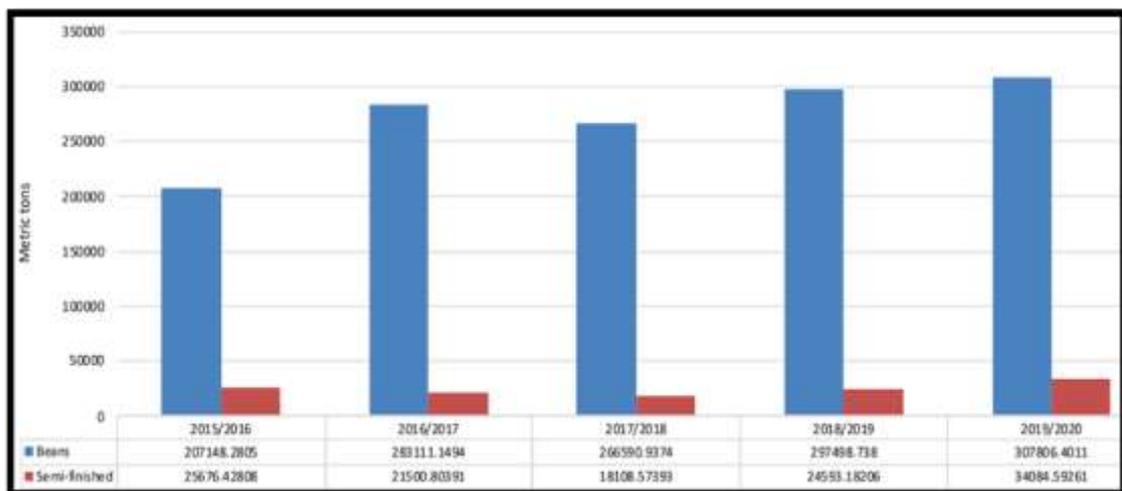


Figura 1. Exportaciones de cacao ecuatoriano 2019 – 2020 (Anecacao, 2021).

1.2 Cacao (*Theobroma cacao* L.)

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un arbusto o árbol tropical perennifolio diploide, corresponde a la familia Malvaceae, nativo del neotrópico húmedo entre las latitudes 20 N y 20 S de la línea ecuatorial, originario de América del Sur y Central, en el piso inferior de la selva tropical de la cuenca del Amazonas (Rusconi & Conti, 2010). Las hojas son perennes y miden hasta unos 300 mm de largo, las flores y frutos (vainas de cacao) crecen próximas al tronco y de las ramas más gruesas (Fowler, 2009).



Figura 2. Cacao (*Theobroma cacao* L.) (Wood & Lass, 2008a)

1.3 Variedades de cacao

Recientemente, diversos estudios científicos han distinguido al menos 10 clusters o grupos genéticos de cacao (Motamayor *et al.*, 2008). Sin embargo, todos estos grupos se clasifican tradicionalmente en dos categorías principales que distinguen al cacao según sus propiedades de sabor en el mercado mundial como son: el cacao fino y de aroma y el cacao a granel (Villacis *et al.*, 2020)

1.3.1 Cacao fino o de aroma

El cacao fino o de aroma se produce exclusivamente a partir de los tipos Criollo, Trinitario y Nacional, conocidos por sus pronunciados sabores “finos” que incluyen a notas frutales, florales, herbáceas, de madera, nueces o caramelo (Chetschik *et al.*, 2018). Para evaluar la calidad del cacao fino y de aroma se utiliza una composición de criterios como: el origen genético, las propiedades morfológicas de las plantas, las características químicas, el sabor, el color de las almendras, además del grado de fermentación, la humedad y acidez (Rivera *et al.*, 2016).

1.3.2 Criollo. Procedentes de Sudamérica del norte y Centroamérica se caracterizan por tener un sabor suave y aromático. Las frutas o vainas poseen una cáscara fina y suave con una superficie texturizada y presentan cierto grado de pigmentación roja (Bhattacharjee, 2018). Las almendras regordetes (cotiledones) suelen ser de color blanco a marfil o púrpura claro debido a la ausencia o baja concentración de antocianinas, esta variedad tiende a presentar susceptibilidad a enfermedades y no son vigorosas (Badrie *et al.*, 2015).

1.3.3 Trinitario. Cultivar híbrido desarrollada a partir de las hibridaciones naturales entre el Criollo y el Amelonado Forastero, originario de la isla Trinidad, es más aromático que el Forastero y presenta mayor resistencia con respecto al Criollo (Morales *et al.*, 2015). Las almendras son de color variable, aunque rara vez blancas, tienen fuertes caracteres básicos de chocolate y un aroma típico de bodega que no se encuentran en otras variedades. (Afoakwa *et al.*, 2008).

1.3.4 Nacional. El cacao nacional considerado un particular grupo genético, es la variedad que ha dado a conocer al Ecuador en los mercados internacionales, sinónimo de aromas y sabores, características que obedecen a las condiciones climáticas – geográficas del lugar de producción, lo cual conlleva a la denominación del cacao fino y de aroma (Abad *et al.*, 2020). Los genotipos nacional producen granos grandes y una pulpa de sabor dulce, las fermentadas tienen baja acidez, poco amargor, y un sabor afrutado y floral similar a violeta, jazmín, lila o incluso el azahar (Boza *et al.*, 2014).

1.3.5 Cacao a granel

Es un cacao con propiedades de sabor medias, se produce principalmente a partir del cacao Forastero. Se emplea para la producción de manteca de cacao y alimentos con una alta concentración a chocolate (León *et al.*, 2016).

1.3.6 Forastero. Producidos en África, Asia, América y Oceanía. Las almendras son relativamente pequeñas y planas, los cotiledones suelen ser de color púrpura, poseen un alto contenido de grasa a diferencia del Criollo y tienen un sabor muy fuerte a chocolate (Arvelo *et al.*, 2017). Esta variedad se caracteriza debido a su alto rendimiento y tolerancia a enfermedades, representa actualmente el 95 % de productividad del cacao a nivel mundial (Iwaro *et al.*, 2003).

1.4 Composición física – química de las almendras de cacao

El fruto del árbol de cacao es botánicamente una drupa indehisciente (vainita), tienen forma ovalada, miden de 12 – 30 cm y contienen de 30 – 40 almendras unidos a un núcleo central o placenta, incrustados en una pulpa mucilaginosa, que comprende aproximadamente el 40 % del peso fresco de la almendra (Schwan & Wheals, 2004).

Las almendras de cacao miden alrededor de 1,5 – 3 cm de largo y 1 – 1,5 cm de ancho, tienen una forma plana y ovoide con un lado fuertemente curvado, rodeada por la pulpa del fruto, unida a una cáscara de la semilla endurecida pero flexible, protegiendo al embrión. El embrión está compuesto en dos grandes cotiledones de almacenamiento, un pequeño hipocótilo, una radícula y el micropilo (Fig. 3) es visible como una joroba circular (Kadow, 2020).

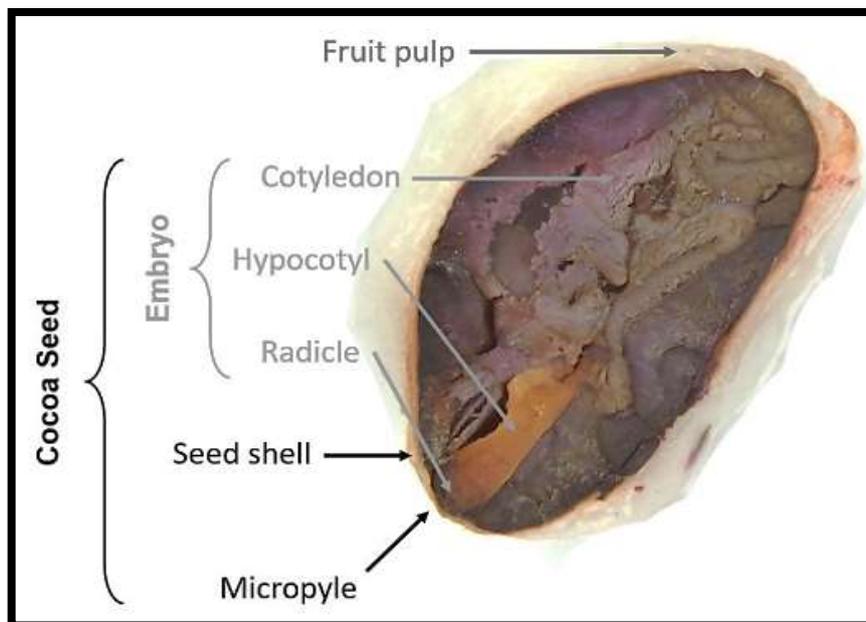


Figura 3. Partes de la semilla del cacao (Kadow, 2020)

La testa (cáscara) actúa como una barrera semipermeable al flujo de sustancias entre la semilla y la pulpa de la fruta. Se ha demostrado que la testa es libremente permeable al agua, etanol, ácido acético, ácido láctico y algunos compuestos orgánicos volátiles (Afoakwa, 2016).

El cotiledón atribuye característicos sabores y aromas a chocolate. Formado por dos tipos de células de almacenamiento de parénquima (Fig. 4). Las células polifenólicas contienen una sola vacuola grande llena de polifenoles y alcaloides entre los que se encuentran la cafeína, teobromina y teofilina (Lopez & Dimick, 1995). Las células de proteínas lipídicas, por otra parte, tienen citoplasma estrechamente empaquetados con

múltiples vacuolas pequeñas de proteínas, lípidos y otros componentes tales como los gránulos de almidón, todos estos componentes juegan un papel en la definición de los caracteres del sabor y aroma del cacao.

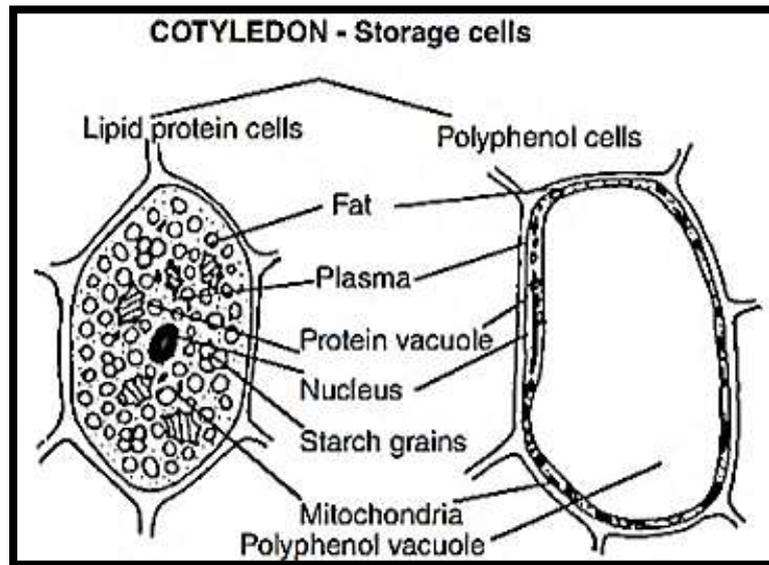


Figura 4. Partes del cotiledón en la almendra de cacao (Lopez & Dimick, 1995).

