



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

Diseño de un proceso de fermentación controlado de cacao
Nacional Fino de Aroma (*Theobroma cacao L.*)

INGE-2211

Proyecto Integrador

Previo a la obtención del Título de:

Ingenieros en Alimentos

Presentado por:

María Paula Briones Arias

Daphnet Anabelle Suárez Hernández

Guayaquil – Ecuador

2023

Dedicatoria

Dedico este proyecto a mis padres, por su entrega, paciencia, tiempo y amor que ha sido invaluable durante mi vida estudiantil; a mi hermana y hermano por su apoyo incondicional y sus ejemplos, y a toda mi familia.

A mis amigos que fui conociendo a lo largo de la carrera, en especial a Daphnet Suárez. Juntas hemos compartido risas infinitas durante clases y a medianoche, enfrentando obstáculos y creando experiencias memorables. ¡Lo logramos Mary Jane!

Por último, pero no el menos importante, mi mejor amigo de cuatro patas, Helio.

María Paula Briones Arias

Dedicatoria

Dedico este proyecto a la memoria de mi abuelo Andrés, mi eterna fuente de inspiración. A mi amada madre y diligente padre, Ana y Víctor, cuyas enseñanzas y sacrificios son mi guía constante.

A mi hermana Laura, cómplice de risas y confidente de sueños, gracias por ser mi inquebrantable compañera de vida.

A mi querida tía Guisela, fuente de sabiduría y cariño, gracias por ser mi segunda madre y leal amiga.

A mi enamorado Roberto, mi cómplice y apoyo constante, tu amor ha iluminado mis días y fortalecido mi camino.

A mi leal mascota Aquamarine, quien llenó de alegría mis horas de estudio.

A mi amiga María Paula, por compartir conmigo desafíos y logros en este y demás proyectos. ¡Lo logramos Juliet!

Este trabajo es tributo a todos ustedes, por acompañarme en este viaje académico y personal. Con amor y gratitud infinita,

Daphnet Anabelle Suárez Hernández

Agradecimientos

Nuestro más sincero agradecimiento al Proyecto CREA por brindarnos la valiosa oportunidad de participar en esta experiencia. Agradecemos al Centro de Desarrollo Tecnológico Sustentable (CDTS) por proporcionarnos los equipos necesarios, permitiéndonos llevar a cabo este proyecto de manera exitosa.

Agradecemos profundamente al tutor Jonathan Coronel, Ph.D y cotutora Diana Coello, MSc. por su inestimable orientación y dedicación. A los demás profesores, quienes consideramos faros de conocimientos, y a la comunidad politécnica en general por su continuo respaldo, que ha sido esencial para nuestro crecimiento y logros en este proyecto. Este trabajo es resultado de la colaboración y el apoyo generoso de todos ustedes. Agradecemos por haber sido parte de este camino. Cordialmente,

María Paula Briones Arias

Declaración Expresa

Nosotras María Paula Briones A. y Daphnet Anabelle Suárez H. acordamos y reconocemos que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor de los autor o autores. La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por nosotras durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique los autores que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 05 de febrero del 2024.



María Paula Briones

Arias



Daphnet Anabelle Suárez

Hernández

Evaluadores

Andrea Desire Ortega Suasnavas, MSc.

Profesor de Materia

Jonathan Ricardo Coronel León, Ph.D.

Tutor de proyecto

Resumen

El objetivo de esta investigación fue el diseño de un proceso de fermentación controlado para cacao Nacional 801, abordando la heterogeneidad presente en las prácticas tradicionales de los pequeños productores. Se llevó a cabo la fermentación en tres equipos distintos (cajones de madera, acero inoxidable y rotatorio de madera), con diferentes tipos de agitación (manual o continua) durante cinco días. En los granos fermentados, se monitoreó la temperatura en los equipos de acero y madera rotatorio. Además, se evaluaron parámetros fisicoquímicos y el contenido de polifenoles. Por otro lado, en los granos secos, se realizaron mediciones similares, incluyendo ensayos fisicoquímicos, índice de fermentación y prueba de corte.

Los resultados indicaron que el cajón de madera (T1) y el biorreactor de acero con agitación manual (T3) fueron los óptimos en términos del proceso fermentativo, mostrando mejoras en los parámetros evaluados. Finalmente, se destaca la viabilidad de una alternativa al método tradicional, especificando las condiciones ideales para un cajón de acero inoxidable. Este enfoque innovador no solo busca mejorar la calidad del grano, sino que también se alinea con el Objetivo de Desarrollo Sostenible 8 al impulsar la productividad económica mediante la aplicación de tecnologías, fomentando la generación de empleo decente y seguro para hombres y mujeres.

Palabras Clave: Fermentación, heterogeneidad, parámetros fisicoquímicos, cajón de acero inoxidable, productividad económica.

Abstract

This research aims to design a controlled fermentation process for Nacional 801 cocoa, addressing the heterogeneity present in the traditional practices of small-scale producers.

Fermentation was carried out using three different equipment types (wooden boxes, stainless steel, and wooden rotary), with different types of agitation (manual or continuous) over five days. In the fermented beans, the temperature was monitored in the steel and wooden rotary equipment. Additionally, physicochemical parameters and polyphenol content were evaluated. On the other hand, in the dried beans, similar measurements were taken, including physicochemical tests, fermentation index, and cutting tests.

The results indicated that the wooden box (T1) and the steel bioreactor with manual stirring (T3) were optimal in terms of the fermentation process, showing improvements in the evaluated parameters. Finally, the feasibility of an alternative to the traditional method is emphasized, specifying the ideal conditions for a stainless-steel box. This innovative approach not only seeks to improve the quality of the beans and aligns with Sustainable Development Goal 8 by boosting economic productivity through the application of technologies, promoting decent and secure employment for men and women.

Keywords: Fermentation, heterogeneity, physicochemical parameters, stainless steel box, economic productivity.

Índice general

| | |
|--|----------|
| Resumen..... | I |
| Abstract..... | II |
| Índice general..... | III |
| Abreviaturas..... | VI |
| Simbología..... | VII |
| Índice de figuras..... | VIII |
| Índice de tablas..... | IX |
| Índice de ecuaciones..... | X |
| Capítulo 1..... | 1 |
| 1.1 Introducción..... | 2 |
| 1.2 Descripción del problema..... | 3 |
| 1.4 Objetivos..... | 4 |
| <i>1.4.1 Objetivo general.....</i> | <i>4</i> |
| <i>1.4.2 Objetivos específicos.....</i> | <i>5</i> |
| 1.5 Fundamento teórico..... | 5 |
| <i>1.5.1 Fermentación de cacao.....</i> | <i>5</i> |
| <i>1.5.2 Etapas y microorganismos involucrados en la fermentación.....</i> | <i>6</i> |
| 1.6 Factores que influyen en la fermentación de cacao..... | 7 |
| <i>1.6.1 Cantidad de masa.....</i> | <i>7</i> |
| <i>1.6.2 Temperatura y tiempo de volteo.....</i> | <i>8</i> |
| <i>1.6.3 Tipo de fermentador.....</i> | <i>8</i> |
| 1.7 Prueba de corte..... | 9 |
| 1.8 Formación de precursores de sabor durante la fermentación..... | 10 |

| | | |
|------------|---|----|
| 1.8.1 | <i>Teobromina y cafeína</i> | 10 |
| 1.8.2 | <i>Polifenoles y capacidad antioxidante</i> | 11 |
| 1.9 | Estudio de las variables durante la fermentación..... | 12 |
| 1.9.1 | <i>Humedad</i> | 12 |
| 1.9.2 | <i>pH</i> | 12 |
| 1.9.3 | <i>Azúcares</i> | 13 |
| Capítulo 2 | | 14 |
| 2.1 | Metodología..... | 15 |
| 2.2 | <i>Diseño experimental</i> | 15 |
| 2.3 | <i>Preparación de muestras</i> | 16 |
| 2.3.1 | <i>Temperatura</i> | 17 |
| 2.3.2 | <i>pH y acidez titulable</i> | 17 |
| 2.3.3 | <i>°Brix</i> | 19 |
| 2.3.4 | <i>Humedad</i> | 19 |
| 2.3.5 | <i>Prueba de corte</i> | 20 |
| 2.3.6 | <i>Índice de fermentación</i> | 20 |
| 2.3.7 | <i>Polifenoles</i> | 21 |
| Capítulo 3 | | 23 |
| 3.1 | Resultados y análisis..... | 24 |
| 3.1.1 | <i>Matriz de evaluación</i> | 24 |
| 3.2 | Análisis de granos fermentados..... | 26 |
| 3.2.1 | <i>Monitoreo de temperatura</i> | 26 |
| 3.2.2 | <i>Medición de pH</i> | 28 |
| 3.2.3 | <i>Medición de acidez</i> | 32 |
| 3.2.4 | <i>Medición de °Brix</i> | 34 |

| | | |
|-------------|--|----|
| 3.2.5 | <i>Contenido de polifenoles totales</i> | 37 |
| 3.3 | Análisis de grano seco..... | 38 |
| 3.3.1 | <i>Características del grupo control</i> | 38 |
| 3.3.2 | <i>Parámetros fisicoquímicos</i> | 38 |
| 3.3.3 | <i>Índice de fermentación mediante método químico</i> | 40 |
| 3.3.4 | <i>Prueba de corte</i> | 41 |
| 3.1.5 | <i>Análisis de costos</i> | 42 |
| Capítulo 4 | | 46 |
| 4.1 | Conclusiones y recomendaciones | 47 |
| 4.1.1 | <i>Conclusiones</i> | 47 |
| 4.1.2 | <i>Recomendaciones</i> | 49 |
| Referencias | | 50 |
| Apéndices | | 63 |
| Apéndice A | Equipos utilizados para la fermentación de cacao..... | 64 |
| Apéndice B | Muestras de grano fermentado y mucílago..... | 65 |
| Apéndice C | Resultados estadísticos en medición de pH..... | 67 |
| Apéndice D | Resultados estadísticos en medición de acidez..... | 69 |
| Apéndice E | Resultados estadísticos en medición de °Brix..... | 71 |
| Apéndice F | Resultados estadísticos en medición de contenido de polifenoles totales en grano fermentado..... | 73 |
| Apéndice G | Especificaciones técnicas del equipo..... | 74 |

Abreviaturas

| | |
|----------|---|
| ESPOL | Escuela Superior Politécnica del Litoral |
| FIMCP | Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción |
| CCN-51 | Colección Castro Naranjal 51 |
| BAL | Bacterias Ácido Lácticas |
| BAA | Bacterias Ácido Acéticas |
| PPO | Polifenol-oxidasa |
| ANOVA | Análisis de la Varianza |
| AOAC | Association of Official Analytical Chemists |
| ISO | International Organization for Standardization |
| NTE INEN | Norma Técnica Ecuatoriana. Instituto Ecuatoriano de Normalización |
| NTP | Norma Técnica Peruana |
| IF | Índice de Fermentación |
| CPT | Contenido de Polifenoles Totales |
| AISI | American Iron and Steel Institute |
| ODS | Objetivos de Desarrollo Sostenible |

Simbología

| | |
|-------|-------------------------------|
| ml | Mililitro |
| g | Gramo |
| mg | Miligramo |
| pH | Potencial de Hidrógeno |
| m | Metro |
| cm | Centímetro |
| mm | Milímetro |
| nm | Nanómetro |
| h | Hora |
| min | Minuto |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| V | Voltios |
| ss | Solid State |
| AG | Ácido Gálico |
| % v/v | Porcentaje volumen en volumen |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Criterios de calidad de los granos de cacao..... | 10 |
| Figura 2. Variación de pH del cotiledón en función del tiempo de fermentación | 29 |
| Figura 3. Variación de pH del mucílago en función del tiempo de fermentación | 31 |
| Figura 4. Variación de ácido acético del cotiledón en función del tiempo de fermentación | 32 |
| Figura 5. Variación de ácido acético del mucílago en función del tiempo de fermentación | 34 |
| Figura 6. Variación de °Brix del cotiledón en función del tiempo de fermentación | 35 |
| Figura 7. Variación de °Brix del mucílago en función del tiempo de fermentación | 36 |
| Figura 8. Variación del contenido de polifenoles totales en función del tiempo de fermentación | 37 |
| Figura 9. Prueba de corte de los diferentes tratamientos | 42 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Tratamientos realizados durante la experimentación..... | 15 |
| Tabla 2. Criterios de evaluación para las diferentes alternativas de solución | 25 |
| Tabla 3. Temperaturas promedio durante la fermentación de cacao en diferentes equipos | 27 |
| Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del grupo control y los tratamientos estudiados | 40 |
| Tabla 5. Índice de fermentación de los diferentes tratamientos..... | 41 |
| Tabla 6. Costo de inversión de un fermentador de acero inoxidable 304..... | 43 |
| Tabla 7. Costos fijos de la inversión de un fermentador de acero inoxidable 304 | 43 |
| Tabla 8. Costos variables de un fermentador de acero inoxidable 304 | 44 |
| Tabla 9. Costo de inversión de un cajón fermentador de madera Laurel | 44 |

Índice de ecuaciones

| | |
|--|----|
| <i>Ecuación 1: % Acidez titulable</i> | 18 |
| <i>Ecuación 2: índice de fermentación (IF)</i> | 20 |

|

Capítulo 1

1.1 Introducción

El cacao en Ecuador es considerado como uno de los productos más importantes de la cadena agrícola (Cedeño y Dilas, 2022), debido que aporta a la generación de empleos para alrededor de 100000 familias, mayormente en zonas rurales (García et al., 2021). Ecuador se caracteriza por la producción de dos variedades de cacao, Nacional fino de aroma y CCN-51, siendo la producción principalmente en 3 provincias de la costa, Los Ríos, Manabí y Guayas, cuya superficie sembrada oscila entre 120000 – 131000 hectáreas (Cobos, 2021).

El cacao Nacional es clasificado botánicamente como tipo Forastero, por sus características fenotípicas, además, posee el sabor y aroma del cacao Criollo (Amador et al., 2022). Acorde a Gómez y De Koning (2023), el cacao Nacional tiene un sabor a caramelo con notas cítricas y sabor a nuez. Sin embargo, los sabores pueden variar dependiendo de la región de cultivo, sabores definidos como florales y afrutados. Mientras que, el CCN-51 es una variedad con un alto rendimiento, pero de baja calidad (Barrezueta y Chabla, 2017).

