



- VARASU -  
*Crema de Cacao*  
100% Natural

13

# 13

---

Fecha de presentación: enero, 2018

Fecha de aceptación: marzo, 2018

Fecha de publicación: abril, 2018

## **CALIDAD FÍSICO QUÍMICA Y SENSORIAL DE GRANOS Y LICOR DE CACAO (THEOBROMA CACAOL.) USANDO CINCO MÉTODOS DE FERMENTACIÓN**

### PHYSICAL-CHEMICAL AND SENSORIAL QUALITY OF COCOA GRAINS AND LIQUOR (THEOBROMA CACAO L.) USING FIVE METHODS OF FERMENTATION

MSc. José Nicasio Quevedo Guerrero <sup>1</sup>

E-mail: [jquevedo@utmachala.edu.ec](mailto:jquevedo@utmachala.edu.ec)

Ing. Julio Andrés Romero López<sup>1</sup>

Ivanna Gabriela Tuz Guncay<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica de Machala. República del Ecuador.

#### Cita sugerida (APA, sexta edición)

Quevedo Guerrero, J. N., Romero López, J. A., & Tuz Guncay, I. G. (2018). Calidad físico química y sensorial de granos y licor de cacao (Theobroma Cacaol.) Usando cinco métodos de fermentación. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 115-127. Recuperado de <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>.

#### RESUMEN

La investigación se realizó en la Granja Experimental Santa Inés de la Universidad Técnica de Machala, durante el segundo semestre del 2016. El objetivo de la investigación fue comparar la eficiencia los fermentadores más usados por los pequeños productores cacaoteros de El Oro, en el beneficio de los granos de cacao, con un nuevo método denominado rotor de madera, propuesto por los autores del presente trabajo, mediante el análisis de variables físico-químicas y la evaluación sensorial del licor de cacao. El ensayo constó de los tratamientos: saco de yute (T1), rotor de madera (T2), rumo o montón (T3), caja de madera (T4) y balde plástico (T5), los cuales se evaluaron bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. El secado se efectuó de forma natural en marquesinas bajo cubierta de plástico calibre 6. El análisis de variables químicas, físicas y sensoriales reveló diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos. El T2 registró 96% de calidad física del grano y el mejor perfil sensorial con calificaciones altas en sabores cacao, floral, frutal, nuez y caramelo y calificaciones bajas en sabor astringente y amargo. La fermentación se desarrolló dentro de la plantación de cacao, esto permitió la presencia de *Drosophila melanogaster* M., vector de *Saccharomyces cerevisiae* y otras levaduras que pudieron haber inferido en la calidad de los granos.

**Palabras clave:** Astringente, pizarrosas, *Drosophila melanogaster* M., levaduras.

#### ABSTRACT

The research was carried out at the Experimental Farm Santa Inés of the Technical University of Machala during the second half of 2016 year. The objective of this work was to compare the efficiency of the wood rotor fermenter with the fermenters commonly used by small producers in the benefit of cocoa beans, through the analysis of physical-chemical variables and the sensory evaluation of cocoa liquor. The test consisted of the treatments: jute sack (T1), wood rotor (T2), bearing or heap (T3), wooden box (T4) and plastic bucket (T5) under a random block design with three repetitions. Drying was carried out naturally in canopies under a 6 gauge plastic cover. Analysis of chemical, physical and sensory variables revealed significant differences ( $p < 0.05$ ) among treatments. The T2 recorded 96% of physical quality of the grain and the best sensorial profile with high ratings in specific flavors (Cocoa, floral, fruity, nut and caramel) and low scores on astringent and bitter taste. Fermentation was developed within the cocoa plantation, which allowed the presence of *Drosophila melanogaster* M., *Saccharomyces cerevisiae* vector and other yeasts that potentiated the process.

**Keywords:** Astringent, chalky, *Drosophila melanogaster* M., yeast.

## INTRODUCCIÓN

La fermentación de los granos de cacao es la fase más importante en el desarrollo del aroma y sabor final del chocolate (Portillo, et al., 2009). Los compuestos químicos vinculados a la calidad sensorial son de origen térmico y sufren transformaciones durante la fermentación (Portillo, et al., 2011). El método de fermentación empleado juega un papel esencial en el sabor y aroma (Portillo, et al., 2014). Primero debe ocurrir la fermentación microbiana que colabora en la eliminación de la pulpa mucilaginoso que recubre los granos, luego ocurren un conjunto de reacciones bioquímicas en el interior de los cotiledones que demandan la remoción oportuna y eficiente de la masa fermentante (Gutiérrez Seijas, 2012). La fermentación del grano de cacao se produce cuando los alcoholes se combinan con ácidos, el pH y la temperatura sufre cambios pausados y la humedad comienza a disminuir de forma lenta (Portillo, Portillo, Arenas, Rodríguez & Chacón, 2014), esto permite que el embrión muera y el sabor amargo disminuya por la pérdida de teobromina, generándose un sabor y aroma más pronunciado a chocolate (Reyes & Capriles De Reyes, 2000; y Caballero-Pérez, Avendaño-Arrazate González-Ávila & López-Escobar, 2016).

Cuando la fermentación es defectuosa, la calidad sensorial de los granos es baja (Jiménez, et al., 2011). La remoción de la masa fermentante ejerce un efecto relevante sobre los precursores del sabor, regula la acidez y astringencia del producto causada por ácidos volátiles y no volátiles (Quintana Fuentes, Castelblanco & Acuña, 2014), la velocidad del proceso y la temperatura, evita el amontonamiento de los granos, el desarrollo de hongos en la superficie y esquinas de los fermentadores (Álvarez, Tovar, García, Morillo, Sánchez, Girón & De Farías, 2010). La frecuente remoción propicia la correcta actividad microbiana durante la fermentación, evitando la formación de metabolitos secundarios que al esparcirse al interior de los cotiledones podrían perjudicar la calidad del producto final, por lo que se recomienda remociones cada 24 h (Ortiz de Bertorelli, Rovedas & Graziani de Fariñas, 2009).

El incremento de la temperatura en la masa fermentante se produce en el transcurso de las primeras 24 h, con valores superiores a 30 °C, lo que indica una buena fermentación (Torres, Graziani de Farinas, Ortiz De Bertorelli & Trujillo, 2004). Cuando la pulpa comienza a descomponerse y a escurrirse durante el segundo día, las levaduras y bacterias incrementan, se produce ácido láctico y las bacterias acéticas quedan en condiciones anaeróbicas, oxidando más rápido el alcohol a ácido acético, finalmente

la temperatura es mayor a 40 °C, propiciando la muerte del embrión (Amores, Palacios, Jiménez & Zhang, 2009). En el proceso de fermentación de las frutas, es común observar mosquitas de la especie *Drosophila melanogaster* M., que se alimentan de los fermentos donde actúan levaduras entre las que se encuentra *Saccharomyces cerevisiae*, y otras más que producen CO<sub>2</sub> y el alcohol, al mismo tiempo que se alimentan, propagan con sus extremidades las esporas de estas levaduras como si fueran polen de las flores, generando una relación simbiótica que favorece la fermentación (Gallone, 2016).

Se ha observado que diferentes levaduras pueden ser aisladas del cuerpo de *D. melanogaster* M., capturadas en entornos naturales y que la gran mayoría de estas levaduras producen ésteres de aroma activo, también se han aislado levaduras productoras de fuertes aromas florales (Verstrepen 2016). Muchas levaduras incluida *Saccharomyces cerevisiae* pueden tener un beneficio al aumentar la eficiencia de la fermentación, reducir el riesgo de deterioro del grano, o cambiar el perfil sensorial del producto final, por lo cual su uso en la industria va en aumento (Steensels & Verstrepen, 2014, Gallone 2016). El sabor del chocolate es influenciado por muchos parámetros, incluyendo el genotipo, las condiciones eco geográficas donde crecen los árboles de cacao y el proceso de fermentación influenciado por la micro biota natural existente en las plantaciones de cacao (Verstrepen, 2016).