La composición química de las almendras de cacao suele diferir en base a las condiciones de cultivo, características del suelo, el clima, el lugar de origen y la variedad.

Tabla 1. Composición química de las almendras frescas de cacao (Perea, 2019)

COMPONENTES	PORCENTAJE (%)
Agua	32 – 39
Grasa	30 – 32
Proteínas	10 – 15
Carbohidratos	12 – 14
Polifenoles	5 – 6
Almidón	4 – 6
Celulosa	2 – 3
Teobromina	1 – 2
Ácidos orgánicos	1

1.4.1 Pulpa de cacao: el sustrato fermentativo

La pulpa de cacao es un tejido blando mucilaginoso, azucarado y ácido que recubre las almendras de cacao, lo que la convierte en un medio rico para el crecimiento microbiano. El sustrato de fermentación y su composición (Tabla 2.) es, por tanto, un factor crítico para el resultado de la fermentación. Esta composición hace claramente que la pulpa sea un medio ideal para la proliferación de un conjunto de microorganismos (Ray & Ward, 2008). Las proteínas, aminoácidos, vitaminas y los minerales están presentes también, pero en cantidades menores del 1 %.

Tabla 2. Composición química del mucílago de cacao (Ray & Ward, 2008)

COMPONENTES	PORCENTAJE (%)
Agua	80 – 87
Azúcar	12 – 15
Pentosanos	2 – 3
Ácido cítrico	1 – 3
Pectina	1 – 2

La concentración de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) está en función del grado de madurez del fruto de cacao.

1.5 Métodos de fermentación

1.5.1 Cajones de madera: En este proceso la fermentación se realiza en cajas de madera resistentes con alguna disposición en el suelo para el drenaje de los exudados y el acceso al aire. Para conservar el calor de los granos en la caja se colocan hojas de plátano o arpillera, y se giran todos los días o durante 6-8 días (Wood & Lass, 2008b). En este tipo de fermentador existen dos variables que afectan la fermentación: La profundidad de la masa de almendras, que debe tener un espesor mínimo de 20 cm y la duración de la fermentación, que debe ser la adecuada para el tipo de cacao (Teneda, 2016).

1.5.2 Sacos: La fermentación en bolsas consiste en colocar masa de cacao en bolsas de polipropileno o sacos de yute que se cubren de hojas de plátano, por un lapso de tres días con una remoción de 24 – 48 h. (Sanchez *et al.*, 2019).

1.5.3 Rumas o montones: Se realiza una base con estacas en desnivel, sobre la cual se ponen hojas de plátano perforadas o ramas de palma, en las que se depositan los granos se depositan los granos de cacao fresco, para formar un montón, cuyos diámetro y altura dependen de la cantidad del grano. Realizada la ruma se colocan las hojas de plátano o sacos de yute para conservar la temperatura de la masa (Ganeswari *et al.*, 2015).

1.5.4 Tambor Rotatorio: Puede fermentar 250 kg de cacao, que requiere de un lugar cubierto con ventilación y con un piso que tenga canales para recoger y drenar el exudado, este fermentador puede ser cargado y descargado por una sola persona, que remueve el cacao cada 24 horas sin ayuda, porque las paletas internas hacen todo el trabajo (Teneda, 2016).

1.6 Proceso de fermentación

1.6.1 Fase anaeróbica

Esta fase dura aproximadamente (24 – 48 h), la pulpa que rodea a la almendra de cacao, contiene azúcares principalmente cantidades significativas de glucosa, fructosa y sacarosa. Junto con el pH ácido alrededor de 3.6 se obtienen condiciones de crecimientos ideales para las levaduras entre ellas se encuentran: *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia kluyveri* y *Pichia kudriavzevii* (Hamdouche *et al.*, 2019). El empaquetamiento apretado de la masa (pulpa/almendras) de cacao, junto con la actividad metabólica de las levaduras dan lugar a condiciones anaeróbicas. En consecuencia, las levaduras degradan los azúcares de la pulpa en alcohol, principalmente el etanol (Fig. 5). Además, secretan pectinasa, lo que da como resultado una mayor licuefacción de la pulpa, provocando el drenaje de un líquido conocido como “sudor”, reduciendo la viscosidad y su vez permite la entrada de aire en la masa de fermentación (De Vuyst & Weckx, 2016).

P. kluyveri produce cantidades elevadas de ésteres con aroma afrutado, además, las especies de *Pichia*, *Candida* y las bacterias lácticas hetero-fermentativas metabolizan adicionalmente el ácido cítrico, provocando un ligero aumento de pH en la pulpa, y junto con el incremento de la tensión de oxígeno facilita el desarrollo de las bacterias ácido lácticas BAL (Crafack *et al.*, 2013).

La producción de dióxido de carbono favorece el aumento de las bacterias del ácido láctico (BAL) por parte de las levaduras, procedentes de la autólisis celular durante la fermentación. Las especies más abundantes después de las 24 h son: *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus fermentum* (Camu *et al.*, 2007). La gran mayoría de las BAL aisladas en el proceso de fermentación utilizan la glucosa a través de la vía Embden–Meyerhorf, produce más del 85 % de ácido láctico (Fig. 5). Sin embargo, algunas especies aprovechan la glucosa a través de la ruta del monofosfato de hexosa produciendo solo un 50 % de ácido láctico y otros metabolitos como: etanol, ácido acético, glicerol y manitol (Gutierrez *et al.*, 2022).

1.6.2 Fase aeróbica

Con su creciente de licuefacción, la pulpa de las almendras de cacao se reduce, la temperatura y el nivel del aire aumentan dentro de la masa de fermentación. Con el oxígeno disponible, las acetobacterias o bacterias del ácido acético (BAA) entre ellas se encuentran: *Acetobacter aceti* y *Glucobacter oxidans*, empiezan a dominar esta fase (De Vuyst & Leroy, 2020).

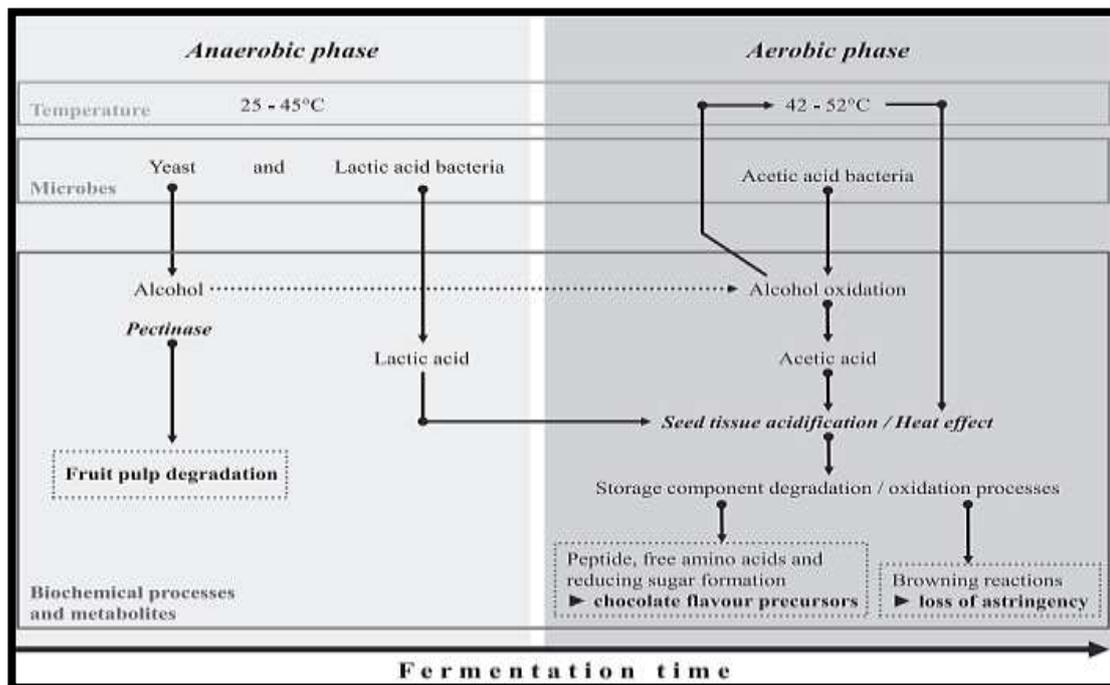


Figura 5. Proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao L*) (Kadow *et al.*, 2015).

El ácido acético se considera uno de los principales metabolitos producidos por una reacción exotérmica que inician con la oxidación del etanol y el ácido láctico por las BAA, alcanzando valores superiores de 48 – 50 ° C. La entrada del ácido acético en las

almendras se produce después de la hinchazón de la almendra y la apertura del micropilo (Fig. 3; Fig.5) (Lieberei *et al.*, 2013).

Junto con el etanol y el ácido acético se difunden en las almendras provocando la muerte del embrión, en consecuencia, se desencadena una actividad endógena por la ruptura de las paredes y membranas celulares importantes para la formación de los precursores del sabor como: aminoácidos libres, péptidos y azúcares reductores, que posteriormente son modificados por la degradación de Strecker y la reacción de Maillard durante el secado y tostado. (Hernández *et al.*, 2016).

1.7 Secado

Los granos de cacao pueden secarse naturalmente o artificialmente, hasta alcanzar el 7% de humedad para continuar con ciertas reacciones bioquímicas que formaran los precursores de sabor. El contenido de humedad en los granos no debe sobrepasar el 8% porque se forman mohos ni tampoco debe ser menor al 6% debido a que los granos se vuelven frágiles y quebradizos (Paredes *et al.*, 2022).

1.7.1 Secado Natural: El secado al sol se realiza extendiendo los granos de cacao sobre esteras de madera, plástico o suelos de hormigón durante el sol donde los granos se voltean regularmente para obtener una buena uniformidad, es necesario que alguien permanezca atento para retirar los granos a la sombra en caso de lluvia. Este método lleva más tiempo de 7 a 22 días y depende de las condiciones meteorológicas (Dzelagha *et al.*, 2020).

1.7.2 Secado Artificial: Se consigue utilizando un ventilador o un secador, para conducir el aire a través de elementos de calefacción que calientan los granos de cacao, secando o reduciendo el contenido de humedad de los granos de cacao (Musa, 2012). Los hornos son secadores sencillos que utilizan el calor para secar los granos de cacao a través del aire caliente externo en el cual se extiende las almendras en bandejas, dejando que el aire penetre a través de un sistema de escaleras de esta forma las almendras no se contaminan con el humo ni absorben sabores y aromas del ambiente (Zulkarnain *et al.*, 2020).

En el transcurso del secado, los polifenoles y algunas proteínas se transforman en aminoácidos libres o se desnaturalizan totalmente (Alean *et al.*, 2016). Asimismo, los contenidos de teobromina y cafeína suelen descender en el proceso de secado (Deus *et*

al., 2018). Durante esta etapa se pierde una parte del ácido láctico, pero la mayor parte del ácido acético se mantiene. Por ello es necesario garantizar que las condiciones iniciales de la fermentación y secado no produzcan un excedente de ácido.

