

Inducción anaeróbica de *bradyrhizobium japonicum* en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa

Anaerobic induction of bradyrhizobium japonicum in experimental cocoa hybrids after harvest and its improvement on fermentative quality

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7723254>

AUTORES: Jaime Vera Chang ^{1*}

Frank Intriago Flor ²

Luis Vásquez Cortez ³

Kerly Alvarado Vásquez ⁴

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: luis.vasquez2015@uteq.edu.ec

Fecha de recepción: 01 / 09 / 2022

Fecha de aceptación: 21 / 11 / 2022

RESUMEN

La materia prima más importante a nivel internacional en países europeos es el cacao por su gran aporte económico a pequeños y medianos agricultores y el origen de híbridos y clones de cacao para mejorar la calidad del grano como objetivos principales de la investigación fue: analizar la incidencia del *Bradyzobium japonicum* en la etapa fermentativa de cacao Nacional he Híbrido aplicando diferentes concentraciones siendo al 0% (testigo), 3% y 5%

^{1*} Facultad de la Industria y Producción, Profesor-Investigador en cultivo de cacao. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus Experimental La María Km, 7 vía al Empalme, Los Ríos Ecuador, Doctorante en la Universidad Americana de Europa México-Cancún, jverac@uteq.edu.ec.

² Departamento de Procesos Agroindustriales, Facultad de Ciencias Zootécnica, Universidad Técnica de Manabí, frank.intriago@utm.edu.ec

³ Instituto de Posgrado, Maestría en Agroindustria, Universidad Técnica de Manabí, lvasquez7265@utm.edu.ec, luis.vasquez2015@uteq.edu.ec.

⁴ Instituto de Posgrado, Maestría en Agroindustria, Universidad Técnica de Manabí, kalvarado6940@utm.edu.ec, kerly.alvarado2015@uteq.edu.ec.

según el arreglo de tratamientos; Analizar los efectos físicos - químicos con la inducción de exógenas en la fermentación en masa de materia experimentales de cacao (*Theobroma cacao* L.), se empleó (DCA), conformada por 6 tratamientos y 4 repeticiones siendo el testigo el Nacional, se efectuó el análisis estadístico mediante el análisis de varianza ANDEVA, Los resultados encontrados fueron: el porcentaje de testa el T3 "Hibrido de cacao" (R3I0) (15,15%) inducción al (3%) y el T6 "cacao Nacional" (I3N0) (15,50%) correspondiente al (5%); el índice de semilla el T3 "Hibrido de cacao" al 3% (1,40%) y T6 al 5% (I3N0) (1,46%). Prueba de corte, para los granos fermentados el T5 (I2N0) con 77.75%, para el T6 "cacao Nacional" al 5% (I3N0) con 68,50% y T3 al 5% "Cacao Hibrido" (R3I0) con 66,00%, en granos de violeta el T5 "cacao Nacional" al 3% (I2N0) (21,75) "cacao Hibrido" (R3I0) (0,50%). En la evaluación sensorial T6 "Cacao Nacional" con inducción de 3% (I3N0) (27,40%) y T3 "Hibrido de cacao" (R3I0) al 5% (R2I0) (26,03%) se seleccionó el aroma, acidez, un adecuado amargor y destacando el aroma floral de cacao, en conclusión, a mayor porcentaje de inoculación de microorganismo mejor será la calidad fermentativa.

Palabras clave: Análisis, cacao, sensorial, tratamiento.

ABSTRACT

The most important raw material at international level in European countries is cocoa for its great economic contribution to small and medium farmers and the origin of hybrids and clones of cocoa to improve the quality of the bean as the main objectives of the research were: to analyze the incidence of *Bradyzobium japonicum* in the fermentation stage of National and Hybrid cocoa applying different concentrations at 0% (control), 3% and 5% according to the arrangement of treatments; to analyze the physical-chemical effects with the induction of exogenous agents in the mass fermentation of experimental cocoa (*Theobroma cacao* L.), was used (DCA), consisting of 6 treatments and 4 replicates with the control being the National, the statistical analysis was performed by ANDEVA analysis of variance, The results found were: the percentage of T3 "Hybrid cocoa" (R3I0) (15,15%) induction at (3%) and T6 "National cocoa" (I3N0) (15,50%) corresponding to (5%); the seed index T3 "Cocoa hybrid" at 3% (1,40%) and T6 at 5% (I3N0) (1,46%). Cut test, for fermented beans the T5 (I2N0) with 77,75%, for the T6 "National cocoa" at 5% (I3N0) with 68,50% and T3 at 5%

"Hybrid cocoa" (R3I0) with 66,00%, in violet beans the T5 "National cocoa" at 3% (I2N0) (21,75) "Hybrid cocoa" (R3I0) (0,50%). In the sensory evaluation T6 "Cacao Nacional" with induction of 3% (I3N0) (27,40%) and T3 "Hibrido de cacao" (R3I0) at 5% (R2I0) (26,03%) were selected for aroma, acidity, adequate bitterness and highlighting the floral aroma of cocoa, in conclusion, the higher the percentage of inoculation of microorganisms, the better the fermentative quality.