La presencia de levaduras es crucial en el proceso de fermentación de la pulpa de cacao, ya que generan la producción de etanol y ácidos orgánicos, que causan la muerte del embrión y contribuyen a las conversiones químicas esenciales dentro de los granos de cacao (Reyes & Capriles De Reyes, 2000). Además, las levaduras fermentadoras producen también una miríada de compuestos aromáticos volátiles. Por último, se cree que las levaduras que producen enzimas pectinolíticas que juegan un papel central en la degradación de la pulpa rica en pectina. Por lo tanto, las levaduras son cruciales para las fermentaciones de la pulpa de cacao y para el desarrollo de sabores de cacao y la eficiencia de la fermentación, y la escasa diversidad observada da lugar a granos de cacao de calidad inconsistente y causa enormes pérdidas económicas (Meersman, et al., 2015). Las levaduras producen varios metabolitos volátiles que son los principales precursores del sabor frutal y aroma floral de las bebidas fermentadas. Usando una combinación de técnicas moleculares, conductuales y neurobiológicas, se ha demostrado que ésteres de acetato producidos por levaduras estimulan las antenas

receptoras del olor de *D. melanogaster* y aumentan considerablemente su atracción a la levadura. Por otra parte, se han identificado dos acetatos ésteres, acetato de etilo y acetato de isoamilo, como las moléculas de atracción para *D. melanogaster* que lo transforman en su insecto vector (Christiaens, et al., 2014). Es interesante observar que compuestos como acetato de etilo y acetato de isoamilo hacen que los frutos maduros poseen un aroma típico (Vermeir, Hertog, Vankerschaver, Swennen, Nicolai & Lammertyn, 2009). Por lo tanto, es necesario investigar más a fondo si las levaduras han desarrollado la capacidad de sintetizar estos ésteres para imitar este aroma para atraer moscas de la fruta. Es difícil demostrar que el gen de la levadura ATF1 evolucionó específicamente para estimular la producción de compuestos aromáticos con el objetivo de atraer insectos (Christiaens, et al., 2014).

El incremento de la acidez está vinculado a los ácidos acéticos y lácticos producidos durante la degradación de la pulpa por el accionar microbiano. Al inicio de la fermentación los cotiledones poseen un pH de 6.60, a partir del primer día desciende de manera lenta hasta 6.30 luego, al tercer y cuarto día lo hace de manera acelerada obteniendo un valor aproximado a 4.75, ascendiendo durante el secado hasta cerca de 5.40. En cambio, el pH inicial de la testa es cerca de 3.80 lo cual beneficia el crecimiento de ciertos microorganismos en los primeros días de fermentación, luego aumenta hasta llegar a 4.00 en el tercer día. Valores de pH altos son indicativos de una sobre fermentación, pero valores inferiores a cinco señalan una fermentación deficiente (Portillo, et al., 2011; Álvarez, et al., 2010). El pH es un parámetro crucial en la calidad del cacao empleado en la fabricación de chocolates (Del Valle González-Canache, Orlando-Álvarez, Durand-Cos & Utria-Borges, 2014).

El cacao producido en Ecuador es famoso a nivel internacional por su calidad, es catalogado como fino y de aroma gracias a las características organolépticas que presenta el complejo Nacional x Trinitario y las condiciones eco geográficas de las zonas de cultivo (Romero Bonifaz, Bonilla, Santos Ordóñez & Peralta García, 2010) pero, en las últimas décadas estas características han sido perjudicadas debido al deficiente manejo post cosecha (Rivera, et al., 2012), lo que ha evitado certificar la calidad con la denominación de origen, disminuyendo el precio y en el prestigio del cacao ecuatoriano (Contreras, Ortiz de Bertorelli, Graziani de Fariñas & Parra, 2004). Al encontrarse escasa investigación sobre el tema, los agricultores no tienen definido el correcto procedimiento para realizar una eficiente

fermentación. La gran mayoría de productores de cacao realizan el proceso de fermentación empleando los siguientes métodos: rumos o montones, sacos de yute, baldes plásticos y cajas de madera. El empleo de un determinado método depende, relativamente de la deficiente, caduca, poca o ninguna experiencia de los productores, quienes utilizan el método más económico y versátil desde su punto de vista y normalmente es ejecutado con mucha variación, lo que propicia una escasa calidad en cacaos finos y de aroma (Contreras, et al., 2004).

Es importante la eliminación de humedad que permanece en la almendra al terminar la fermentación, para prevenir la formación de mohos que perjudican la calidad y facilitar el almacenamiento, manejo y mercadeo del cacao. La humedad debe ser disminuida hasta valores de 6 - 7 %, si se disminuye en exceso la almendra se torna quebradiza (Zambrano, Gómez, Ramos, Romero, Lacruz & Rivas, 2010). La formación de los pigmentos color marrón en los granos de cacao, a partir de los compuestos fenólicos y la formación de precursores del sabor, tales como aminoácidos libres, péptidos y azúcares no reductores, pueden presentar ciertas alteraciones bioquímicas asociadas al secado luego de la fermentación, incidiendo en la calidad comercial y en su empleo en la agroindustria (Nogales, Grazian & Ortiz de Bertorelli, 2006). El secado debe realizarse de manera pausada y progresiva, comenzando por pocas horas de exhibición al sol durante los primeros días y aumentar gradualmente hasta la completa exposición en los últimos días. Con el secado agresivo, no se obtiene un secado uniforme debido a la interrupción de la hidrólisis enzimática de las antocianinas produciendo granos violetas que le adjudican un sabor astringente, a la vez de forma rápida se endurece la cascarilla que una vez seca, evita la salida o difusión de los ácidos volátiles que se agrupan en el grano originando almendras ácidas (Zambrano, et al., 2010). Mientras tanto, el secado muy lento ocasiona la formación de mohos que pueden penetrar la testa y llegar al cotiledón, perjudicando la calidad sensorial y originando graves problemas a la industria. La velocidad del secado depende de tres factores: movimiento de vapor de agua desde el grano al aire circundante, traslado de calor al interior del grano y la cantidad de superficie de los granos expuestos al aire. En Ecuador y otros países productores de cacao, el secado natural de caña o cemento, es el método más usado. Las marquesinas con pisos de madera, son estructuras cubiertas con plástico que permiten el paso de la luz del sol y resguardan los granos de las lluvias imprevistas (Amores, et al., 2009).