La velocidad de secado es un parámetro crítico que afecta de forma significativa a la calidad final del grano, ya que contribuye a modular el sabor y color marrón típico de los granos correctamente fermentados y a disminuir la acidez. Cuando la temperatura inicial de secado es muy elevada, la cáscara de la semilla se endurece y se une al cotiledón, lo que limita el transporte de oxígeno al interior de la almendra. De esta forma se reduce considerablemente la actividad enzimática de la PPO, evitando la oxidación de las antocianinas y catequinas y su transformación en quinonas, originando almendras violetas de mayor astringencia y amargor (Lasisi, 2014).

1.8 Tostado

El tostado cumple varias funciones físico químicas y sensoriales. Este proceso ayuda a ablandar y separar la testa de los granos de cacao, las vuelve más quebradizas, como preparación a la molienda o prensado, y ante todo, desarrolla más el sabor a cacao o característico a chocolate en función de los compuestos generados en el proceso de fermentación y el secado (Vázquez *et al.*, 2016). En el transcurso del tostado se han identificado cerca de 600 compuestos (Ziegleder, 2017), los cuales se incluyen los alcoholes, éteres, furanos, tiazoles, pironas, ácidos, ésteres, iminas, aminas, oxazoles y pirroles (Frauendorfer & Schieberle, 2008).

En el proceso de tostado, las almendras de cacao secas se calientan a una temperatura ambiente hasta llegar a la temperatura de tostado, comprendidas entre 110 a 160°C (Rojas S *et al.*, 2020). Durante el tueste las reacciones químicas más importantes que afectan a la composición de las almendras son las reacciones de Maillard, caramelización, la oxidación de los lípidos y la degradación oxidativa de los compuestos fenólicos. Cuanto más elevada sea la temperatura de tostado y extenso el tiempo mayor será la disminución de antioxidantes y compuestos fenólicos (Oracz & Nebesny, 2019).

Los granos de cacao en el tostado producen la caramelización de los azúcares presentes. La caramelización se efectúa durante el calentamiento de los carbohidratos (sacarosa y los azúcares reductores) donde la elevada temperatura causa la deshidratación de los azúcares. En el proceso de caramelización, la degradación molecular de los azúcares conlleva al desarrollo de los compuestos aromáticos. Además, en el tostado

puede generarse una deshidratación de los azúcares que producen furfural y sus derivados (Gutiérrez, 2017).

1.8.1 Reacción de Maillard

También conocido como pardeamiento no enzimático es una reacción de oscurecimiento que sucede cuando se exponen los azúcares a temperaturas elevadas, por encima de su punto de fusión, a esta reacción se la conoce también como pirólisis (Arias & López, 2019).

La reacción de Maillard a altas temperaturas en el tostado (135 -150 °C) llega a producir melanoidinas, compuestos de alto peso molecular que tienen la capacidad de conferir el color marrón característico y la textura a los granos de cacao. De los cuales se identifican tres tipos de melanoidinas: los polímeros formados por unidades repetidas de furanos o pirrol enlazadas mediante policondensación; los esqueletos de carbohidratos formados principalmente a partir de productos de degradación del azúcar polimerizados y finalmente las estructuras parecidas a las de las proteínas que provienen de enlaces cruzados entre proteínas y compuestos de bajo peso molecular desarrollados en las etapas avanzadas de las reacciones de Maillard (Oracz & Nebesny, 2019).

La reacción de Maillard en el transcurso del secado y tostado de los granos produce la formación de 2-acetil-1-pirrol y es responsable de aromas deseables en las almendras de cacao del sabor caramelo, chocolate y notas a tostado. Otros compuestos encontrados en el cacao son las pirazinas siendo componentes más potentes debido que cuentan con cualidades olfativas específicas como nuez, a tierra, a tostado y a verde. De la cual el 90% total de las pirazinas estaba representada por la tetrametilpirazina (Rodríguez *et al.*, 2012).

1.9 Química del sabor del Cacao

Diversos compuestos químicos de las almendras de cacao intervienen en la formación de sabores específicos de cacao por los cambios que se generan durante el procesamiento. Estos compuestos son los alcaloides (metilxantinas), polifenoles, proteínas e hidratos de carbono (Fig. 6). La variedad de cacao, las condiciones de cultivo y el medio ambiente son los factores principales que determinan la variación de estos compuestos en la materia prima (Aprotosoai *et al.*, 2016).

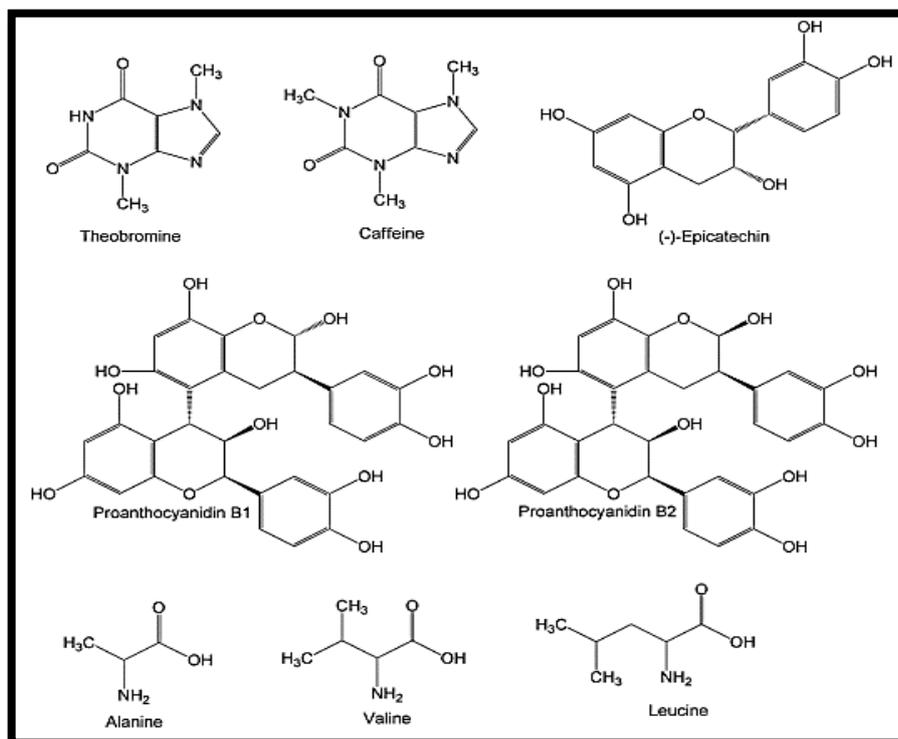


Figura 6. Componentes no volátiles que contribuyen al sabor del cacao (Aprotosoia et al., 2016).

1.9.1 Alcaloides

Las almendras de cacao crudo contienen metilxantinas alrededor del 4 %, la teobromina (3,7-dimetilxantina) es el principal alcaloide del cacao. La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) se encuentra en pequeñas cantidades 0,2 % y la teofilina en forma de trazas. Todos ellos aportan al típico sabor amargo del cacao, así mismo, intervienen en la palatabilidad de los productos alimenticios que lo contienen (Franco *et al.*, 2013).

Junto con los polifenoles las metilxantinas se almacenan en las células poli fenólicas en una única y gran vacuola. El contenido de metilxantinas y la relación teobromina/cafeína varían según el genotipo de cacao. Después de las 72 horas de fermentación el contenido de metilxantinas disminuye gradualmente lo que conduce a una reducción del amargor de aproximadamente el 30 % del contenido inicial. La pérdida de teobromina puede oscilar entre 30 – 40 % mientras que la cafeína disminuye más del 50 %, esta pérdida significativa puede explicarse por la difusión de los alcaloides desde los cotiledones (Nigam & Singh, 2014).

Durante el tueste la teobromina y la cafeína forman aductos con las diquetopiperazinas que proporcionan el amargor específico en los granos tostados. El proceso de alcalinización afecta negativamente al contenido de metilxantinas (Li *et al.*, 2012).

1.9.2 Polifenoles

Las semillas de cacao son una rica fuente de polifenoles (alrededor del 15 % del peso de las almendras secas) parecidos al vino, té o las verduras (Krähmer *et al.*, 2015). Se almacenan en las denominadas “células poli fenólicas”, un tipo de células del parénquima de los cotiledones. Estos compuestos otorgan sensaciones astringentes y amargas que contribuyen significativamente a los sabores verdes y sabores afrutados de los licores de cacao (Noor *et al.*, 2009).

Los polifenoles son los responsables de los beneficios para la salud relacionados al consumo de cacao. Existen tres grupos principales de polifenoles: las catequinas o flavonoles, antocianinas y proantocianinas. Los monómeros representan entre el 5 % y el 10 % del total de polifenoles del cacao y los polímeros representan el 90 % del total de polifenoles del cacao. Las catequinas (aproximadamente del 29 %, al 38 % del total de polifenoles) y están representadas por la epicatequina (hasta el 35 % de polifenoles), la catequina, galocatequina y epigalocatequina, mientras que la antocianina (aproximadamente el 4 % del total de polifenoles) está formada por leucoantocianinas L1, L2, L3 y L4, la cianidina – 3 – α - larabinosida y la cianina – 3 – β – D galactosidad. Las proantocianinas (entre el 58 % y el 65 % del total de polifenoles) contenidas en las almendras de cacao representadas por dímeros, trímeros u oligómeros de flavan -3,4 – dioles unidos por enlaces 4 \rightarrow 8 o 4 \rightarrow 6 (Khan & Nicod, 2013).

El procesamiento de las almendras puede conducir una pérdida significativa de flavonoles (del 100 % al 10 % en el chocolate). Durante el procesamiento, los polifenoles contribuyen complejas reacciones bioquímicas que son esenciales para la formación del sabor y del color de cacao. Como consecuencia de la destrucción celular que se produce en la fermentación, los polifenoles se desprenden de las células de almacenamiento, los glucósidos flavonoides se hidrolizan, las antocianinas se transforman en una pseudobase incolora, las catequinas sufren una oligomerización no enzimática y las proantocianinas se convierten en formas más complejas (Rusconi & Conti, 2010).

1.9.3 Proteínas

Los cotiledones de las almendras de cacao maduras contienen entre 10% y 16 % (peso seco) de proteínas: una fracción de albumina (52 %), y una fracción de globulina (43 %) representada por una globulina de clase vicilina (7S). La proteína globulina está

constituida de 3 subunidades de 47, 31, 15 kDa, respectivamente que se derivan de un precursor común de 66 kDa. La proteólisis enzimática de la globulina, bajo la acción combinada de la endoproteasa aspártica del cacao y la carboxipeptidasa de la serina, origina precursores del sabor específicos del cacao como los oligopéptidos y aminoácidos libres. Las actividades de ambas proteasas dependen del pH (Kratzer *et al.*, 2009).