Keywords: Analysis, cocoa, sensory, treatment.

INTRODUCCIÓN

La domesticación, cultivo y consumo del cacao, fueron realizados por los toltecas, aztecas y mayas hace unos 2 000 años; sin embargo, investigaciones recientes indican que al menos una variedad de cacao tiene su origen en la Alta Amazonía, hace 5 000 años (Cruz & Pereira, 2009).

El (*Theobroma cacao* L.) es un árbol de interés económico, de origen tropical además su domesticación ha permitido fines para la agroindustria, historia este fruto es considerado medicinal que tuvo un valor más que el oro, por numerosas culturas a lo largo de la época Ancestral (Tornés, 2013). Aunque todavía se encuentra en forma silvestre, el cacao se domesticó desde tiempos inmemoriales, fue cultivado en Centro y Sudamérica y actualmente mundial. Su nombre *Theobroma cacao* L proviene del griego, *theo* Dios, y *broma*, alimento, es decir, alimento de los Dioses (Attolini, 2011).

Objetivos

- Analizar la incidencia del *Bradyzobium japonicum* en la etapa fermentativa de cacao Nacional he Hibrido aplicando diferentes concentraciones siendo al 0% (testigo), 3% y 5% según el arreglo de tratamientos.
- Analizar los efectos físicos - químicos con la inducción de exógenas en la fermentación en masa de materia experimentales de cacao (*Theobroma cacao* L.).

METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el laboratorio de bromatológico localizado en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, de la finca experimental “La María” de que se encuentra ubicada en el Km 7 vía Quevedo- El Empalme, en la longitud occidental de $79^{\circ}32'24''$ y latitud sur de $1^{\circ}05'18''$, a una altura de 75msmm.

La semilla de cacao se obtendrá de la finca Experimental “La Represa”, perteneciente a la propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo ubicado en el Km $7\frac{1}{2}$ del recinto Faita de la vía Quevedo - San Carlos, la cual se encuentra ubicado en la longitud sur de $1^{\circ}03'18''$ y del oeste en la $79^{\circ}25'24''$, a una altura de 90 msnm (Alvarado et al., 2022).

Diseño de investigación

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar con seis tratamientos conformado por los tres primeros Híbridos de cacao y los 3 últimos Cacao Nacional (EET-103) con cuatro repeticiones un total de 24 objetos de estudio se valorará el efecto de la adición de *Rhizobium japonicum* en diferentes proporciones a estudiar (0, 3, 5%).

Para comprobar diferencias entre medias de tratamientos, se emplea la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$).

Población, muestra o grupo de estudio

Esquema de Andeva

Fuente de variación (FV)		Grados de libertad (GL)
Tratamientos	(T-1)	5
Error Experimental	(h)(r-1)	18
Total	h*r-1	23

Tabla 1. Muestra el esquema del ANDEVA que se aplicará

Arreglo de los tratamientos de estudio

En la tabla 2 se detallarán las características que se van a investigación en el diseño experimental.

En la inducción exógena del *Bradyrhizobium japonicum*, después de haber realizado una serie de investigación exploratoria se determinó que el valor a utilizar es de 60 y 100ml, en relación de las celdas del cajón, se determinó que los porcentajes es de 3 y 5% para la aplicación de los diferentes tratamientos de la fermentación.

N°	Código	Descripción
1	R1I0	Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos sin inducción.
2	R2I0	Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos con inducción del 3%.
3	R3I0	Cruce de masa fermentativa de materiales híbridos con inducción del 5%.
4	I1N0	Testigo Nacional (EET-103) sin inducción.
5	I2N0	Testigo Nacional (EET-103) con inducción del 3%.
6	I3N0	Testigo Nacional (EET-103) con inducción del 5%.

Tabla 2. muestra el esquema del ANDEVA que se aplicar

Determinación de pH

Para la determinación del pH se utilizó 10 gramos de almendras las cuales fueron trituradas y luego se diluyo en 100 ml de agua destilada tibia (40°C) en vaso de vidrio. Este proceso se repitió para todos los tratamientos y repeticiones durante 4 días, de esta manera se obtuvo los datos con ayuda de un pH-metro de la marca pH-meter de rango 0,00-14,00 (Vásquez et al., 2022).

Grados Brix

Para la medición de los grados brix se tomó 10 gramos de almendras de cacao al azar las cuales se maceraron en 100 ml de agua destilada tibia, posteriormente con la ayuda del instrumento brixómetro de la marca ATAGO modelo N-1α (Brix 0-32%), Made in Japan, se colocó en el prisma principal 3 gotas de la mezcla obtenida, posteriormente se bajó la

cubierta del prisma y se dejó por 60 segundos para leer la lectura y registrarla se buscó un lugar expuesta a la luz para su mejor observación por el lente ocular del refractómetro. Este proceso fue determinado durante todos los días fermentativos (Vásquez et al., 2022)..

