UNIVERSIDAD DE PIURA

REPOSITORIO INSTITUCIONAL PIRHUA

ESTUDIO DE LA VISIÓN HIPERESPECTRAL EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL CACAO

Jessica Ruiz-Reyes

Piura, marzo de 2016

FACULTAD DE INGENIERÍA

Máster en Ingeniería Mecánico-Eléctrica con Mención en Automática y Optimización

Ruiz, J. (2016). *Estudio de la visión hiperespectral en el proceso de fermentación del cacao* (Tesis de Máster en Ingeniería Mecánico-Eléctrica con Mención en Automática y Optimización). Universidad de Piura. Facultad de Ingeniería. Piura, Perú.

Esta obra está bajo una licencia
Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional

Repositorio institucional PIRHUA – Universidad de Piura

U N I V E R S I D A D D E P I U R A

FACULTAD DE INGENIERÍA

“ESTUDIO DE LA VISIÓN HIPERESPECTRAL EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL CACAO”

Tesis para optar el Título de
Máster en Ingeniería Mecánico – Eléctrica con mención en Automática y Optimización

Ing. Jessica Magaly Ruiz Reyes

Asesor: Dr. Ing. William Ipanaqué Alama

Piura, Marzo 2016

A Dios y a la Virgen María por sus bendiciones.
A mi madre, su coraje y amor han fortalecido mi alma,
a mi hermana y sobrina Alejandra, por sus alegrías y sonrisas,
a mis abuelos Miguel y Blanca, padres incondicionales,
a mi tía Edith y familia, por su confianza y apoyo,
y a mis mejores amigas SJT 04 por su amistad incondicional.

Agradezco a CONCyTEC
“Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica”
por impulsar la investigación en jóvenes profesionales
y el desarrollo tecnológico en el Perú.

Prólogo

El prestigio cosechado en calidad, muestra hoy en día al "cacao orgánico peruano" como uno de los mejores del mundo. Su grandiosa exquisitez en aroma y sabor ha logrado imponerse en los mercados mundiales más exigentes, asimismo por sus indiscutibles propiedades que benefician a la salud.

El cacao, uno de los productos bandera del Perú, ha generado nuevos esquemas en producción y exportación, y podría llegar a superar las expectativas anheladas. En este sentido, el cacao ofrece una excelente oportunidad en el campo de la investigación y convertirse en un potencial desarrollo para el Perú.

La Universidad de Piura se ha consolidado como miembro investigador, con el objetivo de garantizar un valioso resultado en la producción del cacao orgánico y generar gran impacto social. Es de esta manera que ha nacido el interés por aportar nuevos conocimientos e investigación y por ser parte de estos nuevos desafíos.

Esta investigación se centra en el análisis de imágenes hiperespectrales en uno de los procesos fundamentales de la cadena productiva del cacao: la fermentación. Incluso en lograr nuevas tentativas aplicando tecnología e innovación para optimizar la calidad del cacao.

Agradezco al "Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica – CONCYTEC" por apostar por la investigación, el desarrollo tecnológico y la competitividad del país, al Dr. Ing. William Ipanaqué Alama, iniciador de este proyecto, al Dr. Ing. Flavio Prieto Ortiz, Ing. Juan Soto Bohórquez e Ing. Gerson La Rosa Lama por el asesoramiento otorgado durante el desarrollo de la presente tesis, a la "Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico – ASPROBO" por su colaboración y a todas aquellas personas que han apoyado arduamente para llevar a cabo este importante estudio.

Resumen

La presente tesis está orientada al estudio en el área de procesamiento de imágenes, el cual está destinado a la investigación en el dominio hiperespectral, sobre todo para la detección de características y diferencias muy sutiles. El análisis en el sector hiperespectral ha mostrado un potencial significado con lo que refiere a la estimación de variables, ya que el simple hecho de aplicar un análisis fino en un amplio rango de bandas que captan regiones espectrales más angostas, ha permitido obtener información valiosa en distintos aspectos.

Asimismo se analiza la visión hiperespectral en el proceso de fermentación del cacao. Este creciente producto de exportación de excelente calidad de la Región de Piura ha logrado imponerse a nivel internacional, por ello se busca generar una propuesta para la optimización del proceso de fermentación de cacao mediante el análisis hiperespectral y lograr prometedores resultados. Además de fortalecer el conocimiento del manejo de cámaras hiperespectrales y desarrollar distintas aplicaciones.

Índice

Introducción 1
Capítulo 1 – Generalidades del Cacao 3
1.1. Características de la Planta 3
1.2. Ciclo Fenológico del Cacao 5
1.3. Beneficio del Cacao 5
1.3.1. Cosecha 5
1.3.2. Fermentación 6
1.3.3. Secado 8
1.3.4. Selección 9
1.3.5. Almacenamiento 9
1.4. Parámetros de las características del cacao 10
1.4.1. Proceso de Fermentación y Secado 10
Capítulo 2 – Visión Hiperespectral en el Cacao 13
2.1. Cámara Hiperespectral 14
2.2. Imagen Hiperespectral 16
Capítulo 3 – Índices Hiperespectrales 19
3.1. Índice de Reflectancia de Antocianina 24
3.2 Relación de bandas espectrales de absorción RBEA 28
3.3 Relación de bandas Espectrales de absorción externa RBEAE 32
Capítulo 4 – Análisis Estadístico 37
4.1 Análisis de Principales Componentes (PCA) 47
4.2 Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS) 51
Conclusiones 61
Bibliografía 63

Introducción

La visión hiperespectral o también denominada espectroscopia de imagen es la combinación de características del procesamiento de imágenes y la espectrografía, que hace referencia a la medición, análisis e interpretación de los espectros ilustrados en un determinado escenario (Goetz, 1985). Esta técnica espectroscópica realiza la medición de un amplio rango de estrechas longitudes de ondas en posiciones tridimensionales, de esta manera muestra la interacción de la radiación electromagnética con la materia, lo que permite obtener una base de información espacial y espectral, es decir, un espectro por cada píxel (Diago et al., 2014). La imagen extraída mediante sensores hiperespectrales está representada en forma de cubo de datos, que son adquiridas en una gran cantidad de canales espectrales muy cercanos entre sí, obteniendo por cada porción de píxel, una firma espectral o «huella dactilar» (Gonzáles, 2012), (Landgrebe, 2002).

En la actualidad, en el Perú la aplicación de imagen hiperespectral en el cacao es escasa, es por ello que mediante esta investigación se intenta proveer una introducción sobre el análisis de la imagen hiperespectral, que busca profundizar el estudio de los espectros obtenidos de una determinada escena. En este caso se pretende elaborar una estrategia para optimizar el cultivo de cacao de la Región Piura mediante la toma de imágenes a través de una cámara hiperespectral, lo cual permita encontrar una estimación de parámetros para analizar las características y/o diferencias muy puntuales del cacao en grano en el proceso de fermentación. Además, que permita extraer información pertinente a partir de los datos hiperespectrales.

Este producto de excelencia ha empujado el avance de las exportaciones agrícolas en el Perú ("Quinua y cacao", 2014), lo que muestra ampliamente una ventaja para incrementar la productividad mediante la implementación de tecnologías.

En el capítulo 1 se detalla las características principales del cacao; el capítulo 2 describe la visión hiperespectral del cacao en estudio; mientras que el capítulo 3 muestra los índices hiperespectrales hallados para el cacao orgánico, utilizando el software Spectronon. Finalmente en el capítulo 4 se presenta el análisis y procesamiento de la data obtenida de las imágenes hiperespectrales, con el uso del software ProSensus MultiVariate 14.08.

Es valioso mencionar los resultados parciales de esta ardua investigación fueron presentados en el III Congreso Internacional "IEEE *Asia-Pacific Conference on Computer Aided System Engineering* – APCASE 2015" con el artículo científico: "*Hyperspectral analysis based anthocyanin index (ARI2) during cocoa bean fermentation process*".

Capítulo 1
Generalidades del Cacao

El cacao, de nombre científico *Theobroma* cacao L. que significa "bebida de Dios", proveniente de la familia *Esterculiáceae*, es una especie de origen de América del Sur, naturalmente de la Amazonía de Perú, Colombia, Ecuador y Brasil (Enríquez y Paredes, 1983), extendiéndose hasta América Central y México (ver Figura 1.1).

La producción líder del cacao convencional se da en los países de Costa de Marfil y Ghana, mientras que el Perú, se convierte en uno de los países potenciales en la producción de cacao orgánico en el mundo.

Figura 1.1. Fruto y semillas del Cacao.
Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego, (2012).

1.1. Características de la Planta

El cacao es una planta cauliflora, que produce sus frutos en el tallo y ramas. Las plantas pueden alcanzar una altura de tres a seis metros (ver Figura 1.2).

Figura. 1.2. Planta de Cacao.
Fuente: Elaboración Propia.

Las partes principales de la planta de cacao son:

- Raíz: Posee una raíz principal y secundaria que requieren suelos profundos. Presenta un cúmulo de raicillas absorbentes que por lo general se encuentran del suelo entre 0 a 5 cm (Isla y Andrade, 2009, p. 8).

- Tallo: Presenta dos tipos de tallos: *ortotrópico*, de crecimiento recto - vertical, que provienen de semillas o plantas francas, y *plagiotrópico*, de crecimiento horizontal o lateral, que son producidas por injerto (Isla y Andrade, 2009, p. 8).

- Hojas: Basadas en una estructura especial, denominada "pulvínulos" que son abultamientos entre la base de la hoja y la base del pecíolo y sirven para seguir el direccionamiento solar (Isla y Andrade, 2009, p. 8).

- Flores: A partir del botón floral nacen alrededor de 1 a 40 flores, éstas una vez abiertas, duran hasta 48 horas para la recepción del polen (Isla y Andrade, 2009, p. 9). Las flores son hermafroditas y de polinización cruzada por lo que es muy difícil que el cacao realice la fecundación propia (Cerrón, 2012, cap. 2).

- Frutos: Es una baya elipsoidal, llamada mazorca y puede ser de tres tipos: Criollo (variedad más fina), Forastero o Amazónico y Trinitario (cruce entre el criollo y forastero), de 10 a 35cm de largo, con un peso alrededor de 200 a 500 g. Algunos ejemplares de los tipos de fruto de cacao se muestra en la Figura 1.3 (Cerrón, 2012, cap. 2), (Isla y Andrade, 2009, p. 9).

a) b) c)

Figura. 1.3. Variedades del Cacao: a) Criollo, b) Forastero y c) Trinitario.
Fuente: Rimfors, (2007). **Elaboración:** Propia

- Semillas: una mazorca puede contener de 20 a 40 semillas. Son polimorfas (aplanadas, elipsoides, ovoides, triangulares) de 2 a 4 cm de largo, cubiertas por un mucílago. Luego de fermentadas y secadas al sol las semillas se desprenden de su tegumento, y después de tostadas se extrae los principales ingredientes del chocolate (Cerrón, 2012, cap. 2).

1.2. Ciclo Fenológico del Cacao

Según Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI] (2012), el ciclo fenológico del cacao consta de cuatro fases (ver Figura 1.4):

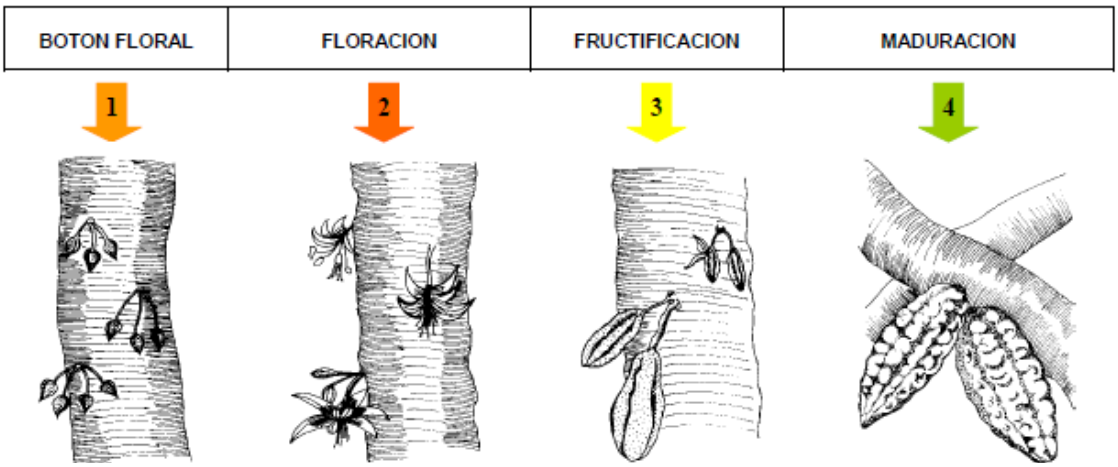

Figura. 1.4. Ciclo Fenológico del Cacao.
Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego, (2012).

1. Botón Floral: Los botones tienen cerca de un centímetro de tamaño.

2. Floración: Se abren los botones florales, las flores permanecen abiertas por un corto tiempo (24 horas).

3. Fructificación: El fruto crece, se anota la fase cuando el fruto alcanza 2 cm.

4. Maduración: Los frutos alcanzan su tamaño máximo y el color típico de la variedad.

1.3. Beneficio del Cacao

1.3.1. Cosecha

La cosecha inicia con la recolección de las mazorcas durante la etapa de maduración de los frutos del cacao; el intervalo de tiempo para la cosecha debe ser constante para evitar la sobre maduración de los frutos. Además se utilizan herramientas apropiadas para la correcta extracción del fruto. Posterior a la recolección, se dejan los frutos bajo sombra por unos días, con el objetivo de contribuir al desarrollo de procesos bioquímicos en el interior de los granos, lo que ayuda a mejorar la calidad que se obtiene en la fermentación posterior.

Finalmente, los frutos maduros se abren y se extraen las almendras, este procedimiento se conoce como quiebra de mazorca.

1.3.2. Fermentación

El proceso de fermentación es de vital importancia para determinar la calidad de los granos de cacao. Esta fase se basa en colocar los granos de cacao en recipientes semicerrados para generar un crecimiento de temperatura, y que de esta forma suceda la descomposición y eliminación del mucílago azucarado (pulpa) y del embrión (interior del grano), que facilita las fases posteriores: el secado y la conservación del grano de cacao.

Durante el proceso, la acción combinada y balanceada de la temperatura, alcoholes, ácidos, pH y humedad matan al embrión que es indispensable para disminuir el sabor amargo por la pérdida de la theobromina, se produce las reacciones bioquímicas que forman al chocolate. Guillín y Lara, (2010) indican que en el proceso de fermentación de las semillas del cacao los microorganismos juegan un papel importante.

En la fermentación de la pulpa, las transformaciones constatadas en el curso de preparación del cacao, empiezan por una fermentación de la pulpa azucarada que envuelven los granos, las fermentaciones están provocadas directamente por microorganismos que afectan a la pulpa, reacciones internas controladas por las enzimas contenidas en los tejidos de los cotiledones. El análisis químico de las diferentes partes de los granos frescos de cacao, señala el alto contenido en azúcar (fructosa y glucosa) de la pulpa que rodea los granos de cacao, cuando estas acaban de ser extraídas de la mazorca, señalan Guillín y Lara, (2010).

La fermentación consta de dos fases importantes, conocidas como anaeróbica (alcohólica) y aeróbica (acética):

a) Hidrólisis o alcohólica

La exposición anaeróbica, en presencia de microorganismos (levaduras y bacterias), propician la transformación del azúcar de la pulpa en alcohol y anhídrido carbónico, de esta manera permite la muerte del embrión y del grano, dando lugar a los precursores del sabor a chocolate.

Guillín y Lara, (2010) describen como la fase inicial de la fermentación, llevada a cabo por las levaduras, pertenecientes a los géneros Cándida, *Dedaryomyces*, *Hansenulaa*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* y *Torulopsis*.

Además se produce debido a un incremento en los recuentos de microorganismos: *Lactobacillus*, L. *plantarum*, L. *collinoides* y L. *fermentum*, con la producción incorporada de ácido láctico (Guillín y Lara, 2010, p. 14).

b) Oxidación o Acética

Ocurre la mayor cantidad de ingreso de oxígeno, para dar lugar a la oxidación y condensación de compuestos, que origina la reducción del amargor y astringencia, para desarrollar los precursores del aroma.

Definida como la segunda fase de la fermentación, es decir, la etapa aeróbica en la cual suceden estos procesos detallados por Guillín y Lara, (2010):

- El aumento del etanol y la mejor aireación facilita la proliferación de las bacterias del ácido acético (Acetonas y Azotobacter), las cuales convierten el etanol en ácido acético. Las Azotobacter son capaces de oxidar el ácido acético, y al realizarse esta reacción, se produce gran cantidad de monóxido de carbono (CO) y agua. Las bacterias lácticas compiten durante pocas horas con las acéticas.

- La oxidación del etanol a monóxido de carbono (CO) y agua, libera gran cantidad de calor, intensificándose la pérdida de humedad y peso de las almendras. Las temperaturas máximas alcanzadas normalmente se ubican entre 48 y 60ºC, debido posiblemente a que este sea el punto térmico de muerte para muchas bacterias. Las bacterias acéticas quedan inactivadas y el ácido acético no se oxida totalmente quedando un remanente.

- Las altas temperaturas detienen el proceso de germinación pero el calor no es el único agente. Los alcoholes y el ácido acético obtenidos también intervienen en el proceso: estos penetran al interior de los granos de cacao y participan en la muerte del embrión, iniciándose así la formación de las sustancias precursoras del aroma y sabor a chocolate, el pH continua aumentado y cuando está por encima de 5, se activan las bacterias Aerobacter, estas desdoblan los aminoácidos con formación de aminas que dan un color pardo oscuro a la testa y un olor desagradable.

- Una intensa acetificación a cargo de las bacterias acéticas: Acetobacter y Gluconobacter.

La Tabla 1.1 describe las características de los granos de cacao durante la fermentación:

Tabla 1.1. Reacciones internas del cacao durante la fermentación.

1er día	**3er – 4to día**	**5to – 7mo día**
Pulpa muy ácida (pH 3.5).	Masa fermentante está ácida (pH 4.5).	Masa fermentante está acidulada (pH 5.5).
Masa fermentante de color blanco.	Masa fermentante de color café claro.	Masa fermentante de color café.
pH 6.5 del interior de la semilla.	pH 4.5 del interior de la semilla.	pH 5.5 del interior de la semilla.
Interior de la semilla de color violeta.	Interior de la semilla de color violeta, sus bordes de color café.	Interior de la semilla de color café.
No hay desarrollo de calor.	Aumento de temperatura de la masa fermentante a 45 – 50°C.	Temperatura de la masa fermentada se reduce a 40°C.
Olor agridulce, aromático.	Fuerte olor a ácido acético.	Olor a ácido acético es menos fuerte.

Fuente: Augstburger et al., 2000.

La existencia de varios factores influyen en el proceso de fermentación como la madurez de la vaina de cacao, el almacenamiento, la cantidad en un solo recipiente, cantidad de pulpa, los volteos o remociones, el tiempo de fermentación, el clima, las plagas, etc. (Ortiz, Graziani y Gervaise, 2009) (Lambert y Mars Inc., s/f).

1.3.3. Secado

La etapa del secado representa una reducción de humedad del grano, de 55% a 7% aproximadamente, que permite completar la formación del aroma y sabor característico a chocolate que se dio en la etapa de fermentación. Durante el secado continúa la fase oxidativa de la fermentación, por lo que juega un papel importante en la disminución de la astringencia, amargor y acidez del grano, así como en el desarrollo del color marrón a partir de los compuestos fenólicos, lo que ocurre solamente en esta etapa, se especifica en Ortíz, Camacho y Graziani, (2004).

Existen diferentes formas de secado: plataformas de cemento, parihuelas de madera, mantas de polipropileno, tarimas de caña brava (Isla y Andrade, 2009). Para una mejor calidad del grano de cacao, es preferible realizar el secado solar (Lambert y Mars Inc., s/f).

La Tabla 1.2 describe la clasificación de granos de cacao por el grado de fermentación y secado:

Tabla 1.2. Clasificación de almendras de cacao por el grado de fermentación y secado.

Clasificación		Características	Causas	Resultados
BUENA		- Color marrón oscuro. - Grietas y quebradizo. - Disociación: cáscara con el cotiledón.	- Fermentación y secado bueno.	- Excelente aroma y sabor.
PARCIAL		- Color café y violeta. - Menos grietas. - Menos quebradizo. - Solidez regular.	- El tiempo y temperatura de fermentación es insuficiente.	- Sabor y aroma aceptable. - Aumenta acidez y amargura.
MALA	**Violeta**	- Color violeta intenso. - Ausencia de grietas. - Solidez compacta o semicompacta.	- Fermentación interrumpida. - Secado muy rápido.	- Astringencia y acidez fuerte. - Desarrollo de hongos.
	Pizarra	- Color gris negruzco, opaco. - Muy compacto.	- Ausencia de fermentación.	- Sabor amargo, desagradable y astringente al extremo.
	Mohoso	- Color blanquecino, a veces verdosa o amarilla. - Presencia de hongos.	- Ausencia de secado, y el nivel de humedad supera el 7%.	- Olor y sabor desagradable. - Tóxico.
	Infestado	- Presencia o restos de insectos. - Total deterioro.	- Insectos. - Falta de limpieza, fumigación o almacenamiento largo.	- Calidad rechazada. - Tóxico. - No apto.

Fuente: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, (s/f). **Elaboración:** Propia.

1.3.4. Selección

Este proceso consiste en seleccionar los granos de cacao en buen estado, es decir, aptos para su envasado y exportación. Existen dos métodos de selección:

a) Manual: Se procede a escoger y eliminar toda materia extraña: pasillas, piedras, palos, restos, granos: malformados, dobles, seccionados, muy pequeños, negros, etc. que alteren la calidad física del cacao (Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico, s/f).

b) Mecánica: Mediante el uso de la máquina tamizadora se selecciona los granos de cacao en 3 clasificaciones con respecto al tamaño (grande, mediano y pequeño), además se realiza manualmente el retiro de objetos extraños. Este proceso se realiza en la Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico – ASPROBO.

Posterior a la selección, se procede al envasado de los granos de cacao en sacos de yute, los cuales deben permanecer en buen estado y limpios.

1.3.5. Almacenamiento

La importancia del almacenamiento de los granos de cacao es fundamental para prevalecer la calidad del producto. Por ello se considera estas medidas:

- La humedad del cacao debe estar por debajo del 8% para evitar la formación de hongos.
- Limpieza y sistema de ventilación adecuada en el lugar de almacenamiento, y aislado de olores fuertes o productos contaminantes.
- Los sacos deben estar en parihuelas de madera para impedir el contacto directo con el suelo.

La Figura 1.5 representa las etapas de fermentación, secado, selección y almacenamiento que se realizan en la Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico – ASPROBO:

Figura 1.5. Etapas del beneficio de cacao.
Fuente: Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico, (s/f).

1.4. Parámetros de las características del cacao

1.4.1. Proceso de Fermentación y Secado

La formación de los componentes del cacao: alcohol, ácido láctico, agua y ácido acético en el mucílago se difunden al interior del cotiledón generando estimulación en las reacciones bioquímicas complejas y ocasionan la muerte del embrión.

a) Parámetros químicos:

La composición química de los granos de cacao presenta una dependencia de distintos elementos, tales como: genética, ubicación geográfica, madurez, calidad de la fermentación, el secado y procesos posteriores (Palacios, 2008, p. 86).

En tanto Palacios, (2008), menciona que en general los principales constituyentes químicos del cacao son: agua, grasa, compuestos fenólicos, materia nitrogenada (proteínas y purinas, incluyendo teobromina y cafeína), almidón y otros carbohidratos además de materia orgánica, ver Tabla 1.3:

Tabla 1.3. Componentes químicos de los granos de cacao fermentado.

Componentes	Fermentado y Seco (%)	Cáscara (%)	Germen o Radícula (%)
Agua	5,00	4,50	8,50
Grasa	54,00	1,50	3,50
Cafeína	0,20	-	-
Teobromina	1,20	1,40	-
Polihidroxifenoles	6,00	-	-
Proteína bruta	11,50	1,90	25,10
Mono - oligosacáridos	1,00	0,10	2,30
Almidón	6,00	-	-
Pentosanos	1,50	7,00	-
Celulosa	9,00	26,50	4,30
Ácidos carboxílicos	1,50	-	-
Otras sustancias	0,50	-	-
Cenizas	2,60	8,00	6,30

Fuente: Palacios, (2008).

- **Grasa:** El contenido de grasa representa alrededor de 50% en el grano de cacao, y está constituido por glicéridos: ácido oleico, laúrico, palmítico, esteárico y aráquico (Palacios, 2008, p. 87).

- **Compuestos fenólicos:** Se plantea en Palacios, (2008), que estos compuestos están implicados en las modificaciones bioquímicas internas de los cotiledones durante la fermentación, normalmente el descenso del conjunto de estos compuestos (fenoles totales, taninos y antocianinas) ocurre por la oxidación enzimática. Específicamente la disminución del contenido de polifenoles se explica por la hidrólisis de las antocianinas y a la vez por la polimerización de los monómeros y oligómeros de flavonoles en los compuestos insolubles; lo cual disminuye la astringencia del cacao y el sabor amargo asociado a los taninos.

- **Ácidos orgánicos:** Aquellos que aportan acidez al grano fermentado y seco, algunos de estos ácidos que se forman durante la fermentación y que dan el sabor a cacao son: el ácido acético, cítrico y oxálico (Palacios, 2008, p. 90).

b) Parámetros físicos:

- **pH:** El nivel de pH presenta diferentes cambios debido a los procesos de degradación por la presencia de microorganismos, además por efectos de mezclado. El pH inicial en el mucílago y cotiledón sufre una variación durante la fermentación, esto se debe a la degradación del ácido cítrico en el mucílago lo que genera que el pH aumente, mientras que en el cotiledón el pH se reduce debido a la existencia del ácido acético y, cuando se producen las reacciones de este ácido con las proteínas, el pH aumenta.

- **Acidez:** En las cajas de fermentación cuando fluye el jugo de cacao y en conjunto con las condiciones de aireación, logra incrementar la oxidación del ácido cítrico y a la vez reduce la acidez. Según mediciones en la cáscara como en el grano (Augier, 1999), se ha observado que los niveles de concentración de acidez forman una gráfica de campana, siendo el cuarto día de fermentación el punto máximo (ver Figura 1.6).