La fermentación es un proceso microbiológico espontáneo mediado por varias reacciones bioquímicas que originan los precursores del aroma (Koffi et al., 2017). En Ecuador, se realiza de manera artesanal donde las almendras son colocadas en cajones de madera con orificios en la base para el drenaje del líquido mucilaginoso. Los cajones son cubiertos con una hoja de plátano o banano y un plástico para incrementar la temperatura del medio (Luna y Chichande, 2020). Por lo tanto, este método se basa en el conocimiento ancestral que es transmitido en las diferentes generaciones, resultando en procesos que generan productos finales heterogéneos, lo que implica una gran variación en el crecimiento microbiano y los metabolitos generados según el genotipo del cacao, método de producción, tamaño de lote, almacenamiento y remoción del grano (Velásquez et al., 2021).

En base a lo expuesto, la estandarización del proceso fermentativo podría impactar en el perfil de aromas volátiles, que determina la aceptación o rechazo del producto, y el precio del grano en el mercado. Por lo cual, el control de variables como temperatura y pH pueden permitir alcanzar una mejor calidad y homogeneidad del producto, dado que estos factores influyen sobre la actividad enzimática (Calvo et al., 2021).

1.2 Descripción del problema

La fermentación del cacao Nacional se realiza de manera tradicional, donde utilizan cajones de madera revestidos en su interior con plástico y sacos de yute. En la actualidad, enfrentan limitaciones tecnológicas que dificultan la estandarización del proceso.

Acorde a Erazo et al. (2021) la calidad del cacao se define durante la etapa poscosecha, donde la producción de precursores del sabor y aroma depende de factores como el contenido y concentración de azúcares en la pulpa de cacao, la disponibilidad de oxígeno, pH, temperatura ambiente e intervención de distintos microorganismos en el proceso. En vista de que la fermentación es un proceso heterogéneo en todos los granos a causa de equipos que no permiten un monitoreo adecuado, el control de este proceso es esencial para mejorar la calidad y competitividad en el mercado, beneficiando a pequeños y medianos productores.

1.3 Justificación del problema

En Ecuador, el cacao es mayoritariamente producido por los pequeños agricultores, quienes representan aproximadamente el 70% de la producción nacional (ANECACAO, 2020). Para mejorar la calidad y comercialización del cacao, los productores primarios necesitan mejoras tecnológicas que le permitan controlar el proceso fermentativo. La accesibilidad a

tecnologías y estandarización de procesos aseguran una producción sostenible y eficiente. El monitoreo de las transformaciones bioquímicas durante la fermentación es esencial para el desarrollo del perfil de aroma. (Pokharel, 2023).

Según lo expuesto, Rojas et al. (2020) diseñó e implementó la micro fermentación, a fin de estandarizar comportamientos microbiológicos presentados en los cambios bioquímicos analizados en la pulpa y grano, donde parámetros como temperatura, remoción de granos y tiempo de fermentación fueron claves durante el proceso. Por tanto, la formación de precursores de sabor, así como la generación de compuestos volátiles y la duración de la fermentación contribuyen a los sabores únicos de los granos de cacao (Pokharel, 2023).

A pesar de un elevado costo de producción, la implementación de tecnologías permite producir más sin afectar la calidad sensorial del grano. En consecuencia, se oferta un producto con un costo ligeramente elevado a comparación del actual, USD 69.95-109.29 el quintal (Badillo et al., 2023), pero con estándares de calidad favorables.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Diseñar un proceso de fermentación controlado de cacao Nacional (*Theobroma cacao L.*) considerando las condiciones operativas y equipos utilizados para la mejora de las características de calidad de los granos de cacao.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de las condiciones operativas de fermentación (agitación, aireación, y temperatura) y equipos utilizados (madera y acero inoxidable) durante el proceso de fermentación considerando cambios en los parámetros fisicoquímicos.
2. Establecer el proceso de fermentación que maximice las características de calidad de los granos considerando los resultados de los ensayos fisicoquímicos.
3. Evaluar el impacto del diseño del proceso de fermentación considerando el análisis de costos.

1.5 Fundamento teórico

1.5.1 Fermentación de cacao

La fermentación del cacao es un proceso microbiológico espontáneo en el que intervienen microorganismos responsables de la síntesis y producción de diversos metabolitos como etanol, lactato, acetato, calor y precursores volátiles (Ganeswari et al., 2015). Este proceso inicia por levaduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora guilliermondii* y *Candida silvae*, seguido de bacterias lácticas, como *Lactobacillus collonides*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus mali*, y culmina con la intervención de bacterias acéticas, como *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* (Erazo, 2019).

El proceso fermentativo ocurre tanto en el cotiledón como en la pulpa o mucílago (Dueñas et al., 2017). Durante este proceso, se desencadenan una serie de reacciones bioquímicas que conducen a la formación de precursores responsables del sabor y aroma característicos del cacao.

El proceso comienza con la apertura de las mazorcas y la extracción de los granos; cada almendra de cacao consta de dos cotiledones (radícula) con un embrión rodeado por una cubierta de semilla (testa) envuelta en una pulpa dulce, blanca y mucilaginoso, que comprende aproximadamente el 40% del peso de la semilla fresca (Schwan et al., 2015).

La pulpa es un entorno propicio para el crecimiento de microorganismos, está compuesta por 82-87% agua, 10-15% azúcares fermentables (glucosa, fructosa y sacarosa), 2-3% pentosas, 1-3% ácido cítrico, 1-1.5% pectina, 1.6% grasa y 0.2% proteínas (Bobiles et al., 2022). También contiene proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales. La presencia de pectina y demás polisacáridos en la pulpa contribuye a su viscosidad, limitando la difusión de aire en la masa de granos (Guzmán & Márquez, 2021).

1.5.2 Etapas y microorganismos involucrados en la fermentación

La fermentación del cacao se divide en tres etapas. La primera dura aproximadamente 48 horas, las levaduras hidrolizan la pectina y los azúcares de la pulpa en etanol, en medio anaeróbico, aumentando la temperatura del sistema (De Vuyst & Weckx, 2016) entre 38-45°C (Schwan et al., 2015). Esto modifica la textura del grano, reduciendo la viscosidad de la pulpa y la acidez del medio (Erazo, 2019).

La segunda etapa, a partir del tercer día, favorece el desarrollo de bacterias lácticas (BAL) debido a la escasez de oxígeno, donde fermentan carbohidratos residuales y continúan con el consumo de ácido cítrico (Calvo et al., 2021). La pulpa adquiere mayor fluidez por la liberación de enzimas pectinolíticas en la primera fase, y permite entrada de aire al sistema (Ooi et al., 2020). Esto conlleva que las BAL conviertan los metabolitos intermedios en ácido láctico (Apriyanto et al., 2016).

La disminución de los niveles de azúcares, causada por el metabolismo de las levaduras y las BAL, conduce al desplazamiento del metabolismo de las bacterias acéticas (BAA) hacia la última etapa del proceso caracterizada por la oxidación del etanol y el ácido láctico, como fuente de carbono para producir ácido acético, que posteriormente se oxida a dióxido de carbono y agua (Ouattara et al., 2016). El ácido acético se difunde en los granos y, junto con la generación de calor se alcanza entre 45-50°C, provocando la muerte del embrión de la semilla y la ruptura de la estructura celular interna de los granos, marcando el fin de la fermentación (Bobiles et al., 2022).

En esta etapa, las enzimas interactúan con los polifenoles y proteínas, lo que desencadena una serie de reacciones hidrolíticas que ocasionan modificaciones en los pigmentos cianidinglucósidos, como las antocianinas, y en los alcaloides como teobromina y cafeína; estos cambios marcan la transición a la fase de secado y son fundamentales en el desarrollo del sabor del cacao (Castillo, 2019).

1.6 Factores que influyen en la fermentación de cacao

1.6.1 Cantidad de masa

La cantidad de granos es importante para una fermentación exitosa, debido a que se relaciona con la aireación y desarrollo del calor de la masa (Tunjung et al., 2021). La fermentación requiere al menos 25 kg de cacao en baba para alcanzar la temperatura requerida (45-50 °C), con el propósito de lograr una fermentación óptima; siendo esto un inconveniente para los pequeños agricultores, quienes omiten la fermentación en su proceso (Bobiles et al., 2022), y en su lugar venden los granos húmedos a procesadoras que cuentan con implementos tecnológicos para la fermentación (Ramos, 2016).

1.6.2 Temperatura y tiempo de volteo

Durante el proceso de fermentación, la temperatura y los ácidos generados dentro de la almendra da origen a la muerte del embrión, lo cual conlleva al desarrollo de compuestos aromáticos en la etapa de secado (Ríos y Lévano, 2022).

Unos de los aspectos importantes en la fermentación es el aumento de la temperatura y la correcta aireación en la masa (Ríos y Lévano, 2022). El volteo consiste en mezclar la masa de la pulpa de cacao para homogenizar la temperatura de los granos con el fin de oxigenar el medio y estimular el metabolismo entre las BAA, además de un aumento en la temperatura máxima de fermentación, para acelerar el proceso (Velásquez et al., 2021).

En este orden de ideas, Hamdouche et al. (2019) menciona que el volteo mejora la calidad composicional del perfil de los compuestos volátiles de los granos de Costa de Marfil fermentados en cajas de madera. Como resultado, evidenció el aumento de la producción de componentes químicos como benzaldehído, 3-metilbutanal y acetato de etilo, producidos mediante las BAL.

1.6.3 Tipo de fermentador

Una incorrecta fermentación de cacao disminuye la calidad del sabor, por lo cual un proceso poscosecha definido permite desarrollar los precursores del sabor y aroma (Ríos y Lévano, 2022). De acuerdo con Brunetto et al. (2020), las investigaciones realizadas sobre el cacao se centran en mejorar el proceso de fermentación de las almendras en sus atributos sensoriales, para facilitar la producción artesanal, industrial y gastronómica. Una forma de optimizar los sistemas de fermentación es mediante el uso de prototipos de fermentadores de distintos materiales, como acero inoxidable de forma cilíndrica, cajones de madera tradicionales

y tambor giratorio de madera. De acuerdo con Ríos y Lévano (2022), el fermentador de acero inoxidable mostró mejoras en la calidad de las almendras, por la uniformidad de temperatura, adecuada remoción y buena ventilación. Mientras que, el fermentador tradicional presentó desventajas como falta de uniformidad de temperatura, dificultad para realizar el volteo y desarrollo de moho. No obstante, la madera como fermentador permite almacenar el calor sin requerir un aislante adicional (Pastrano y Sotomayor, 2020). Particularmente, el cacao Nacional presenta un índice de fermentación adecuado con el uso de madera tipo Laurel, por su alta capacidad de aislamiento térmico (Erazo et al., 2021).

1.7 Prueba de corte

Se utiliza una evaluación visual para medir el grado de fermentación del cacao en un plazo máximo de 30 días posterior al secado para evitar procesos oxidativos. Debido a que, la oxidación de tejidos del grano provoca cambios en los colores internos que puede resultar en una apariencia marrón, pero con sabor y aroma de baja calidad (Erazo, 2019).

A continuación, en la Tabla 1 se muestran los criterios de calidad de las almendras de cacao establecidos en la normativa NTE INEN 176:2021.

Figura 1.*Crterios de calidad de los granos de cacao***TABLA 1. Requisitos de calidad para los granos de cacao**

| REQUISITOS | GRANOS DE CACAO | | | MÉTODOS DE ENSAYO |
|--|-----------------|-------------|-----------|-------------------|
| | GRADO 1 | GRADO 2 | GRADO 3 | |
| Humedad, máxima, % ^a | 7 | 7 | 7 | NTE INEN-ISO 2291 |
| Peso de 100 granos, g | > 130 | > 120 a 130 | 100 a 120 | ^b |
| Granos fermentados, mínimo, % | 75 | 65 | 53 | NTE INEN-ISO 1114 |
| Granos violetas, máximo, % | 15 | 21 | 25 | NTE INEN-ISO 1114 |
| Granos pizarrosos, máximo, % | 9 | 12 | 18 | NTE INEN-ISO 1114 |
| Granos mohosos, máximo, % | 1 | 2 | 4 | NTE INEN-ISO 1114 |
| TOTALES (análisis sobre 100 granos), mínimo | 100 | 100 | 100 | - |
| Granos defectuosos ^{c, d} , máximo, % | 0,5 | 1,0 | 3,0 | ANEXO C |
| Material relacionado con los granos de cacao, máximo, % | 1,0 | 1,0 | 1,0 | ANEXO C |
| Material extraño, máximo, % | 0,75 | 0,75 | 0,75 | ANEXO C |
| ^a El símbolo % (por ciento) representa al número 0,01, que expresa a la fracción másica. ^b Masa determinada por medio de una balanza u otro instrumento equivalente. ^c Granos de cacao defectuosos (3.6) corresponden a los granos dañados por insectos, granos germinados, granos negros, granos planos-vano o granza y granos rotos. ^d Los valores para los granos defectuosos no deben corresponder solo a los granos de cacao dañados por insectos. | | | | |

Nota. Imagen tomada del Servicio Ecuatoriano de Normalización (2021).

1.8 Formación de precursores de sabor durante la fermentación

1.8.1 Teobromina y cafeína

Los granos de cacao crudos contienen metilxantinas (teobromina y cafeínas), donde la teobromina es el principal alcaloide (2-3%) y en pequeñas cantidades (0.2%) la cafeína. Estos compuestos contribuyen en el sabor amargo del grano (Aprotosoai et al., 2016). De acuerdo con la literatura, el contenido de teobromina incrementa durante las primeras horas de la

fermentación y disminuye luego de 72h, esto con lleva a una reducción de amargor. El aumento inicial en las primeras horas se debe a que el mucílago contiene teobromina, la cual se dispersa hacia el interior del grano (Calvo et al., 2021). Mientras que, la disminución del alcaloide se debe por la exudación de los granos durante el proceso fermentativo, favorecido por el aumento de temperatura (Aprotosoie et al., 2016).

Por otra parte, la relación teobromina/caféina en granos de cacao, puede ser un indicio de la “fineza” del cacao. A modo de ejemplo, se conoce que el cacao Forastero presenta valores de esta relación por encima de 4, incluso superando 10, en cambio, el Criollo reporta valores inferiores a 4 (Vásquez et al., 2016).