Uno de los aspectos importantes en el desarrollo productivo cacaoero es la calidad del grano y el nivel que se alcance determinará la demanda que posea en el mercado. Alcanzar un cacao de rigurosa calidad exige que se cumpla con una serie de requerimientos que comienzan con seleccionar el lugar de siembra y los suelos que lo caracterizan, hasta el empleo de una tecnología post cosecha adecuada (Ventura, María, González, Rodríguez & Almonte, 2014). Algunas propiedades físicas como: índice de grano, índice de cascarilla, porcentaje de fermentación (buena y media), porcentaje de granos violeta, porcentaje de granos pizarrosos, porcentaje de granos infestados y/o mohosos, manifiestan la calidad de las almendras de cacao (Gutiérrez Seijas, 2012). Las diferencias en la calidad de la fermentación se atribuyen a transformaciones enzimáticas, que podrían explicar los probables vínculos entre el sabor a cacao con floral, frutal y nuez (Ramos, González, Zambrano & Gómez, 2013). Las muestras mejor fermentadas no solo desarrollan una manifestación más fuerte del sabor a cacao sino también notas sensoriales aromáticas características de los cacaos finos o de aroma, cuando estas son partes integrales de su base genética (Vera Chang, Vallejo Torres & Párraga Moran, 2014). Al momento de realizar un eficiente manejo post cosecha a los granos de cacao frescos, las almendras secas adquieren sabores y aromas agradables (Liendo 2016) y su índice de grano mejora considerablemente alcanzando una media de 1.26 g, considerada como aceptable para el cacao ecuatoriano, con un 12% de testa admitido a nivel de exportaciones (Ruíz Pinargote, Mera Morán, Prado Cedeño & Cedeño Guzmán, 2014; Sánchez Mora, Garcés Fiallos, Vásconez Montúfar, Vera Chang, Zambrano Montufar & Ramos Remache, 2014). El objetivo de este trabajo fue comparar la eficiencia del fermentador rotor de madera con los fermentadores comúnmente usados por los pequeños productores en el beneficio de los granos de cacao.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización del ensayo.** El trabajo se realizó en el Programa cacaoero de la Granja Experimental Santa Inés, de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, ubicada en el Km 5.5 de la vía Machala - Pasaje, perteneciente a la parroquia El cambio, cantón Machala, provincia de El Oro, Ecuador. El sitio de estudio se encuentra ubicado en las coordenadas geográficas 79° 54' 05" LW y 03° 17' 16" LS, con una altitud de 7 msnm. De acuerdo a las zonas de vida natural de Holdridge y el mapa ecológico del Ecuador, el sitio de ensayo corresponde a un

bosque muy seco – Tropical (bms – T), con precipitación media anual de 699 mm, temperatura media anual de 25° C y humedad relativa de 84%. El suelo de la plantación es de clase textural franco, con 3.4% de MO, CIC de 17.5 y pH 7.2

Para el proceso de beneficio se cosecharon 2400 mazorcas (160 mazorcas por tratamiento por triplicado), sanas y maduras de cacaos del Complejo Nacional x Trinitario, del jardín clonal de la Granja Experimental Santa Inés de la Universidad Técnica de Machala, en el mes de junio del 2016, el día de cosecha se realizó la quiebra con un mazo de madera para evitar el daño de los granos, proporcionando ligeros golpes a la mazorca, se extrajeron los granos de forma manual teniendo cuidado de no contaminarlos con suelo u otras impurezas, se colocaron en recipientes limpios y secos, para luego colocar los granos extraídos de 160 mazorcas por cada repetición en cada tratamiento. Los procesos de fermentación se realizaron bajo un diseño experimental de bloques completamente al azar (BCA), trabajado en un entorno experimental homogéneo. Con cinco tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, el factor evaluado fue la eficiencia de cada fermentador a la misma frecuencia de remoción de la masa fermentante.

Se utilizaron los siguientes fermentadores: saco de yute (fibra vegetal o cabuya) con capacidad para 12 kg con dimensiones de 60x 40 cm de largo y ancho, colocados sobre una tarima de madera para facilitar el escurrido; rotor de madera (Figura 1) de Laurel (*Cordia alliodora*, Ruiz & Pav. Oken 1841), con capacidad para 20 kg, diseñado en forma de cilindro giratorio, con tablillas separadas a cinco mm para drenar los fluidos sobrantes del mucílago, de 1,20 m de diámetro x 70 cm de largo, con platinas metálicas en ambos extremos que reposan sobre un caballete de madera, y una palanca metálica que permite su rotación manual; montón realizado sobre hojas de banano, en forma piramidal y cubierto con hojas de banano; caja de madera (Laurel), de 70 cm de largo x 70 cm de ancho x 70 cm de alto, con separaciones de 5 mm entre tablillas, con perforaciones de 7 mm en el fondo, cubierta con hojas de banano; balde plástico con capacidad de 20 litros con 20 perforaciones de 4 mm en el fondo y cubierto con hojas de banano. La fermentación tuvo una duración de tres días y se realizó dentro del área de viveros bajo cubierta de plástico con cerramiento de malla metálica a temperatura y % HR promedio de  $28.7 \pm 0.5$  °C y  $78 \pm 2.04$  % respectivamente. La temperatura y el pH de las masas fermentantes se registraron antes de las remociones a las 24, 48 y 72 horas de iniciado el proceso.



Figura 1. Prototipo del Rotor de madera usado para la fermentación de granos de cacao.

Para el secado los granos se colocaron por 10 días (Nogales, et al., 2006) en marquesinas de mallas plásticas de 5 mm x 5 mm, bajo cubierta de plástico de invernadero transparente calibre ocho y expuestas a las corrientes de aire natural, hasta alcanzar el 7 % de humedad que estipula la norma INEN 173, para que el secado fuese homogéneo los granos se removieron cada 12 horas. Terminado el secado las muestras fueron almacenadas en sacos de yute, debidamente identificadas y trasladadas al Laboratorio de Calidad de cacao de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias para evaluar las características físicas y químicas que describen la calidad del cacao comercial de granos fermentados. Paralelamente se enviaron muestras de 500 gramos de cada tratamiento al Laboratorio de calidad de Cacao de la Estación Experimental Pichilingue – INIAP para los respectivos análisis sensoriales.

#### Medición de las variables

**Temperatura.** Se registró a las 24, 48 y 72 h de haber iniciado el proceso fermentativo, colocando un termómetro calibrado de 0 a 100 °C y apreciación de  $\pm 0.1$  °C en el centro de la masa de cacao (Portillo, et al., 2011).

**pH de testa y cotiledón.** Se determinó usando 30 granos de cacao por tratamiento por triplicado. Primero se separó la testa del cotiledón; posteriormente individualmente fueron triturados con 100 ml de agua destilada usando una licuadora, por un lapso de dos a tres minutos; luego con un peachímetro digital marca Mettler Toledo se realizaron las lecturas del pH de cada muestra. Estas variables se registraron al inicio y final de la fermentación, y después del secado (Vera Chang, et al., 2014).

**Análisis físico.** Para calcular el índice de grano se tomaron al azar 100 granos fermentados y secos por cada tratamiento, y siguiendo la metodología citada por Sánchez Mora, et al. (2014), se determinó el peso promedio en gramos de un grano de cacao seco. El porcentaje de cascarilla o testa se determinó en base al peso de un grupo de 30 granos fermentados

y secos por cada tratamiento, tomados al azar según la metodología citada por Vera Chang, et al. (2014). Los porcentajes de fermentación buena, media y total se determinaron en granos secos, utilizando la prueba de corte citada por FEDECACAO (Colombia. Federación Nacional de Cacaoteros, 2005), partiendo longitudinalmente 100 almendras tomadas al azar por cada tratamiento por triplicado. Se analizó con adecuada luz natural una de las mitades; de acuerdo al color y pronunciamiento de las grietas en los cotiledones (Amores, et al., 2009), los granos se clasificaron según los controles de calidad para la comercialización, basados en las normas INEN 175, 176 y 177 y la tabla de clasificación de almendras secas de cacao por grado de fermentación sugerida por La Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro.