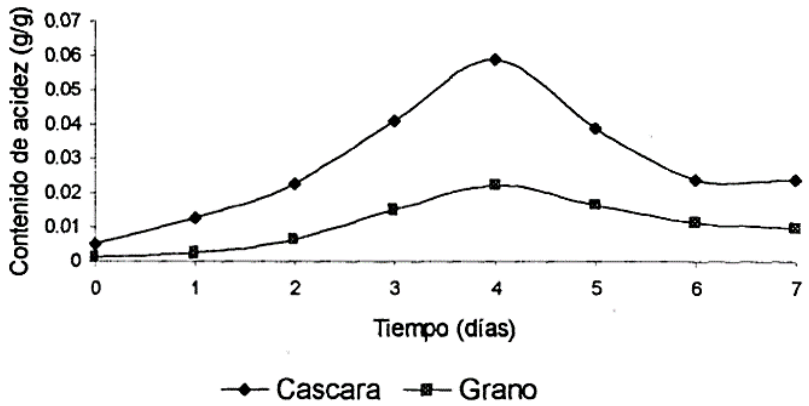

Figura 1.6. Comportamiento de la acidez durante la fermentación del cacao.
Fuente: Augier, (1999).

- **Temperatura:** Según estudios se sustenta que el aumento de temperatura se da a partir de las 48 horas aproximadamente, puesto que la degradación de azúcares por levaduras genera baja cantidad de calor al inicio de la fermentación. Los rangos de temperatura varían de 26 a 45 °C durante las 48 horas y 60 °C posteriormente.

  En los primeros días de la fermentación la temperatura aumenta constantemente llegando a los 45,5 º C. Luego desciende con lentitud pero vuelve a subir cuando se realiza la segunda remoción. A los seis días de iniciar la fermentación la temperatura alcanza entre 45 y 48 º C, los cambios que acompañan a la sobre fermentación pueden elevar la temperatura hasta los 52 ºC (Guillín y Lara, 2010, p. 19).

Describe Guillín y Lara, (2010) que la temperatura de la masa de cacao se desarrolla mejor cuando se realiza en lugares con una temperatura ambiente media superior a los 21 ºC y una altitud inferior a los 1300 m.s.n.m., puesto que a menor temperatura ambiente y alturas superiores los cambios de la microflora son más lentos y la fermentación requiere de mayor tiempo.

Capítulo 2
Visión Hiperespectral en el Cacao

El cacao orgánico en estudio proviene de la Zona Norte del Perú, de la ciudad de Piura, Provincia de Morropón, Distrito de Buenos Aires. Este "Manjar de los Dioses" ofrece la mejor calidad en dos de las variedades de cacao: blanco (criollo) y morado (foráneo).

La organización representante de los productores que contribuye al desarrollo sostenible, "Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico - ASPROBO", logra exportar alrededor de 25 a 30 toneladas de cacao al año y 5 a 8 toneladas al mercado nacional.

La organización ASPROBO realiza cuatro procesos importantes para la producción del cacao orgánico: cosecha, fermentación, secado y selección de granos de cacao. Para cada proceso se realiza operaciones importantes para alcanzar la mejor calidad de cacao.

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la parte interna del grano del cacao fermentado, y explorar la correlación entre las características internas y externas del grano, puesto que para la selección de un grano exquisito se observa la superficie interna del grano fragmentado.

Mediante la observación y el conocimiento técnico sobre el cacao, ASPROBO ha establecido tres tipos de calidad del grano fermentado de cacao para la distinción en el proceso selectivo de un grano de calidad. Se nombra las características notables que logran definir la calidad de almendras de cacao por el grado de fermentación (ver Figura 2.1):

- Buena: Presenta grietas profundas y anchas en el grano partido. La muerte del embrión se realizó en su totalidad.

- Parcial o Media: Grietas estrechas y finas en la superficie del grano partido. La muerte del embrión no se realizó en su totalidad.

- Mala: Ausencia de grietas, o deterioro del grano. Presencia del embrión.

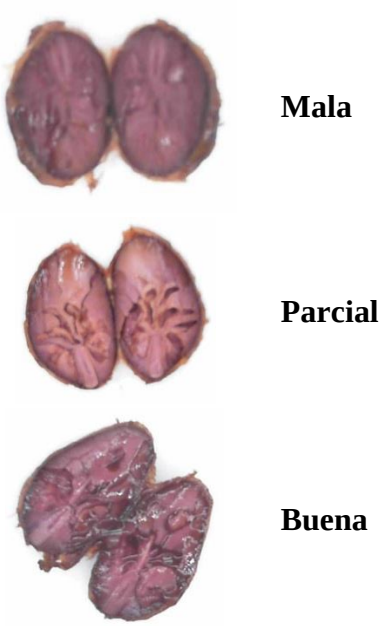

Figura. 2.1. Tipos de Calidad del Cacao Fermentado.
Fuente: Elaboración Propia.

2.1. Cámara Hiperespectral

La cámara de imágenes hiperespectrales Resonon es un sistema integral de hardware y software para la adquisición y análisis de datos hiperespectrales (ver Figura 2.2). Es un instrumento de fácil manejo, cuenta con una excelente calidad de imagen, alta SNR (*Signal to Noise Ratio*), distorsiones y luz difusa escasa. La cámara permite la creación de una imagen digital que comprende una resolución espectral muy alta. Además un píxel de la imagen hiperespectral representa una curva continua de la intensidad de la luz entrante contra longitud de onda.

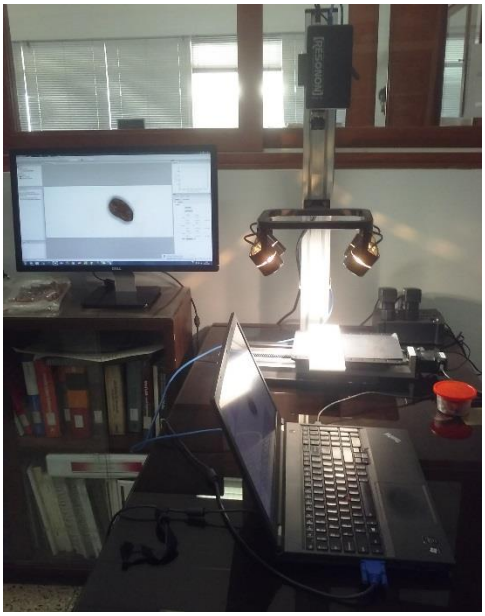

Figura 2.2. Cámara Hiperespectral Resonon – Pika II.
Fuente: Elaboración Propia.

La imagen hiperespectral posee un píxel (considerado como un vector), adquirido por una cámara hiperespectral, puede ser visto como una firma espectral o "huella digital" de los materiales subyacentes en el píxel (Gonzáles, 2012).

Las características técnicas de la cámara se muestran en la Tabla 2.1:

Tabla 2.1. Especificaciones de la cámara Pika II.

Rango Espectral	400 - 900 nm
Resolución Espectral	2,1 nm
Canales Espectrales	240
Canales Espaciales	640
Máximos cuadros por segundo	145 fps
Profundidad de Bits	12
Opciones de Conexión	GigE
Requerimientos de Potencia	8-30V, <2,5W
Peso	1,3 kg
Dimensiones (cm)	9,7 x 16,8 x 6,4
Rango de Temperatura	8-32 °C

Fuente: Resonon Inc., (s/f), **Elaboración:** Propia.

El rango de la cámara hiperespectral Pika II está definido entre 400 y 900 nm (ver Figura 2.3):

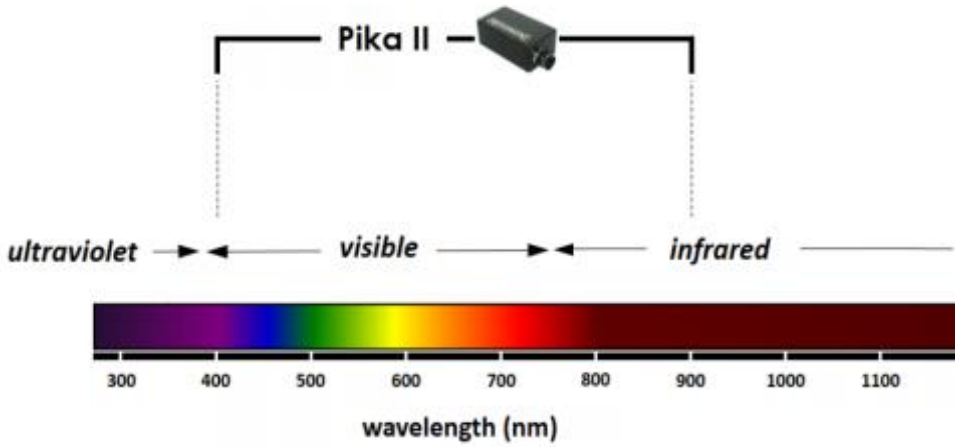

Figura 2.3. Rango Hiperespectral de la Cámara Pika II.
Fuente: Resonon Inc., (s/f). **Elaboración:** Propia.

El software Spectronon permite evaluar los datos hiperespectrales adquiridos por la cámara, además de utilizar aplicaciones para el procesamiento de imágenes (ver Figura 2.4).

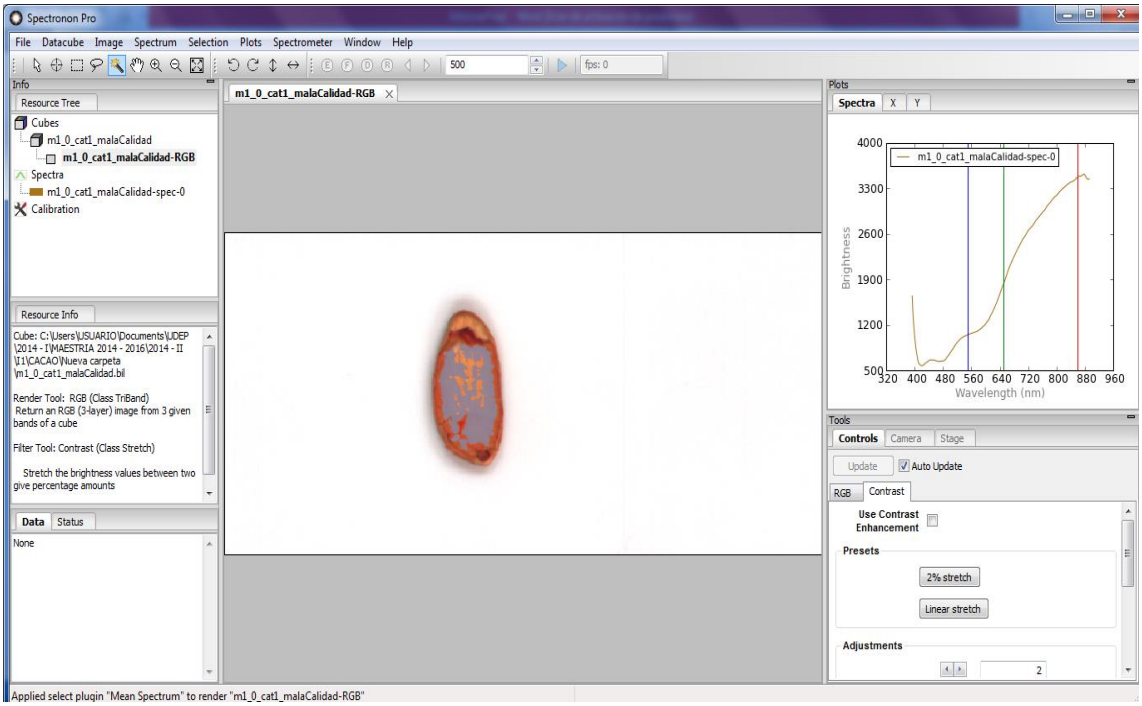

Figura 2.4. Software SpectrononPro.
Fuente: Elaboración Propia.

2.2. Imagen Hiperespectral

La imagen hiperespectral recoge y procesa la información de todo el espectro electromagnético. Están conformadas por un mayor número de bandas y éstas siempre son adyacentes.

Existen dos enfoques para la construcción de imágenes hiperespectrales, es decir, la generación del cubo hiperespectral. En la Figura 2.5 (a) la generación del cubo es mediante un escaneo a través de la longitud de onda, y en (b) es un escaneo espacial línea por línea a lo largo del eje y referido en la figura (Barreto, 2015).

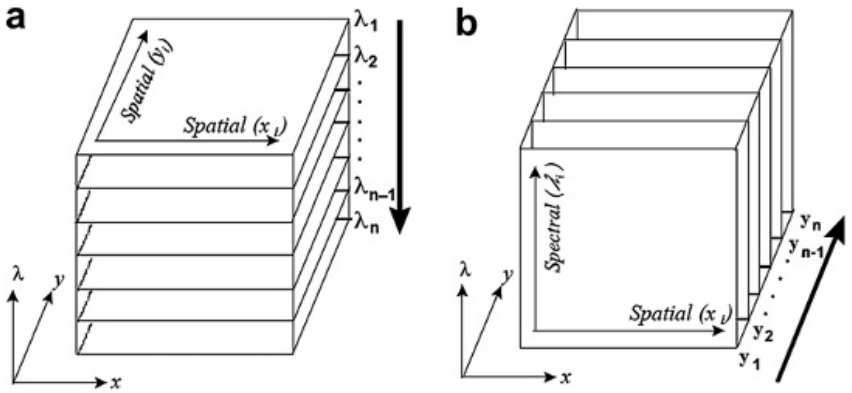

Figura 2.5. Construcción del Cubo Hiperespectral: (a) Escaneo longitudinal, (b) Escaneo espacial.
Fuente: Barreto, (2015).

La imagen hiperespectral se refiere a la creación de una imagen digital, la cual contiene un alto espectro de resolución (color). Cada píxel de la imagen representa una línea de intensidad de luz entrante en función de la longitud de onda. En la Figura 2.6, cada flecha verde, azul y roja representan un espectro para tres píxeles distintos.

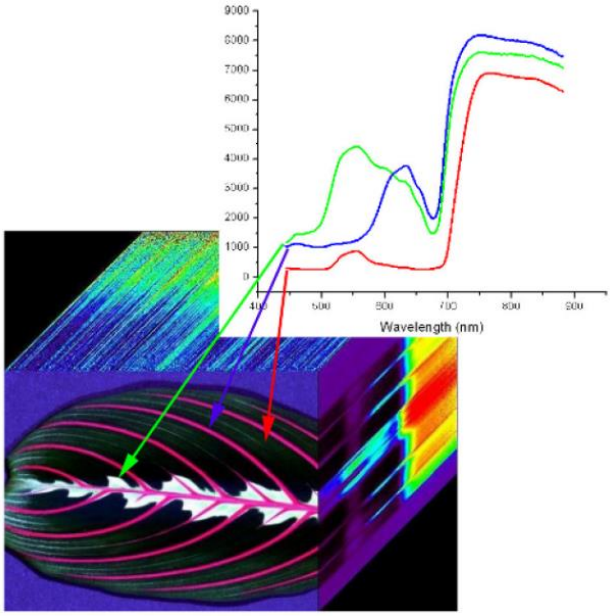

Figura 5.6. Imagen Hiperespectral en su longitud de onda.
Fuente: Fuente: Resonon Inc., (2014).

El costo de la adquisición de imágenes hiperespectrales para el uso de la agricultura es particularmente alto, existen en cultivos específicos y en climas específicos, el uso de teledetección hiperespectral es cada vez mayor, utilizado para supervisar el desarrollo y la salud de los cultivos. También se utilizan los datos hiperespectrales para detectar la composición química de las plantas, que se puede utilizar para determinar el estado de los nutrientes, así como otras propiedades que se desean evaluar.

Capítulo 3
Índices Hiperespectrales

Los índices de vegetación (VIS) son combinaciones de reflectancia de la superficie en dos o más longitudes de onda diseñadas para resaltar una propiedad particular de la vegetación. Se derivan utilizando las propiedades de reflectancia de la vegetación. Cada VIS está diseñado para acentuar una característica particular de vegetación. Más de 150 VIS han sido publicados, pero sólo un pequeño subconjunto tiene base biofísica sustancial o se han probado de manera sistemática (Dubbini, 2013), (E0-1 Hyperion,", s/f).

La selección de las categorías de vegetación más importantes y los mejores índices representativos dentro de cada categoría se llevó a cabo por el doctor Gregory P. Asner del Instituto Carnegie de Washington, Departamento de Ecología Global. Las selecciones se basaron en la robustez, la base científica y la aplicabilidad general. Los índices se agrupan en categorías que calculan propiedades similares, como se detalla en "E0-1 Hyperion," (s/f):

- *Broadband Greenness* (5 índices):
  - *Normalized Difference Vegetation Index*
  - *Simple Ratio Index*
  - *Enhanced Vegetation Index*
  - *Atmospherically Resistant Vegetation Index*
  - *Sum Green Index*
- *Narrowband Greenness* (7 índices):
  - *Red Edge Normalized Difference Vegetation Index*
  - *Modified Red Edge Simple Ratio Index*
  - *Modified Red Edge Normalized Difference Vegetation Index*
  - *Vogelmann Red Edge Index 1*
  - *Vogelmann Red Edge Index 2*
  - *Vogelmann Red Edge Index 3*
  - *Red Edge Position Index*
- *Light Use Efficiency* (3 índices):
  - *Photochemical Reflectance Index*
  - *Structure Insensitive Pigment Index*
  - *Red Green Ratio Index*

- *Canopy Nitrogen* (1 índice):
  - *Normalized Difference Nitrogen Index*
- *Dry or Senescent Carbon* (3 índices):
  - *Normalized Difference Lignin Index*
  - *Cellulose Absorption Index*
  - *Plant Senescence Reflectance Index*
- *Leaf Pigments* (4 índices):
  - *Carotenoid Reflectance Index 1*
  - *Carotenoid Reflectance Index 2*
  - *Anthocyanin Reflectance Index 1*
  - *Anthocyanin Reflectance Index 2*
- *Canopy Water Content* (4 índices):
  - *Water Band Index*
  - *Normalized Difference Water Index*
  - *Moisture Stress Index*
  - *Normalized Difference Infrared Index*

Cada categoría de índices típicamente proporciona múltiples técnicas para estimar la ausencia o presencia de una única propiedad de vegetación. Para diferentes propiedades y condiciones de campo, algunos índices dentro de una categoría proporcionan resultados con mayor validez que otros (Dubbini, 2013). La comparación de los resultados de diferentes índices de vegetación de una categoría y la correlación de estos índices, pueden determinar qué índices otorgan el mejor modelo que representa la variabilidad obtenida de una determinada escena para ciertas condiciones de campo. El uso del índice de vegetación de mejor resultado puede aumentar de forma significativa la calidad de los resultados de cualquier tratamiento posterior (“E0-1 Hyperion,”, s/f).

Se llevó a cabo el experimento, Lote 1, para la medición de las variables de trabajo del proceso de fermentación de cacao (variables fisicoquímicas): pH, temperatura y porcentaje de humedad, además de la adquisición de las imágenes hiperespectrales para el estudio respectivo, ver Figura 3.1. Las mediciones respectivas se realizaron cada 24 horas.

El proceso de fermentación evaluado se realizó en la ciudad de Buenos Aires, Morropón – Piura en la Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico – ASPROBO durante el mes de Abril del 2015.

La fermentación se efectuó en cajones de madera de 1 m^3 cubiertos de sacos en un intervalo de tiempo de 6 días (144 horas) con un código de 24 – 48 – 48 para las remociones, es decir, la primera remoción ocurrió a las 24 horas de ingreso de cacao para fermentar, posteriormente la segunda y tercera, fue cada 48 horas después de cada remoción.

Figura 3.1. Equipos de Laboratorio para la medición de los parámetros de fermentación.
Fuente: Elaboración propia.

Se estableció tres secciones de medición del cajón de madera: superior (S1), central (S2) e inferior (S3) para el registro de los datos fisicoquímicos e hiperespectrales (ver Figura 3.2). En los días de remoción se obtuvo la medición de los parámetros de las tres secciones, mientras que en los otros días solo en la sección superior para impedir cualquier disturbio en el proceso.

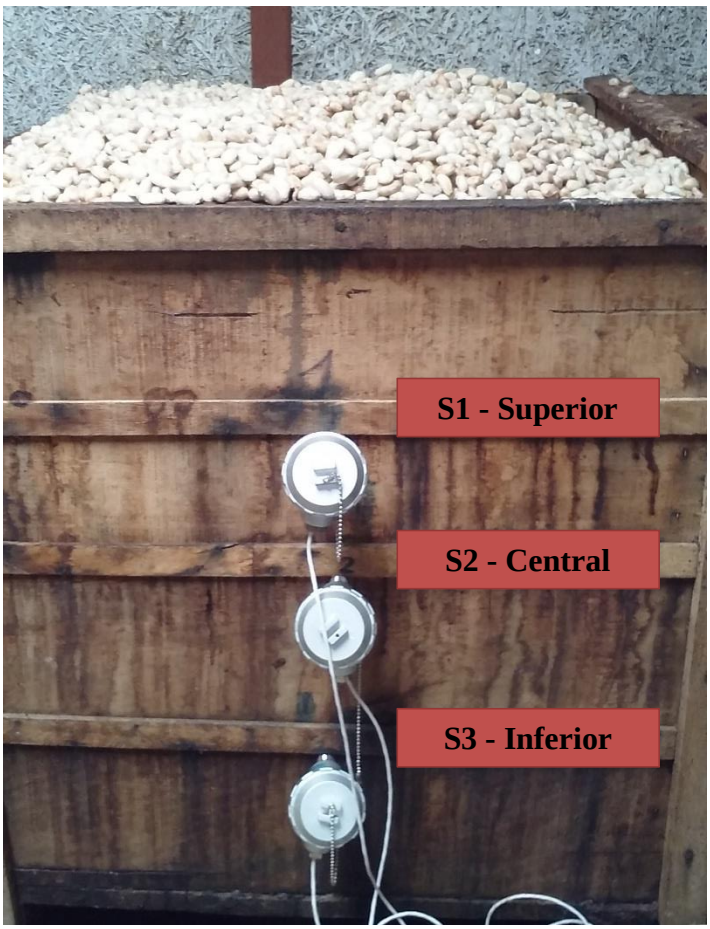

Figura 3.2. Secciones de cajón de madera de fermentación de granos de cacao.
Fuente: Elaboración propia.

Los procesos de fermentación van acompañados de un incremento de la temperatura de la masa de cacao. Este fenómeno se debe en gran parte a la actividad microbiana que se desarrolla en el mucílago, los azúcares existentes en el mucílago del fruto se transforman en alcohol que, a su vez, se oxidan convirtiéndose en ácido acético (Ruiz, 2015).

El crecimiento de la temperatura para el Lote 1 empieza desde el ingreso de los granos de cacao al cajón de madera. Para el Lote 1, la temperatura inicial abarca los 33,99 °C, logra el valor máximo a las 96 horas con 44,51 °C y posteriormente cae rápidamente, es así que cumple con la curva de la ecuación fundamental de la fermentación (Figura 3.3).

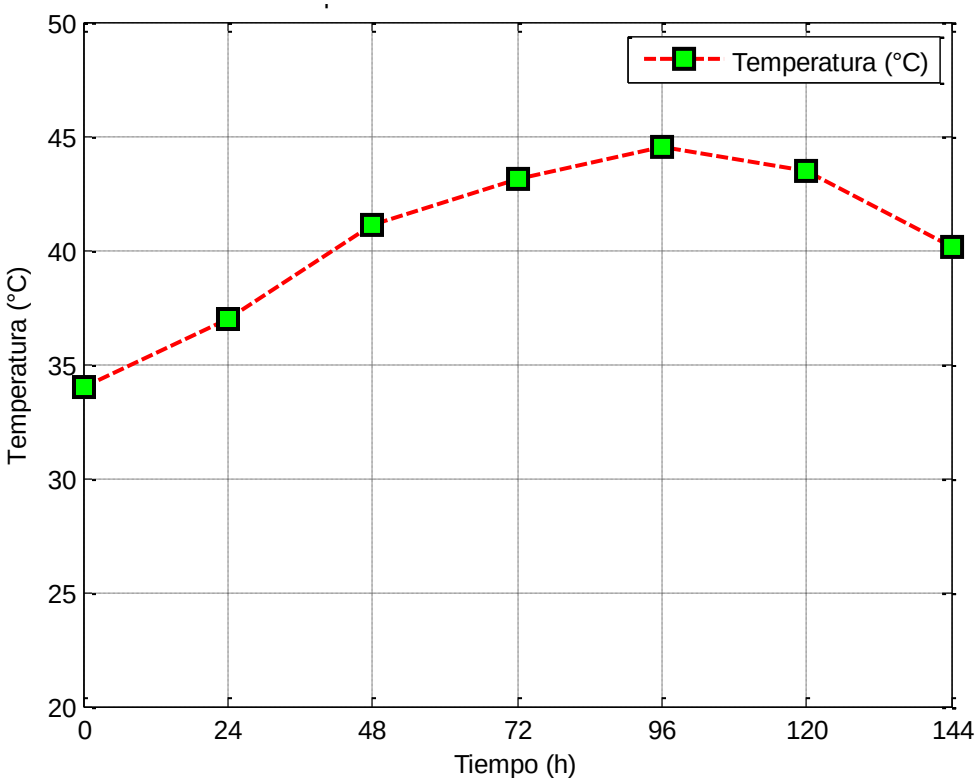

Figura 3.3. Evolución de la Temperatura durante el proceso de fermentación del cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

Para el caso del porcentaje de humedad (%H) se aprecia en la Figura 3.4 el descenso significativo en las primeras 48 horas (segundo día de fermentación), luego la variación de %H desciende lentamente hasta un valor final de 52,7% de humedad.

Determinar el pH es sumamente importante para determinar la acidez del grado de fermentación del grano de cacao; la medición del pH se evaluó en tres partes predominantes del grano de cacao: la testa, cotiledón y grano completo. Los valores iniciales del pH en la testa, cotiledón y grano completo fueron 6,12, 6,41 y 7,12 respectivamente. A partir del primer día de fermentación el pH de la testa empieza a aumentar a medida que disminuye el pH del cotiledón. Al finalizar la fermentación el valor de pH de las tres partes del grano cacao se aproximan alrededor de 3,9, ver Figura 3.5.

Al analizar la temperatura y el pH de la testa y cotiledón, se determinó un proceso de fermentación normal.