1.9.4 Carbohidratos

Las almendras de cacao contienen entre un 2 % y 4 % (peso seco) azúcares libres (fructosa, glucosa, sacarosa, galactosa, sorbosa, xilosa, arabinosa, manitol e inositol) y alrededor del 12 % (peso seco) polisacáridos (almidón, pectinas, celulosa, pentosanos y mucílago). En las almendras no fermentadas, la sacarosa constituye alrededor del 90 % de azúcares totales. La pulpa mucilaginosa de las almendras contiene cantidades variables de azúcares (hexosas y sacarosa) y polisacáridos. Durante la fermentación, la sacarosa se convierte en azúcares reductores (fructosa y glucosa) debido a la actividad de la invertasa (Giacometti *et al.*, 2015).

1.10 Componentes volátiles que contribuyen al sabor del cacao

Los compuestos volátiles del cacao se derivan de los precursores aromáticos producidos en el transcurso del proceso fermentativo y el secado de las almendras de cacao. El sabor típico de chocolate se obtiene durante la etapa del tostado a través de la reacción de Maillard y la degradación de Strecker de los precursores del sabor. Se ha determinado alrededor de 600 compuestos volátiles en el sabor de cacao, se consideran principales contribuyentes a los aromas de cacao los aldehídos, cetonas, ésteres, alcoholes, pirazinas, quinoxalinas, furanos, pironas, lactonas, pirroles y los diketopiperazinas (Beckett, 2009)

1.10.1 Alcoholes

Estos compuestos se producen durante la fermentación como resultado de la actividad microbiana, también puede ser el resultado de la degradación por calor de los aminoácidos. Durante el secado y el tostado, la concentración de alcoholes disminuye por degradación química o volatilización. Las altas temperaturas (160 – 170° C) y la duración prolongada del calor favorecen la pérdida de alcoholes (Ramli *et al.*, 2005).

Los alcoholes confieren un aroma afrutado, verde y floral, es apetecible un elevado contenido de alcohol para conseguir productos con aromas florales y de

caramelo. El 2–heptanol confiere un aroma afrutado, herbáceo, floral y picante. El linalol y el 2–feniletanol son los principales alcoholes de los nibs tostados, además, el 2–feniletanol es el compuesto más odorífero en los cacaos secos y fermentados (Rodríguez-Campos *et al.*, 2012).

Durante el tostado, el contenido de linalol disminuye ligeramente, pero la diferencia entre los cacaos de sabor y los básicos se mantiene. La relación linalol/benzaldehído puede utilizarse como índice de sabor, un valor superior a 0,3 indica cacaos típicos de grado fino (Hans & Engel, 2012).

1.10.2 Aldehídos y cetonas

Los compuestos carbonílicos de tipo aldehído son fundamentales para el incremento de un buen sabor a cacao, una alta concentración de aldehídos, así como las cetonas es favorable para la calidad de cacao. Normalmente, se forman por la degradación de Strecker de los aminoácidos libres durante el tostado, sin embargo, pueden surgir bajas concentraciones de aldehídos incluso en el transcurso del proceso fermentativo y del secado (Ho *et al.*, 2014).

El 2 – metilbutanal y el 3 – metilbutanal que surgen durante la fermentación producen notas maltosas y de chocolate en el cacao sin tostar y tostado. Las altas temperaturas y un tostado más prolongado disminuyen el contenido de aldehídos, éstos no sólo son componentes del sabor, sino también reactivos importantes que participan en la formación de compuestos heterocíclicos. Generan, a través de la condensación aldólica, fenilalk–2–enales con una nota floral típica que recuerda bastante al cacao/chocolate. El 5 – metil2–fenil–hexenal presenta una nota profunda de cacao amargo (Kratzer *et al.*, 2009).

1.10.3 Ésteres

Los ésteres son la segunda clase más importante de volátiles después de las pirazinas, predominan los etilos, metilos y acetatos. Confieren un sabor afrutado y son los componentes aromáticos típicos (principalmente acetatos) en los cacaos sin tostar que surgen de los aminoácidos. El 2 – feniletacetato como notas florales y de miel, es el principal responsable del aroma característicos del licor las altas temperaturas durante el tostado afectan negativamente el contenido de éteres (Jinap *et al.*, 1998).

1.10.4 Pirazinas

Estos compuestos son las principales clases de volátiles heterocíclicos y los principales componentes del aroma, presentan aromas a nuez, tierra, tostado y verde, alrededor de 80 pirazinas contribuyen al sabor general de cacao. Se trata de alquilpirazinas y la tetrametilpirazinas y la trimetilpirazina son las más importantes, éstas presentan notas de nuez, hierba y cacao persistentes y la tetrametilpirazina tiene propiedades de potenciación del sabor cacao (Semmelroch & Grosch, 1996). Así mismo, las pirazinas pueden surgir durante el proceso de secado a través de la reacción de Maillard iniciadas por un descenso del contenido de humedad u temperaturas de 30 – 50° C (Puziah *et al.*, 1999)

1.10.5 Ácidos

Durante la fermentación, la concentración de ácidos orgánicos aumenta como resultado del metabolismo de azúcar, el ácido acético con un aroma agrio y parecido al de vinagre, se considera un compuesto de mayor actividad olorosa en las almendras fermentadas y sin tostar. Además, el ácido acético, con otros ácidos carboxílicos de cadena corta (isobutírico, isovalérico y propiónico) predominan en las almendras de cacao fermentados. Producen notas de mal olor (rancio, mantequilla y jamón) y se eliminan durante las etapas de tostado y conchado (Páramo *et al.*, 2010).

Una fermentación prolongada (más de 6 días) aumenta el nivel de ácidos orgánicos y sus notas de mal sabor, el secado reduce el contenido de ácidos grasos volátiles como los ácidos: acético, propiónico, butírico e isobutírico. El tostado de las almendras de cacao entre 110 – 140° C durante 5 – 30 min. aumenta el nivel de fenoles (Stahl *et al.*, 2009).

1.10.6 Otros componentes

Los furanonas y pironas se generan durante el secado y el tostado a través de la degradación de los monosacáridos, las temperaturas moderadas y las humedades relativamente altas favorecen su formación. El tostado a 130° C durante 20 min. es la condición óptima para la producción de pironas y furanonas. Los compuestos más importantes son el furaneol 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H) furanona; el hidroximaltol (3,5-dihidroxi-6-metil-4-pirona), el dihidroximaltol y el cicloteno (2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenteno-1-ona). Confieren agradables notas de caramelo y mejoran la impresión

del sabor (Kothe *et al.*, 2013). El proceso de alcalinización destruye esos compuestos, el 2 – acetil – 1 pirrol se produce durante el secado y el tostado a través de las reacciones de Maillard y la degradación de Strecker a partir del aminoácido prolina. Confiere notas deseables de caramelo, chocolate y tostado (Torres-Moreno *et al.*, 2012).

1.11 Licor de cacao

El licor de cacao es una masa líquida pura de cacao. Se obtiene a través de las almendras fermentadas (nibs) mediante la producción del calor en el transcurso del proceso del molido para la elaboración de la pasta/licor de chocolate, que libera calor para aumentar la temperatura por encima de 34° C. Contiene sólidos y manteca de cacao en una proporción aproximadamente igual a la del producto final. Se calcula que alrededor del 65 % de la molienda se transforma en un 55 % de torta (polvo) y en un 45 % de mantequilla. El otro 35 % se transforma en licor de cacao y se utiliza en su totalidad directamente para la fabricación de chocolate (Farah *et al.*, 2012).

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Ubicación de la Investigación Experimental

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de investigación de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud de la Carrera de Ingeniería en Alimentos de la Universidad de Machala ubicada en la av. Panamericana Km.5 ½ vía Machala - Pasaje de la provincia de El Oro.

2.2 Preparación de la materia prima

Se cosecharon las vainas de cacao de la variedad nacional en la finca “Los Naranjos” ubicada en el Cantón Camilo Ponce Enríquez, provincia del Azuay. Las mazorcas de cacao fueron seleccionadas de acuerdo a su estado de madurez. Luego las vainas respectivamente se partieron y se fermentaron utilizando el método tradicional.

2.3 Análisis físico – químico del mucílago de cacao nacional

2.3.1 Determinación de pH por potenciometría

Las almendras de cacao previamente extraídas de las mazorcas, se colocan en una malla de polipropileno y se exprimen para la obtención del mucílago. Luego en un vaso de precipitación de 100 ml se colocan entre 5 – 10 ml de la muestra, se introduce el electrodo previamente calibrado el pH metro (STARTER 5000 marca OHAUS). (INEN-ISO 1842, 2013)

2.3.2 Determinación de sólidos solubles por Refractometría

Para determinar la cantidad de sólidos solubles se coloca unas gotas del mucílago extraído previamente, en el prisma principal y se pulsa el botón de lectura del refractómetro digital (MA871, Milwaukee) (INEN 380, 1985)

2.3.3 Determinación de acidez por Volumetría

En un matraz Erlenmeyer 250 ml, previamente tarado, se coloca de 3 a 5 ml del mucílago y 50 ml de agua destilada se halla su equivalencia en peso, finalmente se agrega 3 gotas de fenolftaleína, agitar la muestra para hacer una disolución y se procede a titular con una solución 0,1 N de NAOH, hasta conseguir una coloración rosa pálido (Rodríguez, 2017).

2.3.4 Determinación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico

DNS

En tubos de ensayo 10 ml se colocan 0,25 µl del mucílago de cacao y 0,25 µl del reactivo. Luego se llevaron las muestras a un baño de agua a 100° C * 5 minutos. Por último, las muestras se enfrían y se coloca 2,5 ml de agua destilada. Se procede a realizar la lectura a 540 nm en el espectrofotómetro UVmini-1240 marca SHIMADZU (Negrulescu *et al.*, 2012).

2.4 Fermentación de las almendras de cacao

La fermentación se llevó a cabo en el Cantón Camilo Ponce Enríquez, situada en la provincia del Azuay. Las vainas se cosecharon y mediante procedimientos tradicionales se abrieron manualmente con un machete y se extrajeron las almendras. Se recolectó un lote de cacao nacional con un peso inicial de 12,73 kg distribuido en 7 fundas de polipropileno cada una con un peso de 1,82 kg de las almendras frescas. Para llevar a cabo los distintos niveles de fermentación. La fermentación duró un total de 17 días como se muestra en la (Fig. 7). En la fermentación acética se aplicó la técnica del volteo después de 12h en cada muestra.

Tras el proceso de fermentación las almendras se secaron al sol durante quince días dependiendo del tiempo.

Figura 7. Cronograma del proceso de fermentación (anaeróbica y aeróbica) en las almendras de cacao nacional

FERMENTACIÓN DEL CACAO NACIONAL								
# DÍA		3/2	4/3	5/4	6/5	7/6	8/7	9/8
1	25/8/2021	X	X	X	X	X	X	X
2	26/8/2021	X	X	X	X	X	X	X
3	27/8/2021	X	X	X	X	X	X	X
4	28/8/2021	Y	X	X	X	X	X	X
5	29/8/2021	Y	Y	X	X	X	X	X
6	30/8/2021		Y	Y	X	X	X	X
7	31/8/2021		Y	Y	Y	X	X	X
8	1/9/2021			Y	Y	Y	X	X
9	2/9/2021			Y	Y	Y	Y	X
10	3/9/2021				Y	Y	Y	Y
11	4/9/2021				Y	Y	Y	Y
12	5/9/2021					Y	Y	Y
13	6/9/2021					Y	Y	Y
14	7/9/2021						Y	Y
15	8/9/2021						Y	Y
16	9/9/2021							Y
17	10/9/2021							Y

X Fermentación alcohólica

Y Fermentación acética

2.4.1 Control de temperatura

La temperatura de la masa de fermentación y su temperatura circundante se registraron durante los 17 días de fermentación utilizando un termómetro de mercurio Alla France.