1.8.2 Polifenoles y capacidad antioxidante

Los polifenoles en las almendras de cacao se almacenan en células pigmentarias de los cotiledones, influyendo en la variedad de tonalidades desde blanco hasta morado oscuro, dependiendo de las antocianinas presentes (Sulaiman et al., 2017). Los granos de cacao frescos se componen de 10-20% polifenoles, divididos en tres grupos principales en las almendras: 59% proantocianinas, 37% catequinas o flavan-3-oles y 4% antocianinas (Menéndez y Burgos, 2021). Estos compuestos se caracterizan por poseer anillos aromáticos acompañados de grupos hidroxilos y derivados funcionales como ésteres y glicósidos (Vásquez et al., 2016).

Durante la fermentación, los cotiledones cambian de violeta a marrón, debido a la degradación de antocianinas, responsables de los colores rojos, azules, violetas, naranjas y púrpuras en los frutos (Ganeswari et al., 2015). Simultáneamente, los polifenoles que permanecen en los cotiledones se oxidan y se convierten en quinonas por acción de la polifenol-

oxidasa (PPO), lo que reduce el contenido de polifenoles y, por ende, la astringencia, permitiendo al cacao adquirir su tonalidad marrón final (Menéndez y Burgos, 2021).

Además de su influencia en el color del cacao, los polifenoles son conocidos por su actividad antioxidante, que retrasa la oxidación de lípidos (Caporaso et al., 2018). Durante la fermentación, el contenido de polifenoles disminuye aproximadamente un 70%, lo que resulta en una reducción de la capacidad antioxidante del cacao (Septianti & Lamgkong, 2020).

1.9 Estudio de las variables durante la fermentación

1.9.1 Humedad

Durante la fermentación los granos de cacao pierden humedad, debido a la difusión de humedad hacia el exterior de las almendras y por la baja humedad relativa del entorno, favorecida por el proceso de volteo (Calvo et al., 2021). Mantener al menos un 35% de humedad se considera esencial para procesos enzimáticos internos del cacao y para obtener cacao de alta calidad (Apriyanto et al., 2016).

1.9.2 pH

El pH en la fermentación varía debido a la acción microbiana y la remoción (Loureiro et al., 2017a). Los ácidos láctico y acético generados al comienzo se difunden al interior del grano, reduciendo el pH de 6.5 a 4.5 (Loureiro et al., 2017b).

El cacao con un pH de 5.5 a 5.8 se considera insuficientemente fermentado, mientras que con pH entre 4.8 y 5.2 tuvo una fermentación adecuada (Calvo et al., 2021).

1.9.3 Azúcares

Los azúcares reductores experimentan cambios durante la fermentación, por ser la fuente principal de energía en las etapas iniciales del proceso y por degradarse en forma de mono, di y oligosacáridos (De Vuyst & Weckz, 2016). Acorde a Calvo et al. (2021), su concentración puede aumentar debido a la hidrólisis inducida por la acidificación de los granos y la difusión de los azúcares desde la pulpa.

Capítulo 2

2.1 Metodología

2.2 Diseño experimental

Las mazorcas del cacao Nacional 801 fueron cosechadas en la Finca Experimental de ESPOL, ubicada en Km 30.5 Vía Perimetral, la zona se caracteriza por tener un clima tropical que da lugar a su óptimo desarrollo. Una vez cosechadas, fueron transportadas al Laboratorio de Bioprocesos Alimentarios para acondicionarse por 24h hasta ser despulpadas en el Centro de Desarrollo Tecnológico Sustentable, ambos ubicado en FIMCP-ESPOL.

Se evaluaron los siguientes tratamientos utilizando tres equipos distintos, con dos tipos de agitación, como se detalla en la Tabla 1. En el Apéndice A se presenta los equipos empleados para la fermentación de 7kg en cada uno de ellos.

Tabla 1.

Tratamientos realizados durante la experimentación

| Tratamiento | Equipo | Tipo de agitación | Temperatura °C |
|--------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Control (1) | Cajones de madera | Manual | Sin |
| 2 | Cajón de acero inoxidable | Continuo | Sin |
| 3 | Cajón de acero inoxidable | Manual | Sin |
| 4 | Rotatorio de madera | Continuo | Sin |

Los datos fueron analizados mediante un Análisis Estadístico empleando ANOVA simple, utilizando un diseño completamente aleatorizado y prueba de comparación múltiple de Tukey, con

un nivel de significancia $\alpha=0.05$. El propósito era evaluar si existía evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula (H_0) en favor de la hipótesis alternativa (H_a) del estudio. La formulación de las hipótesis fue la siguiente:

H_0 : No hay diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos; pH, acidez, °Brix, contenido de polifenoles e índice de fermentación; en relación con el material y tipo de agitación aplicada en el biorreactor empleado.

H_a : Existen diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos; pH, acidez, °Brix, contenido de polifenoles e índice de fermentación; en función del material y tipo de agitación aplicada en el biorreactor empleado.

2.3 Preparación de muestras

El ensayo tuvo una duración de cinco días donde diariamente se recolectaron muestras de 150 g de cacao en proceso de fermentación y se colocaron en fundas de polietileno de alta densidad con cierre hermético para su posterior análisis. (Apéndice B). De igual forma se recogió el mucílago drenado en las bandejas de aluminio en tubos plásticos (Apéndice B). Cabe recalcar que la cantidad de mucílago variaba en función de los días de fermentación: a mayores días de fermentación, menor cantidad de mucílago. Todas las muestras fueron rotuladas de la siguiente forma: fecha, tipo de muestra, equipo, tipo de agitación y nombre del tutor de proyecto. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en congelación hasta realizar los análisis.

La metodología empleada para el desarrollo del proyecto consistió en monitorear la temperatura, analizar diariamente los parámetros fisicoquímicos (pH, acidez y °Brix) y el contenido de polifenoles en granos fermentados. Con respecto a los granos secos, se llevaron a

cabo análisis similares, incluyendo ensayos fisicoquímicos, índice de fermentación y prueba de corte. Cada uno de los métodos empleados se describen a continuación.

2.3.1 *Temperatura*

Se registró la temperatura de los granos fermentados en el cajón de acero inoxidable durante los cinco días de fermentación a través de un termómetro termopar de 4 canales y registrador de datos (SD-947). Tres canales fueron ubicados en zonas distintas en el interior de la masa fermentada: en la parte más baja (canal 1), en medio (canal 2) y superficialmente (canal 3), mientras que el canal 4 midió la temperatura ambiental.

Por otra parte, para el equipo rotatorio de madera se empleó un registrador de datos, el cual está diseñado para una computadora portátil. Los cables del termopar se conectan directamente al equipo y un cable USB conecta el datalogger al computador. Al igual que el cajón de acero inoxidable, se utilizaron cuatro termocuplas y se las colocó en el interior del equipo en diferentes zonas. Las mediciones de temperatura de los dos equipos fueron registradas cada 10 min.

2.3.2 *pH y acidez titulable*

El análisis de pH y acidez titulable en grano fermentado y seco se llevó a cabo siguiendo el método AOAC 942.15 (Pillco et al., 2021) con adaptaciones específicas. Para el grano fermentado, se inició el procedimiento colocando 2g de cacao en un matraz con agua destilada a fin de eliminar el mucílago remanente. Luego, tanto los granos fermentados como los secos fueron triturados en un mortero, obteniendo 1.5g de pasta aproximadamente, la cual se añadió a un matraz vacío al que se agregaron 40ml de agua destilada previamente calentada a 75°C. Tras

permitir que la mezcla reposara hasta alcanzar los 25°C, se filtró para separar el sobrenadante. A continuación, se midió el pH del sobrenadante utilizando un potenciómetro. Finalmente, se diluyó el sobrenadante con agua destilada en una proporción de 1:4 para determinar la acidez titulable, mediante la adición de fenolftaleína como indicador y goteo de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N (Pilco et al., 2021), expresando los resultados como porcentaje de acidez titulable utilizando la ecuación 1 (López, 2019):

$$\%Acidez\ Titulable = \left(\frac{B * N * F.D * F.E}{W} \right) * 100\% \quad Ecuación\ 1$$

Donde,

B: Volumen de NaOH consumido en la titulación (ml)

N: Normalidad del NaOH

F.D: Factor de dilución

F.E: Miliequivalente del ácido acético

W: Peso de biomasa (g)

Respecto al mucílago, se midió el pH sumergiéndolo directamente en la muestra. En relación con la acidez, se diluyeron 5g de muestra en 20ml de agua destilada y se procedió con la titulación como se describió previamente.

Por otra parte, al aumentar la viscosidad del mucílago se disolvió 5g de muestra en 20ml de agua destilada a 75°C. Posterior a su reposo, hasta alcanzar los 25°C, se filtró para separar el sobrenadante. Con este sobrenadante se llevó a cabo el mismo procedimiento anteriormente descrito para medición de pH y acidez.

2.3.3 °Brix

El análisis de los sólidos solubles o °Brix se llevó a cabo mediante el método AOAC 932.12 con ciertas modificaciones (Pillco et al., 2021). Para los granos fermentados y secos, se midió los °Brix en un refractómetro digital colocando una pequeña alícuota en la superficie de muestreo, del sobrenadante resultante de los análisis anteriores.

En cuanto al mucílago, se midió los °Brix mediante de una alícuota obtenida del sobrenadante en los análisis de pH y acidez.

2.3.4 Humedad

El contenido de humedad de los granos de cacao posterior al secado se determina mediante el método especificado en la norma internacional ISO 2291 (1980) y se expresa como porcentaje en masa. La preparación de la muestra consiste en triturar los granos de cacao en el mortero, de modo que la dimensión de las partículas no supere 5mm. Luego de calibrar el equipo en base a las recomendaciones del laboratorio, se colocó 5g de la muestra y se llevó a cabo la medición. La determinación del contenido de humedad se realizó a 130 °C y el tiempo de duración fue 15 min aproximadamente (International Standard ISO, 1980).

Este ensayo permite conocer si las almendras de cacao cumplen con los requisitos de calidad establecidos en la normativa NTE INEN 176:2021 (Figura 1, Capítulo 1), donde se indica que el contenido de humedad debe ser máximo 7% para los granos de cacao de grado 1, 2 y 3.

2.3.5 *Prueba de corte*

Se tomaron 100 granos de cacao seco que fueron analizados mediante la norma NTP 2451 (2018). El ensayo consistió en realizar un corte longitudinal a la almendra de cacao y dividirla en dos mitades con el fin de exponer al máximo el interior del cotiledón.

La prueba de corte se aplicó para clasificar cada corrida experimental según los diferentes grados de calidad del grano fermentado y seco acorde a los requisitos establecidos en la normativa NTE INEN 176:2021 (Figura 1, Capítulo 1).

2.3.6 *Índice de fermentación*

En referencia a la metodología planteada por López et al. (2019), para determinar el índice de fermentación de los granos de cacao, se empleó una muestra de 0.1g de granos secos, la cual se maceró y trató con 10ml de una solución de metanol en ácido clorhídrico al 37% (97:3 v/v). Tras la homogenización, la muestra se mantuvo en reposo a 8°C durante 19h, luego se filtró con un papel filtro. Posteriormente, se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS para medir la absorbancia a 460nm y 530nm. Finalmente, IF se calculó dividiendo el valor de absorbancia a 460nm entre la absorbancia a 530nm, como se muestra en la Ecuación 2.

$$IF = \frac{\text{Valor de absorbancia a } 460\text{nm}}{\text{Valor de absorbancia a } 530\text{nm}} \quad \text{Ecuación 2}$$

El índice de fermentación guarda relación con los cambios cromáticos presentes en los granos de cacao. Acorde a López et al. (2019), al inicio el cacao presenta tonalidad violeta intenso debido al contenido de polifenoles, que posteriormente se transforma en marrón por la condensación de antocianinas que aumenta el valor de absorbancia a 460nm. En consecuencia, los valores calculados con la ecuación 2 que superaron la unidad (1) indicaron una fermentación

óptima, mientras que aquellos por debajo de 1 señalaron una fermentación insuficiente (Sunoj et al, 2016).

2.3.7 Polifenoles

Extracción de grasa

Para la preparación de la muestra, los granos de cacao fueron liofilizados y molidos en un molinillo de café, aproximadamente se obtuvo 1g de cacao en polvo, el cual fue desengrasado con 10 ml de hexano mediante centrifugación a 5000g, 10 min, 10 °C (Razola et al., 2023).

Extracción metanólica

La metodología consistió en pesar 0.5 g de muestra de cacao en polvo desengrasado, luego se añadió 5 ml de la solución extractora metanol/ácido clorhídrico (1000:1) al 80% (v/v) en agua destilada. Después, las muestras se agitaron a 200 rpm por 16h. Una vez culminado el tiempo se centrifugaron a 5000 rpm, 5 min, 5°C. El extracto obtenido fue conservado en refrigeración para su posterior análisis (Cáceres et al., 2014).

Determinación del contenido fenólico total por Folin-Ciocalteu

El método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu se utilizó para determinar el contenido fenólico total en muestras de cacao en polvo. Acorde a Torino et al. (2013) se recomienda que los reactivos a utilizar se encuentren a temperatura ambiente, las muestras y patrones deben ser ensayados de preferencia por triplicado.

Cuando la muestra está lista se inicia con la preparación de la dilución (1/200). Posteriormente, en un tubo Eppendorf se mezcló una alícuota de 100 µl de la dilución con 625 µl de agua destilada, 250 µl de carbonato de sodio 7.5% (p/v) y 25 µl del reactivo de Folin. Las mezclas se agitaron en un vórtex y se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente por 2h. La

absorbancia se midió a 739 nm empleando un plato multipocillo, donde se añadió 200 ml de muestra en cada pocillo. Finalmente, se preparó una curva patrón de ácido gálico con distintas concentraciones (0 - 135.0 mg/ml). Los resultados se expresaron como mg de equivalente de ácido gálico en 100g de materia seca (Torino et al., 2013).

Capítulo 3

3.1 Resultados y análisis

3.1.1. *Matriz de evaluación*

Se utilizó una matriz de evaluación como herramienta para el análisis de las distintas alternativas de solución al problema planteado en el capítulo 1, bajo los seis criterios de evaluación (calidad sensorial, económico, ambiental, social, cultural, y global), y cinco niveles de puntuación (1: No es importante/No es factible, 2: Poco importante/Poco factible, 3: Neutral, 4: Importante/Factible y 5: Muy importante/Muy factible). Las soluciones planteadas fueron las siguientes:

Solución A: Controlar los parámetros del proceso mediante la adición de un inóculo para alcanzar un índice de fermentación del 100%.