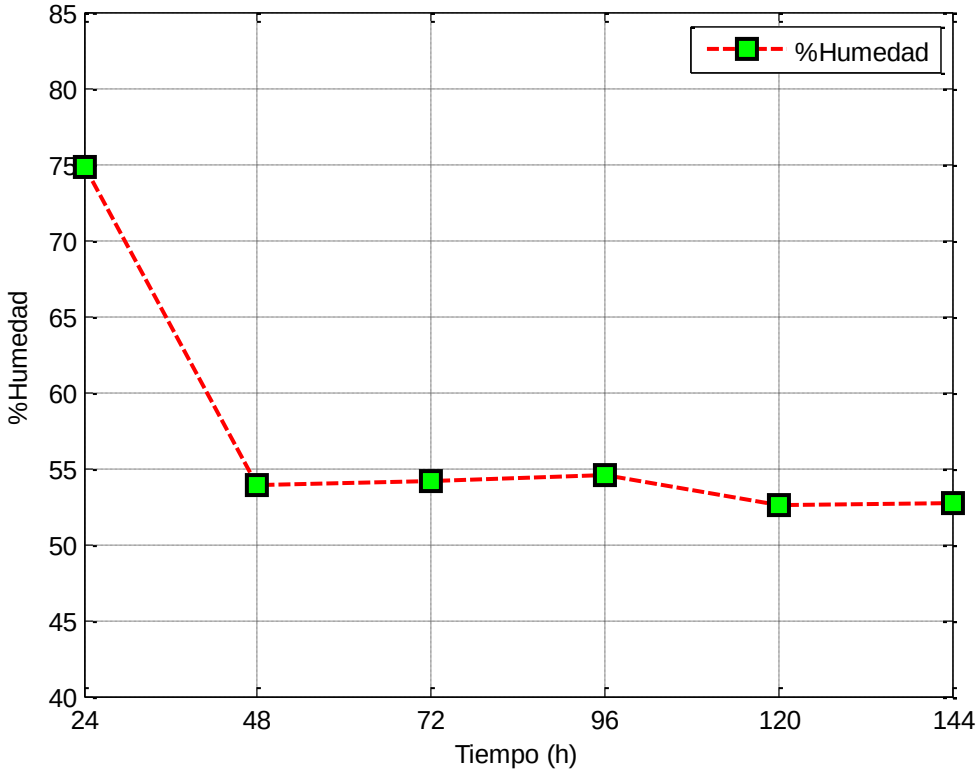

Figura 3.4. Evolución del Porcentaje de Humedad durante el proceso de fermentación del cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

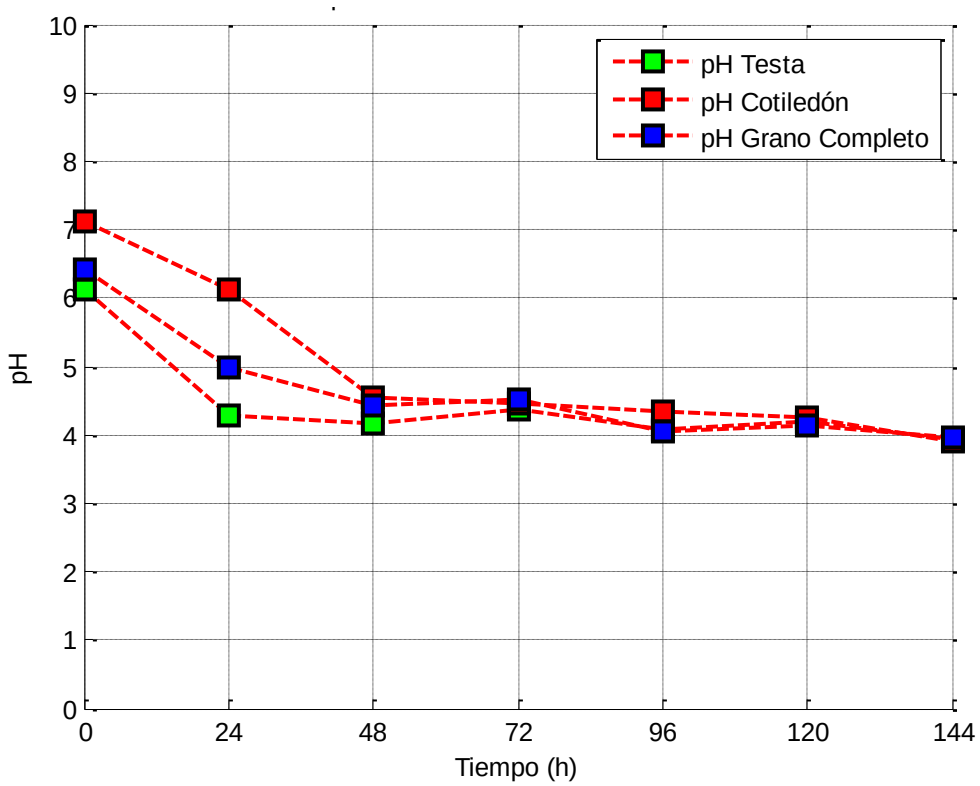

Figura 3.5. Evolución del pH durante el proceso de fermentación del cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

Para la toma de imágenes hiperespectrales se consideró regiones de interés: externa (E) e interna (grano completo (GC), cotiledón (C) y pulpa (P)), por lo cual se procedió a la partición de cada grano para la digitalización interna del grano (Figura 3.6).

a) b) c) d)

Figura 3.6. Regiones de interés del grano de cacao: a) Externa, b) Grano completo, c) Cotiledón y d) Pulpa.
Fuente: Elaboración propia.

En esta investigación de campo se logró analizar el índice de reflectancia de antocianina 2 (ARI2) y proponer nuevas relaciones hiperespectrales de los granos de cacao morados durante el desarrollo de la fermentación.

3.1. Índice de Reflectancia de Antocianina 2

La antocianina es un pigmento hidrosoluble, que en conjunto con otros pigmentos poliméricos formados a partir de antocianinas por condensación con otros flavonoides son responsables del color violeta, cuyas características sensoriales (Aguilera, 2011), (Wollgast y Anklam, 2000) han influenciado en la determinación de la calidad del cacao.

La antocianina, así como otros pigmentos, incluyendo la clorofila y carotenoides, permiten la absorción de luz en bandas particulares y pueden ser fácilmente evaluados con la espectroscopia de reflectancia y absorción. La reflectancia y absorción espectral ofrece una alternativa potencial frente a los análisis químicos destructivos que demandan mucho tiempo, puesto que se ha logrado un progreso considerable en el desarrollo de métodos no destructivos para estimar el estado fisiológico de la vegetación durante la última década (Gitelson, 2001).

El fuerte efecto de este pigmento sobre la relación entre la posición del borde de color rojo y la concentración de clorofila, se estableció con el uso de rojo (500-600 nm) a verde (600-700 nm), para determinar la relación de reflectancia para la estimación de la antocianina (Gitelson, 2001).

El índice de Reflectancia de Antocianina 2 se determina con la siguiente fórmula (Gitelson, 2001), donde ρ_{550}, ρ_{700} y ρ_{800} corresponden a la reflectancia en la longitud de onda de 550, 700 y 800 nm respectivamente:

$$ARI2 = \rho_{800}\left[\frac{1}{\rho_{550}} - \frac{1}{\rho_{700}}\right] \tag{3.1}$$

La adquisición de los cubos hiperespectrales permitió extraer el índice ARI2 de 38 muestras de granos de cacao capturadas durante los 6 días de duración de la fermentación.

La Figura 3.7 muestra las imágenes hiperespectrales del índice de antocianina ARI2 e imágenes RGB del proceso de fermentación.

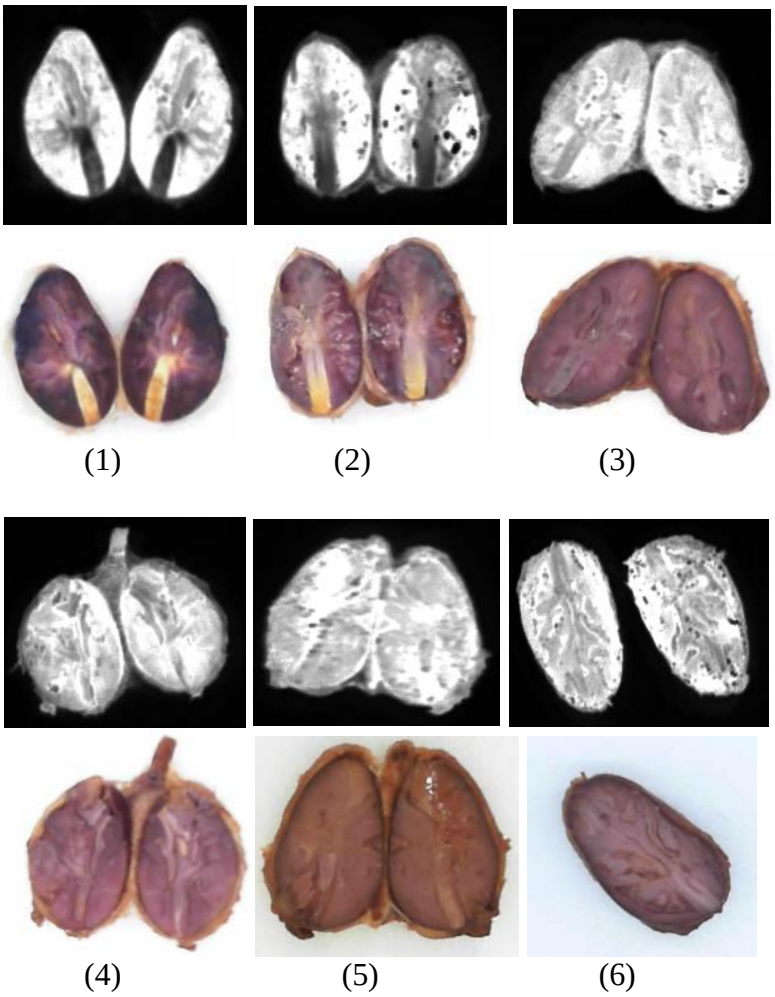

Figura 3.7. Imágenes hiperespectrales ARI2 e imágenes RGB: (1), (2), (3), (4), (5) y (6) días de fermentación de cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

Los granos de cacao son ricos en polifenoles, en particular de catequinas y proantocianinas, sin embargo durante el proceso de fermentación se produce una fuerte disminución en contenido dichos compuestos (Wollgast y Anklam, 2000).

Guzmán et al., (2008) realizó un estudio sobre el comportamiento de los polifenoles en el grano de cacao e indica que a medida que avanza el proceso fermentación, el contenido de polifenoles disminuye, además la acelerada destrucción de las antocianinas, va acompañada de un desarrollo rápido del sabor a chocolate.

Se detalla el comportamiento del índice de antocianina (ARI2) en el cotiledón para las tres secciones del cajón de madera en los días de remoción (primer, tercer y quinto día), ver Figura 3.8. Los valores del índice ARI2 en la sección S1 y S3 presentan una disminución baja y para la sección S2, el ARI2 crece mínimamente, pero posterior a las 120 horas el índice disminuye en todas las secciones (última remoción).

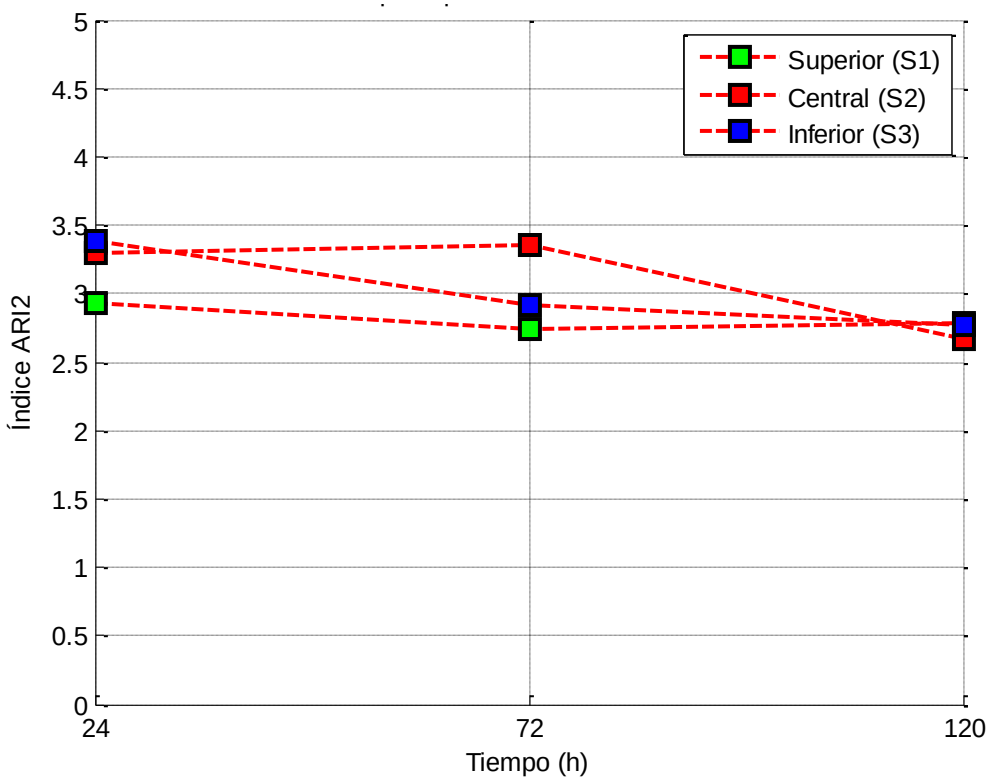

Figura 3.8. Evolución del índice hiperespectral ARI2 en el Cotiledón durante el proceso de fermentación del cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

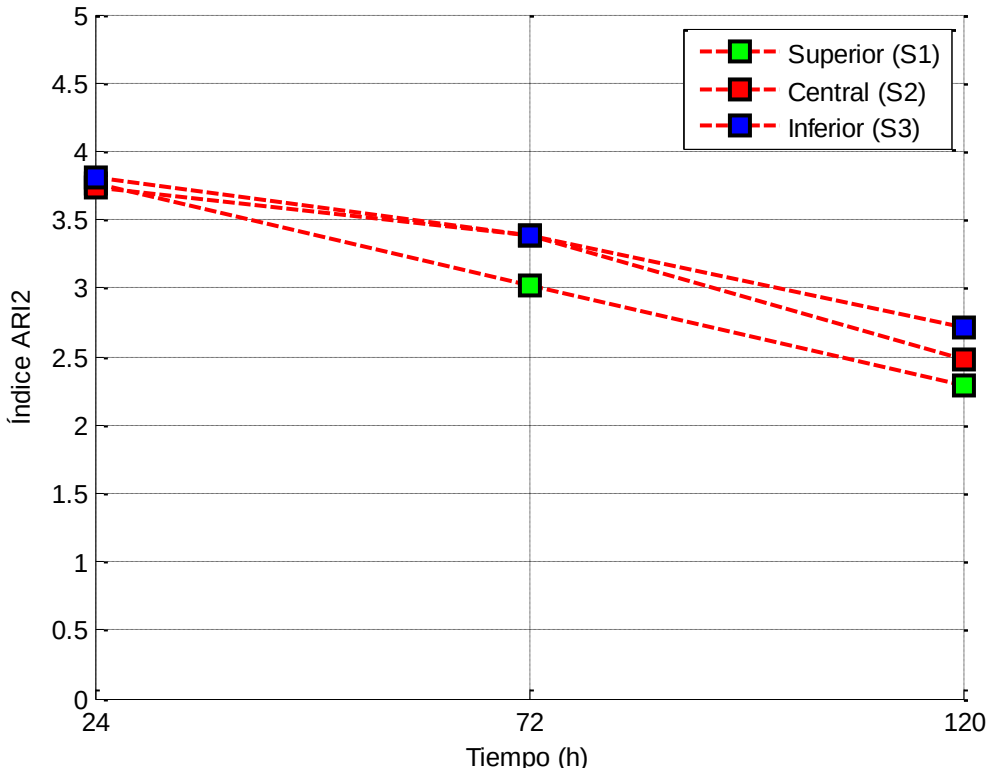

Figura 3.9. Evolución del índice hiperespectral ARI2 en la Pulpa durante el proceso de fermentación del cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

Los valores de los índices de antocianina de la pulpa del grano de cacao para las secciones S1, S2 y S3 descienden rápidamente hasta la última remoción, indicando que la disipación de antocianina en el cacao presenta una tendencia decreciente, como se muestra en la Figura 3.9.

En la Figura 3.10 se detalla la evolución de los parámetros fisicoquímicos (pH, temperatura, porcentaje de humedad) e hiperespectral (ARI2) del grano completo en los días de remoción (24, 72 y 120 horas). Se tomó el valor promedio de ARI2 en las tres secciones del cajón de madera por cada remoción. El pH, %H e índice ARI2 tienden a disminuir, sin embargo la temperatura aumenta. Se puede establecer una correlación entre ellos para determinar el estado de fermentación del cacao. Además el contenido de antocianina se ha considerado como un buen índice para la determinación del grado de fermentación de las almendras de cacao (Wollgast y Anklam, 2000).

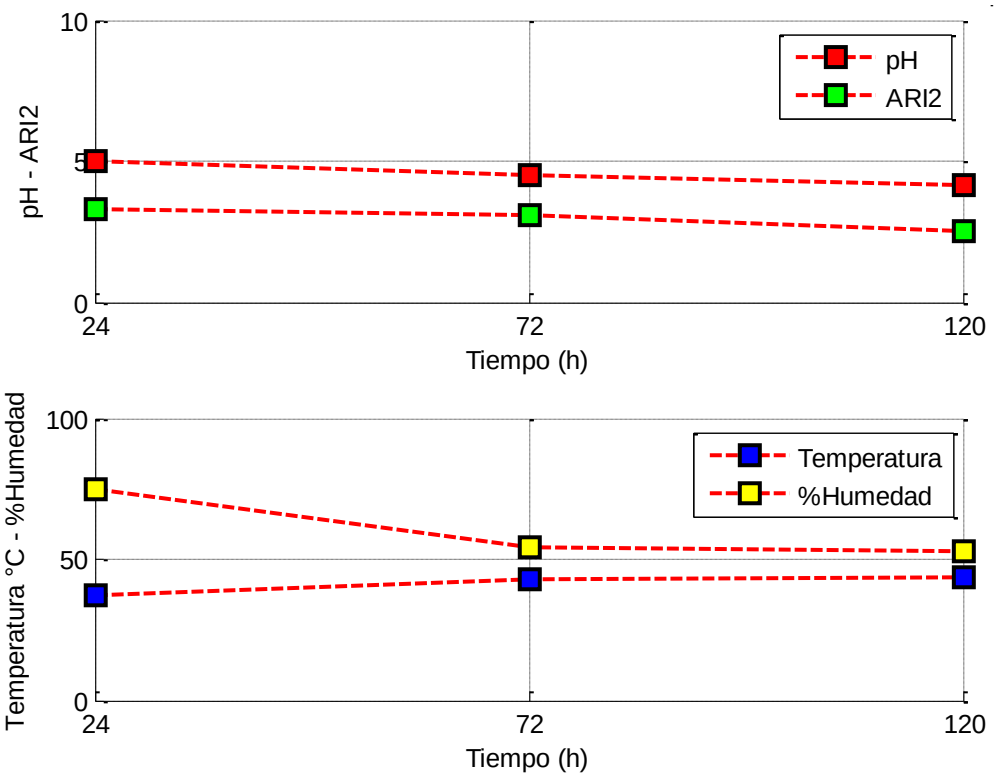

Figura 3.10. Evolución de los parámetros en el proceso de fermentación de cacao.
Fuente: Ruiz, (2015).

En la Figura 3.11 se observa la evolución del índice ARI2 en relación al pH del grano completo. Tanto el pH como el ARI2 presentan una tendencia decreciente, lo cual podrían estar correlacionados. Esta investigación forma parte del artículo científico: "*Hyperspectral analysis based anthocyanin index (ARI2) during cocoa bean fermentation process*" presentado en el III Congreso Internacional "IEEE *Asia-Pacific Conference on Computer Aided System Engineering* – APCASE 2015".

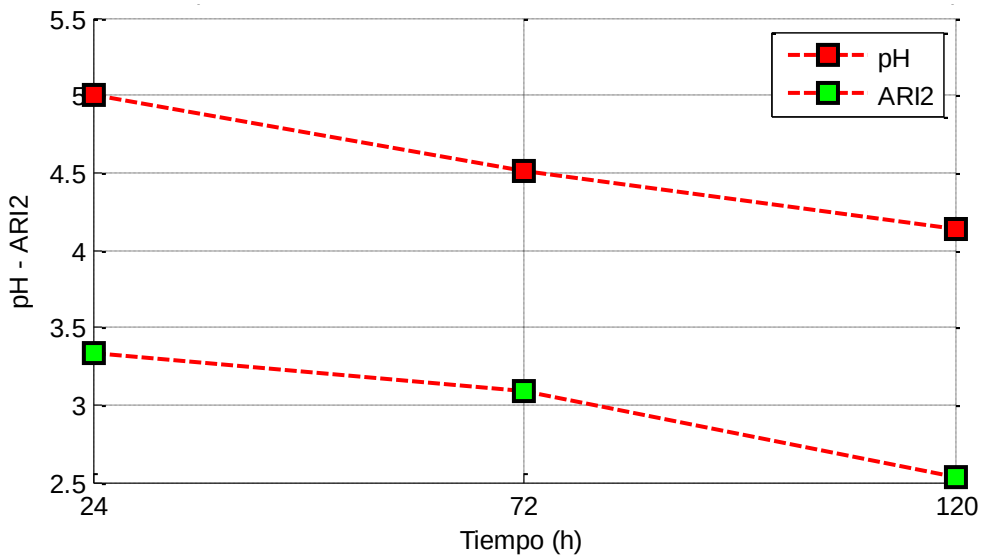

Figura 3.11. Evolución del pH y ARI2 en el proceso de fermentación del grano completo de cacao.
Fuente: Elaboración propia.

3.2. Relación de bandas espectrales de absorción RBEA

La relación de bandas espectrales de absorción (RBEA) se ha determinado a partir del promedio de firmas hiperespectrales de los granos de cacao correspondiente a cada día de duración de la fermentación (6 días).

Se ha distinguido una notable diferencia entre las bandas espectrales de reflectancia, construidas por el software Spectronon, en el intervalo de longitud de onda de 400 a 700 nm. Para ello se estudió en dos regiones del grano de cacao: cotiledón y grano completo, lo cual se verificó que en el cotiledón se muestra una disminución de la reflectancia en las bandas 418,399 y 478,933 nm respectivamente (ver Figura 3.12).

A partir de este estudio se obtuvo las firmas espectrales de absorción en dichas longitudes, lo que permitió verificar los importantes picos de absorción (ver Figura 3.13).

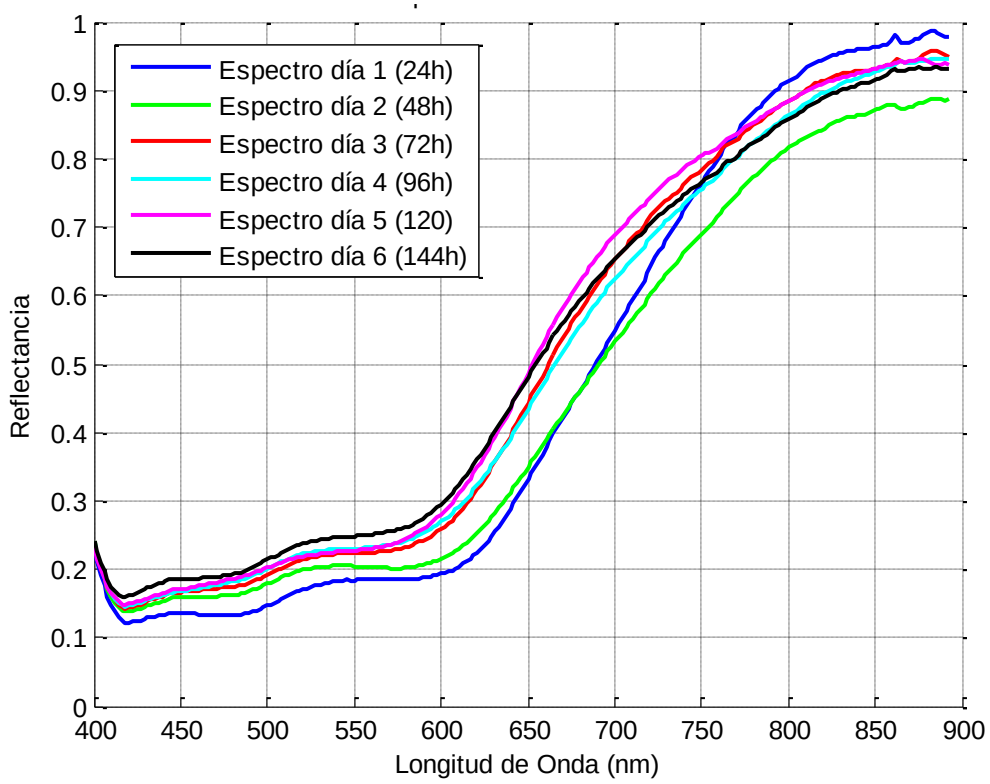

Figura 3.12. Firmas espectrales promedio del cotiledón de los granos de cacao durante el proceso de fermentación (Reflectancia).
Fuente: Elaboración Propia.

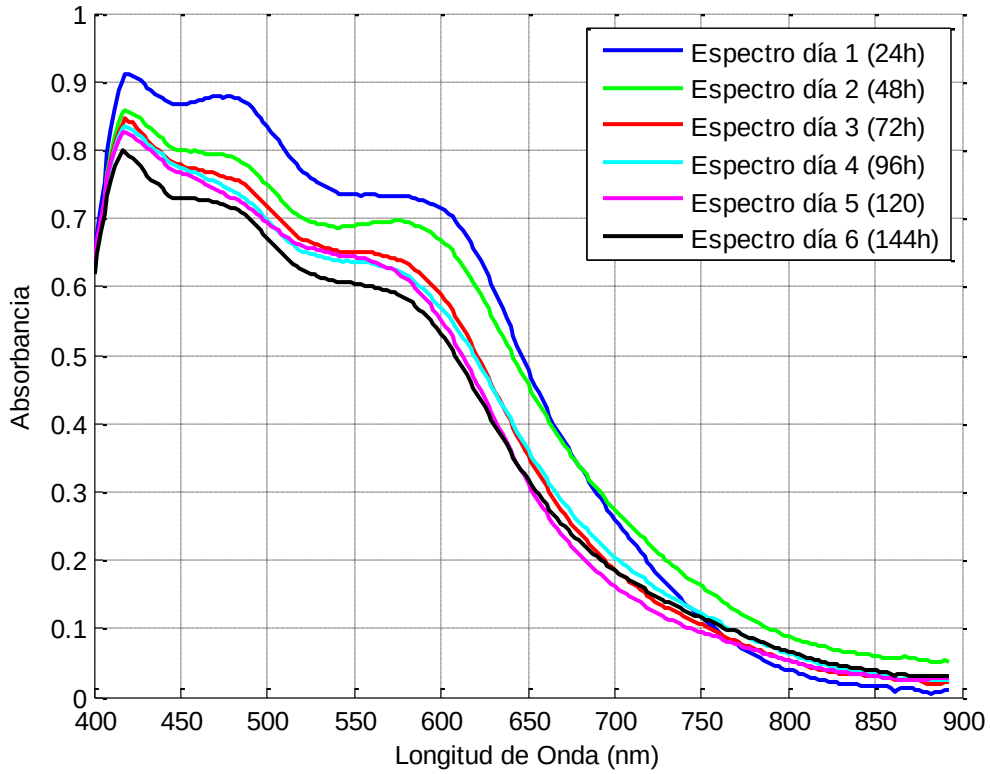

Figura 3.13. Firmas espectrales promedio del cotiledón de los granos de cacao durante el proceso de fermentación (Absorbancia).
Fuente: Elaboración Propia.