2.5 Análisis físico – químico de las almendras de cacao después del proceso de fermentación y secado

2.5.1 Determinación del pH por potenciometría

Se homogenizaron aproximadamente cinco gramos de almendras molidas de cacao en 45 ml de agua caliente destilada. La mezcla se filtró con papel de filtro y se dejó enfriar a 25° C. A continuación, se introduce el electrodo previamente calibrado el pH metro (STARTER 5000 marca OHAUS) (Nazaruddin *et al.*, 2006).

2.5.2 Determinación de acidez titulable por Volumetría

Luego de realizar el proceso que se describe en el apartado anterior, se titula la muestra usando una bureta de 25 ml con hidróxido de sodio 0,1 N y se agrega 3 gotas de fenolftaleína, hasta un punto final de pH 8.2 (Nazaruddin *et al.*, 2006).

2.5.3 Determinación de polifenoles totales por el método Folin–Ciocalteu

El análisis de polifenoles totales se efectuó por el método Folin–Ciocalteu, consiste en la interacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo Folin–Ciocalteu en un medio básico dando lugar a una coloración azul, determinada espectrofotométricamente a 765 nm. El reactivo es una mezcla de wolframato sódico y molibdato de sodio en ácido fosfórico. El ácido fosfomolibdico tungstíco obtenido, presenta una coloración amarilla, una vez reducido por los grupos fenólicos, forma un color azul intenso, el cual se utiliza para evaluar el contenido de polifenoles. Para la identificación de los fenoles totales se mezclan 50 µl de muestra, 1000 µl de solución del reactivo (1:10 V/V) y 500 µl de carbonato sódico (7,5 %). La mezcla se homogeniza y se lleva a 45° C por 30 min. la absorbancia se mide a 765 nm. La absorbancia total de cada muestra se compara con la curva de calibración estándar de ácido gálico (40 – 200 mg/L) (Ortiz *et al.*, 2019).

2.5.4 Determinación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico

DNS

En tubos de ensayo 10 ml se coloca 0,25 µl de muestra y 0,25 µl del reactivo. Luego se llevaron las muestras a un baño de agua a 100° C * 5 minutos. Por último, las muestras se enfrían y se colocan 2,5 ml de agua destilada. Se procede a realizar la lectura a 540 nm en el espectrofotómetro UVmini-1240 marca SHIMADZU (Negrulescu *et al.*, 2012).

2.6 ANALISIS ESTADÍSTICO

2.6.1 Diseño factorial de 3 niveles: 3 ^ 2

La influencia de la temperatura y el tiempo de fermentación sobre el contenido de polifenoles totales fue estudiada empleando un diseño de tres niveles factoriales: 3 ^ 2 el cuál se analizaron los efectos de 2 factores en 9 ejecuciones. El análisis estadístico se desarrolló empleando el software STATGRAPHICS Centurion XVI (Trial versión).

2.7 EVALUACIÓN SENSORIAL

Se evaluó los principales aspectos en las diferentes muestras del licor de cacao como: aroma, amargor, astringencia, sabor a chocolate y post gusto, para determinar cuál de las 7 muestras tiene la fermentación ideal en las almendras de cacao, en la cual se obtiene una pasta de excelente calidad. Para la evaluación se les facilitó a los 14 panelistas semi entrenados una taza de chocolate por cada tratamiento.

2.8 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

2.8.1 Materiales de Laboratorio

bureta	embudos
vaso de precipitación 250 y 50 ml	papel filtro
probeta 250 y 1000 ml	Reactivos
cristalizadores	Agua destilada
matraz Erlenmeyer 150ml	NaOH 0.1N
crisoles	Fenolftaleína
capsulas de porcelana	Acido 3,5 – dinitrosalicílico (DNS)
varilla de agitación	Equipos
mortero con pistilo	Estufa
espátula	pH metro
soporte y pinza para bureta	Balanza analítica
pinzas para crisol	Refractómetro
	Desecador
	Mufla

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización física – química del mucílago de cacao

En la tabla 3, se presentan valores de pH los cuales indican que existe una alta concentración de acidez, principalmente por la existencia de ácido cítrico, junto con los niveles bajos de oxígeno, favorecen la colonización de las levaduras. Datos similares reporta Lagunes *et al.*, 2007. También los valores de sólidos solubles, coinciden con lo reportado por (Homem *et al.*, 2017) estos factores propician el desarrollo de los microorganismos involucrados en el proceso de fermentación. Sin embargo, difieren con los datos presentados por (Alava, 2020), donde se reportan los porcentajes de acidez de 0.54 y azúcares reductores 11,36 %, según su informe señala que las diferencias encontradas en la variedad nacional, podrían radicar en diversos aspectos como: las condiciones climáticas, la época de cosecha, el lugar de siembra, el tratamiento del suelo, el estado de madurez de las vainas, el manejo de cosecha y post cosecha.

Tabla 3. Caracterización física - química del mucílago de cacao.

pH	3.00 ± 0.03
Brix	18.00 ± 0.08
Acidez (%)	1.02 ± 0.07
Azúcares reductores (mg/g)	11.52 ± 0,10

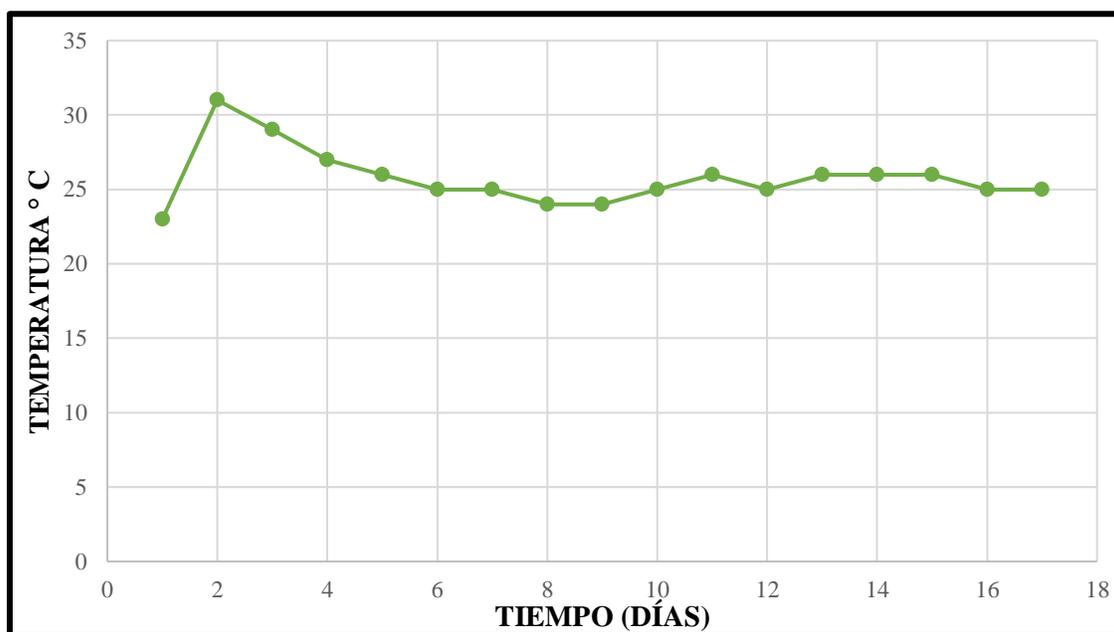
3.2 Caracterización física – química de las almendras de cacao durante y después del proceso de fermentación y secado

3.2.1 Temperatura

En la figura 8. Se presenta la temperatura durante los 17 días del proceso de fermentación en los 7 tratamientos, que osciló entre 23 – 31° C en temporada de verano, siendo la temperatura ambiente entre 21° C – 26 ° C. Durante los dos primeros días, la

temperatura de la masa osciló entre 24° C y 31° C; al tercer y cuarto día la temperatura disminuye de 29 – 27° C, después del quinto día las temperaturas fueron de 24 – 26° C hasta el final del proceso. El aumento de temperatura es causado por la energía liberada de la reacción exotérmica de la conversión de etanol en ácido acético por las bacterias del ácido acético, esto provoca además de la muerte del embrión cambios en la estructura del tejido del cotiledón (Nielsen *et al.*, 2007).

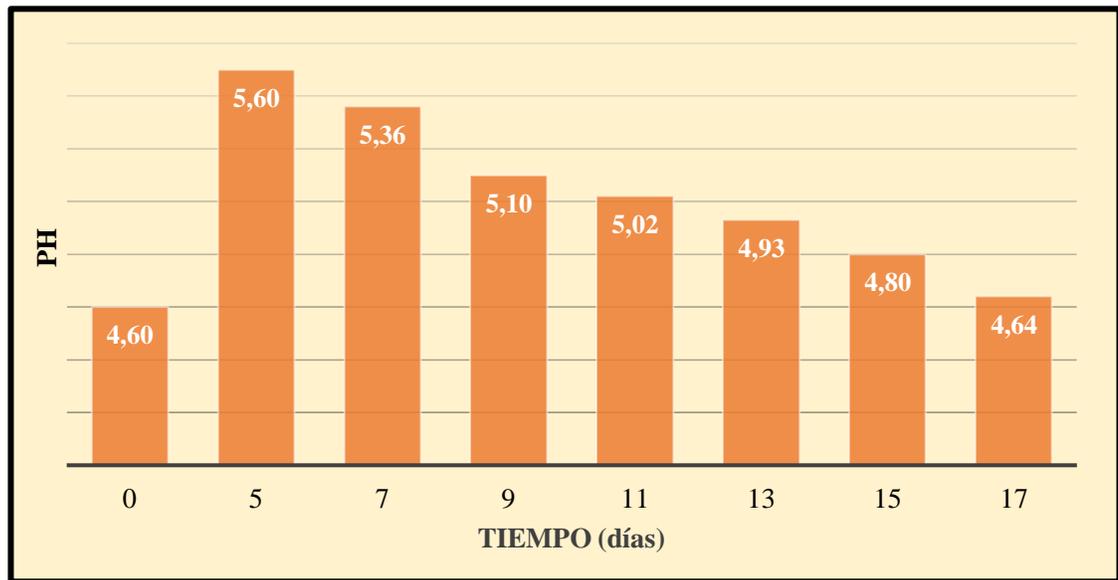
Figura 8. Temperatura durante el proceso de fermentación de las almendras de cacao.