Secado

Una vez que transcurrió el tiempo de fermentado se procedió a realizar el secado de las almendras de cacao.

- Después de la fermentación se realizó el secado, el cual se fue al sol de forma cuidadosamente sin que se mezclen el uno con el otro teniendo en cuenta que los tratamientos tenían diferentes inducciones, se tendió en una superficie de madera en una terraza con el fin de evitar contaminación por cualquier agente.
- Se realizó remociones constantemente para que el secado sea uniforme cuyo proceso se llevó 6 días de secado al sol hasta conseguir que la humedad de los granos alcance entre un 6 a 7% de humedad no superior porque a mayor humedad es posible que haya proliferación de microorganismos, crecimiento de hongos que afectan al almacenamiento (Vásquez et al., 2022).

Almacenamiento:

Los granos se tomaron por separados en diferentes bolsas de papel, con su identificación para evitar confundir los tratamientos. hay que recalcar que el almacenamiento mejora la calidad de los granos (Vásquez et al., 2022).

Porcentaje de fermentación de la almendra de cacao

Se evaluó la calidad de la almendra por medio de la prueba de corte para ver si existió una fermentación adecuada; la variable se llevó a cabo por medio de una evaluación de prueba de corte que se escogió al azar 100 almendras, con el seguimiento del proceso de la norma INEN 175, aquellas almendras fueron colocadas encima de un fondo blanco, a referencia de sus características se clasificaron de la posterior manera: bien fermentadas, medianamente fermentadas, violetas, pizarras; la fermentación total se la estimó por porcentajes (Vásquez et al., 2022).

Índice de semilla

En esta variable se procedió a escoger al azar 100 almendras de cacao fermentadas y secas las cuales fueron pesadas en gramos en una balanza analítica de precisión y por siguiente promediadas. Se utilizó la siguiente fórmula que se aplicó:

Ecuación 1. Índice de semilla.

$$IS = \frac{\text{Peso en gramos de 100 almendras de cacao fermentadas y secas}}{100}$$

Prueba de testa y cotiledón

La prueba de testa, se pudo obtener por medio de peso de una cantidad considerada de almendras de cacao que fueros 30 gramos de cacao fermentadas y secas y de esta manera poder obtener el porcentaje mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

Ecuación 2. Prueba de testa y cotiledón.

$$\% \text{ de testa} = \frac{(\text{Peso de la testa})}{\text{Peso de 30 gramos de cacao}} * 100$$

Prueba de Corte

Se procedió a la selección de 100 habas de cacao al azar, se pesó y con ayuda de estilete de hizo cortes transversales en las habas secas de cacao para evaluar por medio de un test visual si existió una fermentación óptima o algún defecto de la misma, según la normativa INEN 176:2008.

Pasos previos para la obtención de la pasta de cacao con pureza del 100%.

- **Primero:** Se procedió a clasificar la materia prima (cacao) eliminando cualquier cuerpo extraño ajeno a las almendras de cacao.
- **Segundo:** Continuamente se tostaron las almendras en una vasija de barro a una temperatura media 120°C para evitar que se quemen, por un tiempo de 18 a 25min ayudando a desprender cualquier agente, humedad que contengan las almendras.

- **Tercero:** Posteriormente se realizó el descascarillado manual separando la testa del cotiledón, se almacenaron en fundas de papel.
- **Cuarto:** Para este paso se procedió a la molienda con la ayuda de un molino manual tradicional, con el objetivo de reducir el grosor del cotiledón a un tamaño que facilite el proceso del refinado.
- **Quinto:** Seguidamente el refinado va mejorar la calidad final para que no exista gránulos y este no tenga inconvenientes a la hora de consumir o que afecta o sea hallado por las papilas gustativas es recomendable que sea menor de 40 micras los gránulos.
- **Sexto:** En este paso con ayuda de una conchadora de capacidad de 5kg se introdujo la muestra de cacao poco a poco con el fin de que la conchadora valla atrapando toda la materia prima que queda en la pared de la conchadora a su vez que se valla diluyendo este proceso se mantuvo durante 6 horas por cada tratamiento.
- **Séptimo:** A continuación, se esperó que la pasta de cacao se atempere es decir reduzca la temperatura para pasar a los moldes donde reposaran hasta tener consistencia.
- **Octavo:** Se procedió a envolver la pasta de cacao en papel aluminio para su almacenamiento en refrigeración a temperatura de 4°C, las envolturas se guardaron en funda con su respectiva codificación además de evitar alguna contaminación cruzada (Vásquez et al., 2022).

Análisis Sensorial

Para realizar la evaluación sensorial de la pasta de cacao se tomó 20g de cada muestra, se llevó a baño maría hasta tener una pasta líquida. con ayuda de un equipo constituido por 10 jueces semientrenados previamente, cada evaluador se encargó de verificar si existe un efecto de mejoramiento en las propiedades organolépticas de precursores de sabor y aroma (Solórzano et al., 2015).