Solución B: Controlar los parámetros del proceso posterior a cada volteo y previo al secado en equipos de madera y acero inoxidable determinando su impacto en la calidad del grano fermentado.

Solución C: Controlar a diario los parámetros del proceso durante y posterior a la fermentación en equipos de madera y acero inoxidable determinando su impacto en la formación de precursores de aroma y sabor.

A continuación, en la Tabla 2 se muestra la suma y posición que obtuvieron cada solución, siendo la mejor alternativa la C, debido a que posee el nivel más alto en el criterio global en comparación a la solución B. El resultado obtenido permite cumplir con el objetivo general, debido a que se controla diariamente los parámetros, permitiendo tener más datos a fin de estandarizar el proceso de fermentación.

Tabla 2.*Criterios de evaluación para las diferentes alternativas de solución*

| CRITERIOS | PESO (%) | SOLUCIÓN A | | SOLUCIÓN B | | SOLUCIÓN C | |
|---|------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | | Nivel | Ponderación | Nivel | Ponderación | Nivel | Ponderación |
| Calidad sensorial | 20% | | | | | | |
| Precusores de aroma y sabor | 20% | 5 | 1 | 5 | 1 | 5 | 1 |
| Económico | 15% | | | | | | |
| Costo e inversión | 5% | 1 | 0,05 | 3 | 0,15 | 3 | 0,15 |
| Precio de venta (saco de granos secos) | 5% | 1 | 0,05 | 5 | 0,25 | 5 | 0,25 |
| Rendimiento de producción | 5% | 5 | 0,25 | 3 | 0,15 | 3 | 0,15 |
| Ambiental | 15% | | | | | | |
| Toxicidad de productos químicos de limpieza | 5% | 1 | 0,05 | 4 | 0,2 | 4 | 0,2 |
| Reducción de tiempo de limpieza | 5% | 1 | 0,05 | 4 | 0,2 | 4 | 0,2 |
| Impacto a la salud | 5% | 1 | 0,05 | 4 | 0,2 | 4 | 0,2 |
| Social | 15% | | | | | | |
| Calidad de vida de agricultores | 5% | 1 | 0,05 | 4 | 0,2 | 4 | 0,2 |
| Cultural | 10% | | | | | | |
| Capacitación del personal | 5% | 1 | 0,05 | 5 | 0,25 | 5 | 0,25 |
| Adaptabilidad por parte del personal | 5% | 1 | 0,05 | 5 | 0,25 | 5 | 0,25 |
| Global | 25% | | | | | | |
| Estandarización de proceso | 25% | 1 | 0,25 | 2 | 0,5 | 5 | 1,25 |
| Suma | | - | 1,9 | - | 3,35 | - | 4,1 |
| Posición | | - | 3 | - | 2 | - | 1 |
| ¿Continuar? | | - | NO | - | NO | - | SI |

3.2 Análisis de granos fermentados

3.2.1 *Monitoreo de temperatura*

Durante el proceso de fermentación de cacao de cinco días, se observó el cambio de temperatura por tres días en los tres tratamientos evaluados: fermentación en cajón de acero inoxidable con agitación manual de 3 minutos diarios (T2), en cajón de acero con remoción de 30 minutos (T3) y en cajón octagonal de madera con agitación de 30 minutos (T4). Encontrando que, T3 alcanzó una temperatura promedio de 33.95°C comparable a la referencia de 41.02°C (Tabla 3), seguido por el T2 con 30.7°C. En contraste, T4 alcanzó un promedio de 28.74°C debido a la adherencia de la masa de granos de cacao a las paredes del equipo, lo cual dificultó la remoción, el drenaje completo del mucílago y la concentración de la temperatura. A pesar de esto, se observó una disminución de temperatura en el tercer día y un aumento en el quinto en el tratamiento T4, cambios atribuibles a ajustes en la ventilación posterior a la agitación, reactivando la actividad metabólica en áreas específicas del fermentador. Estos se compararon con los valores de referencia obtenidos de un equipo tradicional de cajones de madera.

Tabla 3.*Temperaturas promedio durante la fermentación de cacao en diferentes equipos*

| | Referencia Cajón Madera | T2 | T3 | T4 |
|-------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Día 1 | 34,62 | 27,08 | 31,53 | 29,43 |
| Día 3 | 43,34 | 31,70 | 33,38 | 27,24 |
| Día 5 | 45,10 | 33,33 | 36,93 | 29,54 |

Nota. Datos referenciales obtenidos de Castillo, 2019

Acorde a Castillo (2019), el incremento de temperatura durante la fermentación se da por la degradación de azúcares mediado por levaduras. De manera similar, Apriyanto et al. (2016) sugirieron un aumento de temperatura en el centro debido a la concentración de calor en el núcleo de la masa en fermentación a medida que los microorganismos descomponen sustratos. Schwan & Fleet (2015) indican que, durante el primer día de fermentación, es común que la masa de granos de cacao alcance entre 25 y 30°C o más, dependiendo del tipo de cacao. Por otra parte, ninguno de los tratamientos supera los 40°C en los días 3 y 5, debido a factores como la ventilación en el volteo y la proximidad con el equipo, lo cual impacta en la temperatura según la temperatura ambiente. En zonas más frías, el cacao cerca de los orificios o paredes del equipo experimenta un aumento de temperatura de fermentación más lento, afectando a la homogenización de la fermentación, como se evidenció en el día cinco (Tabla 3). Cabe destacar que el equipo no utiliza un material adiabático ni aislante térmico, según las recomendaciones de Castillo (2019), lo que podría influir en la transferencia de calor de la masa.

3.2.2 *Medición de pH*

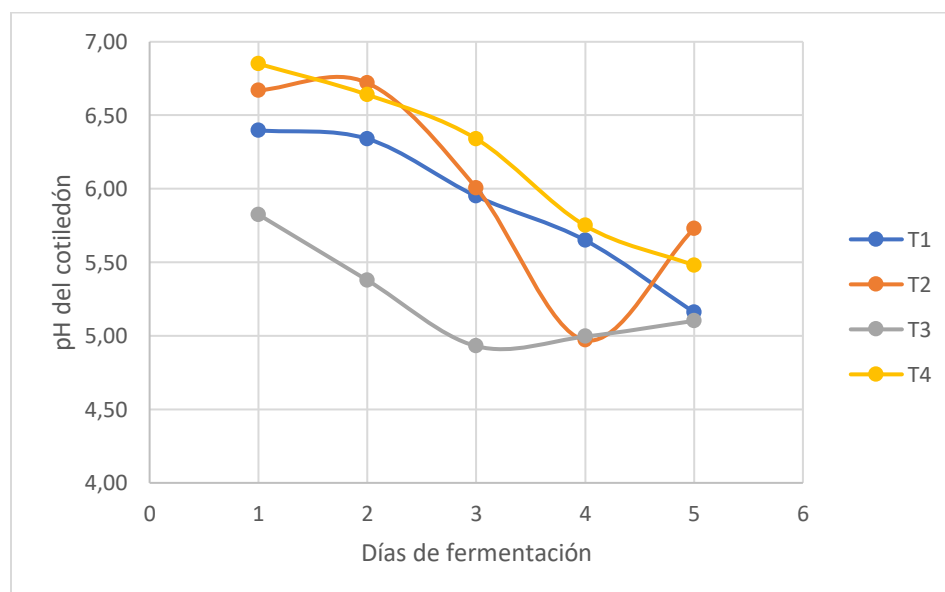
En la Figura 2, se presentan los resultados, encontrando que tanto el cajón de madera con agitación manual de 3 minutos diarios (T1) como T2 registraron un comportamiento similar en cuanto a la variación de pH en el cotiledón, disminuyeron de 6.40 a 5.16 ± 0.51 y de 6.67 a 5.73 ± 0.72 , respectivamente. Peláez et al., (2016) reportaron valores similares, donde el pH del cotiledón disminuyó significativamente de 6.99 ± 0.20 a 4.91 ± 0.06 , debido a la acidificación del medio que desintegra la célula y conduce a la muerte celular. Particularmente, en T2 se registró una disminución constante de pH del primer al cuarto día desde 6.67 a 4.97 ± 0.82 , y el quinto día aumentó a 5.73 ± 0.72 para el cotiledón (Figura 2). Estos resultados son similares a los de Castillo (2019), quién obtuvo una disminución de pH desde 6.77 a 4.52 en el cotiledón, incrementado ligeramente a 4.65. Acorde a Jackels & Jackels (2006), si el pH de los granos alcanza un rango entre 5.5 a 5.8 durante el proceso de acidificación, se considera que la fermentación es incompleta, si el pH es menor a 4.75 se considera sobre fermentado o muy ácido, mientras que un pH entre 4.75 a 5.19 indica una buena fermentación. Por tanto, como la masa fermentada alcanzó un pH final de 5.73, se sugiere que presentó una fermentación incompleta.

Por otra parte, en el T3 se registró un descenso significativo del pH del cotiledón, pasando de 5.83 a 4.93 ± 0.45 , desde el primer hasta el tercer día de fermentación, seguido por un ligero incremento posteriormente (Figura 2). Estos resultados coinciden con lo reportado por Ipanaqué et al. (2017), quienes observaron una disminución del pH del cotiledón de 6.34 a 4.44 hasta el cuarto día de fermentación, seguido por un aumento a 4.74 en el quinto día, finalizando en 4.88, lo cual acorde al autor se atribuye a que las muestras tomadas del fermentador posterior a remoción serán granos que se encontraban en el centro, superficie y/o fondo del biorreactor.

Por otra parte, García (2000) señalan que, durante los últimos días de fermentación del cacao, el pH de los granos tiende a elevarse debido a la creación de gradientes de acidez en su estructura. Este aumento se debe a que, con las altas temperaturas de fermentación, la superficie del grano pierde acidez por evaporación, mientras que el centro mantiene un nivel constante de acidez (Rivera, 2018).

Figura 2.

Variación de pH del cotiledón en función del tiempo de fermentación



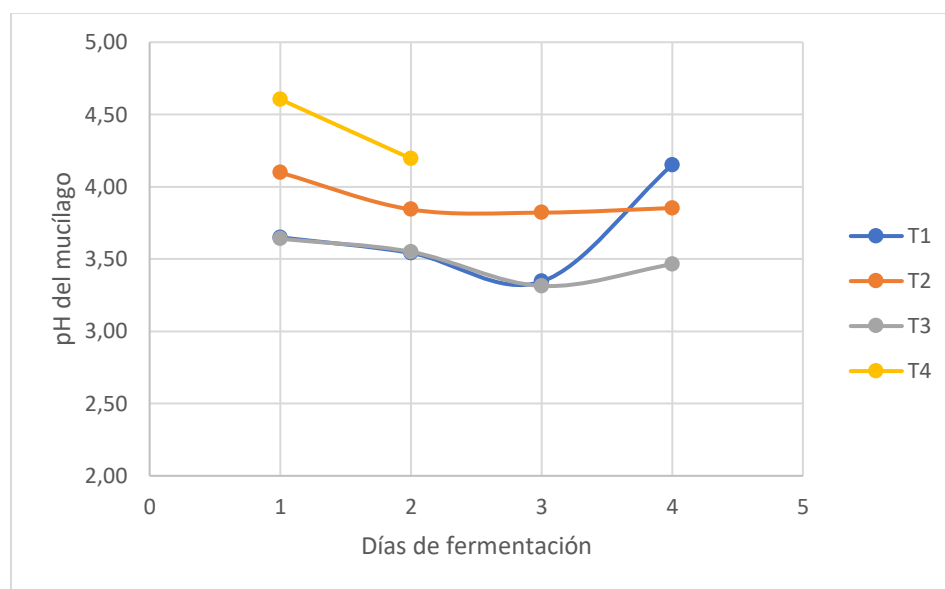
En el cuarto tratamiento se registró una disminución constante del pH del cotiledón a lo largo de los 5 días de fermentación, comenzando en 6.85 y finalizando en 5.48 ± 0.58 . De acuerdo con Rivera (2018), el pH inicial del cotiledón del cacao es casi neutro y disminuye debido a la difusión de los ácidos formados en la fermentación de la pulpa externa. Este descenso de pH se relaciona con la formación de ácido acético, que representa entre el 95-98% de ácidos volátiles, así como el ácido láctico, cuya contribución al pH es mínima, según García, (2000).

En base a los resultados se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey ($p < 0.05$) con nivel de confianza de 95% en el programa estadístico MiniTab. En cuanto al ANOVA de pH del cotiledón se obtuvo un valor $p = 0.187$ (Apéndice C). Por tanto, no se rechaza la hipótesis nula, el pH de los tratamientos no son significativamente diferentes. De la misma manera, se corrobora con la prueba de Tukey (Apéndice C), en la cual se agruparon las medias de los tratamientos con la misma letra (A), lo que significa que estas no presentan diferencias significativas.

En cuanto la pulpa, para T1 se registró un descenso de 3.65 a 3.44 ± 0.16 durante los tres primeros días, incrementando a 4.15 ± 0.34 el cuarto día. Se hallaron resultados semejantes en el pH del mucílago descrito por Rojas et al. (2020), con pH inicial de 3.56 a 3.70 y pH final 4.49 a 4.70. El autor expresó que, a lo largo de la fermentación, es posible observar cambios en función de la fase fermentativa. Por ejemplo, a partir del día 2 para T1 (Figura 3) se aprecia la diferencia, según el comportamiento de pH para distinguir entre la fase anaeróbica y aeróbica, la primera se caracteriza por la intervención levaduras y BAL, las cuales se desarrollan en condiciones limitadas de oxígeno y $\text{pH} < 4$ (Figura 3); mientras que la segunda se desarrolla las BAA, capaces de oxidar el etanol y ácido acético en medios ácidos y neutros (Rojas et al., 2020). La producción de estos ácidos provoca una caída en el pH de la pulpa, que se puede detectar entre el primero y segundo día (Bobiles et al., 2022), en los tratamientos 1 y 3 (Figura 3).

Figura 3.

Variación de pH del mucílago en función del tiempo de fermentación



Particularmente, durante el proceso de fermentación se observó una disminución significativa en el pH del mucílago de T4, descendiendo 4.61 a 4.20 ± 0.29 del primer al segundo día (Figura 3). Sin embargo, estas fueron las únicas muestras obtenidas, ya que a partir del tercer día no fue posible recolectar más mucílago. Este impedimento se debió al drenado parcial que dejó la mayor parte de las almendras de cacao cubiertas, evitando la extracción total de la pulpa.