3.2.2 Análisis del pH

En la figura 9 se reportan los valores de pH después del proceso de fermentación y del secado. Según lo reportado por (Delgado-Ospina *et al.*, 2020), los resultados difieren a la muestra 1 ya que menciona que los valores superiores a pH 5.5 puede indicar una fermentación inadecuada o incompleta a excepción de las demás muestras que oscila entre 4.80 – 5.36 contienen una acidificación moderada, provocando una proteólisis específica en las proteínas de almacenamiento dando lugar a un cacao con mayor potencial de aroma y sabor. En donde la calidad del cacao crudo depende de la acidificación de las almendras de cacao durante el proceso fermentativo.

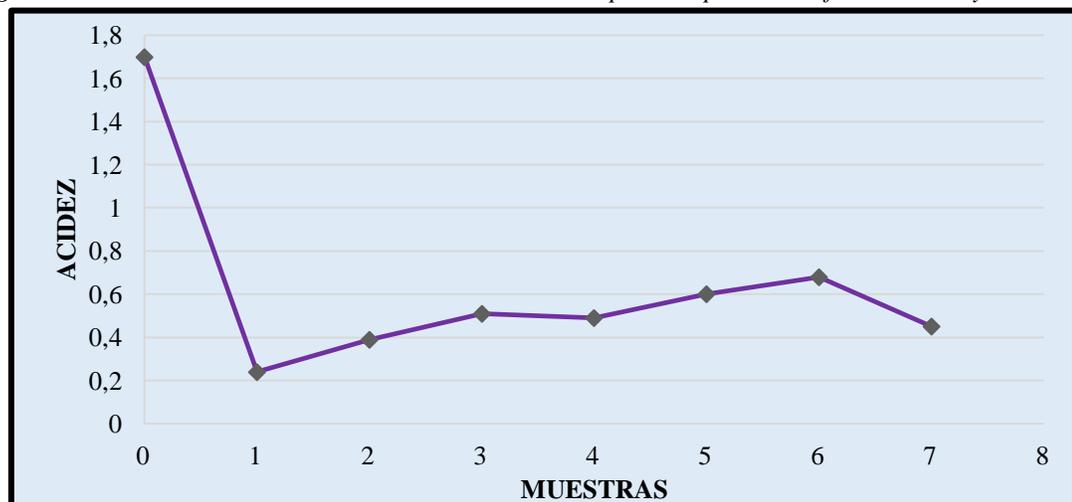
Figura 9. Análisis de pH después del proceso de fermentación y del secado.



3.2.3 Acidez

En la figura 10 se presentan los porcentajes de acidez en las almendras de cacao fermentadas y secadas. Estos valores fueron similares a los presentados por Thompson 2001, menciona que los niveles bajos de acidez se deben principalmente por la técnica de volteo en las almendras, lo que provoca una disociación del mucílago, y favorece a que las bacterias del ácido acético oxiden el azúcar en etanol y luego en acetato, que se volatiliza mucho en condiciones aeróbicas o de secado. A su vez, se obtiene una mejor calidad de cacao con menos acidez y un mayor porcentaje de almendras de color marrones.

Figura 10. Análisis de acidez de las almendras de cacao después del proceso de fermentación y del secado.



3.2.4 Azúcares Reductores

La Figura 11, presenta los resultados de azúcares reductores después del proceso de fermentación y del secado, para las muestras 3, 4 y 5 con un contenido mayor de 14 mg/g de azúcares reductores y la muestra 1 con 11.7 mg/g de azúcares reductores. Estos valores fueron similares a los presentados por (Crafack *et al.*, 2014) menciona que, el cacao fermentado y seco contiene cantidades sustanciales de azucars reductores por la inversión enzimática de la sacarosa en glucosa y fructosa durante la fermentación.

Figura 11. Análisis de Azúcares Reductores después del proceso de fermentación y del secado.



3.2.5 Contenido de Polifenoles Totales

En la tabla 4. Se presenta los resultados que se llevaron a cabo en el laboratorio Santa Catalina de INIAP – Quito, se realizó el estudio del contenido de polifenoles totales en las 8 muestras del licor de cacao de la variedad nacional. La reducción de los compuestos fenólicos observados previamente en las muestras 1, 2 y 6 es causado por un fenómeno que atribuye generalmente a la oxidación y degradación térmica de los compuestos fenólicos naturales como los flavonoles y las procianidinas.

A su vez, el aumento significativo de los compuestos fenólicos, en las muestras 3, 4, 5 y 7, podría explicarse por la degradación de la estructura celular durante el tratamiento térmico y en consecuencia la liberación de los compuestos ligados, es decir, en las almendras

de cacao fermentadas y secadas, los compuestos fenólicos podrían estar vinculados a las proteínas y a los polisacáridos de la pared celular lo que dificulta su liberación, además Suazo *et al.*, 2014, menciona que el aumento del contenido polifenólico después del tostado se debe también por la polimerización o condensación de los flavonoles y las antocianinas.

Tabla 4. Análisis de Polifenoles totales del licor de cacao de la variedad nacional

Muestras	Compuestos Fenólicos Totales mg Ac. Gálico/g
0	114.83
1	37.32
2	40.50
3	49.11
4	49.61
5	45.11
6	40.16
7	49.42

En la tabla 5. Se presenta el análisis de varianza realizadas a las muestras del licor de cacao, donde se pudo evidenciar que el factor que ejerce una influencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) sobre la reducción del contenido de polifenoles totales es el tiempo de fermentación, con un 95 % del nivel de confianza. Rohan, 1958, establece que la variación del contenido fenólico no se atribuye al origen, sino que influye directamente el proceso de fermentación por lixiviación y por la actividad de la enzima polifenol oxidasa que actúa durante los primeros días de fermentación.

Tabla 5. Análisis de Varianza para Compuestos polifenoles totales del cacao nacional

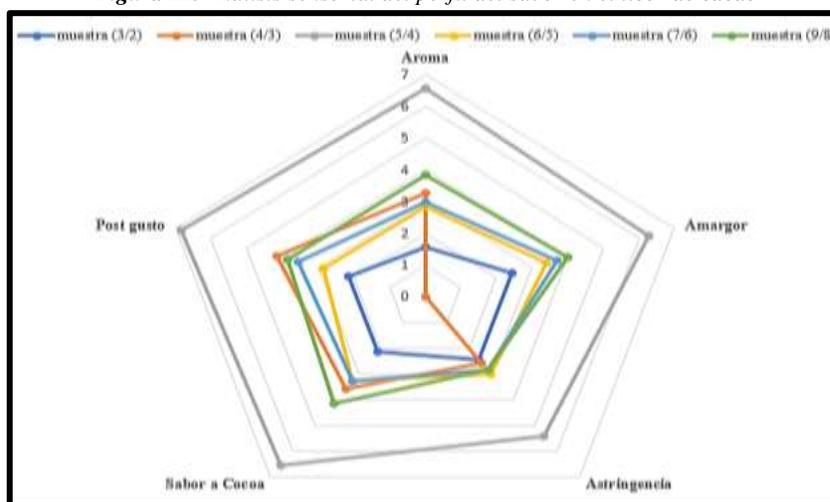
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: TIEMPO	58,9756	2	29,4878	48,52	0,0016
B: TEMPERATURA	0,968889	2	0,484444	0,80	0,5113
RESIDUOS	2,43111	4	0,607778		
TOTAL (CORREGIDO)	62,3756	8			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

3.4 Análisis sensorial

En la figura 12. La evaluación sensorial realizadas por un panel semi entrenado reveló un fuerte aroma a cacao, a partir de las muestras 2 - 6, obtenidos a un pH de 4.8 a 5.3 mientras que sólo se detectó un débil aroma de cacao en el tratamiento 7 formadas a un pH de 4.6. Y por último la muestra 1 obtuvo un pH de 5.6 en la cual no se formaron precursores aromáticos específicos del cacao ni del chocolate. El resultado de los análisis sensoriales aplicados en las diferentes muestras demostró claramente que los precursores de los componentes aromáticos específicos del cacao se generaron mediante la proteólisis de la globulina por una mezcla de proteasa aspártica y carboxipeptidasa (Puyutaxi *et al.*, 2015).

Figura 12. Análisis sensorial del perfil del sabor en el licor de cacao



4. CONCLUSIONES

- Las características físico – químicas analizadas en el mucílago fresco del cacao nacional poseen características idóneas, contienen sólidos solubles 18 ± 0.08 , con un de pH 3.00 ± 0.03 y azúcares reductores 11.52 ± 0.10 mg/g, estos valores nos proporcionan las mejores condiciones para que se lleve a cabo el proceso de fermentación.
- Se determinó que el contenido de polifenoles totales en los diferentes niveles de fermentación se redujo significativamente en la muestra 1 con 37.32 mg Ac. Gálico/g estos valores nos indican que los factores como: el proceso de fermentación, secado y tostado reducen dicho contenido, lo que puede ser causado por las altas temperaturas y el tiempo del tueste, induciendo a la degradación de los compuestos fenólicos disponibles en los componentes del cacao. Mientras que, las demás muestras sufren un aumento del contenido fenólico alrededor de 40.50 – 49.61 mg Ac. Gálico/g estos resultados se deben por la polimerización o condensación de los flavonoles y las antocianinas.
- De acuerdo a la evaluación sensorial se determinó que ciertos atributos de las almendras de cacao como el sabor y aroma a chocolate, la pasta de cacao obtenida a través de la fermentación de las almendras presentaron tonalidades florales con intenso sabor a chocolate, otra variable relevante dentro de este proceso es la temperatura del tueste, puesto que a mayor temperatura se destacan ciertas tonalidades.
- Se concluye que la muestra 3 (5/4) cumple con los parámetros establecidos en los atributos sensoriales del chocolate, debido a su contenido de astringencia y amargor por la presencia de los alcaloides y flavonoles específicamente, según en la literatura se encuentran la teobromina, la cafeína, la catequina y la teofilina. El aroma está vinculado también a la proteólisis de la globulina por una mezcla de proteasa aspártica y carboxipeptidasa donde se desarrolla a pH de 4.8 y 5.3 resultando un chocolate con altos niveles aromáticos.

5. RECOMENDACIONES

- Se recomienda establecer el tiempo de vida útil en las diferentes muestras de la pasta de cacao de variedad nacional, sin que se presente ningún cambio en sus propiedades físico químicas y sensoriales.
- Así mismo, con respecto al proceso de tostado, se deben tomar muestras a diferentes temperaturas para determinar si hay diferencias significativas y analizar los compuestos volátiles más destacados.
- Se recomienda utilizar otros métodos de fermentación como: cajones de madera, sacos, apilamiento o montones y tambor rotario, aplicando los diferentes niveles de fermentación para conocer la influencia entre el método tradicional que aplicamos en este estudio (fundas de polipropileno).