Pasos para la evaluación organoléptica

- Después de tener la pasta de cacao envuelta y almacenada se procede a colocar en recipientes calentado la muestra en baño maría para derretir a una temperatura de aproximadamente a 45 grados Celsius para la degustación a lo panalistas.

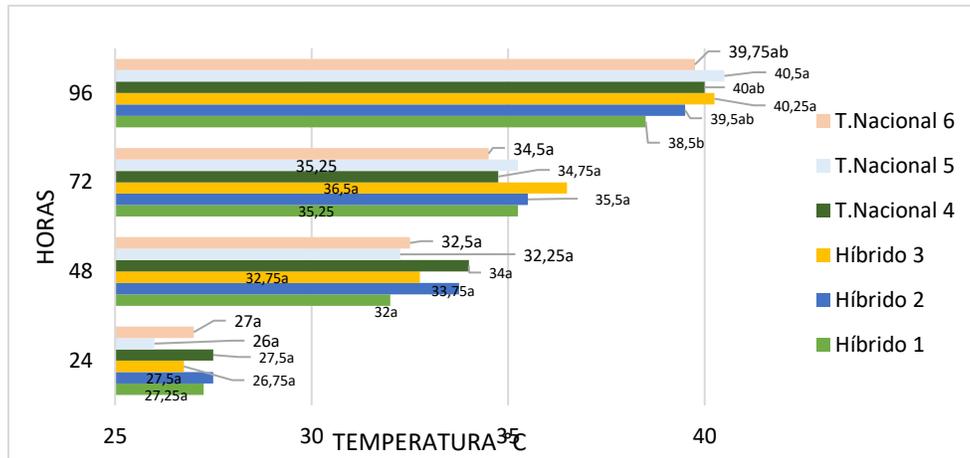
- Posteriormente se colocó la pasta derretida en vasos de muestra de material plástico colocando uniformemente la pasta para llevar a cabo la catación, a cada panalistas se le dio 6 muestras acompañado de paletas y servilleta, se les indica que debe colocarse para la degustación lo que cabe en la paleta la muestra en las papilas gustativas alrededor de 15 a 20 segundos para la aparición de los sabores y aromas. se le debe indicar que lo percibido debe anotarse los atributos encontrados en la hoja destinada para la catación.
- Este proceso se debe continuar por cada muestra de manera individual es aconsejable repetirse la gustación de 2 a 3 veces por muestra o dependiendo de gustador; es recomendable para la siguiente antes de catar debe enjuagar la boca con agua.
- Debe existir un tiempo de descanso para proseguir considerar entre 1 a 2 entre muestras.
- La muestra que haya quedado debe desecharse no debe ser nuevamente almacenada (Solórzano et al., 2015).

RESULTADOS

Análisis físicos – química de la almendra de cacao en el proceso de fermentación:

Análisis de tiempo y temperaturas de la fermentación de cacao

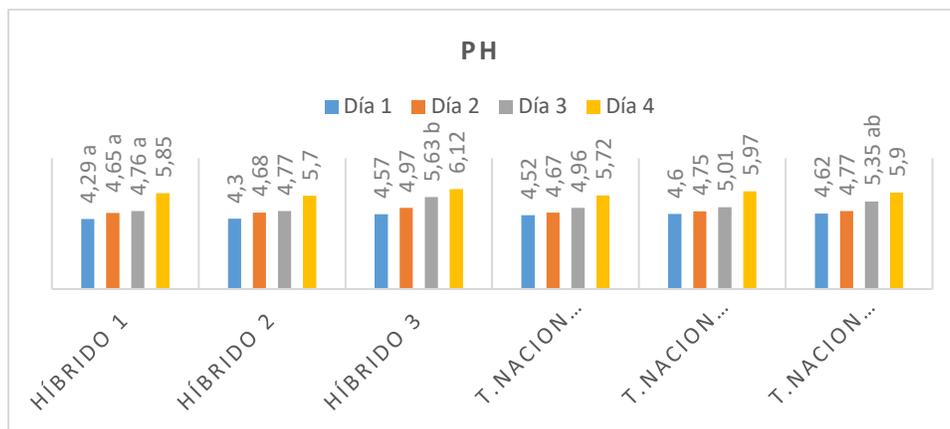
Se evidencia que existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la temperatura registrada por los tratamientos evaluados durante las 96 horas de fermentación, no obstante, en las primeras horas de fermentación 24, 48 y 72 horas no demostró diferencia significativa. A las 24 horas de fermentación el T2 (Híbridos con inducción de Rj. de 3%) y T4 (Nacional sin inducción) presentaron la temperatura más alta 27,50°C, mientras que el T5 (Nacional con 3% de Rj.) fue la temperatura mínima de 26,00°C. A las 48 horas el tratamiento T4 (Nacional sin inducción) obtuvo la mayor temperatura registrada con 34,00°C, y el T2 (Híbridos con una inducción de 3% Rj.) con 33,75°C. A las 72 horas el T3 (Híbridos con una inducción 5% Rj.) obtuvo la mayor temperatura con 36,50°C, mientras que el T6 (Nación con una inducción de 5% Rj.) tiene una temperatura de mínima de 34,50°C. A las 96 horas se observó que alcanzo una temperatura de 40,50°C el T5 (Nacional con 3% de Rj.) y una mínima de T1 (Híbrido sin inducción) de 38,50°C, mostrando la muerte del embrión al momento de partir 5 almendras de cada tratamiento fermentado. Estos valores pueden observarse en la gráfica 1.