**Análisis sensorial.** Estos fueron realizados en el Laboratorio de calidad de Cacao de la Estación Experimental Pichilingue INIAP por catadores experimentados. La determinación de los perfiles de sabores básicos (amargor, acidez, astringencia, verde/crudo) y sabores específicos (cacao, floral, frutal, nuez, caramelo) se realizó con la metodología propuesta por (Solórzano Chávez, Amores Puyutaxi, Jiménez Barragán, Nicklin & Barzola Miranda 2015). Todos los resultados fueron analizados con un ANOVA y la comparación de medias mediante Tukey al 0.05 de probabilidad con el Programa estadístico SPSS versión 23.0 para Windows.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1, muestra las diferencias de temperatura que se manifiestan en la masa fermentante a partir de las 48 h, la misma que parece tener una relación directa con los valores de pH en la testa y el cotiledón en los granos de cacao. Al finalizar la fermentación a las 72 h la temperatura fue de 6.56 % mayor en el rotor de madera con relación a la caja de madera; al finalizar el secado el pH del cotiledón fue muy similar en los tratamientos, destacando el rotor y la caja de madera, que presentaron pH similares de testa y cotiledón, a partir del análisis de varianza y la prueba de Tukey al 0.05, encontramos que las variables evaluadas comienzan a diferenciarse para establecer los métodos más eficientes, favoreciendo la calidad comercial y organoléptica. El análisis de las variables físicas demostró que el índice de grano (Figura 2), porcentaje de testa (Figura 3), índice de mazorca (Figura 4), porcentaje de fermentación buena, media y total (Figura 5) son estadísticamente iguales en los fermentadores rotor de madera, rumo o montón y caja de madera, evidenciando un aumento de la calidad comercial del 6.5% de los granos secos con relación a los fermentadores saco de yute y balde plástico.

Tabla 1. Efecto de los métodos de fermentación en las características químicas y físicas de los granos de cacao.

Método de fermentación	T °C durante fermentación			pH en testa		pH en cotiledón			
	24	48	72	24	72	24		72	
	Horas	Horas	Horas	horas	horas	seca	horas	horas	seco
Saco de yute	32,67 a	35,33 b	41,33 b	3,86 a	4,73 c	5,13 b	6,68 ab	4,60 cd	5,07 c
Rotor de madera	34,00 a	38,67 b	44,00ab	3,78ab	4,96 a	5,41 a	6,64 ab	4,75 ab	5,47 a
Rumo o montón	35,67 a	43,00 a	45,67 a	3,72 ab	4,82 bc	5,38 a	6,75 a	4,86 a	5,29 b
Caja de madera	33,33 a	35,67 b	42,67ab	3,83 a	4,87 ab	5,47 a	6,56 b	4,71 bc	5,42 ab
Balde plástico	35,34 a	36,67 b	41,67 b	3,64 b	4,69 c	5,28 ab	6,73 ab	4,54 d	5,12 c

Valores con la misma letra dentro de cada factor en cada columna son iguales (Tukey,  $p \geq 0.05$ ).

Los resultados más concluyentes radican en las variables que están directamente relacionadas con la calidad física y sensorial de los granos (Figura 5), donde el rotor de madera muestra el 91.67% de fermentación buena con una diferencia del 10% sobre la caja de madera, y una diferencia de 20 y 34% con los fermentadores saco de yute y balde plástico, respectivamente. El fermentador rotor de madera presentó los porcentajes más bajos de granos violeta y pizarra (Figura 6). Estos resultados señalan que para obtener la más alta calidad en granos bien fermentados y secos. La tabla 2, muestra las calificaciones obtenidas en los análisis sensoriales realizados al licor de cacao obtenido de cada fermentador, encontrándose un mejor perfil sensorial en el rotor de madera, con un sabor suave y agradable, predominando los sabores cacao, floral y caramelo.

Tabla 2. Resultados del análisis sensorial en licor de cacao realizado en el laboratorio de Calidad de cacao de INIAP.

Tratamiento	Sabores específicos*					Sabores básicos**			
	Cacao	Floral	Frutal	Nuez	Caramelo	Amargor	Acidez	Astringencia	Verde
T1. Saco de yute	3.5	0.0	2.0	1.0	0.5	3.0	3.5	3.5	1.5
T2. Rotor de madera	5.0	2.0	3.5	1.5	3.0	2.0	2.0	1.5	0.5
T3. Rumo o montón	4.0	1.0	4.0	3.0	1.5	4.5	2.0	3.0	1.5
T4. Caja de madera	4.0	1.5	4.5	1.5	1.0	3.0	1.0	3.5	2.0
T5. Balde plástico	2.5	1.0	2.5	1.0	0.0	5.0	4.0	5.0	2.5

\*Calificación: 1 = Normal; 2 = Bueno; 3 = Excelente

\*\* 0 – 2.5 = Aceptable; 3.0 – 5.0 = Alto

Los demás tratamientos tienen un perfil sensorial similar, pero se muestran afectadas por la presencia pronunciada de los sabores amargor y astringencia.

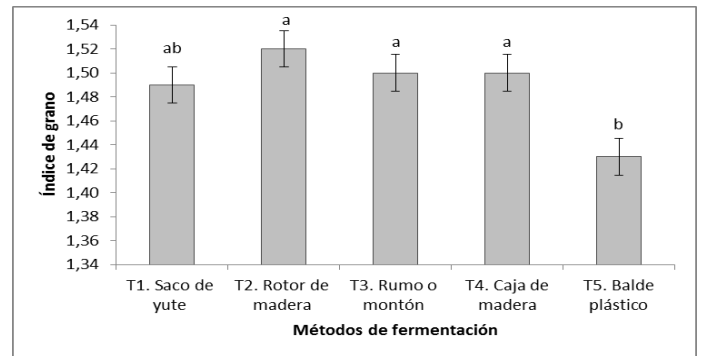


Figura 2. Efecto del método de fermentación sobre el Índice de grano.

Cada barra representa la media de tres repeticiones ( $\pm$  desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

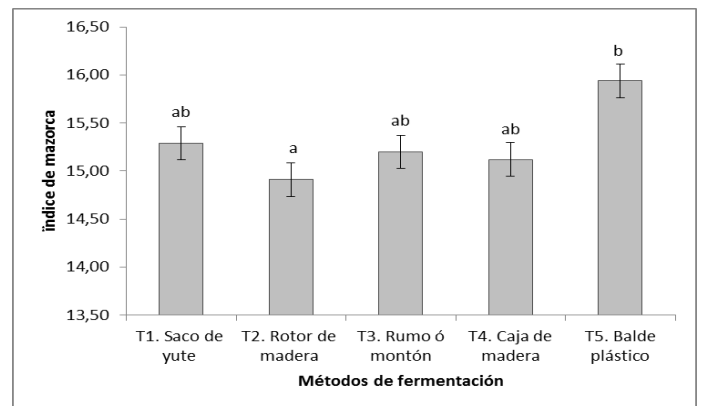


Figura 3. Efecto del método de fermentación sobre el Índice de mazorca.

Cada barra representa la media de tres repeticiones ( $\pm$  desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

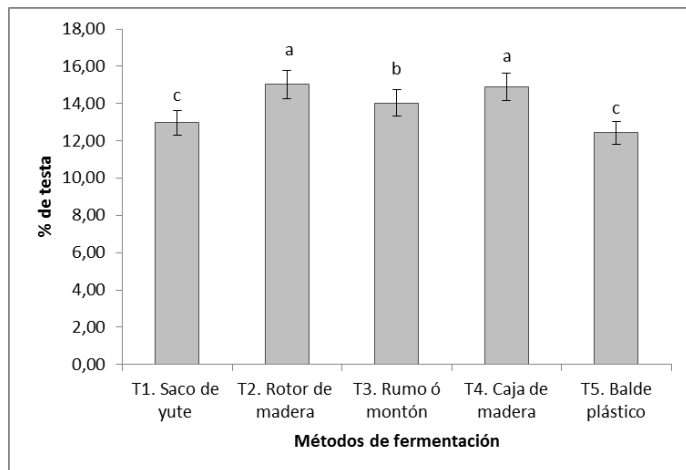


Figura 4. Efecto del método de fermentación sobre % de testa.