Para determinar la absorción del cotiledón en 418,399 y 478,933 nm se utilizó la Ecuación 3.2, que relaciona la absorbancia y reflectancia (Alomar, 1998):

$$A = -\log(R) \tag{3.2}$$

Donde A y R corresponden a los valores de absorción y reflectancia a una longitud de onda específica.

Se estableció la siguiente relación de bandas espectrales de absorción RBEA, Ecuación (3.3):

$$RBEA = A_{418,399}/A_{478,399} \tag{3.3}$$

Donde $A_{418,399}$ y $A_{478,399}$ pertenecen a los valores de absorción en la longitud de onda de correspondiente. En la Figura 3.14 se detalla la evolución del RBEA en la fermentación.

La Figura 3.15 muestra la tendencia en forma creciente de RBEA en los días de remoción (24, 72 y 120 horas). En el segundo día de remoción el cambio es rápido tanto para el pH y RBEA, mientras que a las 120 horas de la fermentación los cambios son suaves, de esta forma se puede correlacionar el RBEA con el pH (una relación inversamente proporcional).

La Figura 3.16 representa las firmas espectrales promedio de reflectancia con base en la longitud de onda del grano completo de cacao durante el desarrollo de la fermentación. En esta gráfica se puede apreciar que a partir de 750 nm la firma espectral disminuye cada 24 horas. En el primer y último día de fermentación la diferencia entre las firmas espectrales es amplia (0,08 aproximadamente).

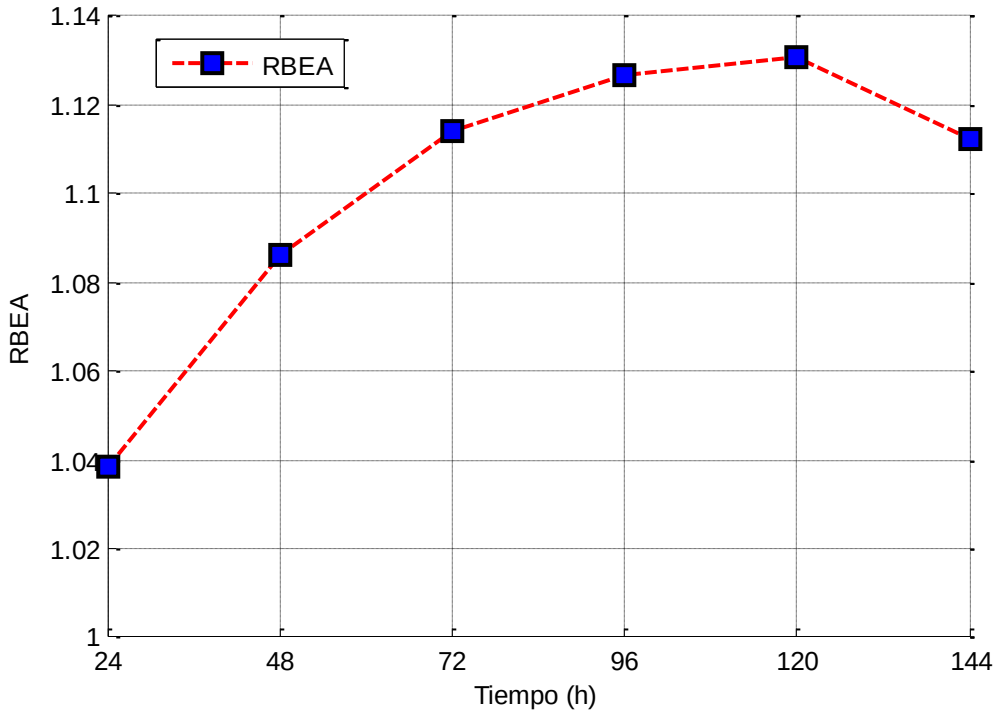

Figura 3.14. Evolución de RBEA del cotiledón de los granos de cacao durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

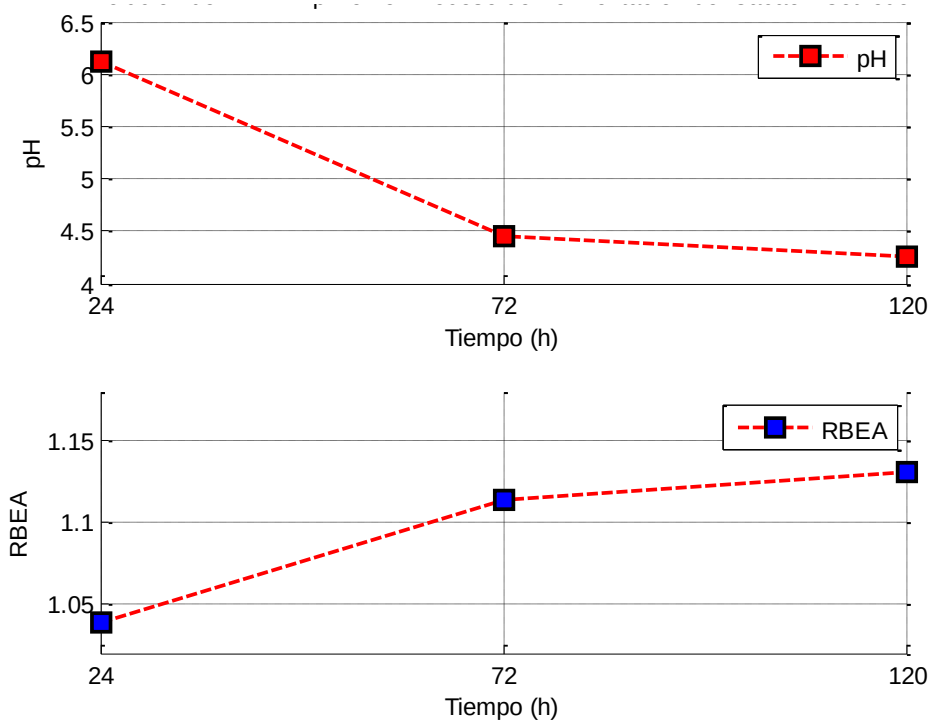

Figura 3.15. Evolución de RBEA - pH del cotiledón de los granos de cacao durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

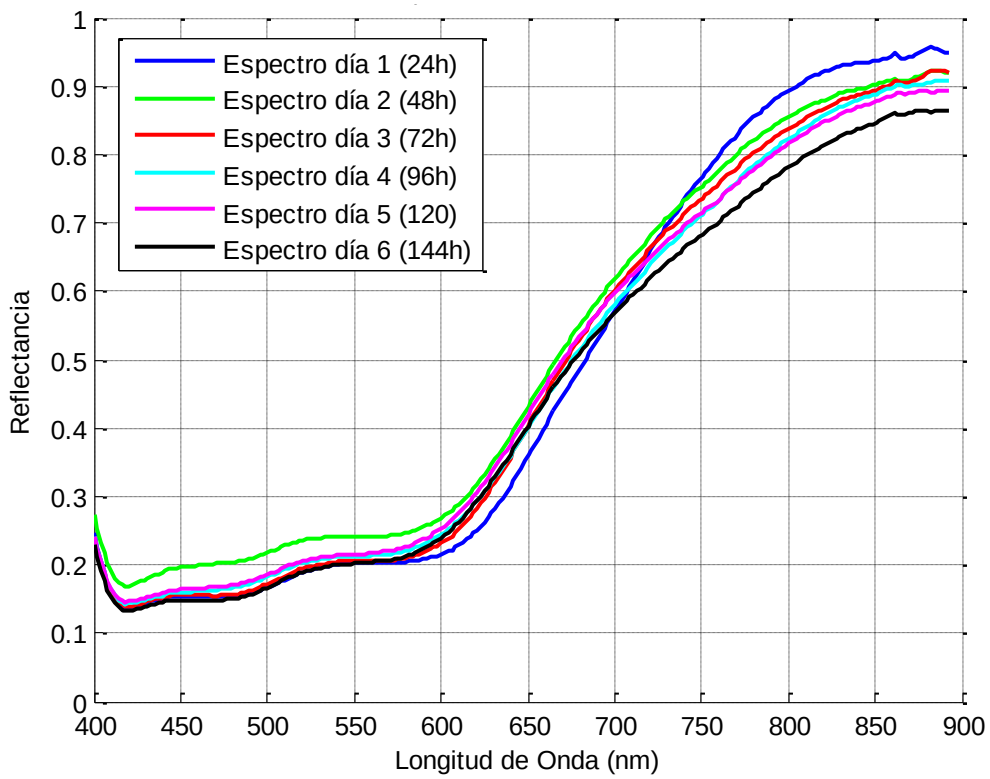

Figura 3.16. Firmas espectrales promedio del grano completo de cacao durante el proceso de fermentación (Reflectancia).
Fuente: Elaboración Propia.

3.3. Relación de bandas espectrales de absorción externa RBEAE

La relación de bandas espectrales de absorción externa (RBEAE) se evaluó con el promedio de firmas hiperespectrales de los granos violetas de cacao enteros (sin partir), que corresponden a muestras diarias según el periodo de duración de la fermentación.

Se ha considerado las bandas espectrales que utiliza RBEA (418,399 y 478,933 nm) para evaluar la absorción de la parte externa del grano de cacao y encontrar algún vínculo de interés.

En la Figura 3.17 se observa una diferencia sutil entre las firmas espectrales construidas por el software Spectronon en cada intervalo de tiempo en la fermentación. Se evidencia que cada 24 horas las firmas espectrales disminuyen en función a la reflectancia, mientras que en función de la absorción las firmas espectrales aumentan (ver Figura 3.18). Para obtener la absorción se empleó la Ecuación 3.2.

Para determinar la RBEAE se utilizó la siguiente ecuación:

$$RBEAE = A_{E,418,399}/A_{E,478,933} \tag{3.4}$$

Donde $A_{E,418,399}$ y $A_{E,478,933}$ pertenecen a los valores de absorción de la parte externa del grano de cacao en la longitud de onda indicada.

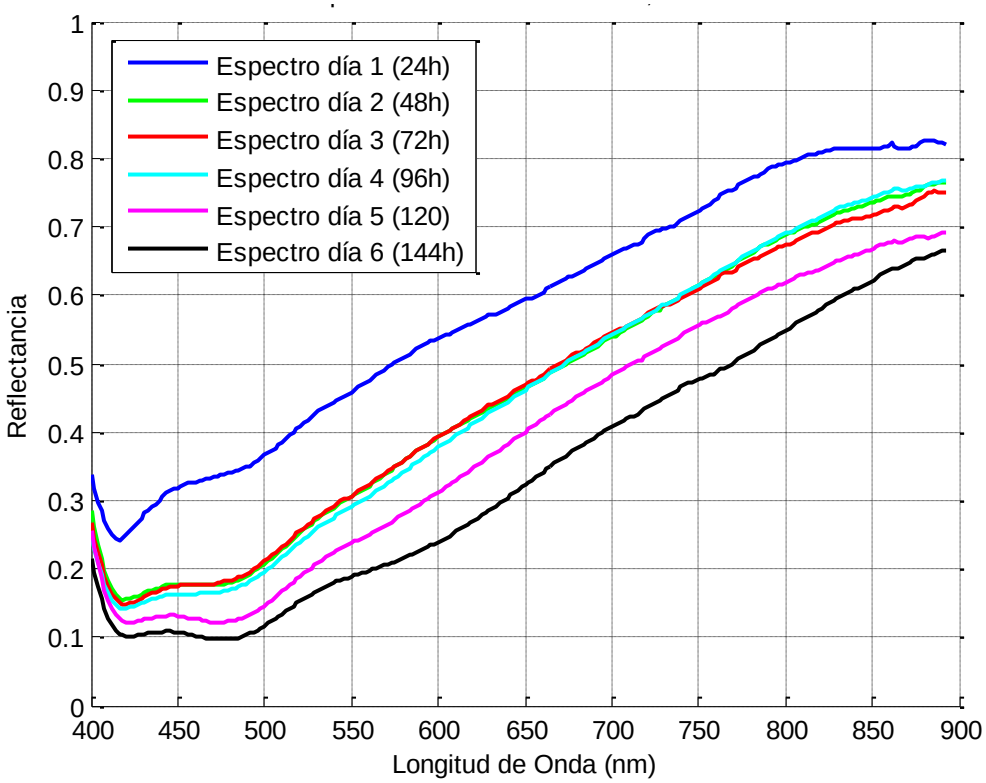

Figura 3.17. Firmas espectrales promedio del grano de cacao (parte externa) durante el proceso de fermentación (Reflectancia).
Fuente: Elaboración Propia.

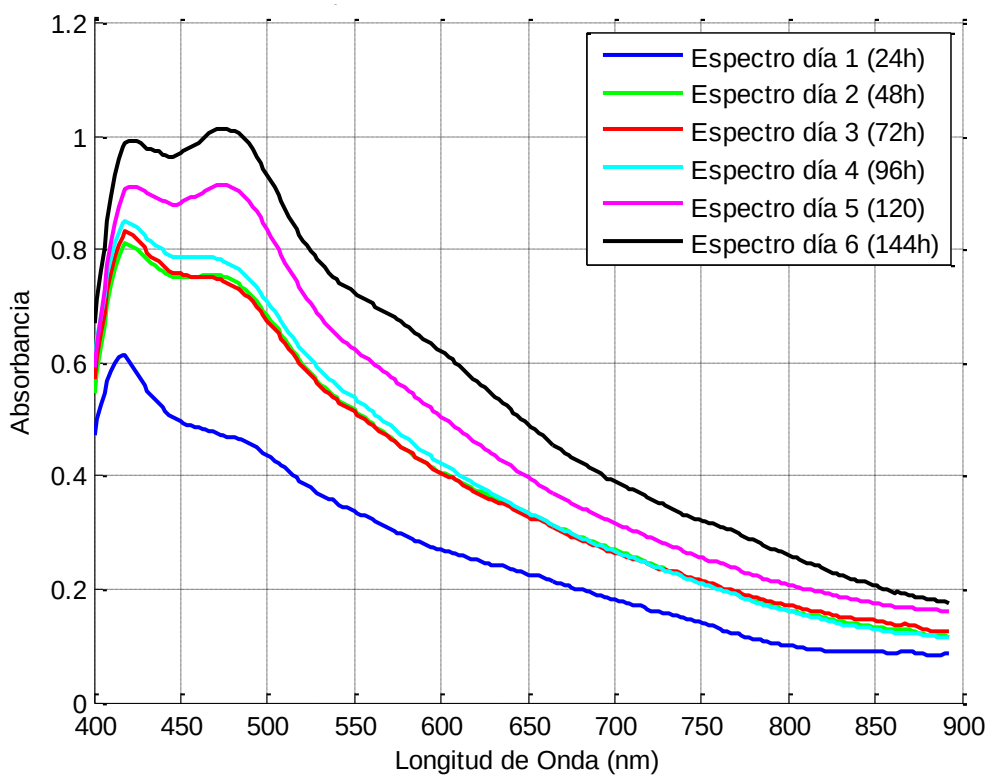

Figura 3.18. Firmas espectrales promedio del grano de cacao (parte externa) durante el proceso de fermentación (Absorbancia).
Fuente: Elaboración Propia.

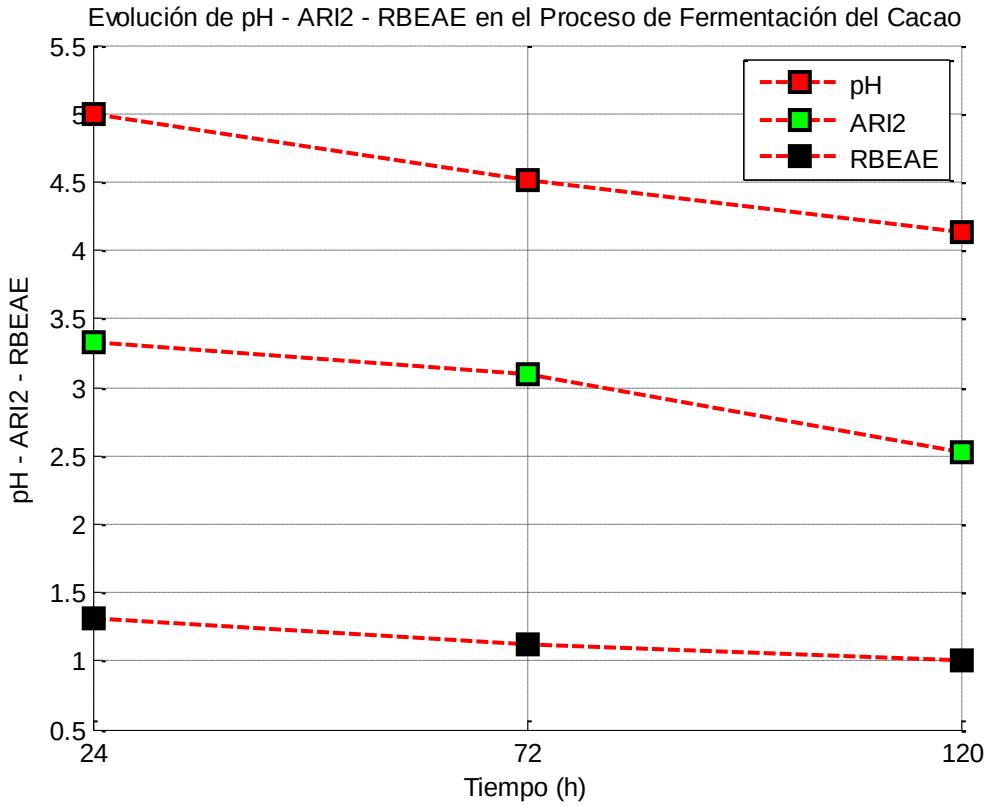

Figura 3.19. Evolución del pH – ARI2 del cotiledón de los granos de cacao y RBEAE durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

Se correlaciona los parámetros de pH, ARI2 del grano completo y el RBEAE durante los días de remoción (24, 72 y 120 horas), la tendencia de éstos es negativa (ver Figura 3.19); logrando correlacionar la parte interna y externa del grano de cacao y obtener un monitoreo continuo de la evolución de la fermentación sin recurrir a los análisis destructivos del grano. Siendo un análisis inmediato y confiable.

Es relevante indicar que las firmas espectrales de absorbancia y reflectancia de los granos tanto violetas y blancos de la parte externa tienen la misma tendencia y son similares. El índice RBEAE se puede plantear como línea futura de investigación para el proceso de fermentación de granos morados y/o blancos.

En las gráficas de la Figura 3.20 y Figura 3.21 se observa dicha similitud de las firmas espectrales de reflectancia y absorción respectivamente entre los granos morados y blancos. Estos granos corresponden al día cuarto del proceso de fermentación del Lote 1.

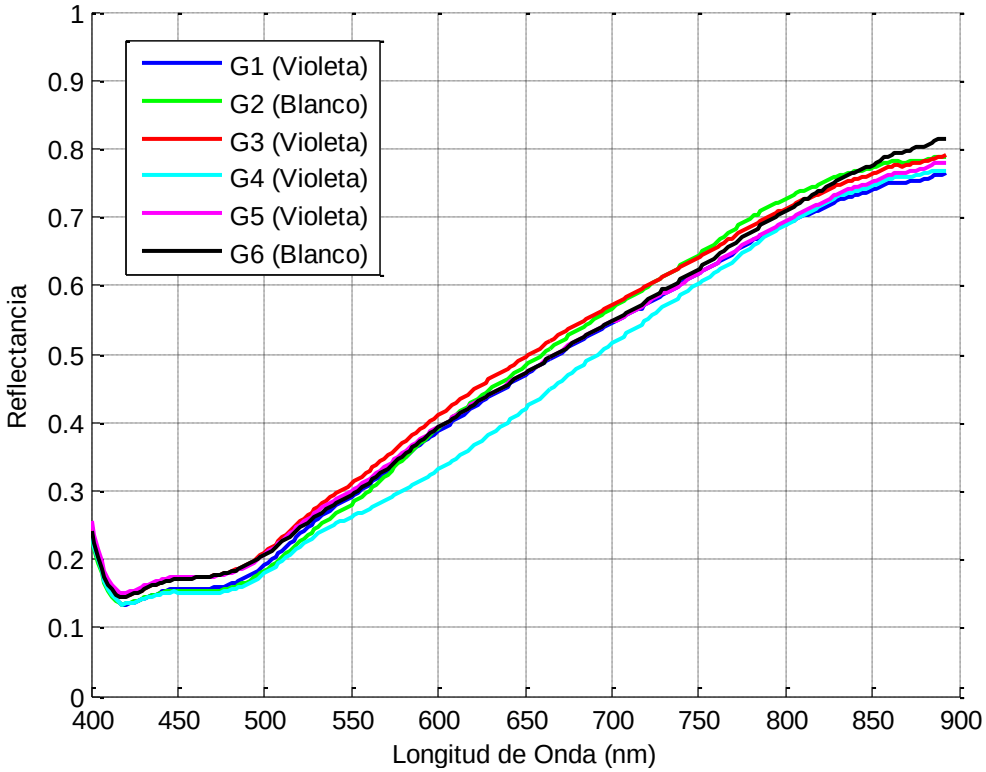

Figura 3.20. Firmas espectrales de granos de cacao violetas y blancos (parte externa) durante el proceso de fermentación (Reflectancia).
Fuente: Elaboración Propia.

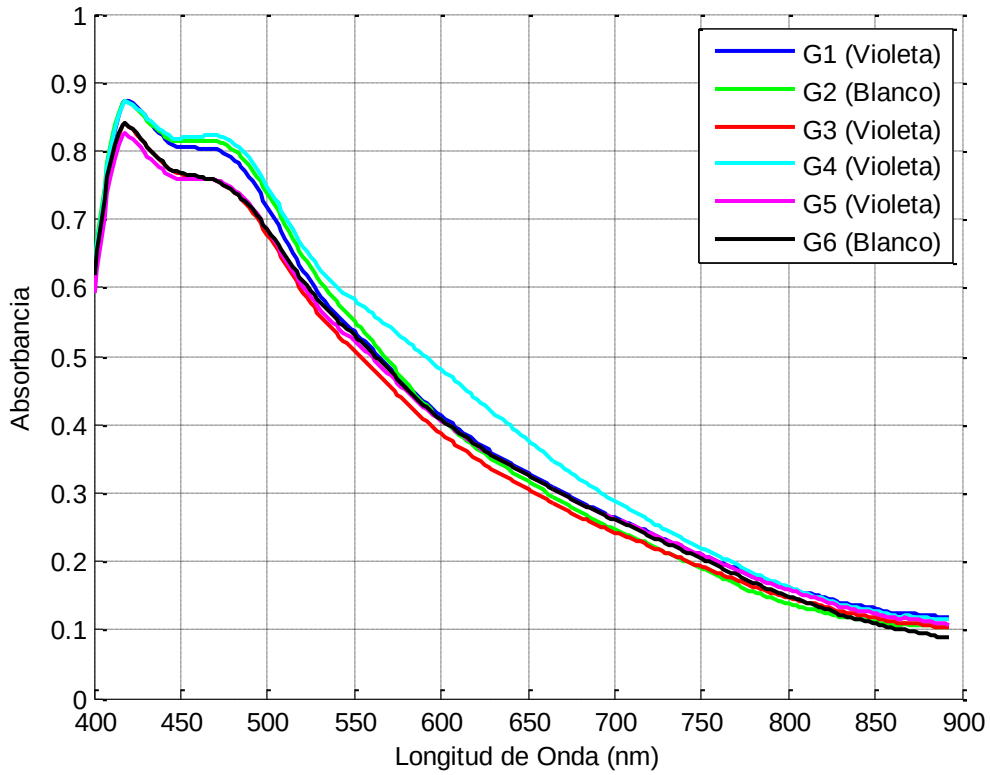

Figura 3.21. Firmas espectrales de granos de cacao violetas y blancos (parte externa) durante el proceso de fermentación (Absorbancia).
Fuente: Elaboración Propia.

Capítulo 4
Análisis Estadístico

Se realiza el análisis de los parámetros en estudio para encontrar la correlación existente entre ellos:

- Tiempo (t), en horas.
- Factor pH del grano completo (pH).
- Temperatura (T), en °C.
- Porcentajes de Humedad (%H).
- Índice de Reflectancia de Antocianina 2: pulpa (ARI2 (P)), cotiledón (ARI2 (C)) y grano completo (ARI2 (GC)).
- Relación de Bandas Espectrales de Absorción (RBEA): cotiledón.
- Relación de Bandas Espectrales de Absorción Externa (RBEAE).
- Absorbancia en 418,399 (ABS 418E) y 478,933 nm (ABS 478E) del grano parte externa.

En la Tabla 4.1 representa los valores promedios de cada variable según el día de fermentación, en este caso alcanzó seis días de fermentación (144 horas) para el Lote 1.

Tabla 4.1. Valores promedios de los parámetros de medición durante el proceso de fermentación del grano de cacao, Lote 1.

t	ARI2 (C)	ARI2 (P)	ARI2 (GC)	ABS (418E)	ABS (478E)	pH	T	%H	RBEAE	RBEA
24	3,20	3,70	3,33	0,61	0,47	5,00	34,43	74,84	1,31	1,04
48	2,26	2,81	2,31	0,81	0,75	4,43	39,95	53,82	1,09	1,09
72	3,11	3,25	3,09	0,83	0,74	4,51	43,15	54,19	1,13	1,11
96	2,52	3,02	2,66	0,85	0,77	4,06	43,98	54,51	1,10	1,13
120	2,73	2,45	2,53	0,91	0,91	4,14	42,77	52,51	1,00	1,13
144	3,05	2,87	2,85	0,99	1,01	3,95	41,12	52,71	0,98	1,11

Fuente: Elaboración propia.

Se grafica los parámetros respectivos por categorías, con el fin de encontrar una mayor visualización entre las posibles correlaciones en función del tiempo. En la Figura 4.1 se escoge la categoría ARI2 que engloba el índice ARI2 de la pulpa, cotiledón y grano completo. Entre ellas se observa una correlación alta, pues presentan una misma tendencia durante el proceso de fermentación, sin embargo entre las 96 y 120 horas el ARI2-C cambia con respecto al ARI2-P y ARI2-GC. Durante el proceso de fermentación, Guzmán et al., (2008) menciona que la máxima disminución se logra en el quinto día de fermentación y que la misma se debe a los fenómenos de difusión, de curtido y de polimeración oxidativa, dando

un efecto beneficioso, ya que reduce la astringencia del cacao, lo cual se puede verificar en el ARI2-P.

Este comportamiento de reducción de los compuestos polifenólicos se puede deber a que, están originalmente compactados en vacuolas de células específicas que se difunden a través del cotiledón (Guzmán et al., 2008). En la fermentación ocurren procesos complejos relacionados a las antocianinas, estas reacciones se reflejan en la coloración de los granos de cacao, es decir, de púrpura a un marrón: pigmento insoluble en agua, característico del cacao y chocolate (Afoakwa et al., 2012). En el desarrollo del proceso de fermentación los pigmentos antocianínicos logran destruirse rápidamente, mientras que otros compuestos fenólicos desaparecen por exudación a través de la testa (Wollgast y Anklam, 2000).