Pastrano y Sotomayor (2020) detallaron la configuración de sus fermentadores: el suyo constaba de 24 agujeros para facilitar el drenado, mientras que el fermentador octagonal utilizado en este trabajo tenía 33 agujeros. A pesar de esta diferencia en el número de agujeros que conforman el sistema de drenado, en ambos casos solo se logró recolectar mucílago durante los dos primeros días del proceso.

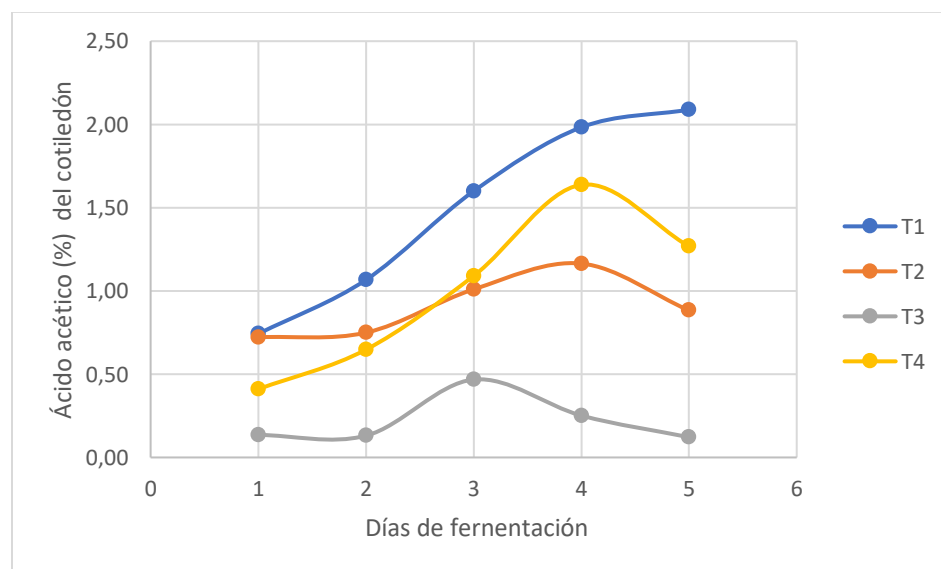
Adicionalmente, en el análisis de ANOVA (Apéndice C) y prueba de Tukey (Apéndice C) se obtuvo, al igual que los resultados de pH del cotiledón, que el pH del mucílago en los diferentes tratamientos no es significativamente diferente.

3.2.3 Medición de acidez

La acidez del cotiledón incrementó significativamente desde el inicio de la fermentación para todos los tratamientos (Figura 4). En contraste, acorde a Calvo et al., (2021), la concentración de ácido acético en el cotiledón aumentó desde el segundo al quinto día de fermentación. Este ácido junto con el ácido láctico se difunde desde la pulpa al cotiledón, provocando la muerte del embrión. Resultados similares han sido reportados por Peláez et al., (2016), donde obtuvo que la acidez de los cotiledones aumentó de $0.77\% \pm 0.19$ a $2.16\% \pm 0.00$ desde el primer día. Rivera et al. (2012) indicó que los ácidos producidos por los microorganismos durante la fermentación ocasionan un aumento de la acidez y la disminución del pH.

Figura 4.

Variación de ácido acético del cotiledón en función del tiempo de fermentación



No obstante, en T2, T3 y T4, la acidez del cotiledón (Figura 4) disminuyó a partir del cuarto día, debido a que los resultados de acidez varían en función de los sólidos solubles iniciales en la pulpa (Aldas et al., 2020). Además, en este punto la mayor parte del ácido

producido se difundió hacia los granos, es así como a medida que la acidez fue disminuyendo mejoraba la aireación en la fermentación del mucílago, lo que llevaba a la evaporación de ácidos volátiles como el ácido acético (Apriyanto et al., 2016).

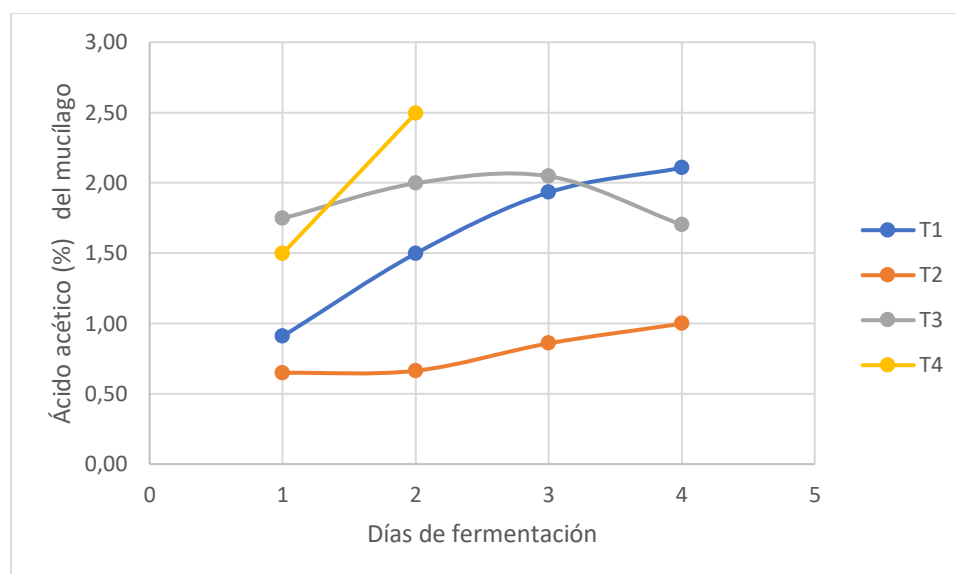
En base a lo obtenido en el análisis ANOVA (Apéndice D), se consiguió un valor de p nulo, lo que significa que se rechaza la hipótesis nula, los tratamientos son significativamente diferentes en cuanto a la cantidad de ácido acético. Esto se corrobora con la prueba de Tukey (Apéndice D), donde se evidencian que las medias de los tratamientos T3-T1, T4-T1 y T3-T2 son diferentes.

De igual manera, para el mucílago se evidenció un incremento en la acidez hasta el tercer día para T1, T2 y T3, mientras que T4 aumentó hasta el segundo día, por la limitada recolección de datos a causa de la dificultad en el sistema de drenaje del fermentador. Peláez et al., (2016), indica que cuando inicia la fermentación la pulpa es muy viscosa, por lo cual limita la entrada de oxígeno creando un ambiente anaeróbico, sumado con el alto contenido de sólidos solubles y ácidos orgánicos promueve el desarrollo de levaduras. Las levaduras utilizan los azúcares como sustrato, y liberan etanol y energía. La escasez de oxígeno, junto con ácido cítrico y azúcares residuales, favorecen el desarrollo de bacterias lácticas.

La mayor fluidez resultante, hace que la pulpa se drene, además favorece el ingreso de oxígeno y genera condiciones aeróbicas, junto con la reducción de acidez e incremento de temperatura, favorece el desarrollo de BAA, lo cual explica la presencia y aumento de metabolitos como el ácido acético (Calvo, et al., 2021). De acuerdo con lo anterior, para el tratamiento 1 se observó un aumento de ácido acético de 0.91 a $2.11\% \pm 0.53$ (Figura 5). Cabe mencionar que el quinto día la cantidad de mucílago drenado era muy poco, por lo cual el análisis de la muestra fue limitado.

Figura 5.

Variación de ácido acético del mucílago en función del tiempo de fermentación



En el análisis ANOVA de la acidez en la pulpa no se rechaza la hipótesis nula, debido a tener un $p=0.004$ (Apéndice D). En base al análisis de Tukey, se muestra que las medias de T2-T1 y T3-T2 son significativamente diferentes, mientras que las medias de T3-T1 son prácticamente iguales y fueron agrupadas con la letra A en los resultados de la prueba (Apéndice D).

3.2.4 Medición de °Brix

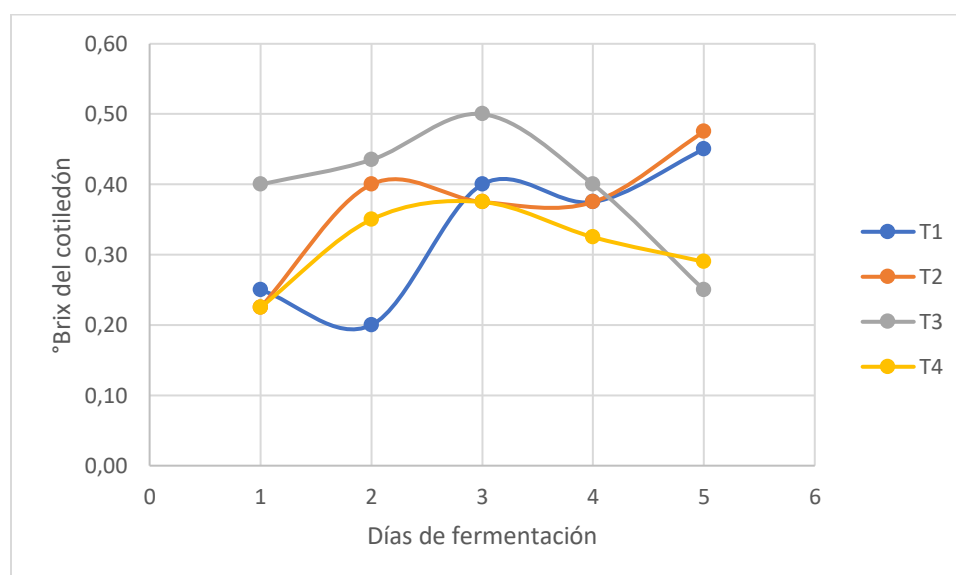
En los granos fermentados de T1 y T3, se evidencia un incremento en el contenido de °Brix, alcanzando su punto máximo en el tercer día, con valores de 0.4 ± 0.11 y 0.5 ± 0.09 °Brix, respectivamente. Esto indica un agotamiento de azúcares en los granos (Figura 6) debido a la acción de las levaduras que convierten estos sólidos de la pulpa en etanol (Hernández et al, 2016).

Para el tratamiento 2 y 4, se observa un pico en el día 2, cuyos valores fueron, 0.44 ± 0.09 y 0.35 ± 0.06 °Brix para el grano fermentado (Figura 6), posteriormente la actividad del

microorganismo disminuye continuamente en el caso de T4, y en T2 culmina con un ligero incremento en el día 5 (0.48 ± 0.09). La disminución de este parámetro posterior al tercer día tanto en los granos como en la pulpa sugiere una ralentización en la actividad fermentativa en ambas fracciones, lo que indica un menor consumo de azúcares por parte de los microorganismos (De Vuyst et al., 2016).

Figura 6.

Variación de °Brix del cotiledón en función del tiempo de fermentación



En el análisis ANOVA los °Brix del cotiledón no se rechaza la hipótesis nula, debido a tener un $p=0.477$ (Apéndice E). En base al análisis de Tukey, se muestra que las medias son iguales y fueron agrupadas con la letra A (Apéndice E).

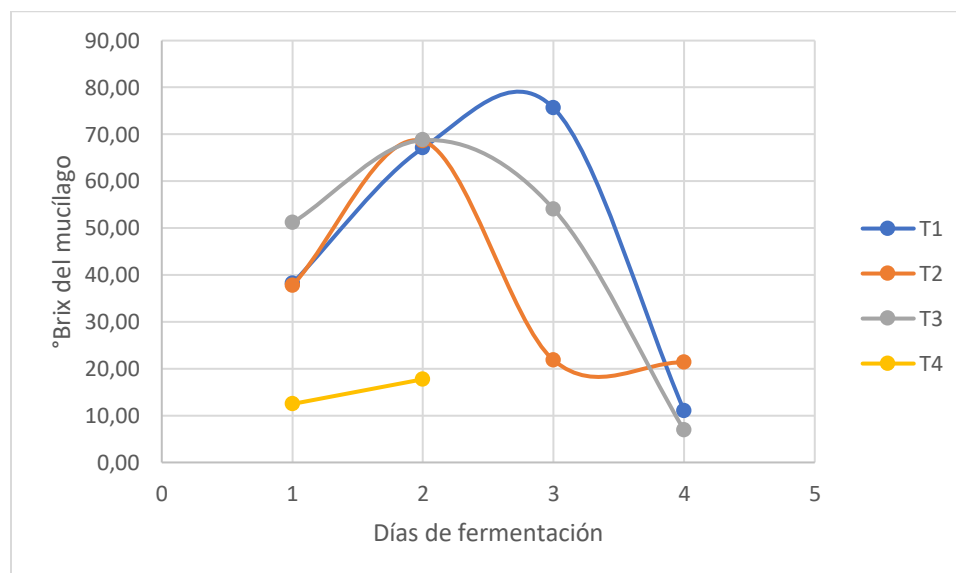
En cuanto la pulpa, esta se caracteriza por su alto contenido de acidez y sólidos solubles, con valores de 18 °Brix aproximadamente. Estos factores promueven el crecimiento de los microorganismos durante el proceso de fermentación. El contenido de sólidos solubles en el mucílago es cinco veces mayor que el contenido en el cotiledón, con un promedio de 3.83 °Brix

(Loureiro et al., 2017). En base a lo expuesto, el alto contenido de sólidos solubles de la pulpa, día 1 al día 3 en T1 y del día 1 al día 2 en los demás tratamientos, favorece el crecimiento de los microorganismos.

El aumento inicial de los °Brix tanto en el mucílago como en los granos durante los primeros días (Figura 7), refleja la actividad microbiana que metaboliza los azúcares presentes en ambas partes del cacao (De Vuyst et al., 2016). El pico máximo de los °Brix en el segundo día o tercer día del mucílago sugiere la culminación temprana de la fermentación en esta fracción, indicando que los microorganismos han agotado la mayor parte de los azúcares disponibles en el mucílago en ese punto.

Figura 7.

Variación de °Brix del mucílago en función del tiempo de fermentación



En el análisis ANOVA (Apéndice E) se obtuvo $p=0.841$, por tanto, no se rechaza la hipótesis nula, no hay diferencias significativas entre los valores de °Brix de los tratamientos. Esto se corrobora con la prueba de medias de Tukey, donde se muestran agrupaciones de una sola letra entre los tratamientos (Apéndice E).

