

ATRIBUTOS FÍSICOS-QUÍMICOS Y SENSORIALES DE LAS ALMENDRAS DE QUINCE
CLONES DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.) EN EL ECUADOR

PHYSICAL-CHEMICAL AND SENSORY ATTRIBUTES OF THE COCOA NACIONAL
(*Theobroma cacao* L.) FIFTEEN CLONE BEANS IN ECUADOR

^oJaime Vera Chang¹, Christian Vallejo Torres^{1,2}, Dayse Párraga Moran²
Wiston Morales Rodríguez^{1,2}, José Macías Véliz¹, Rommel Ramos Remache¹

¹Facultad de Ciencias Pecuarias, Campus Finca Experimental “La María” km 7 vía Quevedo-El Empalme.
Universidad Técnica Estatal de Quevedo-(UTEQ) EC.120501. ^ojverac@uteq.edu.ec

²Laboratorio de Calidad Integral del Cacao. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Pichilingue (INIAP),
km 6 vía Quevedo – El Empalme. Quevedo, Los Ríos, Ecuador
cvallejo@uteq.edu.ec; oka.evel@hotmail.com; wmorales@uteq.edu.ec; rramos@uteq.edu.ec

RESUMEN

La investigación se realizó en la Finca Experimental “La Represa” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y en el Laboratorio de Calidad de Cacao de la EET-Pichilingue-INIAP con una duración de cuatro meses (febrero-junio/2013). El objetivo fue caracterizar los atributos físico-químicos de almendras y sensoriales de pastas de quince clones de cacao; doce de tipo Nacional y tres testigos (CCN-51, EET-103 e IMC-67). Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Las variables estudiadas fueron: índices de semilla y mazorca, número de almendras, peso de 100 semillas, porcentaje y pH de testa. Para la valoración química se registró: grasa, energía, y ceniza. Los atributos sensoriales (sabores, acidez, amargor, astringencia, dulce, cacao, floral, frutal, nuez y otros sabores se evaluaron usando una escala ordinal de 0 a 5; además, de los defectos crudo/verde y moho. Se realizó el análisis de Componentes Principales. El mayor índice de mazorca correspondió al DIRCYT-C129 (34.36 g); el DIRCYT-C103 tuvo mayor índice de semilla (1.65 g); en el peso de 100 semillas y contenido de grasa no hubo diferencias significativas ($p>0.05$); aunque CCN-51 fue ligeramente superior (41.44%). En atributos físicos fueron superiores los clones EET-103, CCN-51 y IMC-67. Todos los clones presentaron características químicas similares. El DIRCYT-C225 presentó el mejor perfil sensorial “sabor Arriba o floral”, con alto potencial para la industria chocolatera.

Palabras clave: almendra, teobromina, cacao, organoléptica y, calidad

ABSTRACT

This research was carried out at La Represa Experimental Farm, property of the State Technical University of Quevedo and at the Cocoa Quality Lab, belonging to EET-Pichilingue-INIAP for a period of four months (February–January 2013). The objective was to characterize the physical – chemical attributes of beans and sensory attributes of paste /pasta in fifteen clones of cocoa, being twelve of type Nacional and three witnesses (batons) (CCN-51, EET-103 e IMC-67). A completely randomized design with three repetitions was used. The studied variables were: seed and cob index, number of beans, 100 seed weight, head pH and percentage. For chemical evaluation fat, energy, and ash were registered. Sensory attributes (flavors, acidity, bitterness, astringency, and sweetness; cocoa, floral, fruits, nuts, and other flavors were evaluated using a 0 to 5 ordinal scale, besides raw/green and mold defects. Principal Components Analysis was made. The highest cob index was shown by DIRCYT-C129 (34.36 g); DIRCYT-C103 showed higher seed index (1.65 g.), concerning the 100 seed weight and fat content, no significant differences ($p>0.05$) were found, although CCN–51 was a little higher (41.44%). Concerning physical attributes, clones EET-103, CCN-51 y IMC-67 were better. All the clones showed similar chemical characteristics. DIRCYT-C225 presented the best sensory profile “Arriba or floral flavor” with high potentiality for chocolate industry.

Key words: beans, theobromine, cocoa, organoleptic, quality

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) fue clasificado botánicamente por Carlos Linneo, es un árbol de 4-8 m de alto de la familia Esterculiácea, nativo de las regiones tropicales de América, con semillas que contienen una cantidad significativa de grasas (40-50%) y polifenoles (alrededor del 10% del peso del grano seco), según Hardy (1961); Braudeau (1970); Vera (1993); Enríquez (2004) y Clough *et al.* (2009).