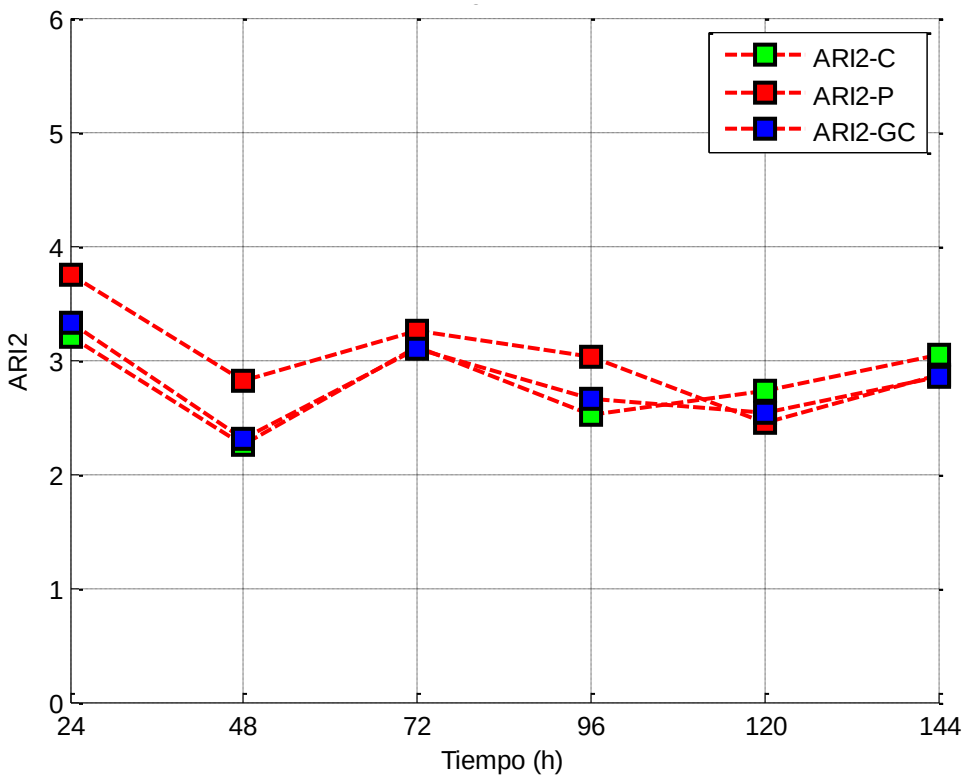

Figura 4.1. Categoría ARI2 durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

La categoría ABS-E corresponde a las Absorbancias de 418,399 y 478,933 nm de la parte externa del grano de cacao. Ambas muestran una correlación alta entre ellas (Figura 4.2).

La Figura 4.3 muestra la categoría RBEA(E) que equivale a las relaciones de bandas espectrales de absorción RBEA y RBEAE, se puede visualizar una correlación intermedia. Mientras que la categoría FISQ (Figura 4.4), denominada Categoría Fisicoquímico por sus parámetros involucrados: pH, temperatura y porcentaje de humedad.

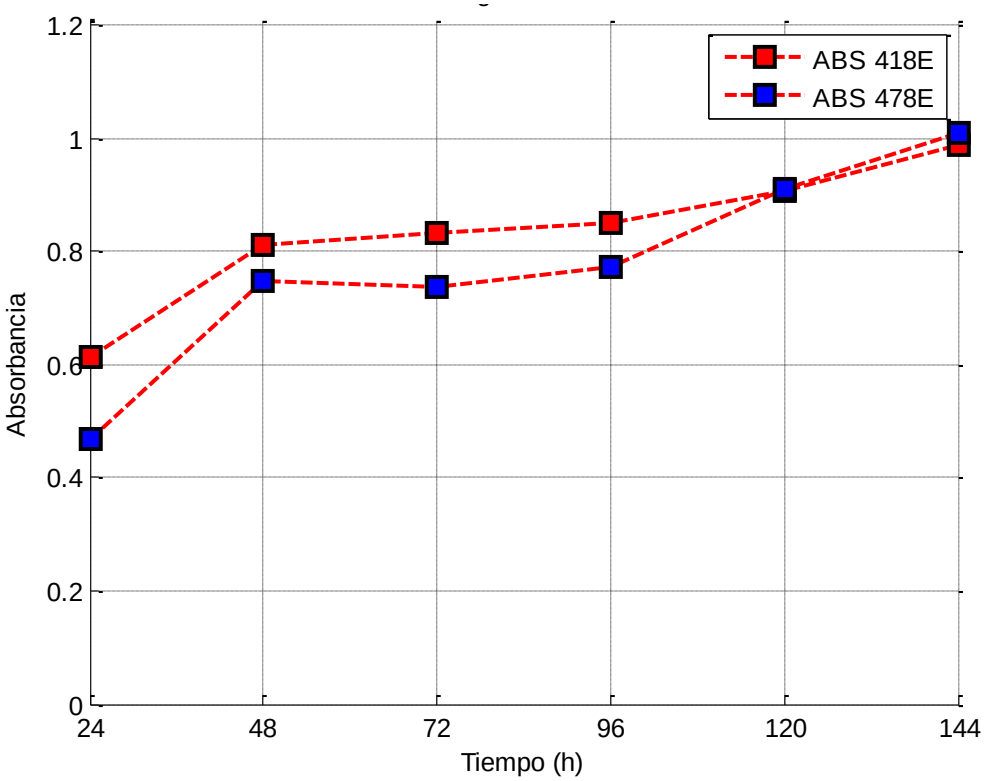

Figura 4.2. Categoría ABS-E durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

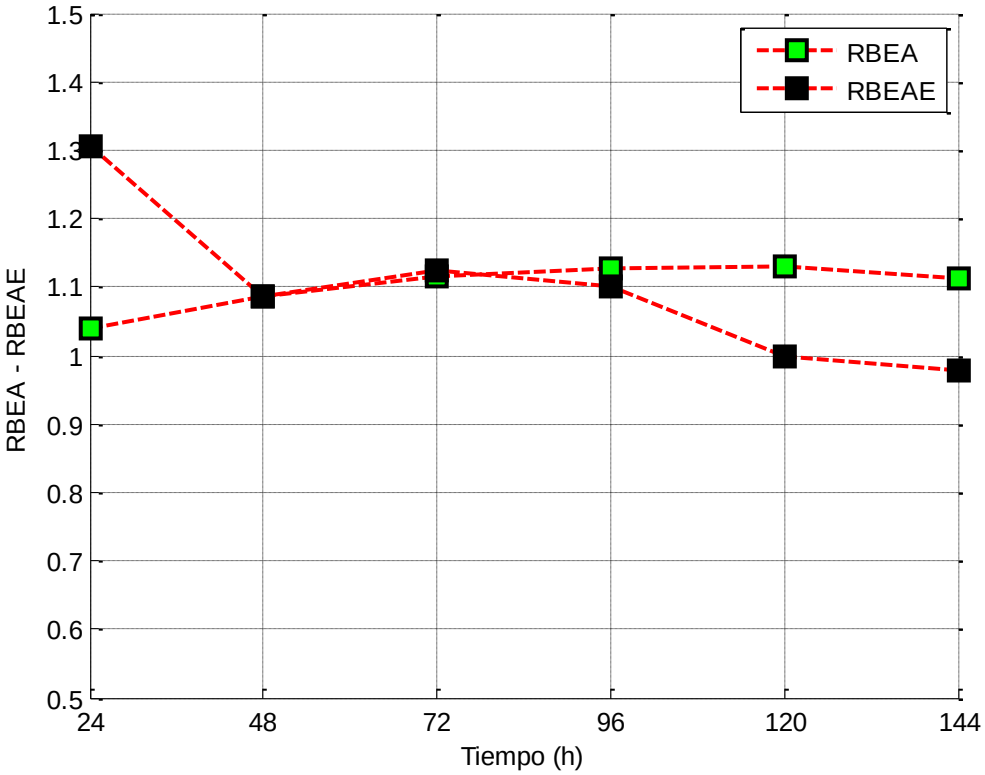

Figura 4.3. Categoría RBEA(E) durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

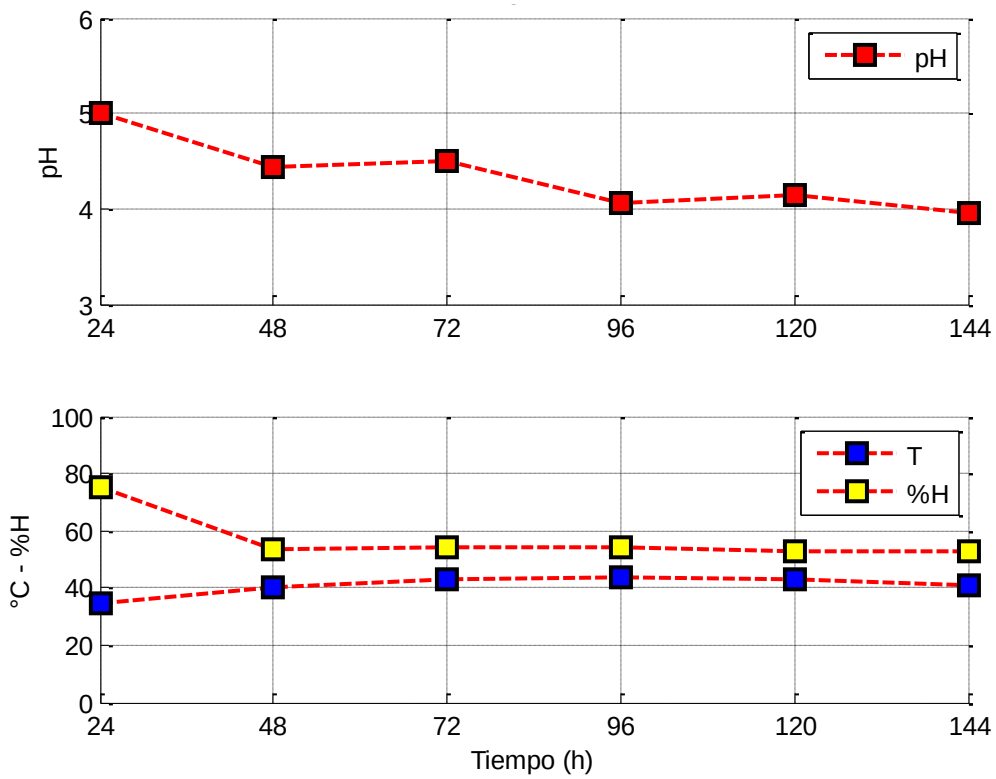

Figura 4.4. Categoría FISQ durante el proceso de fermentación.
Fuente: Elaboración Propia.

Se escoge dos métodos para comprobar la relación que existe entre las variables hiperespectrales y las variables fisicoquímicas: PCA (Análisis de Componentes Principales) y PLS (Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales). Para esto se realizó otra medición experimental (Lote 2, Febrero 2016) con las mismas características a la inicial (Lote 1): cajón de madera de 1 m^3 y peso total de 500 kg de cacao, seis días de fermentación (144 horas) y días de remoción (24, 72 y 120 horas). Se registró un total de ciento veinticuatro (124) granos de cacao en el Lote 2 para la adquisición de las imágenes hiperespectrales durante el proceso de fermentación.

Se detalla el comportamiento de la fermentación para el Lote 2, tanto para las variables fisicoquímicas como para los índices hiperespectrales y absorbancias. En la Figura 4.5 se aprecia la variación del índice ARI2 en el cotiledón durante los días de remoción en las tres secciones del cajón de fermentación, se encuentra una ligera disminución en las 120 horas (día 5). Mientras que en la Figura 4.6 en la pulpa la disminución de ARI2 en las tres secciones del cajón es mayor, en las primeras 24 horas de fermentación poseen un valor por encima de 3,5 y en el último día de remoción el valor es menor a 3.

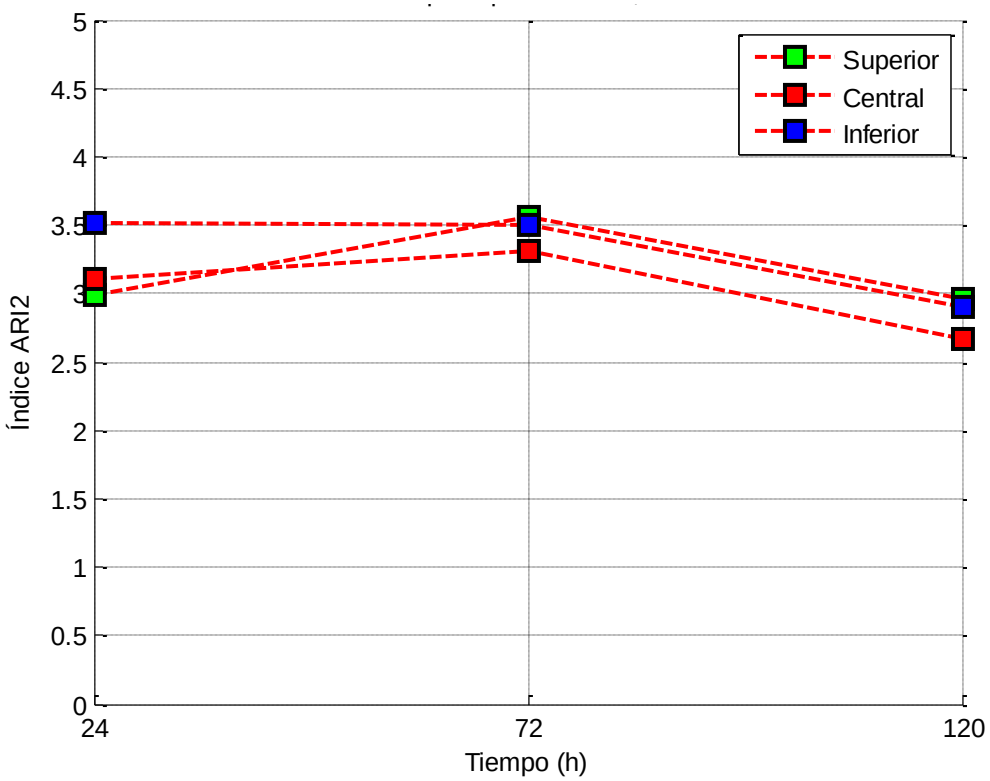

Figura 4.5. Evolución del Índice Hiperespectral ARI2 en el Cotiledón durante el proceso de fermentación, Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

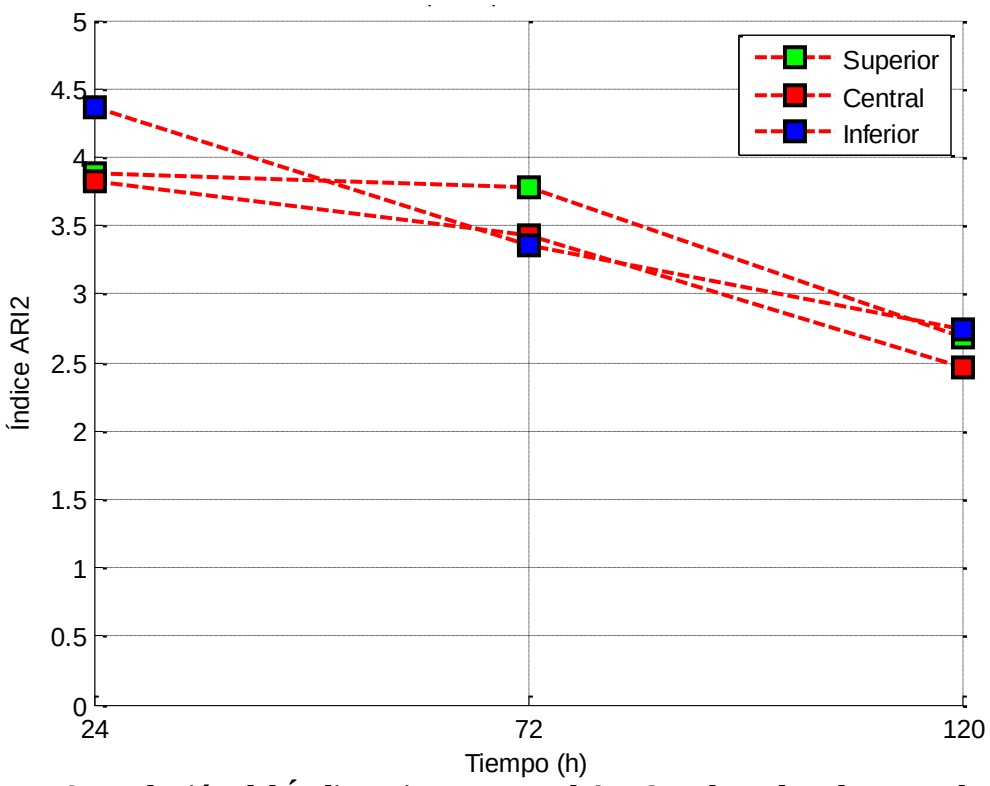

Figura 4.6. Evolución del Índice Hiperespectral ARI2 en la Pulpa durante el proceso de fermentación, Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

Con respecto a las variables fisicoquímicas, el comportamiento de la temperatura es ascendente al inicio de la fermentación, comienza con una temperatura de 26,78 °C y a partir del segundo día (48 horas) se obtiene una temperatura superior a 50 °C manteniéndose hasta el último día de fermentación (ver Figura 4.7). Con respecto al Lote 1, la máxima temperatura registrada ocurre en el cuarto día de fermentación (44,51 °C), de igual forma para el Lote 2 (51,16°C). Al constatar la disminución de temperatura y el tiempo transcurrido, en este caso a las 96 horas, se puede inferir que el cacao está bien fermentado. Estas dos condiciones son algunos indicadores de una buena fermentación (Reyes, Vivas y Romero, 2000).

Por otra parte el porcentaje de humedad disminuye de forma progresiva, el primer día posee un 74,79% que desciende hasta un 44,87% (día final de fermentación), dicha variación se muestra en la Figura 4.8. El comportamiento de ambos lotes es similar, a las 24 horas poseen un porcentaje de humedad de más de 70% y en el día 2 de fermentación baja rápidamente (20 – 30% menos aproximadamente), posteriormente los valores de % de humedad disminuyeron en menor grado. En ambos lotes, el proceso de fermentación se realizó en épocas lluviosas. Entre el Lote 1 y 2 existe una ligera diferencia entre porcentajes de humedad finales (7,84%), se puede atribuir a la alta temperatura que se registró en el Lote 2. La disminución del porcentaje del humedad entre el primer y quinto día de fermentación del Lote 1 (22,33%) y Lote 2 (22,37%) son similares a otros estudios mencionados en Guzmán et al., 2008. La reducción del contenido de agua se relaciona con el gradiente establecido entre las condiciones ambientales del lugar donde se realiza el estudio y la humedad de la masa de cacao. Por otro lado la pérdida de humedad en el proceso depende principalmente de la época de fermentación, por lo que es necesario tomar en cuenta si esta se hace en época de sequía o lluviosa, señala Guzmán et al., 2008.

La medición de pH se realizó en la testa, cotiledón y grano completo. El grano de cacao ingresó a sala de fermentación con un pH de 5,58 (grano completo). Durante el proceso de fermentación los valores de pH de testa, cotiledón y grano completo deben coincidir para confirmar la finalización del proceso, lo cual ocurre en las 120 horas de fermentación (día 5, ver Figura 4.9), es decir, la fermentación debió concluir en el quinto día de fermentación, sin embargo como parte de estudio se completó los seis días de fermentación.

La importancia de la supervisión en el proceso radica en la variabilidad existente durante el desarrollo de la fermentación, la influencia de las variables internas como externas forman parte crucial para que la fermentación se realice correctamente y se logre una excelente calidad del grano de cacao fermentado. Utilizar nuevas tecnologías que otorguen un análisis rápido y certero, permitirá obtener información relevante para determinar el estado y la calidad de la fermentación e incluso intervenir si existiera alteraciones en el proceso.

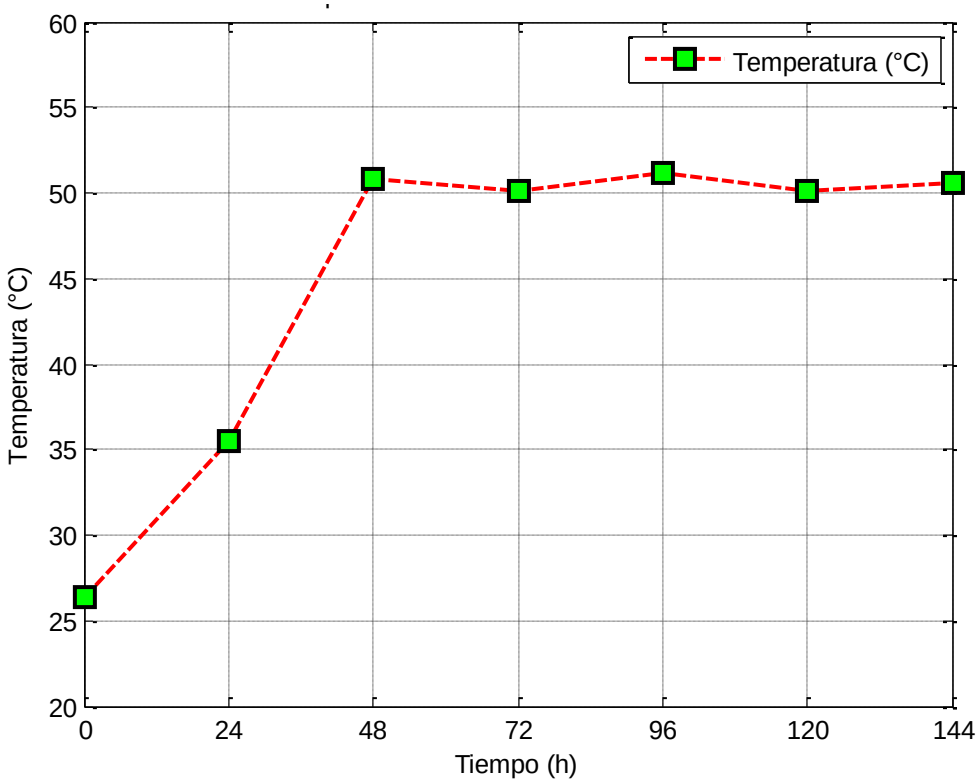

Figura 4.7. Evolución de la Temperatura durante el proceso de fermentación, Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

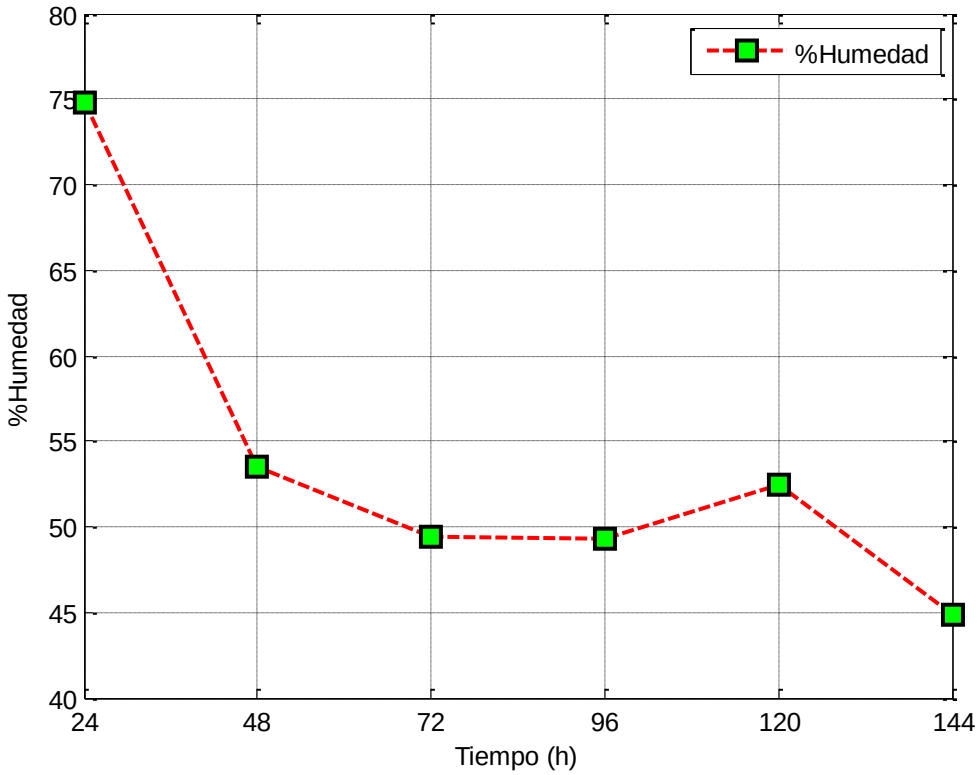

Figura 4.8. Evolución del pH durante el proceso de fermentación, Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

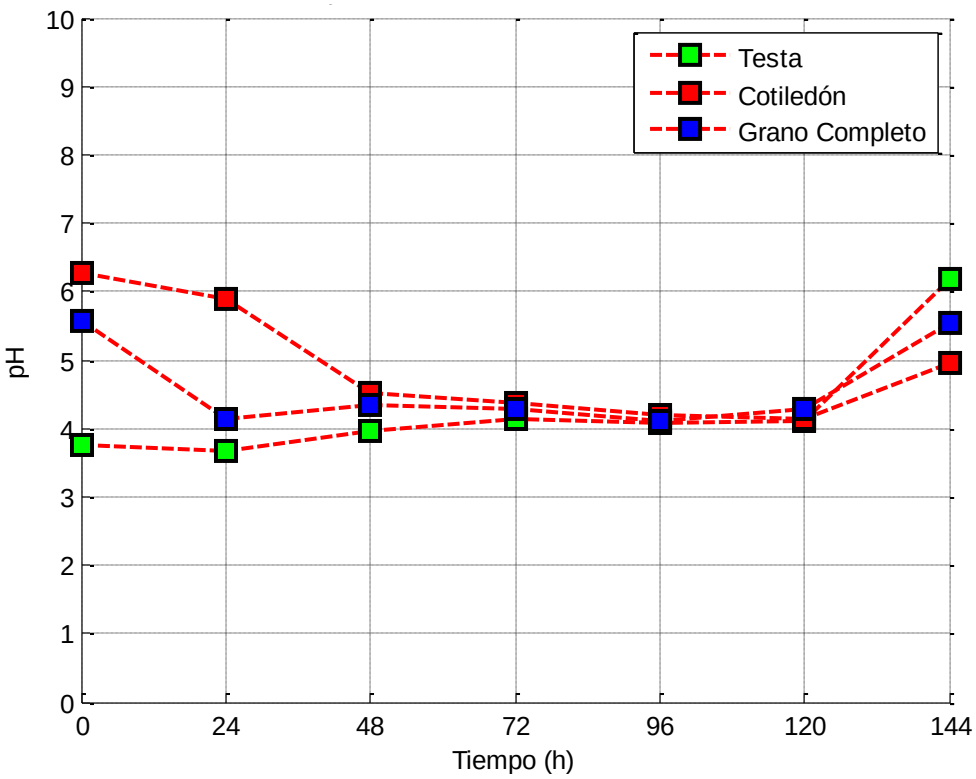

Figura 4.9. Evolución del pH durante el proceso de fermentación, Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

Se determinan las firmas espectrales del cotiledón, grano completo y parte externa del grano de cacao correspondiente al Lote 2.