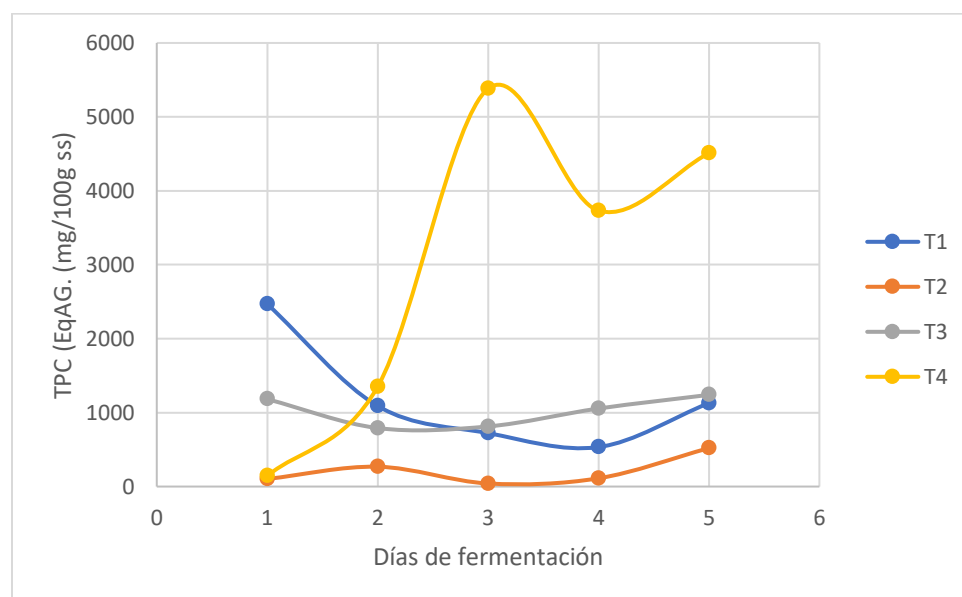
3.2.5 Contenido de polifenoles totales

Los resultados obtenidos mostraron que el contenido de polifenoles totales (CPT) para T1 disminuyó desde 2469 a 533 mg AG/100g ss hasta el cuarto día, luego incrementó ligeramente a 1128 mg AG/100g ss (Figura 8). Mientras que, T2 y T3 presentaron un comportamiento muy similar, en el cual los polifenoles disminuyeron entre el día 2 y 3, posteriormente aumentaron. Esta reducción de polifenoles durante la fermentación se debe a la diferencia en el nivel de actividad de la polifenol oxidasa, la cual cataliza reacciones de distintos fenoles para producir o-quinonas (Dwijatmko et al., 2018). Acorde a Menéndez y Burgos (2021), una fermentación adecuada se distingue por la pérdida del 80% de CPT, esto permite que se liberen los precursores del sabor, esenciales para la formación de los compuestos aromáticos.

Por otra parte, T4 registró un aumento desde 144 a 5380 AG mg/100g ss durante los 3 primeros días, luego la curva decayó y finalmente incrementó. Este comportamiento se debe principalmente a que la masa no se fermentó correctamente.

Figura 8.

Variación del contenido de polifenoles totales en función del tiempo de fermentación



El análisis de ANOVA (Apéndice F) determinó que existen diferencias significativas entre los polifenoles totales de los tratamientos. Esto se respalda con la prueba de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), donde las medias fueron agrupadas por distintas letras A y B (Apéndice F), lo que significa que existe diferencias significativas de los tratamientos T2-T1, T4-T1, T2-T3 y T4-T3.

3.3 Análisis de grano seco

3.3.1 Características del grupo control

El proceso de fermentación se llevó a cabo con cacao Nacional en cajones de madera durante cinco días, con volteos cada 48h. Por último, se secó por cuatro días en tendal y el quinto día en la secadora por 2h. Una vez culminado el secado, se midió el contenido de humedad, obteniendo un valor de 6.55%.

3.3.2 Parámetros fisicoquímicos

Posterior a la fermentación, los granos de cacao son secados para reducir el contenido de humedad, máximo 7% (INEN, 2021). Para el control se obtuvo 6.55% de humedad (Tabla 4), con este nivel, la incidencia de moho y granos quebradizos se minimiza significativamente (Ackah & Dompey, 2021). En contraste, T1, T2 y T3 mostraron valores de 5.36%, 5.46% y 5.61%, respectivamente. Valores de humedad < 6% disminuyen la calidad del grano (pérdida de compuestos de aroma y sabor), debido a que el producto puede quebrarse fácilmente (Menéndez y Burgos, 2021). Por otro lado, T4 presentó 4.79%, debajo del 5% de humedad, resultando en un grano muy quebradizo (Ackah & Dompey, 2021).

Afoakwa et al. (2008) reportó que la generación del perfil aromático y sensorial en el cacao posee un pH entre 5.00 a 5.20. Conforme a lo anterior, se determinó que el pH control

(Tabla 4) se encontraba dentro del rango. Comparando los tratamientos, se registraron valores muy cercanos para T1 (5.10) y T3 (5.01). Mientras que, T2 y T4 mostraron valores menores a 5.00, esto se debe que durante la acidificación los granos fermentados no alcanzaron el pH óptimo.

La acidez obtenida para el grupo control (pH 5.20) fue de 0.50%. Del mismo modo, T1 y T3 con pH cercanos al control (Tabla 4) obtuvieron una acidez de 0.62% y 0.65%, respectivamente. Por el contrario, T2 (0.80%) y T4 (0.76%) registraron los valores más alto de acidez. Analizando los efectos que pudo causar el deshidratador (50 °C) sobre la calidad de los granos fermentados, se aprecia que el aumento de acidez fue proporcional con la disminución del pH (Dzelagha et al., 2020).

Por otra parte, el °Brix alcanzado por el control fue de 0.50°Brix. Este valor se acerca al resultado reportado por García et al. (2021), 0.4°Brix. De igual manera, T1 y T3, presentaron valores semejantes al control, 0.47°Brix y 0.53°Brix, respectivamente, Mientras que, T2 (0.60°Brix) y T4 (0.68°Brix), reflejaron valores superiores. Una baja o alta calidad de sólidos solubles no define la calidad del cacao, sin embargo, es importante considerar otros factores en conjunto a fin de obtener un cacao con un perfil aromático adecuado (Calvo et al., 2021).

Tabla 4.*Parámetros fisicoquímicos del grupo control y los tratamientos estudiados*

| Tratamiento | %Humedad | pH | Acidez (%) | °Brix (%) |
|--------------------|-----------------|-----------|-------------------|------------------|
| Control | 6.55 | 5.20 | 0.50 | 0.50 |
| T1 | 5.36 | 5.10 | 0.62 | 0.47 |
| T2 | 5.46 | 4.82 | 0.80 | 0.60 |
| T3 | 5.61 | 5.01 | 0.65 | 0.53 |
| T4 | 4.79 | 4.91 | 0.76 | 0.68 |

3.3.3 *Índice de fermentación mediante método químico*

El índice de fermentación es una medida indirecta del contenido de antocianinas, uno de los principales compuestos de los polifenoles en el grano de cacao, este componente podría estar relacionado con la medición espectral (Romero et al., 2013). Por otra parte, la solución empleada, metanol/HCL (97:3 v/v) extrae estructuras fenólicas con mayor capacidad antioxidante presente en el cotiledón (Garrido et al., 2007).

Mediante la metodología empleada se obtuvo que el grupo control y todos los tratamientos tuvieron una buena fermentación (Tabla 5), dado que los valores son iguales o mayores a 1 (López et al., 2019). Sin embargo, los análisis bromatológicos descritos en párrafos anteriores demostraron lo contrario, donde solo el control, T1 y T3 presentaron buena fermentación, a diferencia de T2 y T4 con una fermentación incompleta. En vista de que los resultados no fueron los esperados se decidió realizar la prueba de corte.

Tabla 5.*Índice de fermentación de los diferentes tratamientos*

| Tratamientos | | | | | |
|---------------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Réplicas | Control | T1 | T2 | T3 | T4 |
| 1 | 1.77 | 2.20 | 2.37 | 2.19 | 2.23 |
| 2 | 1.86 | 2.22 | 2.37 | 2.19 | 2.22 |
| Promedio | 1.82 | 2.21 | 2.37 | 2.19 | 2.23 |

3.3.4 Prueba de corte

La prueba de corte es la medida de oxidación de las antocianinas en los granos de cacao, donde los granos grises y morados son característicos de una mala fermentación, y los granos marrones o café son típicos de una buena fermentación (Hernandez et al., 2016). Para esta prueba se analizaron 100 granos por cada tratamiento, cuyos pesos por muestra fueron 156g, 143g, 138g, 148g y 141g para el control, T1, T2, T3 y T4, correspondientemente.

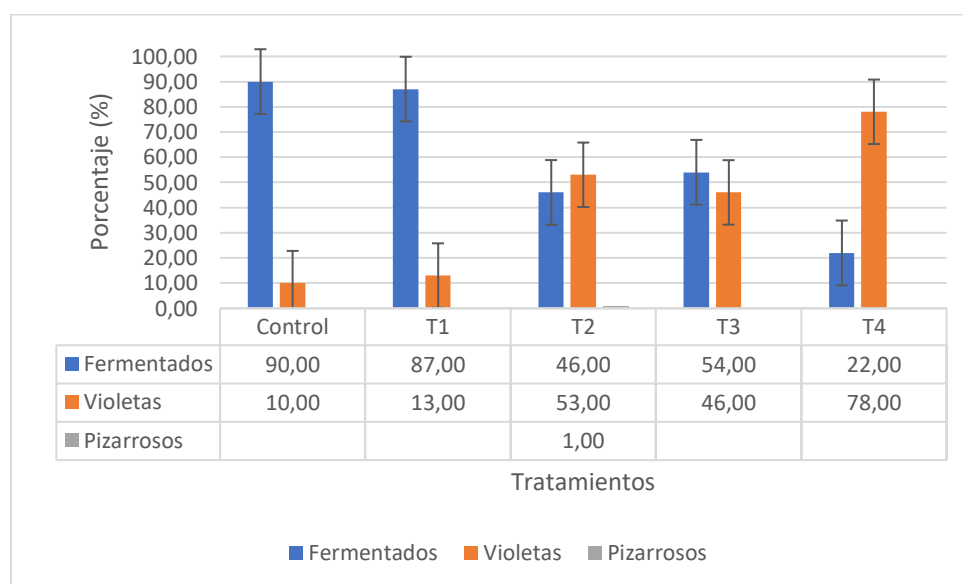
El control obtuvo 90% de grano café y 10% granos violetas (Figura 9), puesto que se clasificó como un grano de grado 1, debido a que cumplió con los requisitos de calidad (Figura 1, Capítulo 1). De los tratamientos analizados, T1 presentó mayor porcentaje de grano marrón (87%), al igual que el control se clasificó el grano como grado 1. Por otra parte, T3 y T2, mostraron valores de 54% y 46% de granos cafés, respectivamente. Estos resultados sugieren que T3 podría considerar como una opción viable para el proceso fermentativo.

En cambio, T4 reportó el valor más bajo, 22%, esto se debe a que la masa fermentada en el cajón de madera rotatorio no contaba con las condiciones de temperatura y pH para una fermentación óptima (Figura 9).

Los cambios en el grado de fermentación durante el proceso se deben a la reducción de la concentración de polifenoles por dispersión desde los granos y su posterior oxidación y condensación. La polifenol oxidasa cataliza las reacciones de oxidación de o-difenol a o-quinona, siendo esta última responsable del color marrón en las almendra (Hernández et al., 2016).

Figura 9.

Prueba de corte de los diferentes tratamientos



3.1.5 Análisis de costos

Se determinó el costo de inversión en base al costo del material del equipo de acero inoxidable (AISI 304), así como costos fijos y variables en caso de implementar el biorreactor a un proceso ya existente.

En este caso, las planchas de acero inoxidable tienen un precio entre \$82.34 y \$92.73, acorde a lo cotizado en ACERAL, 2021. Acorde a Briones (2022), para costear la inversión de la

máquina fermentadora se deben considerar variables como mantenimiento, transporte, costo del equipo según el material y piezas, así como el costo del montaje. A continuación, se muestra el costo de inversión en un cajón fermentador de AISI 304 (Tabla 6) y la división de costos fijos mensuales y anuales (Tabla 7), así como los costos variables máximos dados por los posibles fallos que se presenten en el equipo (Tabla 8).

Tabla 6.

Costo de inversión de un fermentador de acero inoxidable 304

| Insumo | Valor |
|--------------------------------|------------------|
| Transporte de equipo | \$ 50.00 |
| Costo de equipo | \$ 200.00 |
| Costo de montaje e instalación | \$ 90.00 |
| Inversión inicial | \$ 340.00 |

Tabla 7.

Costos fijos de la inversión de un fermentador de acero inoxidable 304

| Insumos | Valor |
|---------------------------------|----------------|
| Consumo eléctrico | \$ 15.00 |
| Mantenimiento y limpieza | \$ 25.00 |
| Costo fijo mensual total | \$40.00 |

Tabla 8.*Costos variables de un fermentador de acero inoxidable 304*

| Insumos | Valor |
|--|-----------------|
| Suministro de servomotor | \$ 30.00 |
| Suministro de aletas de acero inoxidable | \$ 120.00 |
| Suministro de cables | \$15.00 |
| Suministro de coraza inoxidable | \$80.00 |
| Suministro de enchufe | \$3.00 |
| Costo fijo mensual total | \$248.00 |

Adicionalmente, se calcula el costo de inversión de un fermentador tradicional de madera (Tabla 9), considerando que por 15x2.2m la tabla cuesta \$2.18 (Maderas El Bosque, 2023).

Tabla 9.*Costo de inversión de un cajón fermentador de madera Laurel*

| Insumo | Valor |
|--------------------------------|------------------|
| Transporte de equipo | \$ 40.00 |
| Costo de equipo | \$ 50.00 |
| Costo de montaje e instalación | \$ 60.00 |
| Inversión inicial | \$ 150.00 |

A fin de comparar el costo de inversión por un cajón de acero inoxidable y uno de madera Laurel, se tiene una diferencia significativa de \$190.00. No obstante, considerando la

vida útil de los fermentadores, el equipo AISI 304 tendrá mayor durabilidad (mayor o igual a 10 años) debido a su resistencia a la corrosión por el contacto directo con líquidos producidos durante la fermentación a diferencia de un fermentador de madera Laurel. Por otra parte, el fermentador AISI 304 es de fácil limpieza, lo que evita la retención de sabores o aromas residuales en cada batch de cacao que se fermente.