Gráfica 1. Promedio tiempo temperatura de la fermentación de cacao. La Represa. UTEQ 2021

Análisis de pH

En la gráfica 2 se detalla los días que se realizó la toma de pH con una inducción de *Rhizobium japonicum*, en diferentes proporciones en masa fermentativa, la cual se aplicó una prueba de Tukey ($p \leq 0,05$), mostro significancia estadística en el día 3 en los tratamientos, teniendo en el T1 (Híbridos sin inducción) con 4,76, T2 (Híbrido con inducción de Rj. 3%) con 4,77, T3 (Híbrido con inducción de Rj. 5%) con 5,63, T4 (Nacional sin inducción) con 4,96, T5 (Nacional con inducción de Rj.3%) con 5,01 y T6 (Nacional con inducción de Rj. 5%) con 5,35.



Gráfica 2. Promedio de la determinación de pH. La Represa. UTEQ 2021

Prueba de corte de las almendras de cacao

En la tabla 3. Se representa el análisis de prueba de corte de las almendras fermentado. Para este análisis se realizó un conteo de 100 almendras de cacao por cada tratamiento con diferentes proporciones de *Rhizobium japonicum*, posteriormente se realizó un corte longitudinal, rigiéndose bajo la norma técnica para fermentación de cacao INEN 176:2018. Se observó que existe diferencia significativa en el grado de fermentación en los granos que fueron elegidos.

Almendras fermentación total

En la tabla 3 se observa que la variable a estudiar presento diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos, detallando que el T5 con 77,75 seguido del T6 con 68,50 y por último teniendo con menor valor el T4 con 54,75; presentando un promedio general de 65,92 y un coeficiente de variación de 8,67%.

Almendras violetas

En la tabla 3 la variable de las almendras violetas presento diferencia ($p \leq 0.05$), siendo el mayor índice de almendras con principal violeta es el T4 con 44,75 seguido del T2 con 35,00 y con menor resultados tenemos el T5 con 21,75. Se detalló un promedio general de 33,10 y un coeficiente de variación de 17,44%.

En otra parte La Norma INEN 176 indicar los defectos de la almendra violeta se debe al mal manejo durante la fermentación y no debe superar el 17% cacao CCN-51.

Almendras pizarras

Para la presente variable no registró diferencia significativa ($p \leq 0.05$), entre los tratamientos a estudios con presencia de mayor almendras pizarra fue el T2 con 2,25 seguido del T1 con 1,25 Con una especificación general de 1,00 y un coeficiente de variación de 83,33%.

La Norma INEN 176 detalla que las almendras pizarras no debe superar al 5% según el tipo de cacao CCN-51.

Variedad	T.	Fermentados	Violeta	Pizarro	Catalogación de cacao
Híbridos	1	65,75abc	33,00abc	1,25a	C.S.C
	2	62,75bc	35,00 bc	2,25a	C.S.C
	3	66,00abc	33,50abc	0,50a	C.S.C
Testigos (Nacional)	4	54,75c	44,75c	0,50a	A.S.E
	5	77,75a	21,75a	0,50a	A.S.S.S
	6	68,50ab	30,59ab	1,00a	A.S.S
Promedio		65,92	33,10	1,00	
CV		8,67	17,44	83,33	

Tabla 3. Análisis de Prueba de corte de las almendras fermentados. La Represa. UTEQ
2021

Testa

En la tabla 4 se observa que no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el porcentaje de testa, sin embargo, el T1 con 15,65 presento mayor porcentaje seguido de T4 Y T6 teniendo 15,50 el promedio general es de con un coeficiente de variación de 10,61.

Índice de semilla

En la tabla 4 se observa que existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el Índice de semilla entre los tratamientos aplicados, el mayor tratamiento obtuvo el T6 (Nacional con inducción del 5% Rj.) con 1,46g y como mínimo tenemos al T1 (Híbridos sin inducción) con 1,32 g. Su promedio general es 1,40g con un coeficiente de variación de 4,12%.