Cada barra representa la media de tres repeticiones ( $\pm$  desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ )

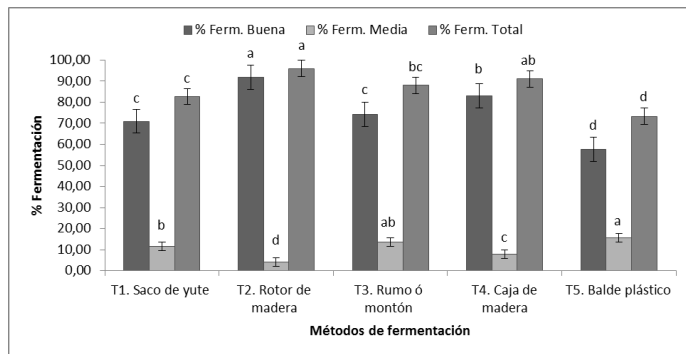


Figura 5. Efecto del método de fermentación sobre los porcentajes de fermentación buena, media y total.

Cada barra representa la media de tres repeticiones ( $\pm$  desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ )

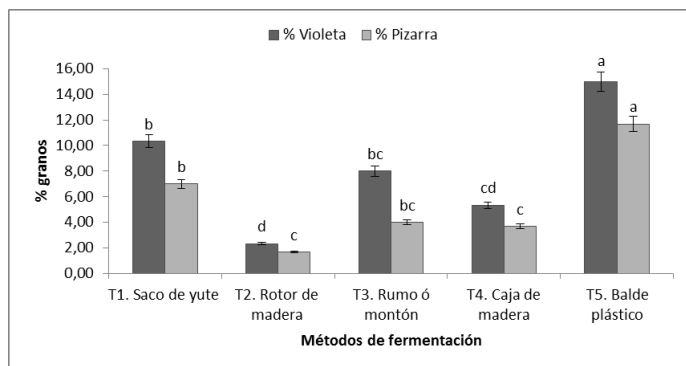


Figura 6. Efecto del método de fermentación sobre el porcentaje de granos violetas y pizarras.

Cada barra representa la media de tres repeticiones ( $\pm$  desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ )

La temperatura de inicio de todos los fermentadores fue de 24°C, a las 24 h en todos los tratamientos la temperatura (Tabla 1) presenta un incremento de aproximadamente 10 °C, lo que indica una fermentación activa (Gutiérrez Seijas, 2012). La acumulación de temperatura fue lenta y aumenta conforme pasaban las horas debido a la carente contaminación del material. Al momento de la primera remoción se notó una gran cantidad de moscas de la fruta (*D. melanogaster*, M.), generando una relación simbiótica con las levaduras y hongos (Verstrepen, 2016) que puede haber favorecido la fermentación de la masa, incrementando la actividad física y química, de manera más intensa en el fermentador rumbo/montón que estuvo más expuesto al ambiente. A las 48 h (Tabla 1), en todos los tratamientos la temperatura incrementó (Torres, et al., 2004), la pulpa comenzó a descomponerse y a escurrirse durante el segundo día, las temperaturas fueron mayores a 40 °C (Gutiérrez Seijas, 2012). Tres de los 5 fermentadores usado alcanzaron los rangos considerados óptimos de 42 - 45 °C a las 72 horas de fermentación (Portillo, et al., 2011). El resto de tratamientos se ubicaron por debajo de los valores antes mencionados.

El análisis físico de los granos fermentados y secos evidencio que los fermentadores rotor de madera, rumbo o montón y caja de madera, lograron propiciar la muerte del embrión, aun cuando la temperatura no alcanzó los 45 °C necesarios para que ocurra esto según (Amores, et al., 2009), y contrario a lo reportado por estos autores, a los 44°C ocurrieron los cambios bioquímicos necesarios para que los precursores de aroma y sabor a chocolate se expresen (Tabla 2). Los valores obtenidos se asemejan a los publicados por (Torres, et al., 2004). La remoción no expuesta a las corrientes de aire en el rotor de madera evitaron alteraciones bruscas de la temperatura entre remoción. A las 24 h de inicio de la fermentación el pH de la testa en todos los fermentadores es bajo (Tabla 1), lo cual beneficia la presencia *D. melanogaster*. M., que se alimenta de los jugos fermentados y transporta esporas de algunos microorganismos por toda la masa (Christiaens, 2014; Verstrepen, 2016). Al final de la fermentación el pH de la testa aumentó en todos los tratamientos. El rotor de madera obtuvo la media más alta, mientras que el resto de fermentadores arrojó valores de media parecidos a los expresados por (Amores, et al., 2009; Portillo, et al., 2011).

Después del secado el pH de la testa aumentó progresivamente. Al final de la fermentación se observó que el pH del cotiledón descendió en todos los tratamientos (Tabla 1), debido a que la testa es permeable al ácido acético, ingresando al embrión



y disminuyendo el pH (Portillo, et al., 2011). El incremento de la acidez en los métodos de fermentación sin o con poca remoción se podría vincular a los ácidos acéticos y lácteos producidos durante la degradación de la pulpa por el accionar microbiano y que se acumulan en gran porcentaje de los granos. Los fermentadores rotor de madera, rumo o montón y caja de madera presentaron los valores de media más aceptables para pH de testa y cotiledón, quizá la eficiencia de estos favorecen la actividad microbiana, cabe indicar que en estos tres fermentadores la presencia de *D. melanogaster* M., fue abundante durante las 48 h posteriores al inicio de la fermentación, produciendo un posible aumento de las poblaciones de *S. cerevisiae* y otras levaduras (Verstrepen 2016), lo que incrementó el porcentaje de fermentación buena de los granos. Todos los fermentadores presentaron valores de pH inferiores a cinco a las 72 h (Tabla 1), lo que indica una supuesta señal de fermentación deficiente (Vera Chang, et al., 2014), pero registros de pH de 4.8 obtenidos en este trabajo no fueron necesariamente propiciadores de defectos en los granos fermentados.

Después del secado se observó un incremento del pH del cotiledón (Nogales, et al., 2006) en todos los tratamientos (Tabla 1), debido a la pérdida por evapotranspiración de los ácidos volátiles presentes en el cotiledón y a las transformaciones bioquímicas que ocurren en su interior (Reyes & Capriles De Reyes, 2000). Todos los fermentadores tuvieron granos con valores de pH ubicados entre 5.1 y 5.5, solo el fermentador saco de yute presentó un pH más cercano a cinco, que señala existencia de ácidos no volátiles que otorgan al cacao aromas desagradables (Del Valle, et al., 2014), lo que pone en riesgo la calidad organoléptica del grano. Los fermentadores con los perfiles de pH más idóneos (Tabla 1) fueron rotor de madera, rumo o montón y caja de madera. Una buena fermentación más un buen secado natural permite tener granos con un pH aceptable. Ninguno de los fermentadores usados presentó un nivel elevado de pH en los cotiledones, que podría atribuírsele a una sobre fermentación de la masa (Álvarez, et al., 2010).