En la actualidad se siembra el Clon CCN-51, el cual tiene excelente comportamiento agronómico, productivo y tolerancia a las enfermedades; sin embargo, es cuestionado en su calidad, ya que la industria demanda cacao de origen Nacional (Guerrón, 2009; Zambrano *et al.*, 2010).

La agroindustria ecuatoriana es la actividad exportable de mayor dinamismo, el desarrollo de esta industria, genera riqueza al país ubicándolo en una buena posición en el mercado internacional, en virtud de ciertos factores favorables como: las unidades de producción individuales y asociativas, el desarrollo de la industria casera y de elaborados, que han permitido el incremento de los consumidores locales y extranjeros, siendo este el caso del cacao ecuatoriano, una materia prima reconocida en el mercado (Guzmán *et al.*, 2012).

En este contexto, existe una amplia demanda en el mercado externo, principalmente el europeo. Actualmente la demanda está enfocada hacia los productos orgánicos que no presenten niveles de toxicidad que puedan afectar la salud de sus habitantes y poseen características de calidad óptimas para la industria, por el caracterizar los parámetros físico-químicos de las almendras de cacao, acorde a las normas INEN, con el propósito de garantizar la materia prima, incrementando la probabilidad agroexportable (Radi, 2005; Gryna *et al.*, 2007).

La producción de cacao ha generado ingresos y empleo a decenas de miles de familias campesinas, principalmente en las provincias de Los Ríos, Manabí, Guayas y El Oro, que ha permitido generar múltiples beneficios; además, ha favorecido establecer grandes explotaciones y desarrollar la economía ecuatoriana. La producción de cacao en el país se encuentra ligada a las condiciones del ecosistema, siendo esto un factor determinante para incrementar el rendimiento (Montoya, 2012).

La calidad en el cacao radica principalmente en el proceso de beneficio en el cual son tratadas las semillas

de cacao. En la cosecha se recolectan frutos sanos, del cual se retiran las almendras que se colocan en recipientes especiales; posteriormente, en condiciones adecuadas, sufren una serie de transformaciones físicas y químicas que le permiten desarrollar su calidad. Un punto muy importante es que el cacao apropiadamente fermentado y secado, produce el verdadero sabor a chocolate, lo que está determinado por su genética (Calderón 2002; Calderón, 2004; Enríquez, 2004; Palacios, 2008; Quiroz, 2013).

En el procesamiento del cacao existen dos etapas críticas, que son: el secado y la fermentación. Estos procesos ocasionan que las paredes celulares se destruyan, permitiendo que los contenidos de la semilla estén expuestas a otros constituyentes químicos que afectan sus propiedades organolépticas. El aroma del cacao es una condición innata, los tratamientos post-cosecha, incluida la torrefacción, son los factores determinantes de la expresión de ese potencial aromático y sensorial. La calidad del cacao es integral debido a que la tendencia de los mercados industriales es identificar nuevos sabores especiales (Fito *et al.*, 2007; Perea *et al.*, 2010).

La Unidad de Investigación Científica y Tecnológica, desde el 2004, actual Dirección de Investigación Científica y Tecnológica (DIRCYT), de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, inició una selección preliminar de accesiones provenientes de la Finca Experimental “La Buseta”, Tenguel, provincia del Guayas. Esta selección permitió la clonación, traslado y establecimiento de nuevos genotipos de cacao Nacional en la finca Experimental “La Represa”, Quevedo, dando inicio a la búsqueda de genotipos de cacao, altamente productivos y tolerantes a enfermedades; sin embargo, no existía información sobre la calidad organoléptica de los clones mejor adaptados a la zona.

En la presente investigación se estudió los perfiles sensoriales, con un panel de cinco jueces catadores que evaluaron los sabores básicos (dulce, amargo, salado, ácido astringencia, amargor) y específicos (malta, frutal, floral, cacao). Estos fueron comparados con testigos comerciales de los tipos Nacional, Trinitario y Forastero, empleando un análisis de componentes principales (APC) y los gráficos biplot. Además, se validó la tecnología para el manejo pos cosecha, empleando el análisis sensorial que permitan reclasificar y obtener chocolates y derivados (pasta), inocuos y aptos para el consumo humano.