	Variedad	T.	%Testa	IS
Híbridos		1	15,65a	1,32 a
		2	13,33a	1,41 ab
		3	15,15a	1,40 ab
		4	15,50a	1,43 ab
Testigos (Nacional)		5	14,83a	1,39 ab
		6	15,50a	1,46 b
Promedio			14,99	1,40
CV (%)			10,61	4,12

Tabla 4. Promedios de los análisis de prueba de Testa, prueba de Índice de semilla. La Represa. UTEQ 2021

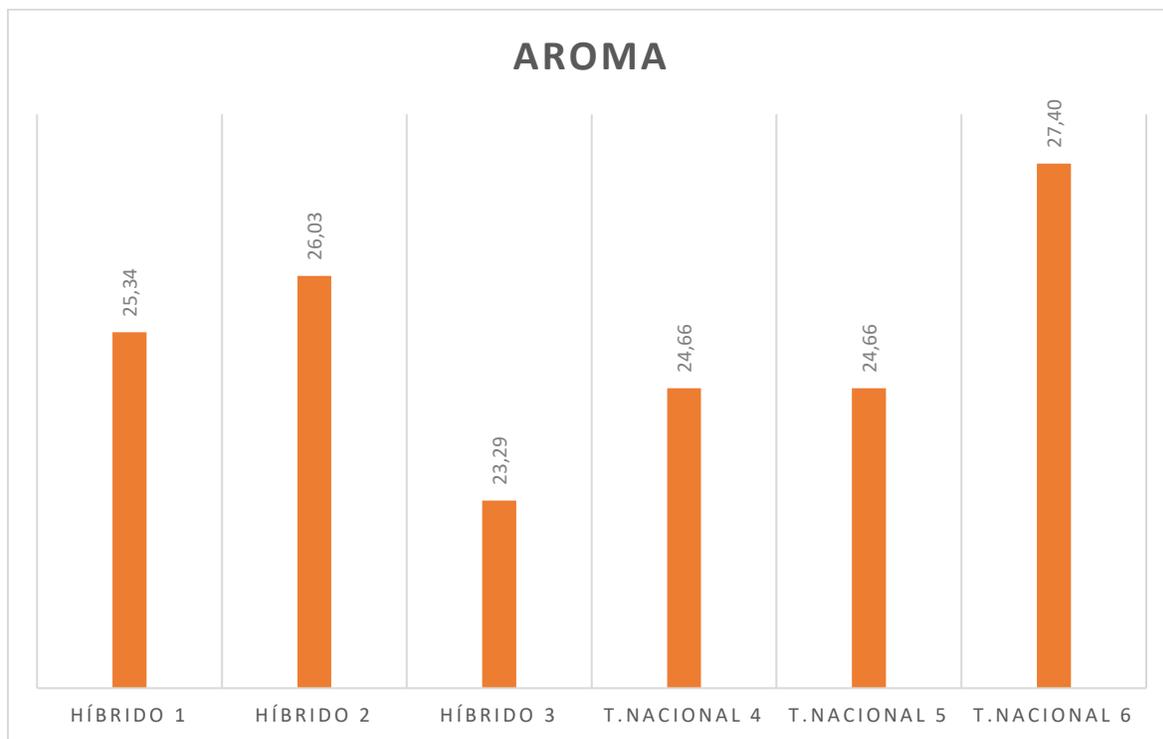
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Análisis sensorial de la pasta de cacao

Se realizó un análisis sensorial para poder determinar las características sensoriales de seis muestras con adición de *Rhizobium japonicum*, con cuatros días de fermentación con su respectivo testigo. Los caracteres que se van a evaluar se basen a una calificación que va desde 0= ausencia hasta 5= presente. Los valores se detallan en la gráfica 3 y 4.

Aroma

En la gráfica 3 se detalla los resultados adquiridos, el cual nos indica que el T6 presenta mayor aceptabilidad con un 27,40% teniendo presente que este tratamiento supera a su testigo siendo de 24,66%, seguido de T2 que presento un 26,03% de igual manera siendo mejor aceptado que su testigo que es de 25,34%.



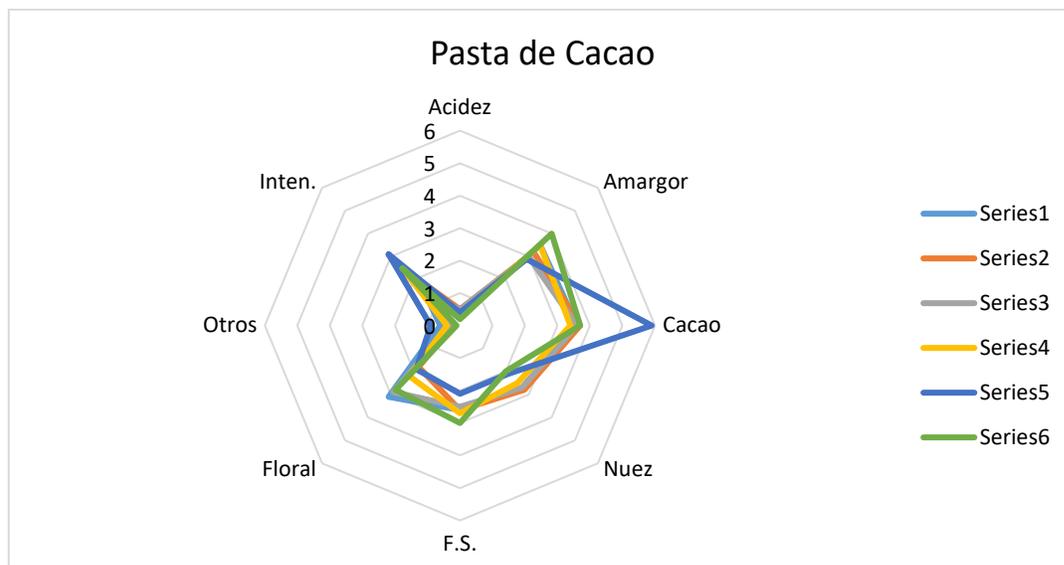
Gráfica 3. Resultado de aceptabilidad de la pasta de cacao