La Figura 2, muestra que la variable índice de grano, comparte un mismo nivel de significancia en tres de los cinco fermentadores estudiados, sobresaliendo el rotor de madera, aunque todos los tratamientos obtuvieron un valor superior al reportado como media nacional de (1.26 g) aceptable para el cacao ecuatoriano (Ruíz Pinargote, et al., 2014). Al respecto (Jiménez, et al., 2011) mencionan que se considera aceptable un índice de grano mayor a 1.2 g, mientras que Sánchez Mora, et al. (2014),

señalan que un índice de grano superior a 1.0 g es admisible desde el punto de vista filogenético e industrial. Los resultados obtenidos superan los pesos establecidos en las normas INEN 176 (República del Ecuador. Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006) para la categoría ASSPS (Arriba Superior Summer Plantación Selecta).

En la Figura 3 se observa que la variable índice de mazorca es más significativa en el rotor de madera, con una diferencia importante con respecto al mayor rendimiento en peso de las cosechas, esta tendencia de eficiencia se reafirma al observar la Figura 4, donde el análisis estadístico de los porcentaje de testa son superiores al 12% admitido a nivel de exportaciones (Ruíz Pinargote, et al., 2014), sin embargo la norma nacional para calidad de cacao en grano INEN 176 (República del Ecuador. Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006) no establece un porcentaje de testa requerido. Los porcentajes obtenidos parecen ser propios de los cacaos pertenecientes al complejo Nacional x Trinitario (Jiménez, et al., 2011). Un valor alto de testa significa que los granos poseen menor rendimiento de nibs al retirar la cascarilla, esta desventaja es retribuida por ventajas comparativas como el índice de grano alto, y un bajo índice de mazorca en comparación con muchos orígenes internacionales (Amores, et al., 2009). Los granos que pasaron por el rotor de madera, permiten tener un cacao fino y de aroma para fabricar chocolates de alta calidad y excelente precio internacional. Los valores de las medias para fermentación total de los cuatro tratamientos (Figura 5), superan el mínimo de 75 % de granos fermentados que debe existir para que las fábricas procesadoras de chocolate se beneficien del sabor a cacao (Gutiérrez Seijas, 2012; Ruíz Pinargote, et al., 2014), solo el fermentador balde plástico alcanzó un valor de media de 73.33 % que se ajusta al mencionado por (Ortiz, et al., 2009; Del Valle, et al., 2014) quienes señalan que el porcentaje óptimo de fermentación debe ser mayor o igual a 60 %. Con respecto a las normas INEN 176 (2006) los fermentadores rotor de madera, rumo o montón y caja de madera superan el porcentaje (85 %) establecido en la categoría A.S.S.P.S (Arriba Superior Summer Plantación Selecta) para fermentación total. El fermentador saco de yute se ubica dentro de la categoría A.S.S.S (Arriba Superior Summer Selecto) la cual establece un mínimo de 75 % para fermentación total, y el fermentador balde plástico se ubica dentro de la categoría A.S.S (Arriba Superior Selecto) que exige un mínimo de 65 % para fermentación total.

El rotor de madera con el 96 % de fermentación total fue el más eficiente, su sistema de rotación permite

conseguir la mezcla homogénea de la masa, con un simple movimiento de palanca, facilitando la remoción sin perder temperatura. La remoción eficiente evita el amontonamiento de las almendras y el desarrollo de hongos en la superficie y esquinas de los fermentadores (Ortiz, et al., 2009), permitiendo la liberación del dióxido de carbono que se originó en el proceso y que su sitio sea ocupado por aire rico en oxígeno que garantice el proceso de oxidación. La importancia de la remoción de la masa de cacao es fundamental para la calidad final del chocolate por lo que se recomienda que se realice cada 24 h (Colombia. Federación Nacional de Cacaoteros, 2005; y Álvarez, et al., 2010). En la caja de madera se pierde temperatura al realizar los volteos, por lo que la remoción no es homogénea. En el caso del rumo o montón, se obtuvieron altas temperaturas debido a la gran cantidad de mosquitas de la fruta (*D. melanogaster* M.), que interactuaron con la masa fermentante, incrementando las levaduras y la compactación irregular de la masa, ocasionando una fermentación heterogénea y un deficiente drenaje de los jugos fermentados (Meersman, 2015). En cambio el saco de yute y el balde plástico obtuvieron los valores de fermentación total más bajos, debido a sus condiciones inapropiadas para el drenaje de líquidos y la ausencia de remoción de la masa, lo que generó una fermentación incompleta.

En el proceso fermentativo, los granos adquieren una coloración marrón propia de un cacao bien fermentado provocada por la hidrólisis de las antocianinas y la posterior oxidación de las agliconas resultantes a compuestos quinónicos (Álvarez, et al., 2010). La Figura 5, muestra la significancia entre tratamientos de la variable porcentajes de granos violetas y pizarra, observándose que el rotor de madera es el método más efectivo, al respecto (Álvarez, et al., 2010) indican que las desigualdades observadas en los índices físicos son atribuidas a la recolecta de frutos inmaduros que dan origen a un alto porcentaje de granos violetas. Las diferencias encontradas se pueden deber a los fermentadores que no permitieron realizar una correcta aireación, mermando la proliferación de microorganismos, presentando una fermentación incompleta, cuyos granos presentan una coloración violeta intensa debido a la acumulación y escasa oxidación de los polifenoles (Jiménez, et al., 2011).

Los fermentadores rotor de madera, caja de madera y rumo o montón presentan medias por debajo del rango 10 al 25 % para granos violetas que exige la norma INEN 176 (República del Ecuador. Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006) para cacaos

del Complejo Nacional x Trinitario, mientras que saco de yute y balde plástico se ubican dentro del rango.

Los granos pizarra se producen cuando el tiempo de fermentación es muy corto (Álvarez, et al., 2010), esta afirmación tampoco se alinea con los resultados encontrados a las 72 h de fermentación, ninguno de los tratamientos sobrepasó los rangos establecidos como máximos. Posiblemente el aumento de granos pizarra se deba a la sobre fermentación localizada, generada por la deficiente remoción y la escasa madurez de las mazorcas (Rivera, et al., 2012). El tiempo de fermentación no contribuye a la formación de granos pizarrosos como lo expresan algunos autores. La norma INEN 176 (República del Ecuador. Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006), establece un rango del 4 al 18 % de granos pizarra para cacaos del complejo Nacional x Trinitarios, el rotor de madera y la caja de madera presentaron valores de media por debajo de este rango, los métodos rumo o montón, saco de yute y balde plástico se ubican dentro del rango mencionado. No se obtuvieron granos infestados ni mohosos, debido a la cosecha de frutos sanos y al adecuado manejo post cosecha.

#### ***Análisis sensorial de la calidad de licor de cacao.***

En la Tabla 1, las calificaciones obtenidas para las muestras de cada fermentador, evidencian diferencias en los sabores específicos que se analizaron en el licor de cacao. El sabor a cacao presenta mayor intensidad en todos los tratamientos, con respecto a los demás sabores específicos y la calificación más alta la obtuvo el rotor de madera que sobrepasó a los encontrados por Ruíz Pinargote, et al. (2014), aunque los demás tratamientos con excepción del balde plástico fueron semejantes a estos. En el sabor floral, primordial característica del cacao fino de aroma o sabor arriba (Vera Chang, et al., 2014), sobresalió en el rotor de madera. El método saco de yute obtuvo un valor de 0.0. Es importante tener en cuenta que la fracción volátil global de los granos bien fermentados y secos, es diez veces superior y más importante, que en los granos no fermentados y secos, como es el caso del linalol perteneciente a la familia de los terpenos que se asocia al sabor floral (Portillo, et al., 2014a). En el sabor frutal sobresalió en la caja de madera y en rumo o montón (Tabla 2), estos valores sobrepasan a los encontrados por Ruíz Pinargote, et al. (2014), pero se asemejan a los resultados obtenidos en el rotor de madera. Esta característica en cacao complejo Nacional x Trinitario podría estar vinculado al medio ambiente e higroscopia del grano, que proviene de plantas cercanas a árboles frutales, a esto se suma el manejo post cosecha (Christiaens, et al., 2014) y también se

relaciona con los ésteres según lo indica Portillo, et al., (2014a). En cambio para el sabor a nuez sobresalió el rumo o montón, su valor sobrepasa a los reportados por Ruíz Pinargote, et al. (2014), pero son iguales a los obtenidos en los demás tratamientos. El complejo polipéptidos-fenoles y pirazinas participan en esta nota sensorial (Portillo, et al., 2014a).