Las firmas espectrales del cotiledón con base en la reflectancia, ver Figura 4.10, en el intervalo de 400 a 700 nm presenta un descenso, sin embargo el Espectro día 2 (48 horas) aumentó. En la Figura 4.11, la absorbancia del cotiledón aumenta días tras día con excepción del día 2 en el rango de longitud de onda de 400 a 500 nm. Las tendencias de las firmas espectrales del cotiledón (reflectancia y absorbancia) del Lote 1 y Lote 2 son diferentes, es por ello que se analiza si el RBEA aporta información sobre el proceso de fermentación.

Los espectros diarios del grano completo indican una baja de reflectancia a partir de los 750 nm, entre el primer y último día de fermentación existe una diferencia de reflectancia de 0.1 (ver Figura 4.12).

Las firmas espectrales de la parte externa del grano de cacao del Lote 2 manifiestan el mismo comportamiento del Lote 1 y presentan diferencias marcadas en cuanto a valores de reflectancia y absorción según el día de fermentación. Como se puede observar en la Figura 4.13 y 4.14 la reflectancia disminuye y la absorción aumenta según los días que dura la fermentación.

El primer día del Lote 1, en el primer pico de absorción de la parte externa del grano de cacao el valor es 0,613 (ver Figura 3.18), mientras que el Lote 2 corresponde a 0,712 (ver Figura 4.14). Posteriormente a las 24 horas esa diferencia de absorción entre lotes es relativamente baja.

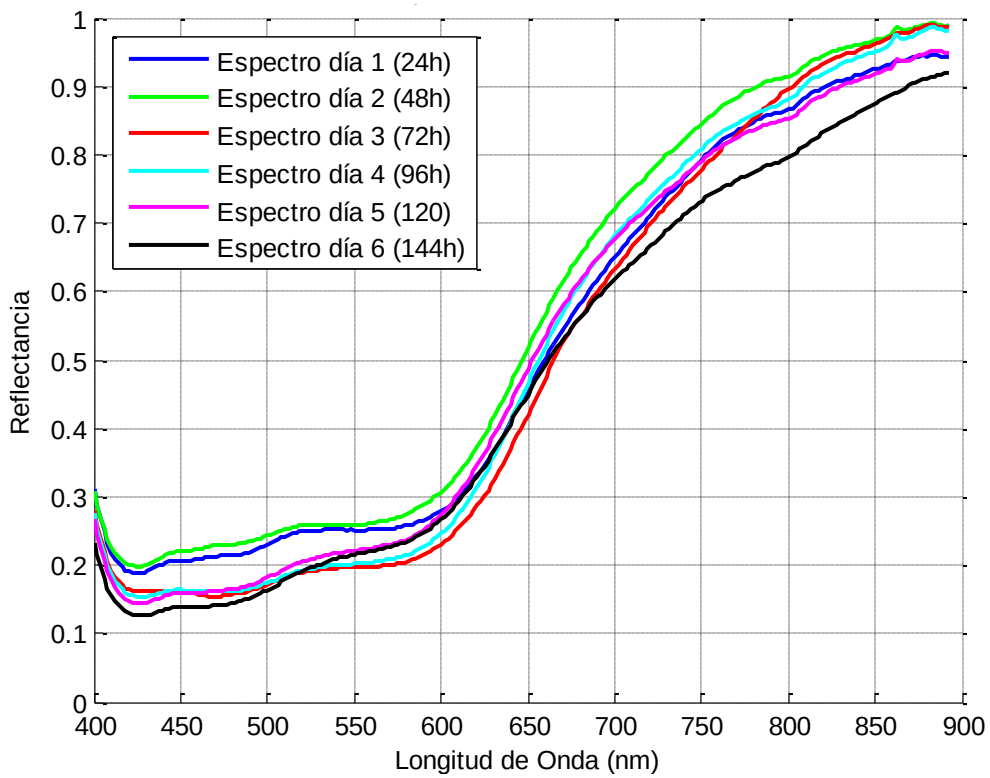

Figura 4.10. Firmas espectrales promedio del cotiledón de los granos de cacao durante el proceso de fermentación (Reflectancia), Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

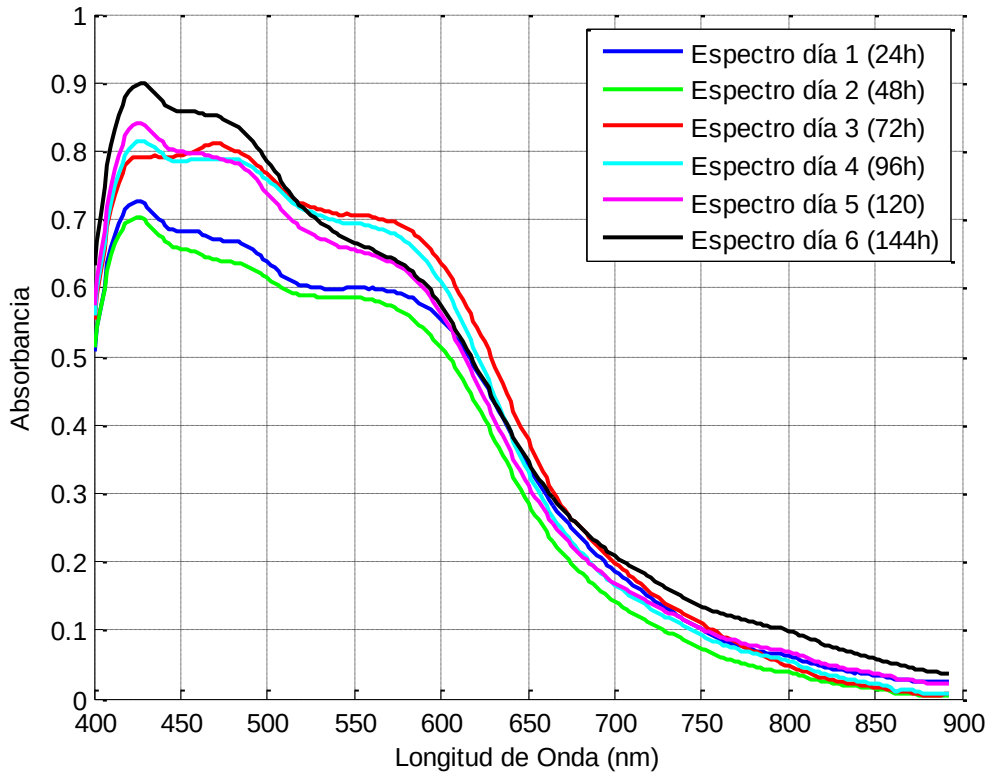

Figura 4.11. Firmas espectrales promedio del cotiledón de los granos de cacao durante el proceso de fermentación (Absorbancia), Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

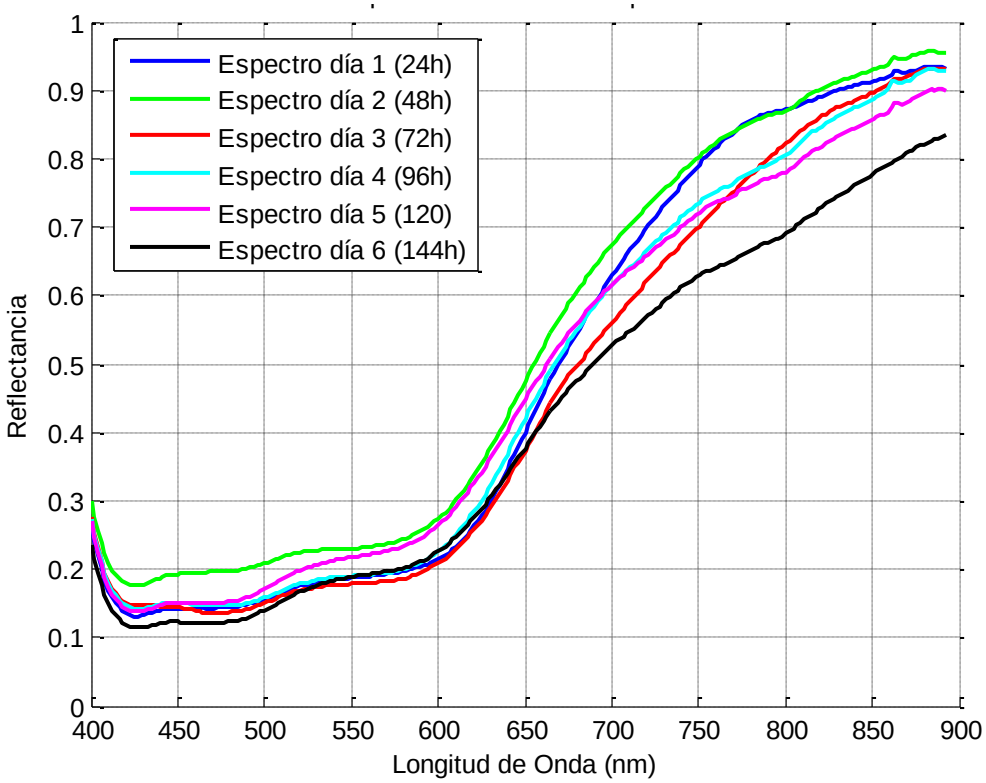

Figura 4.12. Firmas espectrales promedio del grano completo de cacao durante el proceso de fermentación (Reflectancia), Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

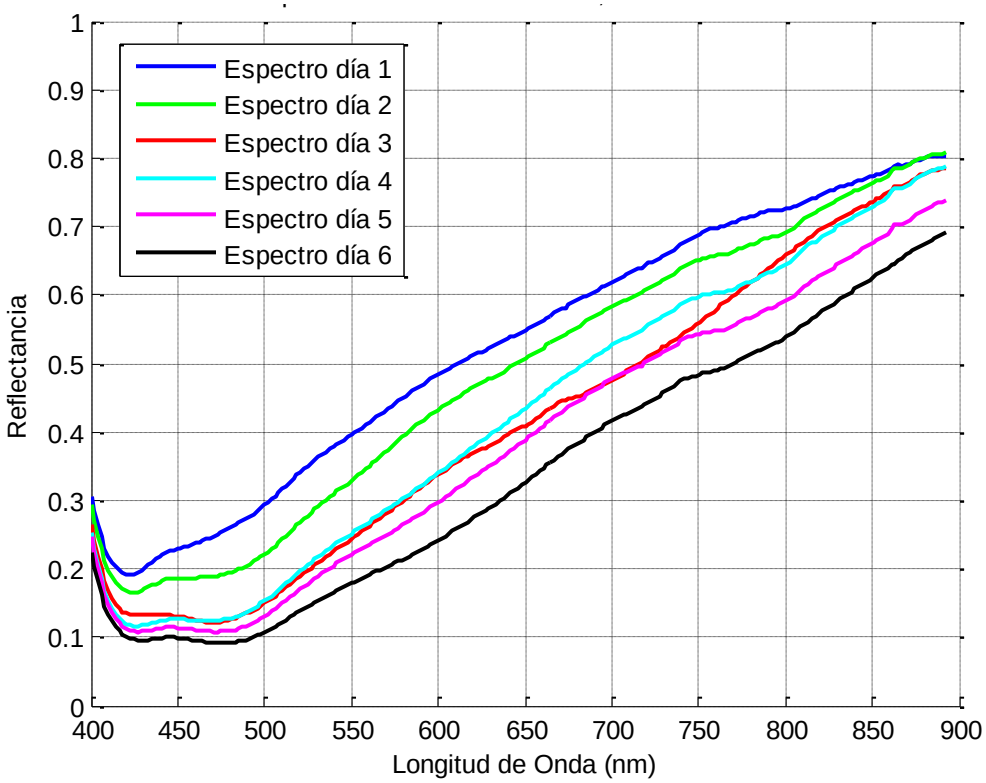

Figura 4.13. Firmas espectrales promedio del grano de cacao (parte externa) durante el proceso de fermentación (Reflectancia), Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

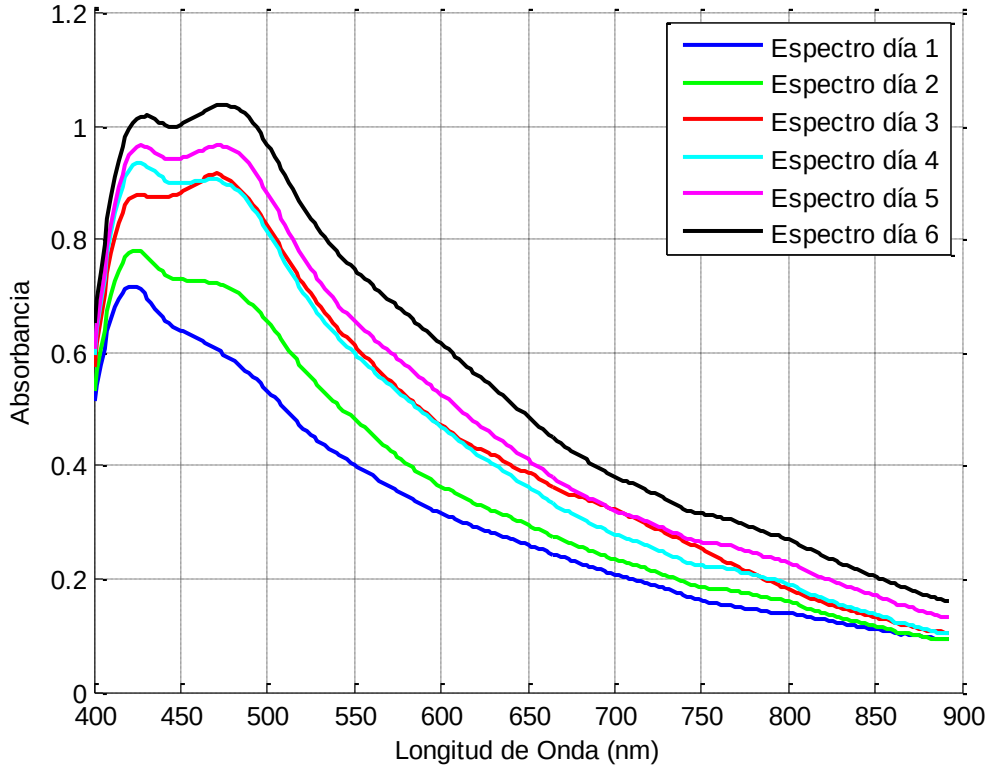

Figura 4.14. Firmas espectrales promedio del grano de cacao (parte externa) durante el proceso de fermentación (Absorbancia), Lote 2.
Fuente: Elaboración Propia.

4.1. Análisis de Principales Componentes (PCA)

El análisis de componentes principales tiene este objetivo: dada *n* observaciones de *p* variables, se analiza si es posible representar adecuadamente esta información con un número menor de variables construidas como combinaciones lineales de las originales. La técnica de componentes principales es debida a Hotelling (1933), aunque sus orígenes se encuentran en los ajustes ortogonales por mínimos cuadrados introducidos por K. Pearson (1901), como indica Peña, (2002).

Su utilidad es doble, según Peña, 2002:

- Representación óptima en un espacio de mínima dimensión de observaciones de un espacio general *p*-dimensional. En este sentido, componentes principales es el primer paso para identificar las posibles variables latentes, o no observadas que generan los datos.
- Permite transformar las variables originales, en general correladas, en nuevas variables incorreladas, facilitando la interpretación de los datos.

La visión general sobre la relación que puede existir entre las variables hiperespectrales en esta investigación es difícil, por ello es apropiado detectar dicha relación para determinar que variables indican una descripción significativa sobre el estado del proceso. Por lo tanto se aplica esta técnica estadística para comprobar la interacción que existe entre las 7 variables hiperespectrales (ARI2 (C), ARI2 (P), ARI2 (GC), ABS418E, ABS478E, RBEA y RBEAE)

y su influencia sobre la fermentación. En este caso se utiliza el software ProSensus MultiVariate 14.08.

Para el análisis respectivo se considera dos etapas:

a) **Lote 2:** Data conformada por 124 observaciones y 7 variables hiperespectrales propias a los 6 días de fermentación. La bondad de ajuste del modelo PCA sobre el experimento es 92,85% (capacidad explicativa), con 53,78% para la primera componente y 39,07% para la segunda (Figura 4.15) y una alta capacidad predictiva, 92,63%.

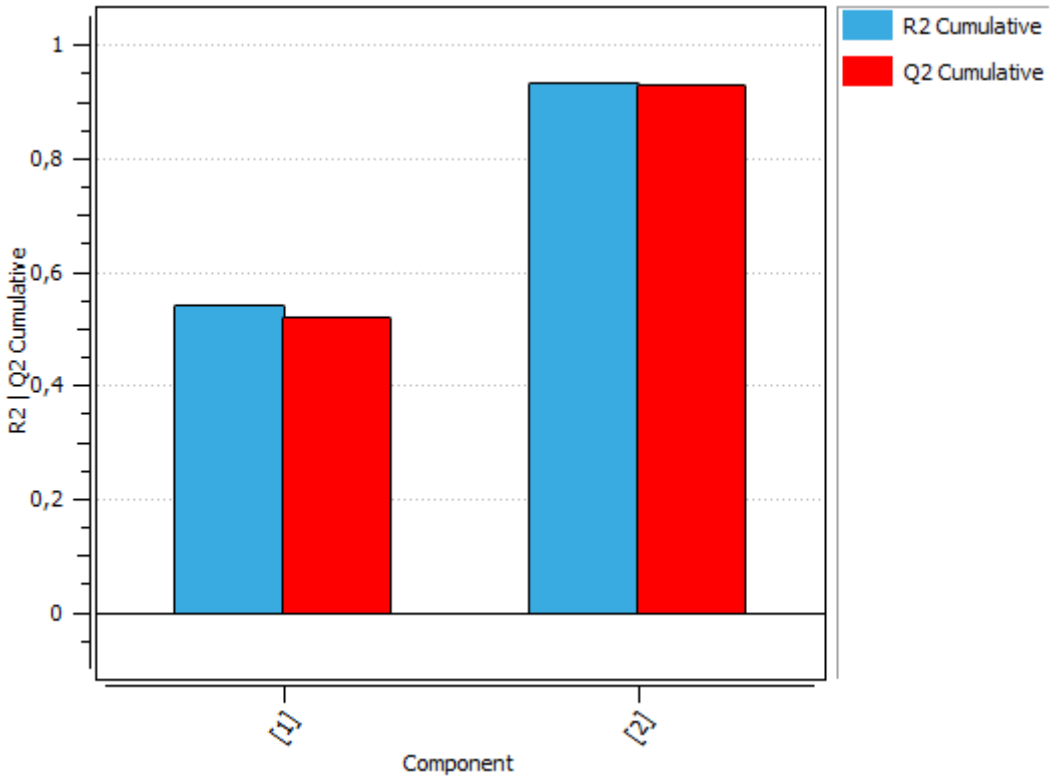

Figura 4.15. Resumen del Modelo PCA para Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

La representación gráfica de los datos multivariantes, Figura 4.16, muestra la distribución conjunta de las variables hiperespectrales y observaciones. Los símbolos de los triángulos corresponden a las observaciones por horas (24, 48, 72, 96, 120 y 144 horas), tienen la dirección de la flecha roja, y los puntos a las variables.

Las variables ARI2 (C), ARI2 (GC) y ARI2 (P) (índices de reflectancia de antocianina 2 para el cotiledón, grano completo y pulpa) hacen una contribución alta positiva a ambas componentes, mientras que ABS418E y ABS478E (absorbancias de la parte externa del grano de cacao) una contribución alta positiva a ambas componentes. El RBEA presenta una alta contribución en la segunda componente pero baja para la primera. La estructura de correlaciones entre las variables indica que el conjunto de variables ABS y RBEAE es negativa.

Conforme pasa el tiempo las muestras experimentan un aumento de las absorbancias y a la vez disminuye el índice RBEAE.

A la vez se observa que las variables, como el RBEA y los índices de reflectancia de antocianina de las distintas regiones del grano, no están afectadas linealmente por el tiempo, su variabilidad dentro de cada intervalo de tiempo tiene un comportamiento que no es recogida por las variables de estudio.

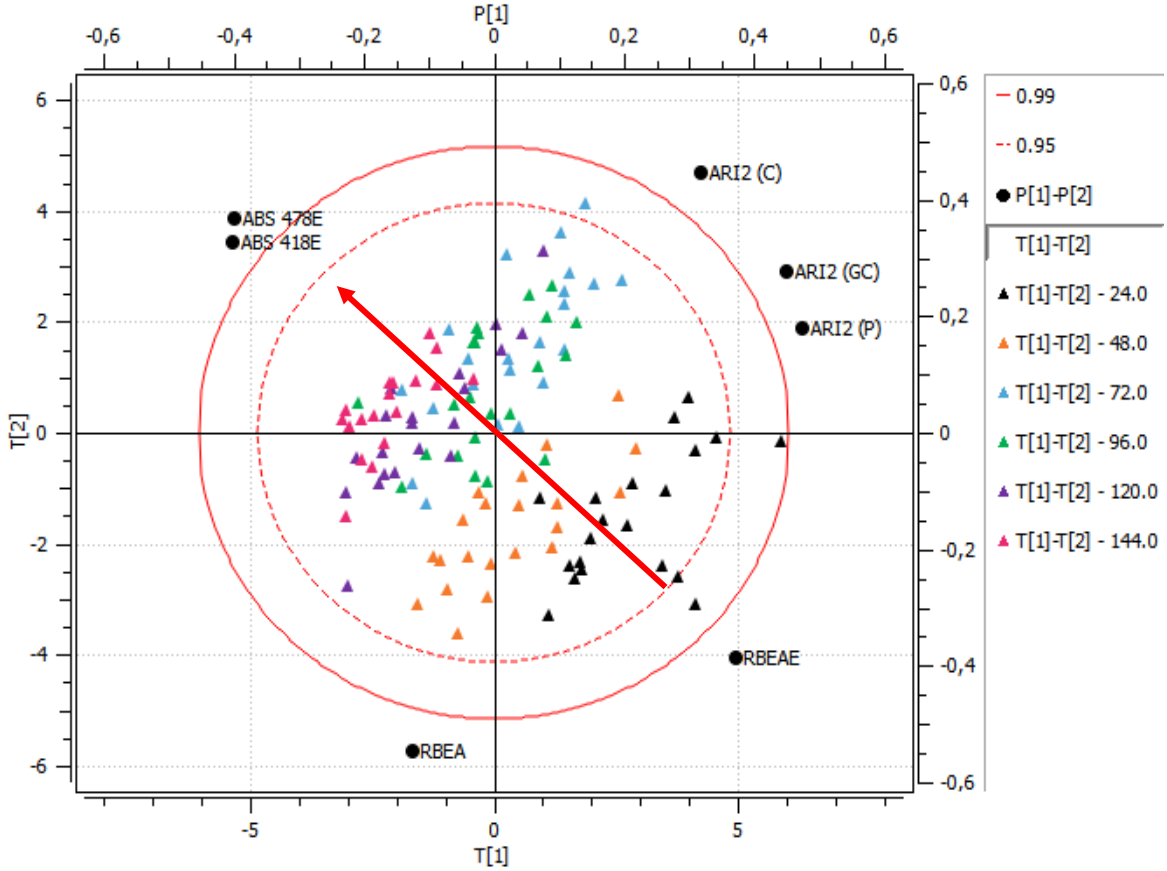

Figura 4.16. Gráfica Bi-plot del Modelo PCA para Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

b) **Lote 1 y Lote 2:** Un total de 162 observaciones pertenecientes a los dos lotes y 7 variables hiperespectrales de los 6 días de fermentación. Posee una capacidad explicativa de 91,99% y predictiva de 91,71% del modelo PCA sobre los datos experimentales, la variabilidad que recoge el primer componente principal es 52,49% y el segundo de 39,50%, ver Figura 4.17. Además la capacidad explicativa y predictiva tuvo una disminución mínima en comparación al caso a), pero su valor se mantiene alto.

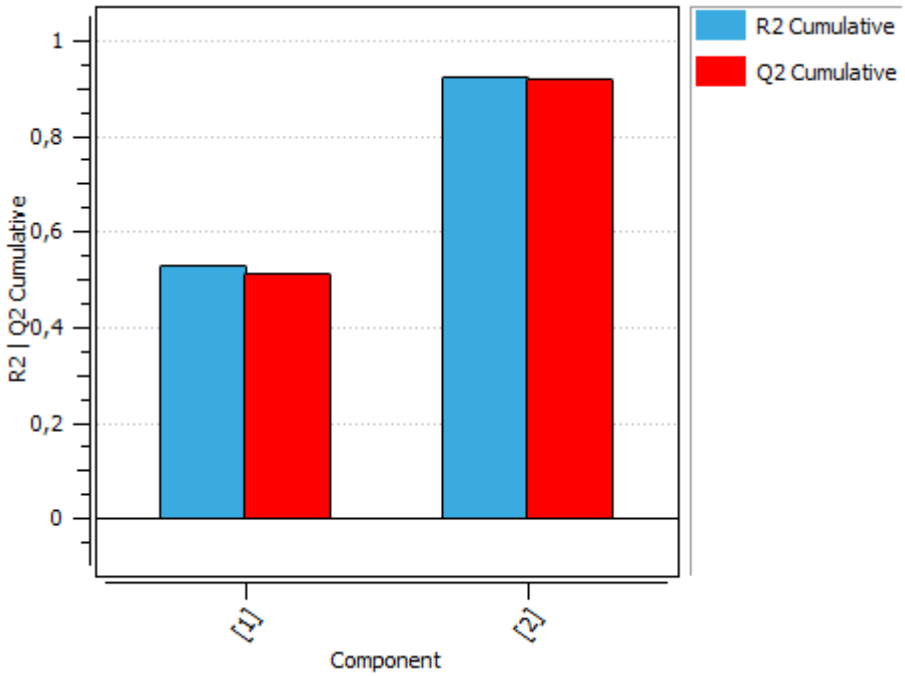

Figura 4.17. Resumen del Modelo PCA para Lote 1 y 2.
Fuente: Elaboración propia.

El bi-plot del Modelo PCA (ver Figura 4.18) que involucra a los dos lotes presenta las variables y las observaciones distribuidas por lotes. Las variables que se encuentran más alejadas de las líneas de referencia en 0 poseen una contribución mayor a las componentes, es decir, las variables ABS: 418E y 478E, ARI2: (C), (P) y (GC) y RBEAE, mientras que RBEA posee menor contribución para la primera componente. Entre las variables RBEAE y de absorbancias existe una correlación negativa. Es decir, la incorporación del Lote 1 no ha variado en la interpretación de las variables.