Sabor

Los resultados obtenidos de los perfiles de sabores básicos se detallan de la Gráfica 4, nos indica que el Tratamiento con menor intensidad de acidez es del T6 con un 0,2, seguido del T1 y T4 con un 0,3 lo cual son testigos. Respectivamente al sabor amargo, la muestra T5 con 2,9, con mayor amargor presenta el T6 con 4; mientras que sabor a cacao con mayor aceptación es T5 con 5,9 seguido del T6 y T2 con 3,7.

La intensidad del sabor nuez, frutos secos y floral presenta una valoración menos de 3, al igual al ítem de otros sabores (quemado) que se puede detallar en la gráfica 4.

Por último, el tratamiento con mayor intensidad degustación es el T5 con 3,1 seguido del T4 con 2,6, T6 y T2 con 2,5 de la pasta de cacao.



Gráfica 4. Perfiles de sabores de la pasta de cacao

DISCUSIÓN

Según Ortiz de (Bertorelli et al., 2009) (Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela) et al., 2009), las remociones que se realizan en la masa de cacao ayuda a la fermentación y aumentar el proceso de la aireación de la masa, favoreciendo el desarrollo de microorganismo aeróbicos, lo que generan las reacciones exotérmicas ocasionó aumento rápido de temperatura y la muerte de los cotiledones.

El pH final de las variedades de los híbridos (Trinitario X Nacional) fue de acuerdo al tratamiento T1 con 5,85, T2 con 5,7 y T3 con 6,12, para la variedad de Nacional que lo utilizamos como testigo fue del T4 con 5,72, T5 con 5,97 y T6 con 5,9; siendo comparado con lo reportado por Álvarez, 2010 presentando un promedio de pH de 5,37. Notando que no presenta alteración por la presencia de *Rhizobium japonicum* (Criollo et al., 2010).

Según (Criollo et al., 2010b) el pH de las almendras el ascenso se genera debido a la desasimilación del ácido cítrico por parte de los microorganismos y el descenso a la conversión del etanol a ácido acético, dándose un cambio en la semilla de compuesto de la testa al cotiledón.

Según la norma INEN 176, para considerar una buena fermentación total en las almendras debe tener un mínimo de 65% para el cacao CCN-51 y un 75% en el cacao A.S.S.P.S (Morales Rodriguez et al., 2016).

(Vera et al., 2008) indica que los defectos de la almendra se deben al comportamiento de la fermentación total, en otras palabras, mientras más fermentación total menos almendras violetas, lo que su sabor es astringente.

Los resultados son inferiores comparando a Vera *et al.* teniendo un valor promedio de 18,92 se puede decir que la presencia de *Rhizobium* en el proceso de fermentación disminuye cantidad de cascarilla en la almendra (Vera et al., 2008).

(Pallares Pallares et al., 2016), detalla que el porcentaje de testa en la variedad de cacao Nacional va de un valor $16,19 \pm 0,49$ y del CNN 51 un valor de $12,33 \pm 0,34\%$; observando que mientras sea grande el grano mayor cantidad de testa presentara.

Los resultados son mayores comparados a (Vera, 2016), de los datos reales con un rango de 1,04 a 1,19g. quien indica que los valores con amplitud que varían entre 0,76 y 1,19 teniendo un valor promedio de 1,32g (Vera et al., 2015). El rendimiento en el IS es clave para el mejoramiento, se encuentra relacionado con los requerimientos de calidad física según INNEN 176 (Vera, 2016).

De acuerdo a los resultados adquiridos de los sabores según (Morales et al., 2012) con presencia de enzimas polifenol oxidasa con una fermentación de siete días brinda mejoría en los sabores (acidez, amargor, astringencia, floral, frutal y nuez) y una aceptabilidad en relación al aroma; a pesar de no llegar a las características sensorial del cacao Nacional (Medina & Rojas, 2020).

Guevara, detalla que las muestras que provienen de mejor calidad fermentativa demostraron una expresión intensa de sabor a cacao y otras notas sensoriales típicas del cacao fino o de aroma como sabor frutal, arriba o nuez, además que los atributos negativos del sabor a cacao que pertenecen al amargor, acidez y astringencia, se pronunciaron como consecuencia de una mala fermentación (Medina & Rojas, 2020).