Capítulo 4

4.1 Conclusiones y recomendaciones

4.1.1 Conclusiones

- En relación con las condiciones operativas aireación y agitación, así como los equipos empleados, se destaca que la adecuada oxigenación y remoción durante el proceso de fermentación ejercen una influencia significativa en la homogeneidad de la masa. Este fenómeno se traduce en beneficios notables para la temperatura alcanzada por la masa, asegurando así una fermentación homogénea. Cabe señalar que, aunque en los equipos de acero inoxidable se podría observar una potencial afectación en la transferencia de calor, se ha logrado fermentar de manera efectiva, alcanzando un desarrollo superior al 50% de polifenoles.
- Los granos de cacao procesados en el equipo tradicional de madera con remoción manual presentan mejor fermentación, aunque tienen niveles de acidez significativamente más altos (2.09%) en comparación con los demás tratamientos. Esta acidez alta puede tener implicaciones negativas en la calidad del producto final, como el licor de cacao. Por otro lado, las almendras fermentadas en el equipo de acero inoxidable con agitación continua muestran menor acidez y constituyen el segundo tratamiento mejor fermentado. Además, durante el proceso de fermentación, se logran temperaturas cercanas a las de la referencia. Estos hallazgos sugieren que la transición de un fermentador tradicional a uno de acero inoxidable, caracterizado por su fácil limpieza, es una opción viable para mejorar la calidad del proceso de fermentación y, por ende, del producto final.
- Los resultados obtenidos mediante el análisis fisicoquímico en las muestras de granos fermentados han permitido identificar el equipo óptimo para el proceso. Se ha determinado que el fermentador de acero inoxidable es una alternativa viable bajo

condiciones operativas específicas para la fermentación de cacao donde se evite el uso de madera. Estas condiciones comprenden una temperatura controlada en un rango entre 37-45 °C alcanzada por la masa durante la fermentación, pH entre 5.00-5.19 y tiempo de remoción diario de 30 minutos. Adicionalmente, las especificaciones técnicas del biorreactor de acero se describen en el Apéndice G.

- La implementación de un proceso controlado conlleva un costo inicial de inversión de \$340, cifra que supera significativamente al gasto asociado a un cajón de madera tradicional (\$150 aproximadamente). A pesar del elevado costo, el biorreactor de acero ha demostrado ofrecer múltiples ventajas como, facilitar la limpieza, sistema de remoción permanente, monitoreo y control de los parámetros. Asimismo, posibilita la trazabilidad de los datos en tiempo real y presenta una vida útil mayor a los 10 años.

Basándose en lo anterior, se ha alcanzado el Objetivo de Desarrollo Sostenible número 8 (ODS 8), generando un impacto en la productividad económica a través de la tecnología e innovación en el área cacaotera, así como promover el trabajo decente para hombres y mujeres. Los trabajadores, al utilizar el equipo de acero tienen la garantía de operar de manera segura, beneficiándose de capacitaciones que les aporte con conocimientos especializados.

Esta iniciativa contribuye con el desarrollo económico local y maximiza la calidad del cacao producido por los pequeños productores. La comercialización a nivel nacional e internacional se ve potenciada, gracias a la mejora del proceso mediante el uso del fermentador de acero inoxidable.

4.1.2 Recomendaciones

- Se recomienda utilizar una chaqueta (aislante térmico) en el equipo de acero inoxidable con el objetivo de disminuir la transferencia de calor en la masa fermentada.
- Utilizar un data logger digital por cada equipo para monitorear y registrar la temperatura del proceso de fermentación durante 24 horas.
- Considerar como alternativa la aplicación del método químico NIR para evaluar el grado de fermentación y calidad de los granos de cacao.
- Rediseñar el equipo rotatorio de madera Laurel con aspas en el interior que beneficien la remoción y drenaje completo de la pulpa durante la fermentación.

Referencias

- ACERAL. (2021). Productos. *Planchas de Acero Inoxidable*.
<https://aceral.com.ec/product/acero-inoxidable/>
- Ackah, E.& Dompey, E. (2021). Effects of fermentation and drying durations on the quality of cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans during the rainy season in the Juaboso District of the Western-North Region, Ghana. *Bulletin of the National Research Centre*, 45, 175.
<https://doi.org/10.1186/s42269-021-00634-7>
- Afoakwa, E., Paterson, A., Fowler, M. & Ryan, A. (2008). Flavour formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 840–857. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>
- Aldas, J., Neira, J., Revilla, K. & Sánchez, S. (2020). Métodos de fermentación del cacao Nacional (*Theobroma cacao*) y su influencia en las características fisicoquímicas, contenido de cadmio y perfiles sensoriales. *Alternativas*, 21(3), 41-48.
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8065046.pdf>
- Amador, C., Alvarado, A., Farah, S. y Martillo, J. (2022). Caracterización morfológica del cacao nacional “*Theobroma cacao* L.” del cantón Naranjal, Ecuador. *Revista Tecnológica ESPOL*, 34(4), 80-97. <https://doi.org/10.37815/rte.v34n4.978>
- Apriyanto, M., Supriyanto, S., & Harmayani, E. (2016). Study on effect of fermentation to the quality parameter of cocoa bean in Indonesia. *Asian Journal Dairy & Food Research*, 35(2), 160-163. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v35i2.10724>

Aprotosoiaie, A., Vlad, S. y Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products – An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 73-91.

<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>

Asociación Nacional de Exportadores de Cacao-Ecuador (ANECACAO). (2020). Sector exportador de cacao. [Online]. Disponible en:

https://www.jica.go.jp/activities/issues/agricul/jipfa/ku57pq00002kzl3d-att/20200220_data03_sp.pdf

Badillo, K., Teneda, W. y Santamaría, E. (2023). El comportamiento de los precios de venta del cacao (*Theobroma cacao L.*) en la Provincia de los Ríos-Ecuador. *Digital Publisher CEIT*, 8(2), 5-17. <https://www.researchgate.net/publication/368985615>

Barrezueta, S. y Chabla, J. (2017). Características sociales y económicas de la producción de cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *Revista La Técnica*, 25-34.

<https://www.researchgate.net/publication/321883849>

Bobiles, S., Elegado, F., Millena, C., Merca, F. (2022). Small/scale cacao (*Theobroma cacao L.*) fermentation process utilizing cacao pod husk. *Food Research*, 6(4), 236-245.

[https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(4\).502](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(4).502)

Briones, E. (2022). Diseño de una máquina fermentadora de cacao con 450kg de capacidad para generar una remoción uniforme del grano, ubicada en Jaén [Tesis de grado Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo].

https://tesis.usat.edu.pe/bitstream/20.500.12423/5165/1/TL_BrionesDiazEricks.pdf

- Brunetto, M del R., Gallignani, M., Orozco, W., Clavijo, S., Delgado, Y., Ayala, C. y Zambrano, A. (2020). The effect of fermentation and roasting on free amino acids profile in Criollo cocoa (*Theobroma cacao L.*) grown in Venezuela. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, 1-12 <https://doi.org/10.1590/1981-6723.15019>
- Cáceres, P. J., Martínez, C., Amigo, L., & Frias, J. (2014). Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions. *Food Chemistry*, 152, 407-414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.156>
- Calvo, A., Botina, B., García, M., Cardona, W. y Criollo, J. (2021). Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Scientific Reports*, 11, 1-15. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-95703-2#citeas>
- Caporaso, N., Whitworth, M., Fowler, M. y Fisk, I. (2018). Hyperspectral imaging for non-destructive prediction of fermentation index, polyphenol content and antioxidant activity in single cocoa beans. *Food Chemistry*, 258, 343-351. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.039>
- Castillo, J. (2019). *Diseño de un fermentador orientado a mejorar el proceso de fermentación del cacao criollo blanco de Piura* [Universidad de Piura]. Repositorio Institucional Pirhua. https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4017/MAS_IME_AUT_033.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Cedeño, E. y Dilas, J. (2022). Producción y exportación del cacao ecuatoriano y el potencial del cacao fino de aroma. *Revista de Investigación Científica y Tecnológica*, 2(1) 8-15.

<https://www.researchgate.net/publication/360208143>

Cobos, E. (2021, Marzo 11). Ecuador tiene en el cacao una oportunidad de oro. [Online].

Disponible en: <https://revistagestion.ec/economia-y-finanzas-analisis/ecuador-tiene-en-el-cacao-una-oportunidad-de-oro/#:~:text=Hist%C3%B3ricamente%2C%20el%20Ecuador%20ha%20sido,con%20m%C3%A1s%20de%2070.000%20toneladas>

De Vuyst, L., & Weckx, S. (2016). The cocoa bean fermentation process: From ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*, 121, 5-17.

<https://doi.org/10.1111/jam.13045>

Dueñas, S., Rosales, G. y Abrego, C. (2017). Evaluación de la incidencia de la fermentación en la calidad del grano de cacao trinitario en Caluco, Sonsonate, El Salvador. *Afrociencia*, 1(1), 11-25. <https://revistas.ues.edu.sv/index.php/agrociencia/article/view/716>

Dwijatmoko, M., Nurtama, B., Dewi, N. & Misnawi, M. (2018). Characterization of Polyphenols from Various Cocoa (*Theobroma cacao L.*) Clones During Fermentation. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 34(2), 104-112.

<https://doi.org/10.22302/icri.jur.pelitaperkebunan.v34i2.319>

Dzelagha, B., Ngwa, N. & Bup, D. (2020). A Review of Cocoa Drying Technologies and the Effect on Bean Quality Parameters. *International Journal of Food Sciences*, 1-

11. <https://doi.org/10.1155/2020/8830127>

Erazo, C. (2019). *Diseño de un fermentador y secador solar piloto, para dos variedades de cacao (Theobroma cacao L.), en el cantón el empalme provincia Guayas* [Tesis de grado Universidad Internacional SEK]. Repositorio UISEK.

<https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/3361/1/FERMENTACION%20DE%20CACAO.pdf>

Erazo, C., Bravo, K., Tuárez, D., Fernández, A., Torres, Y. y Vera, J. (2021). Efecto de la fermentación de cacao (*Theobroma cacao L.*), variedad Nacional y Trinitario, en cajas de maderas no convencionales sobre la calidad física y sensorial del licor de cacao. *Revista de Investigación Talentos*, 8(2), 42-55. <https://doi.org/10.33789/talentos.8.2.153>

Ganeswari, I., Khairul, S., Amizi, M. y Sim, K. (2015). Effects of different fermentation approaches on the microbiological and physicochemical changes during bean fermentation. *International Food Research Journal*, 22(1), 70-76.

[http://ifrj.upm.edu.my/22%20\(01\)%202015/\(11\).pdf](http://ifrj.upm.edu.my/22%20(01)%202015/(11).pdf)

García, A., Pico, B. y Jaimez, R. (2021). La cadena de producción del Cacao en Ecuador: Resiliencia en los diferentes actores de la producción. *Revista Digital Novasinergia*, 4(2), 152-172. <https://doi.org/10.37135/ns.01.08.10>

García, P. (2000). Caracterización microbiana, bioquímica y cinética del proceso de fermentación tradicional durante el beneficio de cacao [Tesis de grado Universidad Autónoma Metropolitana]. [UAM1558.pdf](#)

García, P., Núñez, J. & Bahamón, A. (2021). Physicochemical and sensory characteristics of fermented almonds of national cacao (*Theobroma Cacao L.*) with addition of probiotics

in the amazonic research center, Cimaz Macagual (Caquetá, Colombia). *Ingeniería y Competitividad*, 23(2), 1-13 <https://doi.org/10.25100/iyc.v23i2.10885>

Garrido, I., Monagas, M., Gómez, C. & Bartolomé, B. (2007). Extracción de antioxidantes a partir de subproductos del procesado de la almendra. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, 58(2), 130-135.

<https://digital.csic.es/bitstream/10261/2437/1/Antioxidantes.pdf>

Gómez, M. y De Koning, M. (2023). Cacao producers from Ecuador. *Import Promotion DESK (IPD)*, 1-10.

https://www.importpromotiondesk.de/fileadmin/Messebroschueren/220923_IPD_Cacao_Producers_from_Ecuador.pdf

González, L. L., Moreira, W. G. y Dueñas, A. A. (2022). La cadena de comercialización del cacao fino de aroma, cantón Pichincha, Ecuador. *ECA Sinergia*, 13 (3), 86-95.

<https://doi.org/10.33936/ecasinergia.v13i3.4689>

Guzmán, R., y Márquez, J. “Fermentation of Cocoa Beans” en *Fermentation – Process, Benefits and Risks*, 1ra ed. Évora, Portugal: IntechOpen, 2021, pp. 1-19.