Por otra parte se aprecia la diferencia que tiene las observaciones del Lote 1 con respecto al Lote 2. Si el proceso de fermentación que ambos lotes experimentaron fuera similar, la mayoría de las observaciones estarían superpuestas o muy cercanas. Lo que se observa es que se tiene granos del Lote 1 con muy baja absorbancia al comienzo de las pruebas.

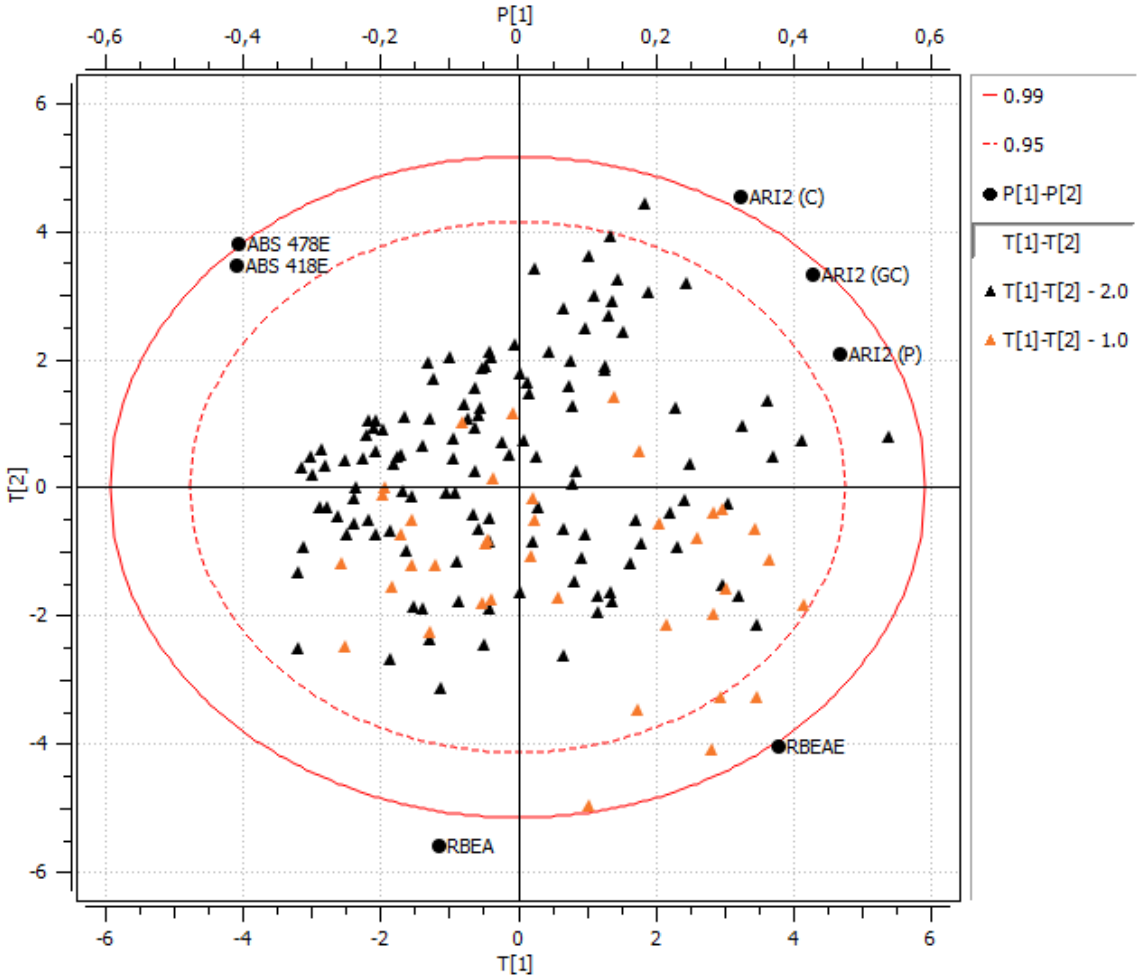

Figura 4.18. Gráfica Bi-plot del Modelo PCA para Lote 1 y 2.
Fuente: Elaboración propia.

4.2. Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS)

La regresión por mínimos cuadrados parciales, denominado regresión PLS (*Partial Least Squares*), combina y generaliza características de dos técnicas del análisis multivariante: el análisis de componentes principales (PCA) y la regresión lineal múltiple (MRL) (Agámez, 2012), (Valdéz, 2010).

La regresión PLS se utiliza generalmente en dos situaciones: cuando se tiene un gran número de variables predictoras, el número de variables independientes puede ser incluso mayor al número de observaciones, y/o cuando existe multicolinealidad entre las variables predictoras (Valdéz, 2010).

Es una técnica que permite reducir la dimensionalidad, es decir, obtener un modelo cuyo espacio de dimensión sea menor y maximice la covarianza entre la matriz independiente, X (matriz de predicción) y la matriz dependiente de X, Y (matriz predicha).

El modelo de predicción PLS aplicado en este estudio permite encontrar la mayor correlación existente entre las variables independientes (índices hiperespectrales y absorbancias) y las variables dependientes (variables fisicoquímicas: pH, T y %H). Se considera el experimento Lote 2 cuya duración correcta corresponde a solo cinco días de

fermentación (120 h), lo cual se confirma con la coincidencia de los pH de testa, cotiledón y grano completo como se aprecia en la Figura 4.9. Dicha muestra consta de un total de 106 granos de cacao.

Las variables de predicción (X) son:

1. **ARI2-P:** Índice de Reflectancia de Antocianina 2 en la pulpa.
2. **ARI2-C:** Índice de Reflectancia de Antocianina 2 en el cotiledón.
3. **ARI2-GC:** Índice de Reflectancia de Antocianina 2 en el grano completo.
4. **RBEA:** Relación de Bandas Espectrales de Absorción del cotiledón.
5. **RBEAE:** Relación de Bandas Espectrales de Absorción Externa.
6. **ABS 418E:** Absorbancia en 418,399 nm del grano parte externa.
7. **ABS 478E:** Absorbancia en 478,933 nm del grano parte externa.

Las variables predichas (Y) son:

1. **pH T:** Factor pH en la testa
2. **pH C:** Factor pH en el cotiledón.
3. **pH GC:** Factor pH en el grano completo.
4. **T:** Temperatura en °C.
5. **%H:** Porcentajes de Humedad.

Se detalla las características principales del modelo PLS calculado. Posee tres componentes principales, sus bondades de ajuste son: 55,99%, 1,91% y 11,84% respectivamente para cada componente. La capacidad explicativa del modelo PLS es de 69,74% y su capacidad predictiva de 67,84% para las tres componentes alcanzando un valor relativamente alto como se aprecia en la Figura 4.19. Esto indica que es un buen modelo PLS para los datos estudiados y las conclusiones obtenidas del análisis serán confiables.

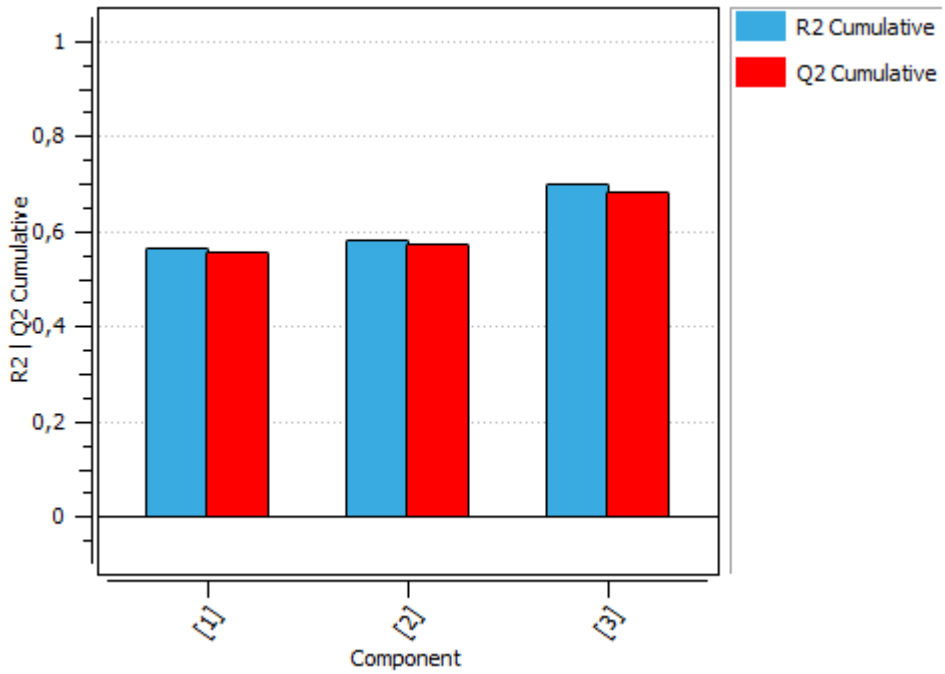

Figura 4.19. Resumen del Modelo PLS para el Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

Se muestra los coeficientes de regresión del Modelo PLS de las variables de predicción en los modelos para cada una de las cinco variables predichas. El intervalo que aparece al final de cada barra representa la incertidumbre en la estimación de cada coeficiente (95% de confianza) y al no incluir al valor cero los coeficientes son estadísticamente significativos (no nulos, con riesgo de equivocación del 5%).

La Figura 4.20 demuestra que para el pH de la testa (pH T) el coeficiente estadísticamente más significativo corresponde al índice RBEAE (Relación de Bandas Espectrales de Absorción Externa) y es menor para el índice de reflectancia de antocianina 2 de la pulpa y grano completo (ARI2 (P) y ARI2 (GC)), absorbancia de la parte externa del grano de cacao en las longitudes de onda de 418 y 478 nm (ABS418E y ABS478E) y RBEA (Relación de Bandas Espectrales de Absorción), sin embargo el índice de reflectancia de antocianina 2 del cotiledón (ARI2 (C)) no aporta variabilidad al pH de la testa. Los coeficientes de ARI2 (P) y RBEA son menos precisos para predecir la variable pH T.

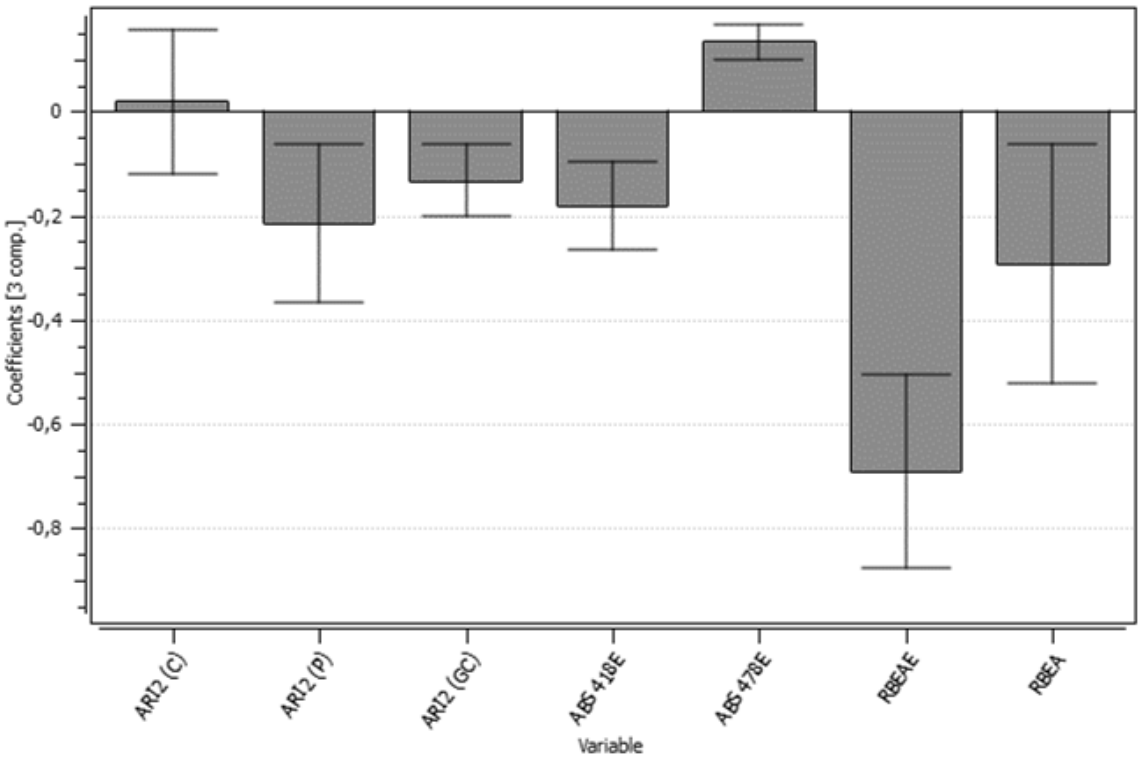

Figura 4.20. Coeficientes de regresión de las variables X para la variable pH T, Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

Para la variable dependiente pH C (pH del cotiledón), el coeficiente dominante corresponde nuevamente al RBEAE. Las variables ARI2 (P), ARI2 (GC), ABS478E y RBEA presentan coeficientes significativos con aporte relativamente bajos al valor del pH del cotiledón, no obstante el valor de ARI2 (C) y ABS418E no influyen en esta variable (ver Figura 4.21).

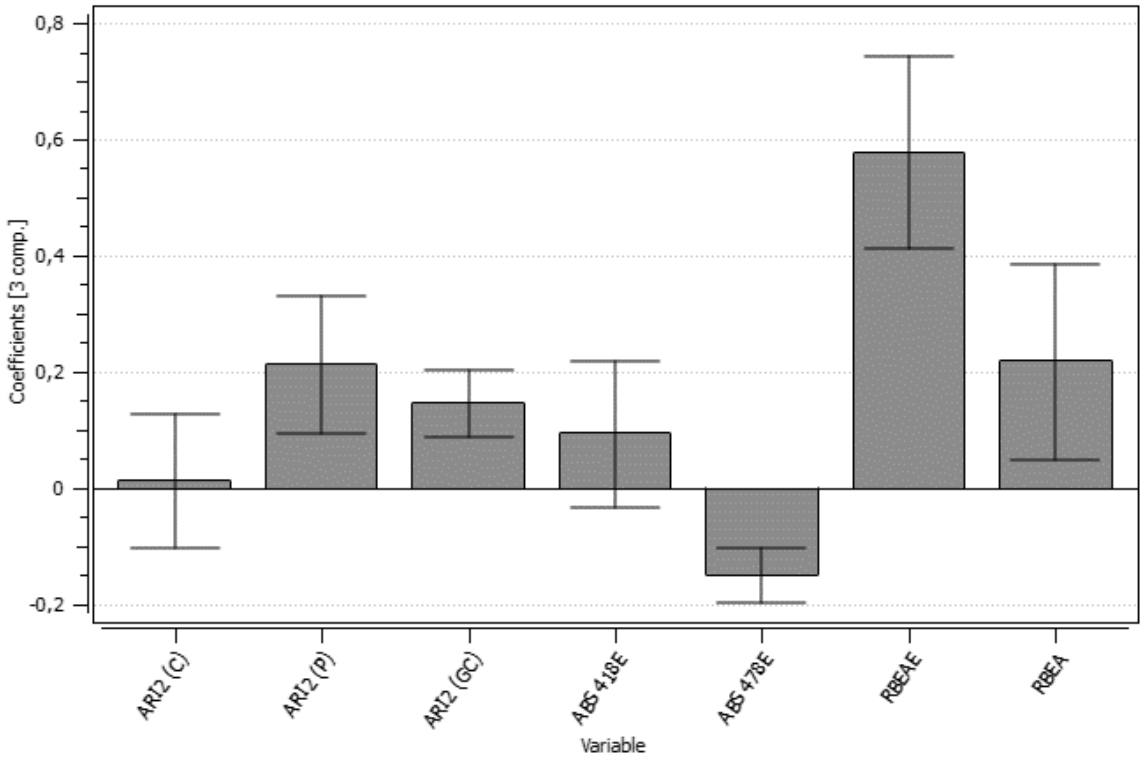

Figura 4.21. Coeficientes de regresión de las variables X para la variable pH C, Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

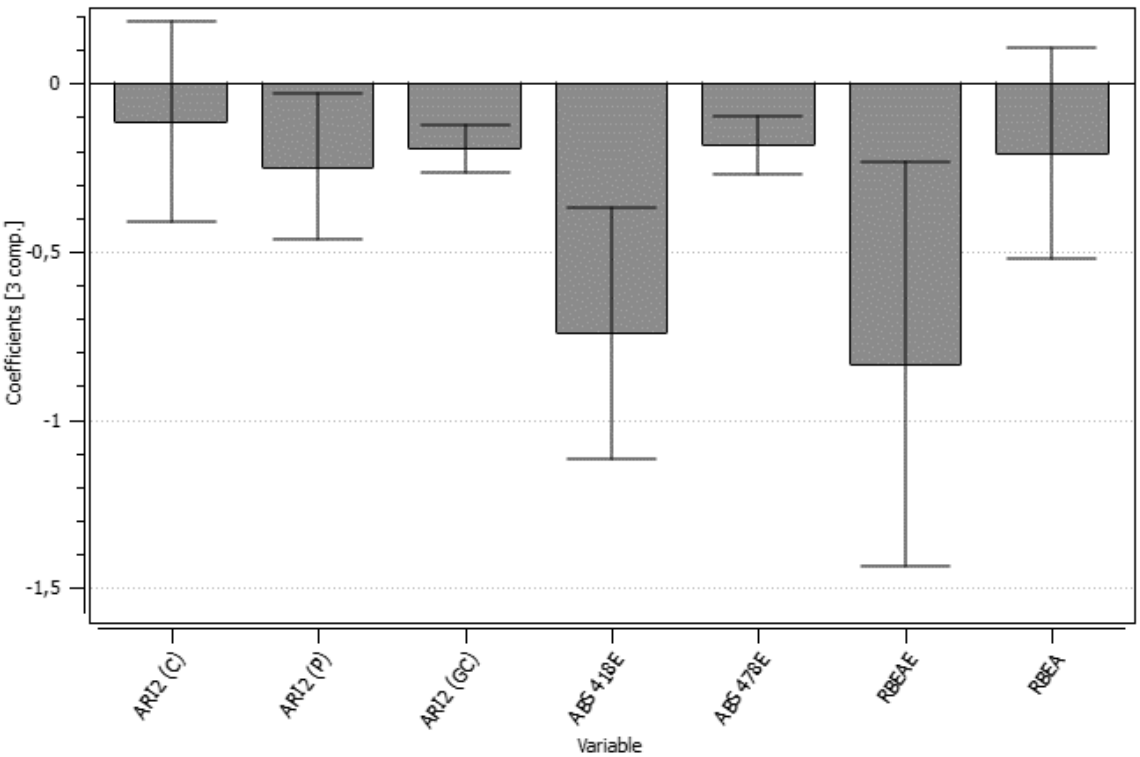

Figura 4.22. Coeficientes de regresión de las variables X para la variable pH GC, Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

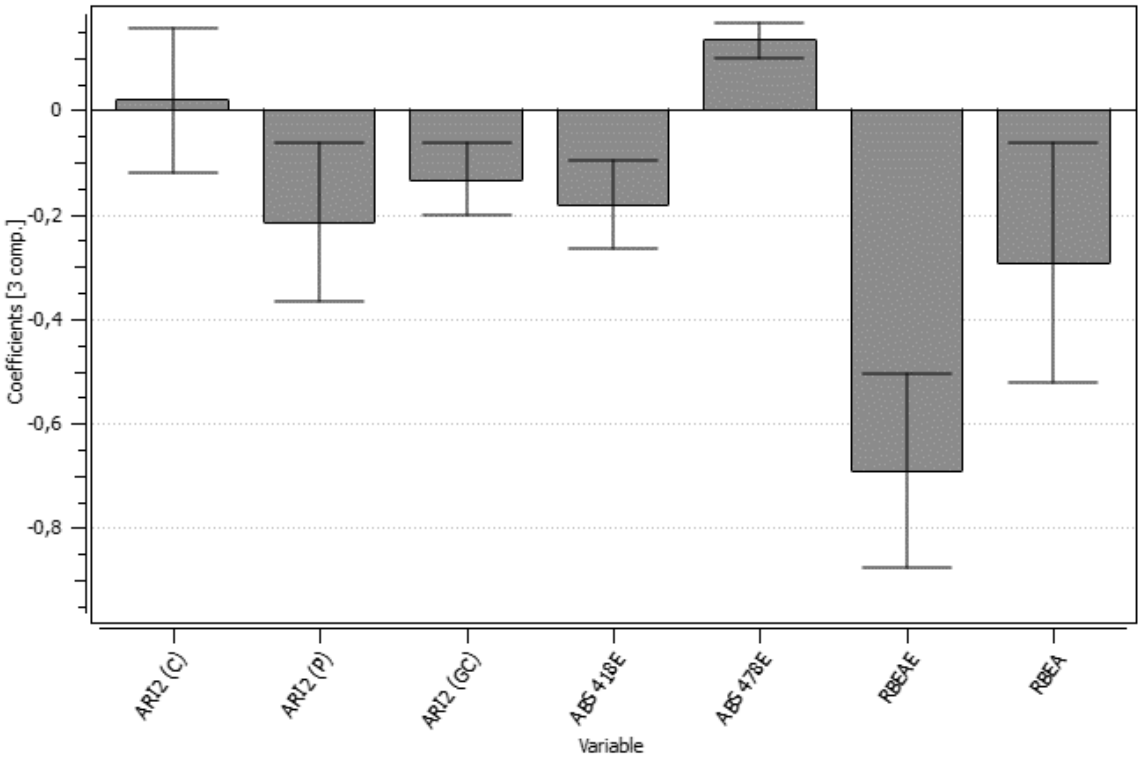

Figura 4.23. Coeficientes de regresión de las variables X para la variable T, Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

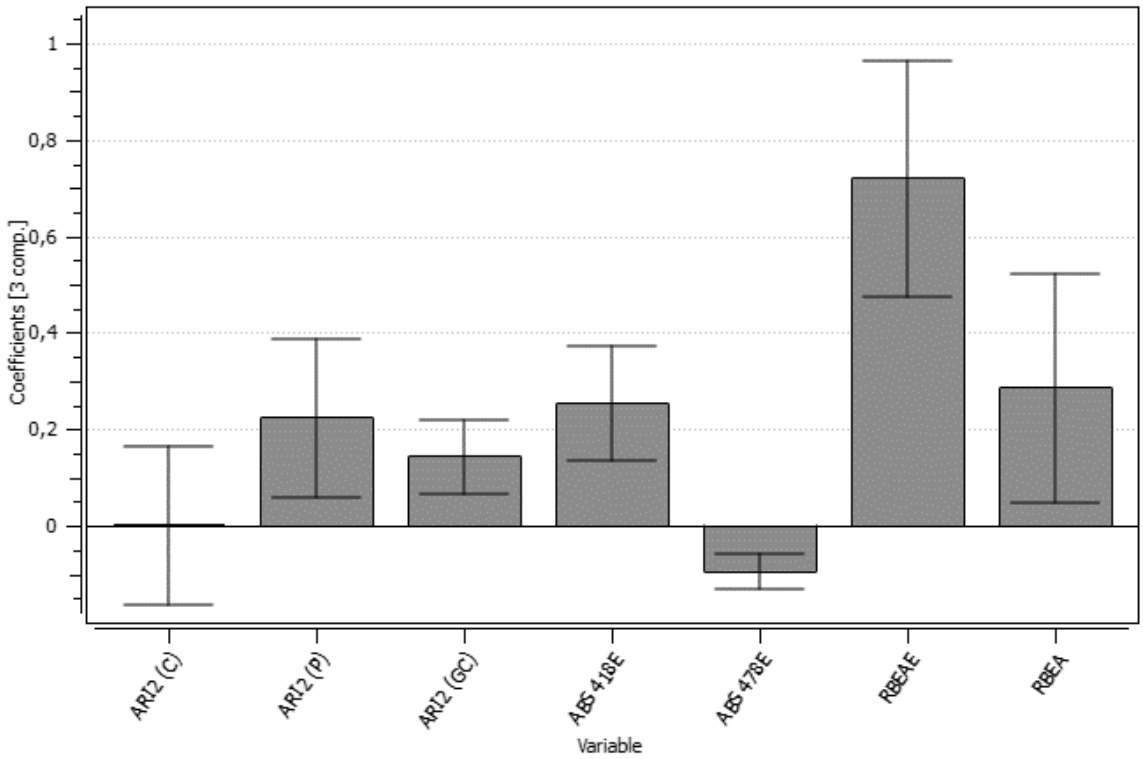

Figura 4.24. Coeficientes de regresión de las variables X para la variable %H, Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 4.22, todos los coeficientes son negativos, con alta relevancia para el RBEAE y ABS418E, sin embargo presentan menor precisión de sus coeficientes. Una diferencia significativa para ARI2 (P), ARI2 (GC) y ABS478E con valores de coeficientes bajos. En esta oportunidad no existe contribución a la variable del pH del grano completo (pH GC) por parte de la variable ARI2 (C) y RBEA.

El RBEAE tiene efecto significativo sobre la temperatura (T) del grano durante la fermentación. Se observa que el índice de reflectancia de antocianina 2 del cotiledón no tiene efecto sobre la temperatura, y los demás valores de los coeficientes del índice de reflectancia de antocianina 2 de la pulpa y grano completo, la absorbancia externa en ambas longitudes, y el RBEA si influyen en la temperatura, pero los valores de sus coeficientes indican que el aporte es menor comparado con el RBEAE, ver Figura 4.23.

Como se muestra en la Figura 4.24, el porcentaje de humedad (%H) está influenciado principalmente por la variabilidad del RBEAE, mientras que el aporte del ARI2 (C) es nulo. Las variables de predicción restantes poseen una diferencia significativa pero su aporte es bajo, aunque para el ARI2 (P) y RBEA la estimación de su coeficiente tiene una baja precisión.