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abad, A., Acuña, C., & Naranjo, E. (2020). *El cacao en la Costa ecuatoriana : estudio de su dimensión cultural y económica*. 7(7), 59–83. <https://doi.org/https://doi.org/10.32719/25506641.2020.7.3>
- Afoakwa, E. O. (2016). Cocoa bean composition and chocolate flavour development. *Chocolate Science and Technology*, 80–101.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., Ryan, A., Ohene, E., Paterson, A., Fowler, M., Ryan, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). *Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate : A Critical Review Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate : A Critical Review*. 8398. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>
- Alava, W. (2020). *Caracterización Física - Química del mucílago de cacao (Theobroma cacao L) con énfasis en los azúcares que los componen*.
- Alean, J., Chejne, F., & Rojano, B. (2016). Degradation of polyphenols during the cocoa drying process. *Journal of Food Engineering*, 189, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.026>
- Anecacao. (2021). RECORD PRODUCCIÓN Y EXPORTACIÓN. *Anecacao*, 1–32. www.anecacao.com
- Aprotosoai, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Arias, S., & López, D. M. (2019). Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria. *Lámpsakos*, 22, 123–136. <https://doi.org/10.21501/21454086.3252>
- Arvelo, M., González, D., Maroto, S., Delgado, T., & Montoya, P. (2017). *Manual Técnico del Cultivo de Cacao Prácticas Latinoamericanas* (M. Arvelo (ed.)). <https://repositorio.iica.int/handle/11324/6181>
- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E., & Sikora, M. (2015). Cocoa Agronomy, Quality, Nutritional, and Health Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5), 620–659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.669428>
- Beckett, S. (Ed). (2009). *INDUSTRIAL CHOCOLATE* (Stephen T. Beckett (ed.)). John Wiley & Sons.
- Bhattacharjee, R. (2018). *Taxonomy and classification of cacao*. August, 3–18. <https://doi.org/10.19103/as.2017.0021.01>
- Boza, E. J., Motamayor, J. C., Amores, F. M., Cedeño-Amador, S., Tondo, C. L., Livingstone, D. S., Schnell, R. J., & Gutiérrez, O. A. (2014). Genetic characterization of the cacao cultivar CCN 51: Its impact and significance on global cacao improvement and production. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(2), 219–229. <https://doi.org/10.21273/jashs.139.2.219>

- Camu, N., De Winter, T., Verbrugge, 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>
- Chetschik, I., Kneubühl, M., Chatelain, K., Schlüter, A., Bernath, K., & Hühn, T. (2018). Investigations on the Aroma of Cocoa Pulp (*Theobroma cacao* L.) and Its Influence on the Odor of Fermented Cocoa Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(10), 2467–2472. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05008>
- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Saerens, S., Blennow, A., Skovmand-Larsen, M., Swiegers, J. H., Petersen, G. B., Heimdal, H., & Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, *63*, 306–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.032>
- Crafack, M., Mikkelsen, M. B., Saerens, S., Knudsen, M., Blennow, A., Lowor, S., Takrama, J., Swiegers, J. H., Petersen, G. B., Heimdal, H., & Nielsen, D. S. (2013). Influencing cocoa flavour using *Pichia kluyveri* and *Kluyveromyces marxianus* in a defined mixed starter culture for cocoa fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, *167*(1), 103–116. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.024>
- De Vuyst, L., & Leroy, F. (2020). Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes. *FEMS Microbiology Reviews*, *44*(4), 432–453. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa014>
- De Vuyst, L., & Weckx, S. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*, *121*(1), 5–17. <https://doi.org/10.1111/jam.13045>
- Delgado-Ospina, J., Di Mattia, C. ., Paparella, A., Mastrocola, D., Martuscelli, M., & Chaves-Lopez, C. (2020). Effect of Fermentation , Drying and Roasting on Colombian Criollo Cocoa Beans and Shells. *Foods*, *9*(520), 1–20. <https://doi.org/10.3390/foods9040520>
- Deus, V. L., de Cerqueira E Silva, M. B., Maciel, L. F., Miranda Rodrigues, L. C., Hirooka, E. Y., Soares, S. E., de Souza Ferreira, E., & da Silva Bispo, E. (2018). Influence of drying methods on cocoa (*Theobroma cacao* L.): Antioxidant activity and presence of ochratoxin A. *Food Science and Technology (Brazil)*, *38*, 278–285. <https://doi.org/10.1590/fst.09917>
- Dzelagha, B. F., Ngwa, N. M., & Bup, D. N. (2020). A review of cocoa drying technologies and the effect on bean quality parameters. *International Journal of Food Science*, *2020*, 2–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8830127>
- Farah, D., Zaibunnisa, A., Misnawi, J., & Zainal, S. (2012). Effect of Roasting Process on the Concentration of Acrylamide and Pyridines in Roasted Cocoa Beans from Different Origins. *Apacbee Procedia*, *4*, 204–208. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.11.034>
- Fountain, A. C., & Huetz, F. (2020). *Barómetro del Cacao 2020*. 1–120. <https://voicenetwork.cc/cocoa-barometer/>

- Fowler, M. S. (2009). Cocoa Beans: From Tree to Factory. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition*. <https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch2>
- Franco, R., Oñatibia-Astibia, A., & Martínez-Pinilla, E. (2013). Health benefits of methylxanthines in cacao and chocolate. *Nutrients*, 5(10), 4159–4173. <https://doi.org/10.3390/nu5104159>
- Frauendorfer, F., & Schieberle, P. (2008). Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10244–10251. <https://doi.org/10.1021/jf802098f>
- Ganeswari, I., Khairul Bariah, S., Amizi, M. A., & Sim, K. Y. (2015). Effects of different fermentation approaches on the microbiological and physicochemical changes during cocoa bean fermentation. *International Food Research Journal*, 22(1), 70–76.
- Giacometti, J., Mazor Jolić, S., & Josić, D. (2015). The Impact of Variety, Environment and Agricultural Practices on Catechins and Caffeine in Plucked Tea Leaves. *Processing and Impact on Active Components in Food*, 597–603. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00072-X>
- Gutierrez, G., Suárez, M., Hernández, Z., Castellanos, O., Alonso, R., Rayas, P., Cano, C., Figueroa, C., & González, O. (2022). Yeasts as Producers of Flavor Precursors during Cocoa Bean Fermentation and Their Relevance as Starter Cultures: A Review. *Fermentation*.
- Gutiérrez, T. J. (2017). State-of-the-Art Chocolate Manufacture: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1313–1344. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12301>
- Hamdouche, Y., Meile, J. C., Lebrun, M., Guehi, T., Boulanger, R., Teyssier, C., & Montet, D. (2019). Impact of turning, pod storage and fermentation time on microbial ecology and volatile composition of cocoa beans. *Food Research International*, 119(March 2018), 477–491. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.001>
- Hans, S., & Engel, K. (2012). Analysis and stereodifferentiation of linalool in Theobroma cacao and cocoa products using enantioselective multidimensional gas chromatography. *European Food Research and Technology*, 8. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1812-x>
- Hernández, C., López, P., Ramírez, M., Ramírez, D., & Caballero, J. . (2016). *Evaluation of different fermentation processes for use by small cocoa growers in Mexico*. January. <https://doi.org/10.1002/fsn3.333>
- Ho, V. T. T., Zhao, J., & Fleet, G. (2014). International Journal of Food Microbiology Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 72–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.014>
- Homem, A., Quintino, R., Andrade, S., & Moreira, S. (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*. <https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1274>

- ICCO. (2021). *Fine or flavor Cocoa*. International Cocoa Organization. <https://www.icco.org/fine-or-flavor-cocoa/>
- INEN-ISO 1842. (2013). Productos Vegetales y de Frutas - Determinación de pH (IDT). *Instituto Ecuatoriano de Normalización*.
- INEN 380. (1985). Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Metodo Refractométrico. *Instituto Ecuatoriano De Normalización*, 1–9. www.inen.gob.ec
- Iwaro, A. D., Bekele, F. L., & Butler, D. R. (2003). Evaluation and utilisation of cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm at the International Cocoa Genebank, Trinidad. *Euphytica*, *130*(2), 207–221. <https://doi.org/10.1023/A:1022855131534>
- Jinap, S., Rosli, W. I. W., Russl, A. R., & Nordin, L. M. (1998). Effect of Roasting Time and Temperature on Volatile Component Profiles during Nib Roasting of Cocoa Beans (*Theobroma cacao*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *441*.
- Kadow, D. (2020). The biochemistry of cocoa flavor – A holistic analysis of its development along the processing chain. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *93*, 300–312. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2020.093.037>
- Kadow, D., Niemenak, N., Rohn, S., & Lieberei, R. (2015). LWT - Food Science and Technology Fermentation-like incubation of cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) e Reconstruction and guidance of the fermentation process. *LWT - Food Science and Technology*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.015>
- Khan, N., & Nicod, N. M. (2013). Biomarkers of cocoa consumption. *Chocolate and Health*, 33–40. https://doi.org/10.1007/978-88-470-2038-2_3
- Kothe, L., Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*, *141*(4), 3656–3663. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.049>
- Krähmer, A., Engel, A., Kadow, D., Ali, N., Umaharan, P., Kroh, L. W., & Schulz, H. (2015). Fast and neat - Determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, *181*, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.084>
- Kratzer, U., Frank, R., Kalbacher, H., Biehl, B., Wöstemeyer, J., & Voigt, J. (2009). Subunit structure of the vicilin-like globular storage protein of cocoa seeds and the origin of cocoa- and chocolate-specific aroma precursors. *Food Chemistry*, *113*(4), 903–913. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.017>
- Lasisi, D. (2014). A Comparative Study of Effects of Drying Methods on Quality of Cocoa Beans. *International Journal of Engineering Research and Technology*, *3*(1), 991–996.
- León, F., Calderón, J., & Mayorga, E. (2016). Estrategias para el cultivo, comercialización y exportación del cacao fino de aroma en Ecuador. *Revista Ciencia Unemi*, *9*, 45–55. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=582663825007%0A>
- Li, Y., Feng, Y., Zhu, S., Luo, C., Ma, J., & Zhong, F. (2012). The effect of alkalization on the bioactive and flavor related components in commercial cocoa powder. *Journal of*

Food Composition and Analysis, 25(1), 17–23.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.010>