Hamdouche, Y., Christophe, J., Lebrun, M., Guehi, T., Boulanger, R., Teyssier, C. y Montet, D. (2019). Impact of turning, pod storage and fermentation time on microbial ecology and volatile composition of cocoa beans. *Food Research International*, 119, 447-491.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.001>

Hernández, C., López, P., Ramírez, M., Guerra, D. & Caballero, J. (2016). Evaluation of different fermentation processes for use by small cocoa growers in Mexico. *Food Science & Nutrition*, 4(5), 690-695. <https://doi.org/10.1002/fsn3.333>

International Standard (ISO) 2291. (1980). Cocoa beans. Determination of moisture content (Routine method). (ISO 2291-1980). [Online]. Disponible en: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/7114/7b92926d57fa41d3908160a7cecb9328/ISO-2291-1980.pdf>

Ipanaqué, W., Castillo, J., y Robles, H., Belupú, I. (2017). Desarrollo e implementación de un prototipo de acero inoxidable para evaluar el proceso de fermentación de granos de cacao. *International Symposium on Cocoa Research (ISCR)*, 13-17. <https://www.icco.org/wp-content/uploads/T5.77.DESARROLLO-E-IMPLEMENTACION-DE-UN-PROTOTIPO-DE-ACERO-INOXIDABLE-PARA-EVALUAR-EL-PROCESO-DE-FERMENTACION-DE-GRANOS-DE-CACAO.pdf>

Jackels, S. & Jackels, C. (2006). Characterization of the Coffee Mucilage Fermentation Process Using Chemical Indicators: A Field Study in Nicaragua. *Journal of Food Science*, 70(5), C321-C325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09960.x>

Koffi, A., Yao, N’G., Bastide, P., Bruneau, D. y Kadjo, D. (2017). Homogenization of Cocoa Beans Fermentation to Upgrade Quality Using an Original Improved Fermenter. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 11(7), 558-563. <https://www.researchgate.net/publication/320559589>

- López, M., Criollo, J., Hernández, M., & Lozano, M. (2019). Physicochemical and microbiological dynamics of the fermentation of the CCN51 cocoa material in three maturity stages. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(3), 1-13. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019010>
- Loureiro, G., Araujo, Q., Soldré, G., Valle, R., Souza, J., Ramos, E., Comerford, N. y Grierson, P. (2017a). Cacao quality: Highlighting selected attributes. *Food Reviews International*, 33, 382-405. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175011>
- Loureiro, G., de Araujo, Q., Valle, R., Andrade, G. & 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*, 4(12), 579-587. <https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1274>
- Luna, K. y Chichande, S. (2020). Estimación económica de la producción de fermentación del cacao por medio de un proceso de automatización industrial en ambiente controlado en las fincas del sector *La Caraca del cantón El Empalme*. [Tesis de grado Universidad Politécnica Salesiana Ecuador]. Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19303>
- Maderas El Bosque. (2023). Productos. *Tabla de laurel*. <https://maderaselbosque.com.ec/product/tabla-de-laurel-15x2-20-mts/>
- Menéndez, L. y Burgos, G. (2021). Efectos de la fermentación y secado en el contenido de polifenoles y alcaloides del cacao. *Revista Científica Dominio de Las Ciencias*, 7(5), 1208-1304. <https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/8383827.pdf>

- Norma Técnica Peruana. (2018). Granos de Cacao. Especificaciones y requisitos de calidad (NTP ISO 2451). [Online]. Disponible en:
<https://hub.unido.org/sites/default/files/publications/03.%20GQSP%20PER%C3%9A%20-%20Gu%C3%ADa%20103%20-%20NTP-ISO%202451-2018%20Granos%20de%20cacao.%20Especificaciones%20y%20requisitos%20de%20calidad.pdf>
- Ooi, T., Ting, A. y Siow, L. (2020). Influence of selected native yeast starter cultures on the antioxidant activities, fermentation index and total soluble solids of Malaysia cocoa beans: A simulation study. *LWT*, 122, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108977>
- Ouattara, D., Ouattara, H., Adom, J., Goualié, B., Koua, G., Doué, G. y Niamke, S. (2016). Screening of Lactic Acid Bacteria Capable to Breakdown Citric Acid during Ivorian Cocoa Fermentation and Response of Bacterial Strains to Fermentativ Conditions. *British Biotechnology Journal*, 10(3), 1-10. <https://doi.org/10.9734/BBJ/2016/19279>
- Pastrano, W., y Sotomayor, V. (2020). Diseño y construcción de un sistema de fermentación de cacao nacional para la asociación de agricultores Wiñak [Tesis de grado Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio EPN. [Tesis_Pastrano_Sotomayor.pdf \(epn.edu.ec\)](https://repositorio.epn.edu.ec/tesis/Pastrano_Sotomayor.pdf)
- Peláez, P., Guerra, S. & Contreras, D. (2016). Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria*, 7(2), 111-119. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.02.04>

Pillco, C., Guzmán, D., y Cuéllar, J. (2021). Composición fisicoquímica y análisis proximal del fruto de sofaique *Geoffroea decorticans* (Hook. et Arn.) procedente de la región ICA-Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(1), 14-25.

<https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i1.319>

Pokharel, B. (2023). Cocoa Bean Fermentation: Impact on Chocolate Flavor and Quality. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 12(6), 1668-1674.

<https://www.researchgate.net/publication/371691887>

Portillo, E., Graziani, L., y Betanourt, E. (2007). Análisis químico del Cacao Criollo Porcelana (*Theobroma cacao L.*) en el Sur del Lago Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 24, 522-546.

https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/julio_septiembre2007/v24n3ac8a2007.pdf

Ramos, J. (2016). Philippine Cacao Industry RoadMap Development Team. *Department of Agriculture – Bureau of Agricultural Research*, 1-155. <https://www.da.gov.ph/wp-content/uploads/2023/05/Philippine-Cacao-Industry-Roadmap.pdf>

Razola, M del C., Aznar, M. J., Verardo, V., Melgar, S., Castilla, E. & Rodríguez, C. (2023). Exploring the Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Different Cocoa Powders. *Antioxidants*, 12 (3), 1-16. <https://doi.org/10.3390/antiox12030716>

Rios, J. y Lévano, D. (2022). Importancia de los dispositivos usados en la fermentación de Cacao (*Theobroma cacao L.*). *Revista agrotecnológica amazónica*, 2(1), 1-10.

<https://doi.org/10.51252/raa.v2i1.281>

Rivera, J. (2018). Correlación de la porosidad con el grado de fermentación del grano de cacao peruano (*Theobroma cacao L.*) [Tesis de grado Universidad Nacional La Molina]. [rivera-garcia-johan-cristian.pdf \(lamolina.edu.pe\)](https://lamolina.edu.pe/rivera-garcia-johan-cristian.pdf)

Rivera, R., Mecías, F., Guzmán, A., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, A. & Nivel, P. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao l.*) tipo Nacional. *Ciencia y Tecnología*, 5(1), 7-12. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4149700.pdf>

Rojas, K., Hernández, C. & Mencía, A. (2020). Transformaciones bioquímicas del cacao (*Theobroma cacao l.*) durante un proceso de fermentación controlada. *Revista Agronomía Costarricense*, 45(1), 53-65. <https://doi.org/10.15517/rac.v45i1.45694>

Romero, T., Salgado, M., García, P., García, M., del C Rodríguez, G., Hidalgo, M., & Robles, V. (2013). Relationship between fermentation index and other biochemical changes evaluated during the fermentation of Mexican cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(10), 2596–2604. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6088>

Schwan, R. & Fleet, G. Cocoa and Coffee Fermentations (Fermented Foods and Beverages Series). EE.UU: Taylor & Francis Group, 2015.

Schwan, R., De Melo, G., y Fleet. “Microbial Activities During Cocoa Fermentation” en *Cocoa and Coffee Fermentations*, 1ra ed. Boca Raton, Florida, Estados Unidos: CRC Press, 2015, pp. 129-192.

- Septianti, E., Salengke, S. y Langkong, J. (2020). Profile of bioactive compounds, antioxidant and aromatic component from several clones of cocoa beans during fermentation. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 575, 1-16. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012009>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2021). Granos de Cacao. Requisitos (NTE INEN 176:2021). [Online]. Disponible en: https://corpalmesa.com/wp-content/uploads/2021/07/CORPALMESAnte_inen_.pdf
- Sulaiman, K., Yang, T. y Ariffin, F. (2017). Colour and Antioxidant Properties of Cocoa Beans From Pods Storage and Fermentation Using Shallow Box. *International Journal of Science and Technology*, 3(2), 455–465. <https://doi.org/10.20319/mijst.2017.32.455465>
- Sunoj, S., Igathinathane, C., & Nondestructive determination of cocoa bean quality using FT-NIR spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*, 124, 234-242. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.04.012>
- Torino, M., Limón, R., Martínez, C., Mäkinen, S., Pihlanto, A., Vidal, C., & Frias, J. (2013). Antioxidant and antihypertensive properties of liquid and solid state fermented lentils. *Food Chemistry*, 136(2), 1030–1037. [doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.015](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.015)
- Tunjung, A., Firmanto, H. y Wahyudi, T. (2021). Small-Scale Fermentation of Cocoa Beans and the Parameter for on-Process Monitoring. *Pelita Perkebunan*, 37(1), 76-84.
- Vargas, O., Vite, H. y Quezada, J. (2021). Análisis comparativo del impacto económico del cultivo del cacao en Ecuador del primer semestre 2019 versus el primer semestre 2020.

Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas. Revista Científica Multidisciplinaria, 4(2), 169-179. <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/390>

Vázquez, A., Ovando, I., Adriano, L., Betancur, D. y Salvador, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 239-254.

<http://www.alanrevista.org/ediciones/2016/3/art-10/>

Velásquez, D., Gschaedler, A., Kirchmayr, M., Avendaño, C., Rodríguez, J., Calva, S de J. y Lugo, E. (2021). Cocoa bean turning as a method for redirecting the aroma compound profile in artisanal cocoa fermentation. *Heliyon*, 7, 1-12.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07694>

Apéndices

Apéndice A. Equipos utilizados para la fermentación de cacao

Figura A

Fermentación en cajón de madera (tradicional) (A), equipo de acero inoxidable (B) y equipo rotatorio de madera (C)



Apéndice B. Muestras de grano fermentado y mucílago

Figura B1

Peso de muestras de cacao fermentado para análisis fisicoquímico



Figura B2

Muestra de mucílago para análisis fisicoquímico



Apéndice C. Resultados estadísticos en medición de pH

Tabla C1

Análisis de varianza para medición de pH del cotiledón en los diferentes tratamientos

| | Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| | Factor | 3 | 2,384 | 0,7947 | 1,80 | 0,187 |
| | Error | 16 | 7,045 | 0,4403 | | |
| | Total | 19 | 9,429 | | | |

Tabla C2

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para medición de pH del cotiledón en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| pH T4 | 5 | 6,212 | A |
| pH T1 | 5 | 5,864 | A |
| pH T2 | 5 | 5,792 | A |
| pH T3 | 5 | 5,248 | A |

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla C3

Análisis de varianza para medición de pH del mucílago en los diferentes tratamientos

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Factor | 2 | 0,3421 | 0,17107 | 3,29 | 0,085 |
| Error | 9 | 0,4685 | 0,05205 | | |
| Total | 11 | 0,8106 | | | |

Tabla C4

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para medición de pH del mucílago en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| pH T2 | 4 | 3,9025 | A |
| pH T1 | 4 | 3,670 | A |
| pH T3 | 4 | 3,4900 | A |

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Apéndice D. Resultados estadísticos en medición de acidez

Tabla D1

Análisis de varianza para medición de ácido acético del cotiledón en los diferentes tratamientos

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Factor | 3 | 4,565 | 1,5218 | 13,71 | 0,000 |
| Error | 16 | 1,776 | 0,1110 | | |
| Total | 19 | 6,341 | | | |

Tabla D2

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para medición de ácido acético del cotiledón en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación | | |
|---------------|----------|--------------|-------------------|---|---|
| Acidez T1 | 5 | 1,496 | A | | |
| Acidez T2 | 5 | 0,9040 | A | B | |
| Acidez T4 | 5 | 0,624 | | B | C |
| Acidez T3 | 5 | 0,1780 | | | C |

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla D3

Análisis de varianza para medición de ácido acético del mucílago en los diferentes tratamientos

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Factor | 2 | 2,551 | 1,2754 | 11,12 | 0,004 |
| Error | 9 | 1,032 | 0,1147 | | |
| Total | 11 | 3,583 | | | |

Tabla D4

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para medición de ácido acético del mucílago en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| Acidez T3 | 4 | 1,8750 | A |
| Acidez T1 | 4 | 1,612 | A |
| Acidez T2 | 4 | 0,7925 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Apéndice E. Resultados estadísticos en medición de °Brix

Tabla E1

Análisis de varianza para medición de °Brix del cotiledón en los diferentes tratamientos

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Factor | 3 | 0,02044 | 0,006813 | 0,87 | 0,477 |
| Error | 16 | 0,12524 | 0,007828 | | |
| Total | 19 | 0,14568 | | | |

Tabla E2

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para medición de °Brix del cotiledón en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| °Brix T3 | 5 | 0,3980 | A |
| °Brix T2 | 5 | 0,3740 | A |
| °Brix T1 | 5 | 0,3360 | A |
| °Brix T4 | 5 | 0,3160 | A |

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

Tabla E3

Análisis de varianza para medición de °Brix del mucílago en los diferentes tratamientos

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Factor | 2 | 242,4 | 121,2 | 0,18 | 0,841 |
| Error | 9 | 6197,9 | 688,7 | | |
| Total | 11 | 6440,4 | | | |

Tabla E4

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para medición de °Brix del mucílago en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| °Brix T1 | 4 | 48,0 | A |
| °Brix T3 | 4 | 45,2 | A |
| °Brix T2 | 4 | 37,4 | A |

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Apéndice F. Resultados estadísticos en medición de contenido de polifenoles totales en grano fermentado

Tabla F1

Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales del grano fermentado en los diferentes tratamientos

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Factor | 3 | 47019120 | 15673040 | 8,36 | 0,000 |
| Error | 56 | 104983976 | 1874714 | | |
| Total | 59 | 152003096 | | | |

Tabla F2

Método de Tukey con nivel de confianza de 95% para el contenido de polifenoles totales del grano fermentado en los diferentes tratamientos

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| TPC T4 | 15 | 3023 | A |
| TPC T2 | 15 | 2681 | A |
| TPC T1 | 15 | 1189 | B |
| TPC T3 | 15 | 1016,4 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Apéndice G. Especificaciones técnicas del equipo

El proceso de fermentación de cacao Nacional Fino Aroma se llevó a cabo en un biorreactor fabricado a partir de acero inoxidable, diseñado en forma de cajón (Tabla 3) y equipado con un sistema de movimiento continuo, impulsado por un servomotor inducido por carga de 110V, que facilita el análisis térmico del producto mediante el uso de termocuplas.

El fermentador estuvo recubierto por una chaqueta térmica compuesta por una resistencia eléctrica tubular de 2000W, alimentada por una fuente de voltaje de 220V. que permite calentar una atmósfera cerrada hasta los 40°C para facilitar la transferencia de calor al alimento y mantener la reacción exotérmica que se produce durante el proceso fermentativo en el interior del equipo.

Tabla G1

Especificaciones técnicas del biorreactor

| Material | Especificación | Cantidad |
|--|------------------------------------|-----------------|
| Biorreactor de acero inoxidable | 28cm alto, 26cm largo y 26cm ancho | 1 |
| Bandeja cuadrada de acero inoxidable para recolección de mucílago | 2cm alto, 28cm largo y 26cm ancho | 1 |
| Servomotor | 110V | 1 |
| Resistencia eléctrica tubular 2000W | 220V | 1 |
| Base de metal (soporte del equipo) | 90cm alto, 33cm largo, 29cm ancho | 1 |