CONCLUSIONES

En relación a los parámetros físicos químicos de la % de testa e I.S, se vio favorable el T2 y T5 con un a inducción de 3% de *Rhizobium japonicum* dando unos buenos resultados; se observó una buena fermentación al 3% en el T5 con 77,75% seguido del tratamiento con aplicación del *Rhizobium japonicum* con 5%, que encontramos al T6 con 68,50% y T3 con

66,00% de buena fermentación logrando alcanzar los parámetros de aceptabilidad que rigen las normas INEN:176 que acepta u mínimo de 65% en CCN-51.

Se determina que T6 (Nacional con inducción de *Rhizobium japonicum* 5%) con 27,40% y T2 (Híbrido con inducción de *Rhizobium japonicum*.3%) con 26,03% son lo más aceptado en el aroma y presenta menor acidez, un adecuado amargor y destacando el aroma floral de cacao, acercándose a las características del cacao.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, K., Vera, J., Tuarez, D., & Intriago, F. (2022). Fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.) con adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y enzima (PPO's) en la disminución de metales Fermentation of cacao (*Theobroma cacao* L.) With addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and enzyme. *Centrosur*, 2014(1), 24.
- Attolini, A. (2011). Cuentas, dares y tomares dl cacao: delicia, convite, rito mesoamericano. Aspectos antropológicos. *Revista Digital Universitaria*, 12(4), 3–22. <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art38/art38.pdf>
- Bertorelli, L., Fariñas, L., & Rovedas, G. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía Tropical*, 59(2), 119–127. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Criollo, J., Criollo, D., & Sandoval, A. (2010a). Fermentación de la almendra de copoazú (*Theobroma grandiflorum*[Willd. ex Spreng.] Schum.): evaluación y optimización del proceso. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agorpecuaria*, 11(2), 107–115.
- Criollo, J., Criollo, D., & Sandoval, A. (2010b). Fermentación de la almendra de copoazú (*Theobroma grandiflorum* [Willd. ex Spreng.] Schum.): evaluación y optimización del proceso. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 11(2), 107–115. https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num2_art:200
- Cruz, E., & Pereira, I. (2009). Historias, Saberes y Sabores en torno al cacao (*Theobroma cacao* L.) en la subregión de Barlovento, Estado Miranda. *Sapiens*, 10(2), 97–120. <https://www.redalyc.org/pdf/410/41021266005.pdf>
- Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela), L., Instituto Nacional de Agricultura (Venezuela), L., Centro de Investigaciones Agronómicas (Venezuela), G., & Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela). (2009). *Agronomía tropical : revista del Instituto Nacional de Agricultura*. In *Agronomía Tropical* (Vol. 59, Issue 2). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).
- Medina, D., & Rojas, L. (2020). *Modificación bioquímica delcotiledón de cacao (Theobroma cacao L) en la etapa de postcosecha con la adición de levadura (saccharomyces*

- cerevisiae*) y enzima (polifenol oxidasa) para mejorar su calidad [Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6081/1/T-UTEQ-00134.pdf>
- Morales Rodriguez, W., Vallejo Torres, C., Sinche Bósquez, P., Torres Navarrete, Y., Vera Chang, J., & Anzules Cedeño, E. (2016). Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 5(2), 169–181.
- Morales, W., Vallejo, C., Sinche, P., Torres, Y., Vera, J., & Anzules, E. (2012). Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 5(2), 169–181. <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/31173>
- Pallares Pallares, A., Estupiñan, M., Perea Villamil, J., & López Giraldo, L. J. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7–21. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001>
- Solórzano, E., Amores, F., Jiménez, J., Claire, N., & Sonia, M. (2015). Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 8(1), 37–47. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5319282>
- Tornés, J. (2013). Cacao, una aportación de México al mundo. *Revista Ciencia*, 66(3), 1–8. https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/66_3/PDF/Cacao.pdf
- Vásquez, L., Vera, J., Erazo, C., & Intriago, F. (2022). Induction of rhizobium japonicum in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao* L.) as a strategy for the decrease of cadmium. *International Journal Od Health Sciences*, 6(3), 11354–11371. <https://doi.org/https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672> Induction
- Vera. (2016). *Guía Para El Mejoramiento De Cacao Nacional*. June 2016. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12413.26089>
- Vera, J., Vallejo, C., Párraga, D., Morales, W., Macías, J., & Ramos, R. (2008). Atributos

físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Revista Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.18779/cyt.v7i2.139>

Vera, Vallejo, C., Párraga, D. E., Macías, J., Ramos, R., & Morales, W. (2015). ATRIBUTOS FÍSICOS-QUÍMICOS Y SENSORIALES DE LAS ALMENDRAS DE QUINCE CLONES DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.) EN EL ECUADOR. *Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21–34. <https://doi.org/10.18779/cyt.v7i2.99>