El sabor a caramelo fue más pronunciado en el rotor de madera (Tabla 2), sobrepasando a los encontrados por Ruíz Pinargote, et al. (2014), pero se asemejan a los obtenidos en el montón y la caja de madera. Las diferencias encontradas en la calidad de la fermentación podrían explicar los probables vínculos entre el sabor a cacao, con sabor floral, frutal y nuez, las muestras mejor fermentadas no solo desarrollaron una manifestación más fuerte del sabor a cacao sino también notas sensoriales aromáticas características de los cacaos finos y de aroma, relacionadas con su base genética (Christiaens, 2014, Vera Chang, et al., 2014). Gran parte de características organolépticas obtenidas pueden estar determinadas por la eficiencia del rotor de madera, debido a que los aromas y sabores específicos del cacao son originados por transformaciones enzimáticas durante el beneficio post cosecha de los granos (Ventura, et al., 2014; Ramos, et al., 2013). El sabor amargo sobresalió en el fermentador balde plástico y en el rumo/montón, estos valores sobrepasan a los encontrados por Ruíz Pinargote, et al., (2014), este sabor está relacionado con la cantidad de theobromina y cafeína presentes en los granos (Reyes & Capriles De Reyes, 2000).

El fermentador balde plástico obtuvo el valor más alto para sabor ácido, sabor astringente y sabor a verde; mientras que los valores más bajo los obtuvo el rotor de madera seguido de la caja de madera (Tabla 2), estos resultados se asemejan a los indicados por Ruíz Pinargote Pinargote, et al., (2014). Los ácidos volátiles y no volátiles participan en esta nota sensorial (Quintana Fuentes, et al., 2014), el sabor astringente está relacionada con las antocianinas y epitecatequinas según (Reyes & Capriles De Reyes, 2000), y el sabor verde se debe a las almendras violetas que no han terminado su fermentación, y/o su proceso de secado no fue el correcto (Jiménez, et al., 2011).

EL balde plástico obtuvo las calificaciones más altas en sabores básicos, una limitada fermentación beneficia la expresión de niveles más fuertes de astringencia y amargor en el perfil sensorial (Ruíz Pinargote, et al., 2014). Las correlaciones negativas del sabor a cacao con el amargor, acidez y astringencia son resultado de la deficiente calidad de la fermentación, lo que disminuye la expresión del

sabor a cacao y de otros aromas de interés, en mayor o menor magnitud (Vera Chang, et al., 2014). Diferencias en los promedios de fermentación total, intervienen en la calidad de su expresión organoléptica, permitiendo afirmar que la evidencia sobre el efecto que ejerce la fermentación deficiente en los granos sobre los rasgos sensoriales es amplia (Solórzano Chávez, et al., 2015)

## CONCLUSIONES

La fermentación en rotor de madera es más eficiente que los métodos tradicionalmente usados por los pequeños agricultores de cacao, potenciando la calidad comercial de los granos y desarrollando un mejor perfil sensorial en todos los sabores específicos y básicos del licor de cacao, aportando con esto un nuevo método, más eficiente y versátil. El utilizar mazorcas maduras y sanas permitió superar el máximo porcentaje de fermentación total establecido en la norma INEN 176 para granos de cacao fermentados y secos. La presencia de *D. melanogaster*, M. y su simbiosis con *S. cerevisiae* y otras levaduras, puede haber propiciado un incremento en la eficiencia de los métodos en relación con la eficiencia de la remoción según los hallazgos de Verstrepen & Meersman (2016), por lo cual se recomienda que las fermentaciones sean realizadas bajo circunstancias que permitan su presencia. El secado lento y natural de los granos bajo por cubierta de plástico calibre 6 y en marquesinas de malla plástica luego de la fermentación, evita el sobrecalentamiento de los líquidos presentes en su interior luego de la fermentación, propiciando una mejor expresión de los precursores de aroma y sabor.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., Sánchez, P., Girón, C., & De Farías, A. (2010). Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. Revista Científica UDO Agrícola, 10(1), 76-87. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/3909942.pdf>
- Amores, P., Palacios, A., Jiménez, B., & Zhang, D. (2009). Entorno ambiental, genética, atributos de calidad y singularización del cacao en el Nororiente de la provincia de Esmeraldas-Ecuador. Quevedo: Estación Experimental Tropical Pichilingue.
- Caballero-Pérez, J., Avendaño-Arrazate, C., González-Ávila, N., & López-Escobar, S. (2016). Influencia del tipo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en las características del secado y fermentado. *Agroproductividad*, 9(81), 48-54. Recuperado de <http://132.248.9.34/hevila/Agroproductividad/2016/vol9/no1/7.pdf>