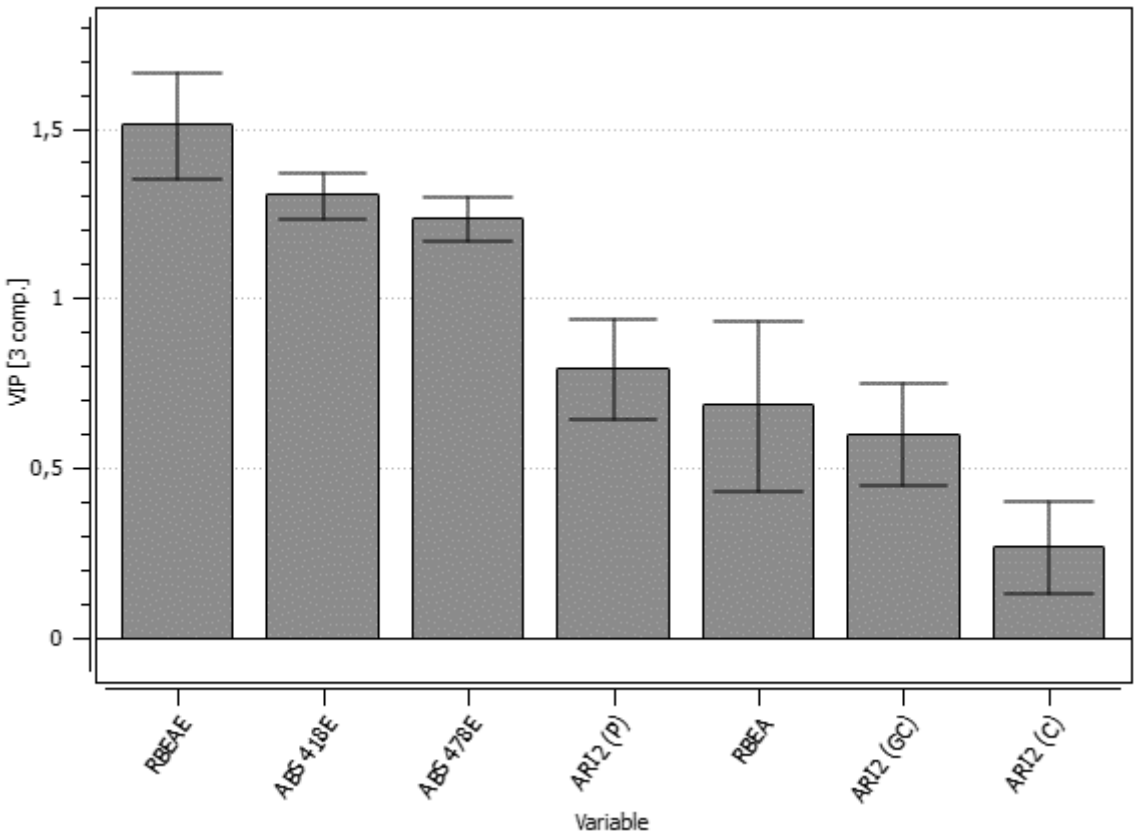

Figura 4.25. Gráfico VIP del Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

La Figura 4.25 otorga una visión global de importancia de las variables explicativas a las variables independientes del modelo PLS. Es conocido como gráfico VIP (Variable independiente de proyección). Según estos resultados se puede atribuir que el RBEAE es la variable con mayor importancia para todas las variables dependientes o predichas (pH T, pH

C, pH GC, T y %H), como se ha comentado en párrafos anteriores, su aporte es significativo y el valor de sus coeficientes resulta alto en comparación a las demás variables explicativas. De las demás variables el ARI2 (C) es quien tiene el menor aporte a la variabilidad de las variables fisicoquímicas.

Los gráficos de cargas y pesos de las componentes latentes para el modelo PLS se observan en la Figura 4.26, 4.27 y 4.28.

Al representar las componentes 1 y 3 se pone en evidencia la relación de las variables dependientes con respecto a las variables hiperespectrales de la parte externa del grano (RBEAE y absorbancias), lo cual es de suma importancia para determinar el estado de la fermentación sin recurrir a la destrucción de la muestra.

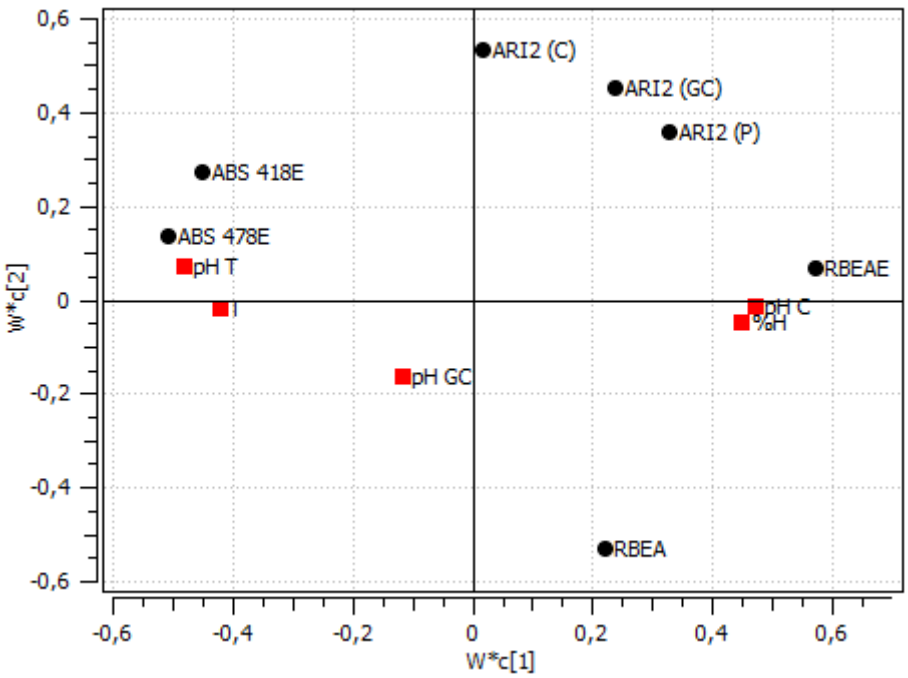

Figura 4.26. Gráfico de Cargas (W*c[1]/ W*c[2]) del Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

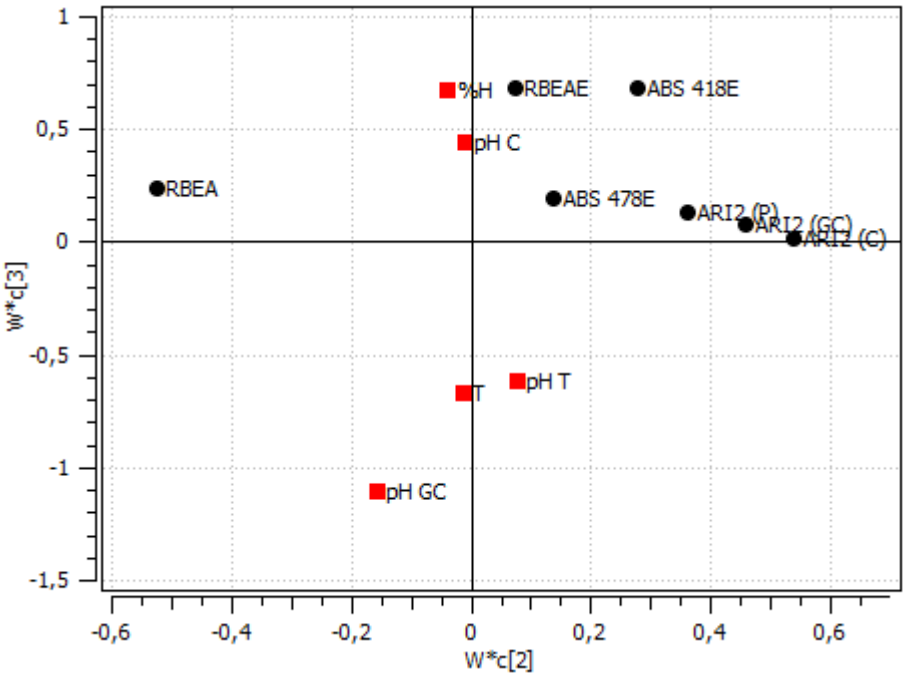

Figura 4.27. Gráfico de Cargas (W*c[2]/ W*c[3]) del Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

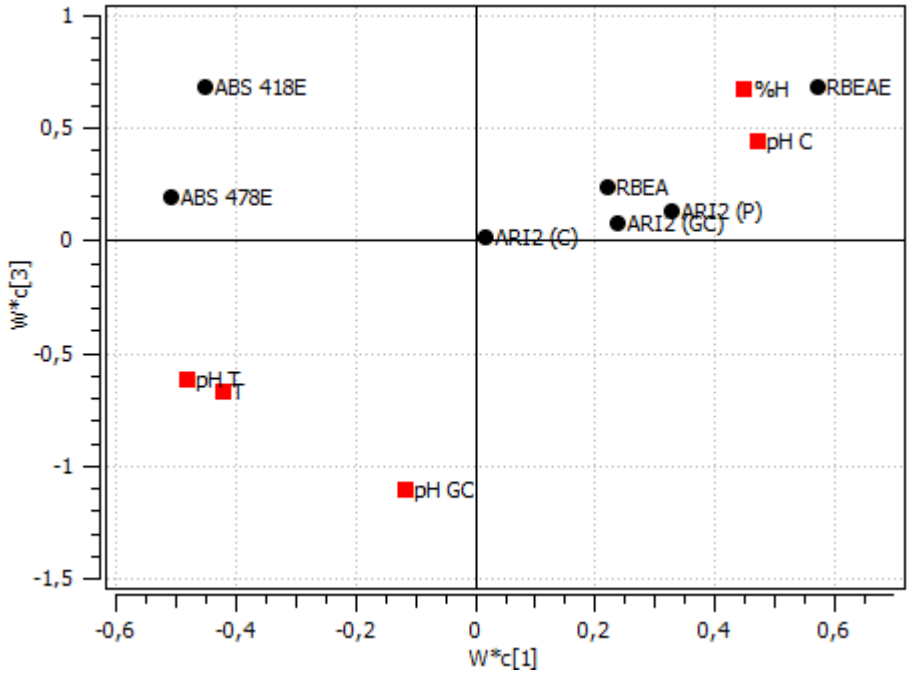

Figura 4.28. Gráfico de Cargas (W*c[1]/ W*c[3]) del Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

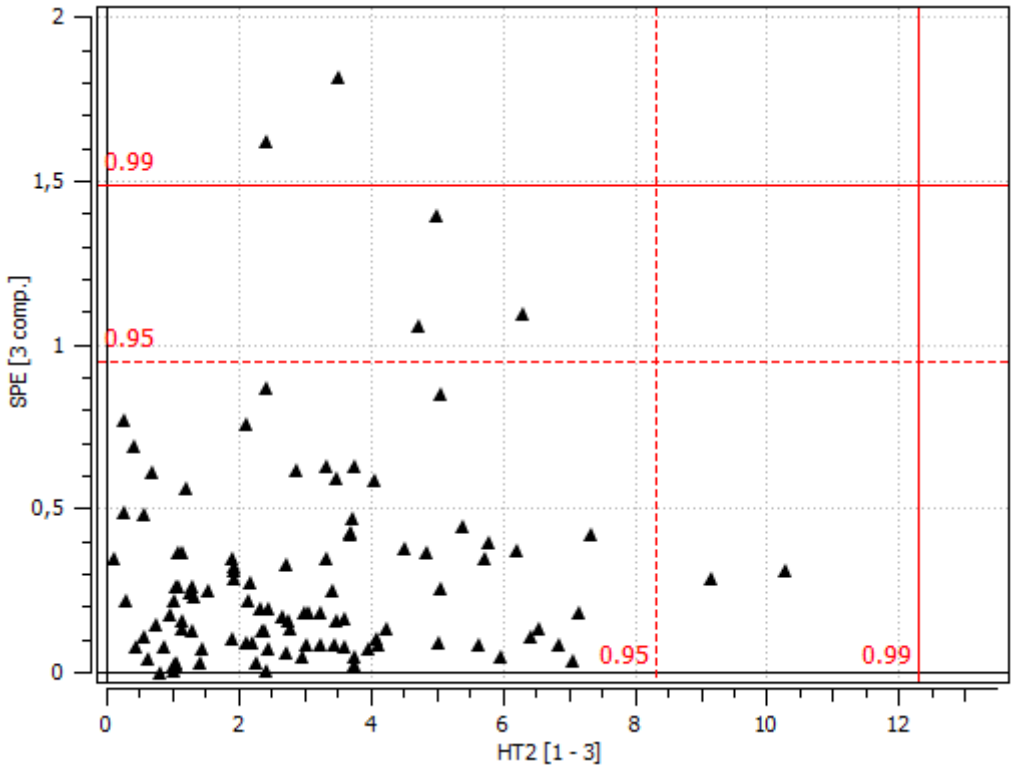

Figura 4.29. Gráfico SPE vs HT2 del Modelo PLS - Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

Para validar las conclusiones se realiza un diagnóstico de observaciones atípicas para el modelo PLS en función de las 3 componentes. Para el total de datos (106) el 5% de observaciones fuera del umbral es aceptable, esto corresponde a un máximo de 5 observaciones atípicas. Las observaciones atípicas que podrían influenciar en la interpretación de las componentes serían aquellas que cruzan el umbral tanto para los errores cuadráticos de predicción (SPE) y el umbral de Hotelling (T^2). El valor SPE de cada observación se refiere al alejamiento de ésta del hiperplano que generan las componentes, mientras que el valor de T^2 de las observaciones se refiere al distanciamiento de ésta de las demás observaciones dentro del hiperplano de las componentes. En este caso, el máximo de observaciones fuera del umbral es de 5 para el umbral del SPE y dos para el umbral del T^2 (ver Figura 4.29), es decir, un número aceptable de observaciones fuera del umbral que no influyen en la interpretación de las componentes.

La gráfica Bi-plot (Figura 4.30) representa las componentes con mayor aporte al modelo PLS (componente 1 y 3), además precisa el comportamiento de las observaciones según el tiempo, las variables de predicción y predichas del Modelo PLS, lo cual permite establecer la relación que existe entre las variables hiperespectrales y del proceso (fisicoquímicas). El índice de reflectancia de antocianina 2 del cotiledón no contribuye a las componentes 1y 3, mientras que el valor de la variable RBEA e índice de reflectancia de antocianina 2 de la pulpa y grano completo contribuyen en menor grado a las componentes 1 y 3 en comparación al aporte del RBEAE. El RBEAE presenta una correlación negativa con el pH T, pH GC y T y positiva con pH C y %H.

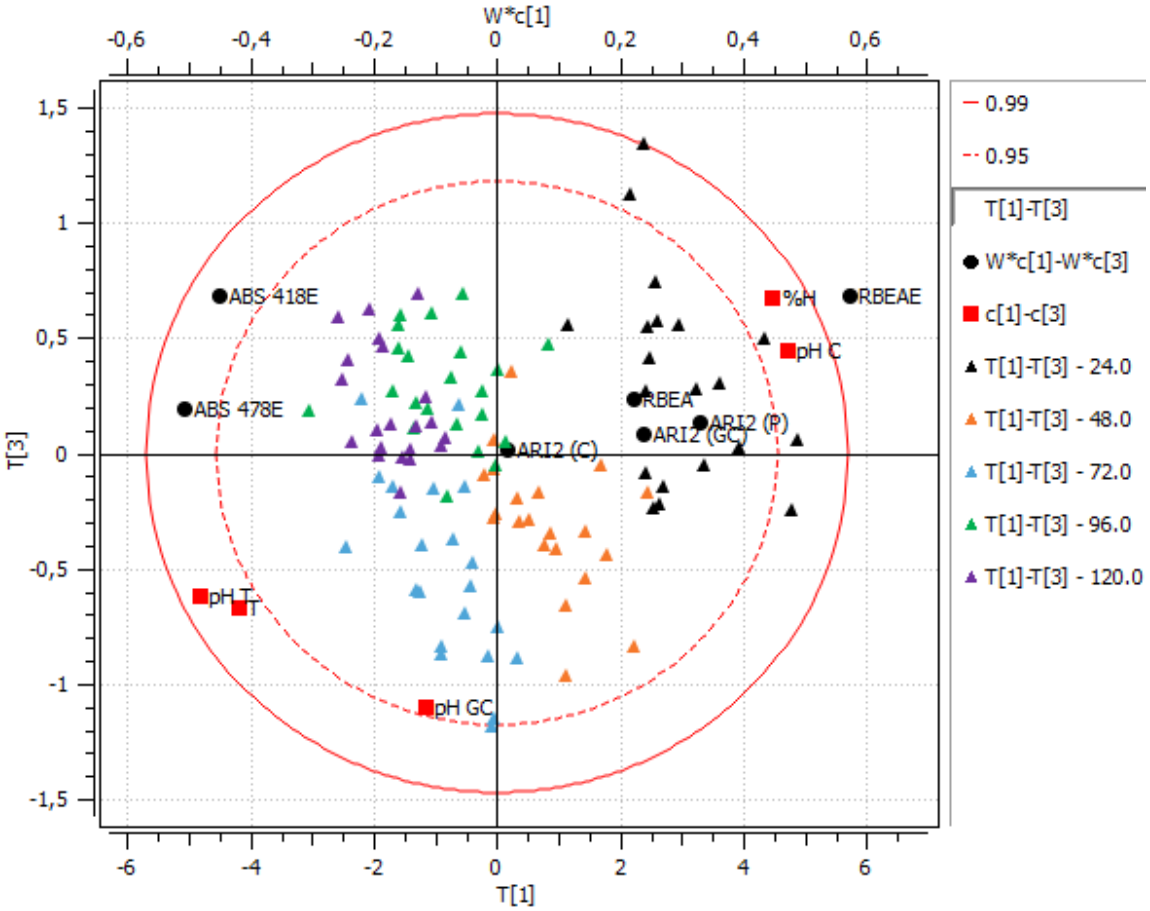

Figura 4.30. Gráfica Bi-plot del Modelo PLS, Lote 2.
Fuente: Elaboración propia.

Conclusiones

- El objetivo fundamental de esta investigación es proponer la estimación de parámetros para el análisis de las características del grano de cacao en el proceso de fermentación, se plantean nuevos índices que otorgan información relevante sobre la evolución de la fermentación.

- Conjuntamente se ha logrado un aprendizaje profundo sobre el uso de una nueva tecnología basado en el análisis hiperespectral, para todo el sistema de software y hardware. Además de proporcionar una valiosa base de datos para próximas investigaciones.

- La aplicación de la visión hiperespectral en este estudio ha facilitado nueva información sobre el comportamiento interno de los granos violetas de cacao, además de su rápido y confiable análisis.

- El hallazgo más importante en la presente tesis es un nuevo índice hiperespectral en longitudes de ondas específicas (Relación de Bandas Espectrales de Absorción Externa, RBEAE) de la parte externa del grano de cacao, es decir, del grano sin partir. Este índice presenta el mayor aporte a todas las variables predichas (pH, temperatura y porcentaje de humedad).

- Es conveniente mencionar que estos valiosos aportes a la ciencia han sido presentados al III Congreso Internacional "IEEE *Asia-Pacific Conference on Computer Aided System Engineering* – APCASE 2015" con el artículo científico: "*Hyperspectral analysis based anthocyanin index (ARI2) during cocoa bean fermentation process*" y en proceso de revisión del artículo científico "Evaluation of spectral relation indexes of the Peruvian's cocoa beans during fermentation process" para la revista indexada "IEEE Latin America Transactions".

- Se recomienda plantear líneas futuras de investigación, puesto que las firmas espectrales de reflectancia de los granos morados y blancos presentan la misma tendencia, se puede escoger el RBEAE como un parámetro crucial para estimar la evolución de la fermentación sin recurrir a la extracción y destrucción del grano de los cajones de madera. Además la fabricación de una cámara en las longitudes de onda del RBEAE, instalada por encima de la vista de planta del cajón de madera, de esta manera realizar capturas de imágenes para el análisis respectivo.

Bibliografía

Afoakwa, E.O., Quao, J., Takrama, F.S., Budu, A.S. & Saalia, F.K. (2012). Changes in total polyphenols, o-diphenols and anthocyanin concentrations during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (Theobroma cacao) beans. *International Food Research Journal, 19 (3),* 1071-1077. Recuperado de http://www.worldcocoafoundation.org/wp-content/uploads/files_mf/afoaka2012.pdf

Agámez, R.A. (2012). Regresión de mínimos cuadrados parciales para datos variedad-valuados. (Tesis Doctoral, Colegio de Postgraduados, 2012). Recuperado de http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/1764/Perez_Agamez_RA_DC_Informatica_Estadistica_2012.pdf?sequence=1

Aguilera, M., Reza, M.C., Chew, R. G. & Meza, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOtecnia, 8 (2),* 16-22. Recuperado en http://www.biotecnia.uson.mx/revistas/articulos/16-BIO-11-DPA-06.pdf

Alomar, D. & Fuchslocher, R. (1998). Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. Agro sur, 26 (1), 88-104. Recuperado en http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0304-88021998000100011&script=sci_arttext

Asociación de Productores de Banano y Cacao Orgánico. Procedimientos validados para las buenas prácticas de beneficio de cacao. (s/f). (Proyecto 107-FINCYT-FIDECOM-PIPEA–2011). Perú.

Augier, F. (1999). Estudio de secado sobre equilibrio agua-ácido acético. (Tesis Doctoral, 1999, Universidad de Monpellier)

Augstburger, F., Berger, J., Censkowsky, U., Heid, P., Milz, J. & Streit, C. (2000). Agricultura orgánica en el trópico y subtrópico, Guías de 18 cultivos (1ª ed.). Alemania: Asociación Naturland. Recuperado de http://www.fec-chiapas.com.mx/sistema/biblioteca_digital/agricultura-organica-cacao.pdf

Barreto, A.A. (2015). Predicción, usando imágenes hiperespectrales, del contenido de almidón en quesos frescos adulterados con harina de maíz.

Cerrón, G. (2012). Guía técnica, Asistencia técnica dirigida en manejo del cultivo de cacao. Agrobanco, Servicios Financieros para el Perú Rural: http://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/010-f-cacao.pdf

Diago, M.P., Pou, A., Millan, B., Tardaguila, J., Fernandes, A.M. & Melo-Pinto,P. (2014). Assessment of grapevine water status from hyperspectral imaging of leaves. *Acta Horticulturae, 1038,* 89-96. DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1038.9

Dubbini, M. (2013). NDVI and daily movements of Alpine ibex (Capra ibex ibex, Linnaeus 1758) females. (Tesis de Máster, 2013, Universidad Degli Studi Di Padova). Disponible en http://tesi.cab.unipd.it/46939/1/Dubbini,_Marco.pdf

E0-1 Hyperion Vegetation Indices Tutorial. (s/f). Recuperado de http://www.exelisvis.com/docs/VegetationIndices.html

Enríquez, G. & Paredes, A. (1983). *El cultivo de cacao* (2ª ed.). Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.

Gitelson, A.A., Merzlyak, M. N. & Chivkunova, O.B. (2001). Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. *Photochemistry and Photobiology, 74(1),* 38–45.

Goetz, A. F. H., Vane, G., Solomon, J. E., & Rock, B. N. (1985). Imaging spectrometry for earth remote sensing. *Science, 228*, 1147-1153. DOI: 10.1126/science.228.4704.1147

Gonzáles, C. (2012). Procesamiento a bordo de imágenes hiperespectrales de la superficie terrestre mediante hardware reconfigurable. (Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2012). Recuperado de http://www.umbc.edu/rssipl/people/aplaza/2011.PhD.CarlosGonzalez.pdf

Guillín, E. & Lara, M. (2010). Efecto de los sistemas de fermentación en la calidad del cacao de la variedad complejo nacional x trinitario (Theobroma cacao L.) del Cantón Las Naves Provincia Bolívar. (Tesis Título Ingeniero, Universidad Estatal de Bolívar, 2010). Recuperado de http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/902/1/043.pdf

Guzmán, R., Pérez, E., Álvarez, C., Lares, M. & Rodríguez, P. (2008). Caracterización fisicoquímica y nutricional de almendras de cacao (Theobroma cacao L.) frescas y fermentadas provenientes de la región de Río Chico estado Miranda-Venezuela. *V Congreso Internacional XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica VI Jornadas científicas de Biotecnología Molecular y Biomedicina, 1*.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias – INIAP. (s/f). Clasificación de almendras secas de cacao por el grado de fermentación.

Isla, E. & Andrade, B. (2009). *Manual para la producción de cacao orgánico en las comunidades nativas de la Cordillera del Cóndor. Proyecto paz y conservación binacional en la Cordillera del Cóndor, Ecuador-Perú-Fase II (Componente Peruano)* (1ª ed.). Perú. Recuperado de http://www.itto.int/files/user/pdf/publications/PD%20237%2003/pd237-03-2%20rev2(F)%20s.pdf

Lambert, S. & Mars, Inc. (s/f). Cocoa fermentation – general aspects. Recuperado de http://www.canacacao.org/uploads/smartsection/19_Cocoa_fermentation_General_aspects.pdf

Landgrebe, D. (2002). Hyperespectral image data analysis. *IEEE Signal Processing Magazine, 19 (1),* 17-28. DOI: 10.1109/79.974718

Ministerio de Agricultura y Riego. (2012). Condiciones agroclimáticas del cultivo del cacao. [Cartilla]. Perú. Consultado en Mayo de 2014, de: http://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/biblioteca-virtual/estados-fenologicos/cacao_condiciones_agroclimaticas.pdf

Ortíz, L., Camacho, G. & Graziani, L. (2004). Efecto del secado al sol sobre la calidad del grano fermentado de cacao. [Introducción]. *Agronomía Tropical, 54(1),* 31-43. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2004000100003

Ortiz, L., Graziani, L. & Gervaise, L. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol1. *Agronomía Tropical, 59(2),* 119-127. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000200001

Palacios, A. (2008). Establecimientos de parámetros (físicos, químicos y organolépticos) para diferenciar y valorizar el cacao (theobroma cacao l.) producido en dos zonas identificadas al norte y sur del litoral ecuatoriano. (Tesis de Grado, 2008, Universidad Técnica de Manabi). Recuperado de http://www.ruta.org/CDOC-Deployment/documentos/ESTABLECIMIENTOS_PARAMETROS_para_diferenciar__y_valorizar_el_cacao.pdf

Peña, D. (2002). Análisis de datos multivariantes (1ª Ed). Recuperado de http://www.dpye.iimas.unam.mx/lety/archivos/cursoinegi/apoyos/ANAI%CC%80%C2%81LISIS%20DE%20DATOS%20MULTIVARIANTES(1).pdf

Quinua y cacao empujaron avance de las exportaciones agrícolas. (2014, 08 de Octubre). *El Comercio*. Recuperado de http://elcomercio.pe/economia/peru/quinua-y-cacao-empujaron-avance-exportaciones-agricolas-noticia-1762687

Resonon Inc. (2014). Benchtop System Users Manual, Release 4.0.

Resonon Inc. (s/f). Hyperespectral Imaging Cameras. Disponible de http://www.resonon.com/data-sheets/ResononHyperspectralCameras.Datasheet.pdf

Reyes, H., Vivas, J. & Romero, A. (2000). La calidad del cacao: II. Cosecha y fermentación. *FONAIAP Divulga Número 66*. Recuperado de http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd66/texto/calidadcacao.htm

Rimfors, F. (2007). The cocoa bean. Recuperado en Junio de 2015 en http://www.chokladkultur.se/chocolate.htm

Ruiz, J.M., Soto, J.C. & Ipanaqué, W. (2015). Hyperspectral analysis based anthocyanin index (ARI2) during cocoa bean fermentation process. *Computer Aided System Engineering (APCASE), 2015 Asia-Pacific Conference on*, 169 – 172. DOI: 10.1109/APCASE.2015.37

Valdéz, D. (2010). Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales. *Revista Varianza, (7),* 18-22.

Wollgast, J. & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International, 33*, 423-447.