- Lieberei, R., Kadow, D., & Seigler, D. (2013). *Cocoa Cultivation, Directed Breeding and Polyphenolics* (K. Ramawat & J. Mérillon (eds.)). Springer, Berlín, Heidelberg.
https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_51
- Loor, R. G., Risterucci, A. M., Courtois, B., Fouet, O., Jeanneau, M., Rosenquist, E., Amores, F., Vasco, A., Medina, M., & Lanaud, C. (2009). Tracing the native ancestors of the modern *Theobroma cacao* L. population in Ecuador. *Tree Genetics and Genomes*, 5(3), 421–433. <https://doi.org/10.1007/s11295-008-0196-3>
- Lopez, A. S., & Dimick, P. S. (1995). Cocoa Fermentation. *Biotechnology*, 561–577.
- Miller, J. (2021, October). *Chocolate creation vs. raw cocoa export: Why the production location makes a big difference.* FoodPorty.
<https://foodporty.com/blog/post?ID=879&chocolate-vs-cocoa-raw-export&lang=en>
- Morales, O., Borda, A., Argandoña, A., Farach, R., García, N., & Lazo, K. (2015). *La Alianza Cacao Perú y la cadena productiva del cacao fino de aroma* (ESAN, Vol. 1999, Issue December). <http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2017/07/La-Alianza-Cacao-Perú-para-web.pdf>
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., Wallace, J., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS One*, 3(10).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Musa, N. A. (2012). Drying characteristics of cocoa beans using an artificial dryer. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, 7(2), 194–197.
<https://doi.org/10.3923/jeasci.2012.194.197>
- Nazaruddin, R., Seng, L. K., Hassan, O., & Said, M. (2006). *Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (Theobroma Cacao) during fermentation.* 24, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.03.013>
- Negrulescu, A., Patrulea, V., Mincea, M. M., Ionascu, C., Vlad-Oros, B. A., & Ostafe, V. (2012). Adapting the Reducing Sugars Method with Dinitrosalicylic Acid to Microtiter Plates and Microwave Heating. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(12), 2176–2182.
- Nielsen, D. S., Teniola, O. D., Ban-Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T. S., & Holzapfel, W. H. (2007). The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 168–186. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.010>
- Nigam, P. S., & Singh, A. (2014). Cocoa and Coffee Fermentations. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, 1, 485–492. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00074-4>
- Noor, S. S., Jinap, S., Nazamid, S., & Nazimah, S. A. H. (2009). Effect of polyphenol and pH on cocoa Maillard-related flavour precursors in a lipidic model system. *International*

Journal of Food Science and Technology, 44(1), 168–180.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01711.x>

- Oracz, J., & Nebesny, E. (2019). Effect of roasting parameters on the physicochemical characteristics of high-molecular-weight Maillard reaction products isolated from cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. groups. *European Food Research and Technology*, 245(1), 111–128. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3144-y>
- Ortiz, J., Chungara, M., Ibieta, G., Alejo, I., Tejada, L., Peralta, C., Aliaga-rossel, E., Mollinedo, P., & Peñarrieta, M. (2019). Determinación de teobromina, catequina, capacidad antioxidante total y contenido fenólico total en muestras representativas de cacao Amazónico Boliviano y su comparación antes y después del proceso de fermentación. *Revista Boliviana de Química*, 36(1), 40–50. <https://doi.org/10.34098/2078-3949.36.1.4>
- Páramo, D., García-Alamilla, P., Salgado-Cervantes, M. A., Robles-Olvera, V. J., & Rodríguez-Jimenes, G. C. (2010). Mass transfer of water and volatile fatty acids in cocoa beans during drying. *Journal of Food Engineering*, 99(3), 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.02.028>
- Paredes, N., Monteros Altamirano, A., Lima, L., Caicedo, C., Bastidas, S., Tinoco, L., Fernández, F., Vargas, Y., Pico, J., Subía, C., Burbano, A., Chanaluiza, A., Sotomayor, D., Díaz, A., Intriago, J., Chancosa, C., Andrade, A., & Enríquez, G. (2022). *Manual del cultivo de cacao sostenible para la amazonía ecuatoriana* (1era Ed). Manual Nro. 125.
- Perea, J. A. (2019). El cacao desde la ciencia: de la semilla al chocolate. In *Portal de Publicaciones UIS*. <https://ediciones.uis.edu.co/index.php/publicacionesuis/catalog/book/377>
- Puziah, H., Selamat, J., Muhammad, K., & Ali, A. (1999). Effect of drying time, bean depth and temperature on free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentrations of Malaysian cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 994(November 1998), 987–994.
- Ramli, N., Hassan, O., Said, M., Samsudin, W., & Idris, N. O. R. A. (2005). Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted Malaysian cocoa beans. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(2006), 280–298.
- Ray, R. C., & Ward, O. P. (2008). *Microbial Biotechnology in Horticulture* (Vol. 3). Science Publishers. <https://vdoc.pub/documents/microbial-biotechnology-in-horticulture-vol-3-1caufp58idíó>
- Rivera, J., Higuera, I., Navarro, A., Arvelo, M., Delgado, T., & Maroto, S. (2016). *Estado Actual sobre la Producción y el comercio del cacao en América* (Centro de).
- Rodríguez-Campos, J., Escalona, H., Contreras, S., Orozco, I., Jaramillo, E., & Lugo, E. (2012). Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry*, 132(1), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.078>

- Rodriguez, J., Escalona-Buendía, H. B., Contreras-Ramos, S. M., Orozco-Avila, I., Jaramillo-Flores, E., & Lugo-Cervantes, E. (2012). Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry*, *132*(1), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.078>
- Rodríguez, Y. C. (2017). Evaluación del mucílago de nopal (opuntia ficus-indica) como agente estabilizante en néctar de maracuyá (passiflora edulis). *Ciencia La Salle*, 1–84. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/67/
- Rojas S, M., Chejne, F., Ciro, H., & Montoya, J. (2020). Roasting impact on the chemical and physical structure of Criollo cocoa variety (Theobroma cacao L). *Journal of Food Process Engineering*, *43*(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13400>
- Rusconi, M., & Conti, A. (2010). *Theobroma cacao L ., the Food of the Gods : A scientific approach beyond myths and claims.* *61*, 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.08.008>
- Sanchez, M. C., Mestanza Ramon, C., Beatriz Vargas Tierras, Y., Armando Burbano Cachiguango, R., Santiago Calero Cardenas, A., & Andres Ramirez Romero, C. (2019). Evaluation of the Cocoa Bean (Theobroma Cacao L.), using Two Fermentators, Orellana and Sucumbios Provinces, Ecuador. *International Journal of Engineering Research & Technology*, *08*(7), 1–7.
- 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>
- Semmelroch, P., & Grosch, W. (1996). Studies on Character Impact Odorants of Coffee Brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*, 537–543.
- Stahl, L., Miller, J., Apgar, D., Sweigart, D., Stuart, A., Mchale, B., Ou, M., Kondo, M., & Hurst, W. (2009). Preservation of Cocoa Antioxidant Activity , Total. *Food Chemistry*, *74*(6), 456–461. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01226.x>
- Teneda, W. F. (2016). *Mejoramiento del Proceso del Cacao (Theobroma cacao L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51* (Universidad Internacional de Andalucía (ed.)).
- Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Costell, E., & Blanch, C. (2012). Dark chocolate acceptability: influence of cocoa origin and processing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *June 2011*, 404–411. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4592>
- Vázquez, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Betancur-Ancona, D., & Salvador-Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, *656*(3), 239–254.
- Villacis, A., Alwang, J., & Barrera, V. (2020). Does the Use of Specialty Varieties and Post-Harvest Practices Benefit Farmers? Cocoa Value Chains in Ecuador. *AgEcon SEARCH*, *45*. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.302303>
- Wood, G. A. ., & Lass, R. . (2008a). *Cocoa. (4th.ed.)* (New York:). John Wiley & Sons.

- Wood, G. A. R., & Lass, R. A. (2008b). *Cocoa* (J. Wiley & Sons (eds.); Blackwell).
- Ziegleder, G. (2017). Flavour development in cocoa and chocolate. In T. B. Stephen, M. S. Fowler, & G. R. Ziegler (Eds.), *Beckett' Industrial Chocolate Manufacture and Use* (5th ed., pp. 185–215).
- Zulkarnain, M. A., Shahrman, M. K., & Yudin, A. S. M. (2020). Experimental study of drying characteristics of cocoa bean in a swirling fluidized bed dryer. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 863(1), 0–9. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/863/1/012048>

7. ANEXOS



ANEXO 1. Recolección de las vainas de cacao de la variedad nacional.



ANEXO 2. Proceso de fermentación anaeróbica de las almendras de cacao.



ANEXO 3. Proceso de fermentación aeróbica de las almendras de cacao.



ANEXO 4. Control de temperatura durante el proceso de fermentación.



ANEXO 5. Proceso de secado.



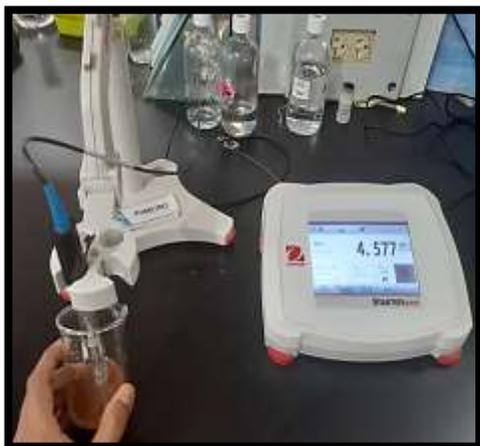
ANEXO 6. Pesaje de las almendras fermentadas y secadas.



ANEXO 7. Análisis de acidez titulable en el mucílago de cacao.



ANEXO 8. Análisis de acidez titulable en las almendras de cacao fermentadas y secadas



ANEXO 9. Análisis de pH en las almendras de cacao fermentadas y secadas

Sample No.	ABS	Conc.
1	0.650	0.0576
2	2.322	2.3223
3	2.135	2.1351
4	1.954	1.9543
5	2.322	2.3223
6	2.322	2.3223
7	2.081	2.0808
8	2.270	2.2699
9		

ANEXO 10. Resultados de los azúcares reductores en las almendras de cacao fermentadas y secadas.



ANEXO 11. Licor de cacao de los diferentes niveles de fermentación.

MC-LSAIA-2201-06



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
 ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
 DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD
 LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS
 Panamericana Sur Km. 1. Cutuglagua Tlfs. 2690691-3007134. Fax 3007134
 Casilla postal 17-01-340



INFORME DE ENSAYO No: 22-098

****NOMBRE PETICIONARIO:** Srta. Rosa Verónica Loja Atariguana ****INSTITUCIÓN:** Particular
****DIRECCIÓN:** Camilo Ponce Enríquez ****ATENCIÓN:** Srta. Rosa Verónica Loja Atariguana
FECHA DE EMISIÓN: 26/08/2022 **FECHA DE RECEPCIÓN.:** 17/08/2022
FECHA DE ANÁLISIS: Del 17 al 26 de agosto del 2022 **HORA DE RECEPCIÓN:** 14h55
ANÁLISIS SOLICITADO Polifenoles

ANÁLISIS	HUMEDAD	POLIFENOLES Ω	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-31	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	Cross, E. y Maringo, G. 1973/1982	
UNIDAD	%	mg Ac. Gálico/g	
22-0499	3,66	37,32	Licor de Cacao 3/2 140
22-0500	3,29	40,50	Licor de Cacao 4/3 140
22-0501	3,50	49,11	Licor de Cacao 5/4 140
22-0502	4,08	49,61	Licor de Cacao 6/5 140/30
22-0503	3,76	40,16	Licor de Cacao 7/6 140
22-0504	2,86	49,42	Licor de Cacao 9/6 140
22-0505	2,05	114,83	Licor de Cacao 0/0 150

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

RESPONSABLES DEL INFORME



IVAN RODRIGO
 SAMANIEGO
 MAIGUA

Dr. Iván Samaniego, MSc.

RESPONSABLE TÉCNICO

ANEXO 12. Resultado del análisis de polifenoles totales de las diferentes muestras del licor de cacao nacional.