- Christiaens, J. F., et al. (2014). The fungal aroma gene ATF1 promotes dispersal of yeast cells through insect vectors. *Cell Reports*, 9(2), 425-432. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25310977>
- Colombia. Federación Nacional de Cacaoteros. (2005). Caracterización fisicoquímica y beneficio del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia. Bogotá: FEDECACAO. Recuperado de <http://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-04-23-20-00-33/documentos-tecnicos>
- Contreras, C., Ortiz de Bertorelli, L., Graziani de Fariñas, L., & Parra, P. (2004). Fermentadores para cacao usados por los productores de la localidad de Cumbote, Venezuela. *Agronomía Tropical*, 54(2), 226-228. Recuperado de [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002-192X2004000200006](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2004000200006)
- Del Valle González-Canache, A., Orlando-Álvarez, C., Durand-Cos, I., & Utria-Borges, C. (2014). Evaluación de diferentes tipos de fermentadores y frecuencia de remoción en la calidad del grano de *Theobroma cacao* L. *Hombre, ciencia y tecnología*, 18, 36-45. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3909942.pdf>
- Gallone, B., et al. (2016) Domestication and divergence of *Saccharomyces cerevisiae* beer yeasts. *Cell*, 166(6), 1397-1410. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27610566>
- Gutiérrez Seijas, M. (2012). Efecto de la frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en cajón cuadrado sobre la temperatura y el índice de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4), 914-918. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6104327.pdf>
- Jiménez, J., et al. (2011). Micro fermentación y análisis sensorial para la selección de árboles superiores de cacao. Boletín técnico 140. Quevedo: Estación Experimental Tropical Pichilingue.
- Liendo, R. (2016). Efecto del volteo sobre los perfiles sensoriales del cacao fermentado. *Revista de la Facultad de Agronomía. LUZ*, 32, 41-62. Recuperado de [http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/enero\\_marzo2015/v32n1a20154162.pdf](http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/enero_marzo2015/v32n1a20154162.pdf)
- Meersman, E., et al. (2015). Breeding strategy to generate robust yeast starter cultures for cocoa pulp fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(18), 6166-6176. Recuperado de <http://aem.asm.org/content/81/18/6166.full>
- Nogales, J., Graziani, L., & Ortiz de Bertorelli, L. (2006). Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano del cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. *Agronomía Tropical*, 56(1), 5-20. Recuperado de [http://sian.inia.gob.ve/revistas\\_ci/Agronomia%20Tropical/at5601/pdf/nogales\\_j.pdf](http://sian.inia.gob.ve/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5601/pdf/nogales_j.pdf)
- Ortiz de Bertorelli, L., Rovedas, G., & Graziani de Fariñas, L. (2009). Influencia de varios factores sobre índices físicos del grano de cacao en fermentación. *Agronomía Tropical*, 59(1), 81-88. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113278239>
- Portillo, A., Portillo, E., Arenas, L., Rodríguez, B., & Chacón, I. (2014). Efecto del año y tiempo de fermentación sobre las características químicas del cacao Porcelana. *Revista de la Facultad de Agronomía, LUZ*, 1, 699-711. Recuperado de <http://www.revistavirtualpro.com/print/agroindustria-del-cacao-primera-entrega/14>
- Portillo, E., et al. (2009). Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2), 458-468. Recuperado de <http://udoagricola.orgfree.com/V9N2UDOAg/V9N2Portillo458.htm>
- Portillo, E., et al. (2011). Influencia de las condiciones del tratamiento post cosecha sobre la temperatura y acidez en granos de cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía, LUZ*, 28(1), 646-660. Recuperado de [http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento\\_diciembre\\_2011/v28supl1a-2011ta\\_646.pdf](http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_diciembre_2011/v28supl1a-2011ta_646.pdf)
- Portillo, E., et al. (2014a). Características sensoriales del cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) de Venezuela en función del tratamiento post cosecha. *Revista de la Facultad de Agronomía, LUZ*, 1, 742-755. Recuperado de [http://revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento\\_2014/ta/tasupl12014742755.pdf](http://revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_2014/ta/tasupl12014742755.pdf)
- Quintana Fuentes, L. F., Castelblanco, S. G., & Acuña, G. G. (2014). Las TIC's y su aporte para la determinación de la calidad sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) producido en San Vicente de Chucuri, Santander. *Alimentos Hoy*, 22(31), 81-95.
- Ramos, G., González, N., Zambrano, A., & Gómez, Á. (2013). Olores y sabores de cacaos (*Theobroma cacao* L.) venezolanos obtenidos usando un panel de catación. *Revista científica UDO Agrícola*, 13(1), 114 - 127. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6055502>

- República del Ecuador. Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro. (2016). Tabla de clasificación de almendras secas de cacao por el grado de fermentación. Quito: AGROCALIDAD. Recuperado de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/03/TABLA-DE-CLASIFICACION%20C-81N.pdf>
- República del Ecuador. Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2006). Cacao en grano. Requisitos. Norma 176. Quito: INEN.
- Reyes, H., & Capriles De Reyes, L. (2000). El cacao en Venezuela, Moderna Tecnología para su cultivo. Caracas: Chocolates el Rey.
- Rivera, R., et al. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) Tipo Nacional. Ciencia y tecnología, 5(1), 7-12. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4149700.pdf>
- Romero Bonifaz, C. A., Bonilla, J. A., Santos Ordóñez, E. G., & Peralta García, E. L. (2010). Identificación varietal de 41 plantas seleccionadas de cacao (*Theobroma cacao* L.) provenientes de cuatro cultivares distintos de la Región Amazónica Ecuatoriana mediante el uso de marcadores microsatélites. *Revista tecnológica ESPOL*, 23(1), 121-128. Recuperado de <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/44>
- Ruíz Pinargote, M. A., Mera Morán, O. L., Prado Cedeño, Á. J., & Cedeño Guzmán, W. P. (2014). Influencia de la época de cosecha en la calidad del licor de cacao tipo nacional. *ESPAMCIENCIA*, 5(2), 73-85. Recuperado de <http://investigacion.espam.edu.ec/index.php/Revista/article/view/121>
- Sánchez Mora, F. D., Garcés Fiallos, F. R., Váscquez Montúfar, G. H., Vera Chang, J. F., Zambrano Montufar, J., & Ramos Remache, R. (2014). Productividad de clones de cacao tipo Nacional en una zona del bosque húmedo Tropical de la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 7(1), 33-41. Recuperado de <http://revistas.uteq.edu.ec/index.php/cyt/article/view/96>
- Solórzano Chávez, E., Amores Puyutaxi, F., Jiménez Barragán, J., Nicklin, C., & Barzola Miranda S. (2015). Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. Ciencia y Tecnología, 8(1), 37-47. Recuperado de <https://biblat.unam.mx/es/revista/ciencia-y-tecnologia-quevedo/articulo/comparacion-sensorial-del-cacao-theobroma-cacao-l-nacional-fino-de-aroma-cultivado-en-diferentes-zonas-del-ecuador>
- Steensels, J., & Verstrepen, K. J. (2014). Taming wild yeast: potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations. *Annual Review Microbiology*, 68, 61-80. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24773331>
- Torres, O., Graziani de Farinas, L. G., Ortiz De Bertorelli, L., & Trujillo, A. (2004). Efecto del tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca del cacao tipo forastero de Cuyagua sobre características del grano en fermentación. *Agronomía Tropical*, 54(4), 481-495. Recuperado de [http://www.sian.inia.gob.ve/revistas\\_ci/Agronomia%20Tropical/at5404/pdf/torres\\_o.pdf](http://www.sian.inia.gob.ve/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5404/pdf/torres_o.pdf)
- Ventura, M, María, A., González, J., Rodríguez, O., & Almonte, J. (2014). Caracterización de los atributos de calidad del cacao (*Theobroma cacao* L.) del municipio de Castillo. *Revista Agropecuaria y Forestal APF*, 3(1), 55-60. Recuperado de [http://www.sodiad.org.do/revista/sodiad/vol3\\_n1\\_2014/articulo/55\\_60\\_APF\\_V03\\_N01\\_2014.pdf](http://www.sodiad.org.do/revista/sodiad/vol3_n1_2014/articulo/55_60_APF_V03_N01_2014.pdf)
- Vera Chang, J., Vallejo Torres, C., & Párraga Moran, D. (2014). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Revista Ciencia y tecnología*, 7(2), 21-34. Recuperado de <https://biblat.unam.mx/es/revista/ciencia-y-tecnologia-quevedo/articulo/atributos-fisicos-quimicos-y-sensoriales-de-las-almendras-de-quince-clones-de-cacao-nacional-theobroma-cacao-l-en-el-ecuador>
- Vermeir, S., Hertog, M.L.A.T.M., Vankerschaver, K., Swennen, R., Nicolai, B.M., & Lammertyn, J. (2009). Instrumental based flavour characterisation of banana fruit. *LWT Food Science Technology*, 42(10), 1647-1653. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093275299>
- Verstrepen, K. J., et al. (2016). Tuning chocolate flavor through development of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* starter cultures with increased acetate ester production. *Applied and Environmental Microbiology*, 82, 732-746. Recuperado de <http://aem.asm.org/content/82/2/732.short>
- Zambrano, A., Gómez, Á., Ramos, G., Romero, C., La-cruz, C., & Rivas, E. (2010). Caracterización de parámetros físicos de calidad en almendras de cacao criollo, trinitario y forastero durante el proceso de secado. *Agronomía Tropical*, 60(4), 389-396. Recuperado de [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002-192X2010000400009](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2010000400009)