El objetivo consistió en seleccionar clones de Nacional en base de los atributos físicos, químicos y

sensoriales de sus almendras, en la zona de Quevedo, provincia de Los Ríos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación tuvo una duración de cuatro meses (febrero-junio del 2013) y se realizó en la Finca Experimental “La Represa” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, localizada en el km 7.5, recinto “Faita” de la vía Quevedo-San Carlos, provincia de Los Ríos. Su ubicación geográfica es 1° 03' 18" de latitud sur y 79° 25' 24" de longitud oeste, a una altura de 73 msnm, y bajo las siguientes características climáticas (Datos tomados del INAMHI ubicada en la Estación Experimental Tropical Pichilingue. Anuario Meteorológico, Mayo 2013): Temperatura promedio de 24.2, humedad relativa de 77.4, heliofanía 823 horas/luz/año.

La evaluación sensorial se realizó en el Laboratorio de calidad Integral de cacao, en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicado en el km 6 vía Quevedo-El Empalme.

Diseño experimental

Se empleó con un diseño completamente al azar (DCA) donde se evaluaron quince clones de cacao (doce experimentales y tres comerciales), que equivalen a los tratamientos, en tres repeticiones (Cuadro 1). La unidad experimental se conformó por un grupo de 20 mazorcas fisiológicamente maduras. Para la comparación de las medias de los tratamientos se utilizó prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Trat. Código	Trat. Código
T1 DIRCYT-C102	T9 DIRCYT-C238
T2 DIRCYT-C103	T10 DIRCYT-C251
T3 DIRCYT-C107	T11 DIRCYT-C257
T4 DIRCYT-C114	T12 DIRCYT-C255
T5 DIRCYT-C120	T01 Testigo 1 EET-103 (Nacional)
T6 DIRCYT-C129	T02 Testigo 2 CCN-51 (Trinitario)
T7 DIRCYT-C225	T03 Testigo 3 IMC-67 (Forastero)
T8 DIRCYT-C228	

Procedimiento poscosecha

Se utilizaron veinte mazorcas fisiológicamente maduras, cosechadas en campo, que fueron beneficiadas de manera homogénea para su posterior evaluación en el Laboratorio de Calidad Integral de Cacao (INIAP-PICHILINGUE).

Fermentación

En las mazorcas cosechadas, se procedió a separar las almendras del maguey y cáscara; después, la masa (3 kg por muestra) fue sometida a un proceso de micro-fermentación, tapándolas con hojas de plátano, realizando remociones diarias durante cinco días, manteniendo a una temperatura de 43° C, en promedio.

Secado

Las almendras fermentadas (fase aeróbica), fueron expuestas al sol a la acción del calor hasta reducir el contenido de humedad hasta el 7% aproximadamente, a fin de conservar las almendras y evitar daños en la calidad por acción de los mohos, durante 6 días, luego guardadas en fundas de papel con sus respectivos códigos.

Variables físicas evaluadas

Índice de semilla. Consistió en tener el peso promedio (g) de 300 almendras fermentadas y secas elegidas al azar, se aplicó la siguiente fórmula:

$$IS = \frac{\text{Peso de 300 semillas fermentadas y secas (g)}}{300}$$

Índice de mazorca. Es el número de mazorcas necesarias para completar un kilogramo de cacao fermentado y seco, se recolectaron al azar 20 mazorcas fisiológicamente maduras sin síntomas de enfermedades de cada genotipo; luego de extraer sus almendras se procedió a fermentar y secar las mismas. Para determinar el índice de mazorca se utilizó la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{20 \text{ mazorcas (g)}}{\text{Peso de las almendras secas de 20 mazorcas (g)}} \times 100$$

Número de almendras por mazorca. Se realizó el conteo directo del número de almendras por cada mazorca muestreada y se calculó el promedio.

Peso de 100 almendras. Se recolectaron al azar 100 almendras fermentadas y secas y se registró su peso tomadas al azar, en gramos, usando una balanza de precisión. Las mismas fueron utilizadas en la prueba de corte para obtener el porcentaje de fermentación.

Porcentaje de testa. Consistió en determinar el porcentaje de cascarilla que tenían las muestras respecto al índice de semilla, se usó la siguiente fórmula:

$$Testa (\%) = \frac{\text{Peso de la testa}}{\text{Peso de 30 almendras}} \times 100$$

Determinación del pH en la testa. El valor del pH de la testa se registró en 30 almendras de cacao. Primero se separó la testa del cotiledón; posteriormente tanto el cotiledón como la testa, de manera individual fueron triturados usando una licuadora y 100 mL de agua destilada, por un lapso de 2 a 3 minutos. Con un potenciómetro se procedió a realizar la lectura del pH.

Contenido de humedad . Para medir el porcentaje de humedad de las almendras de los clones (NTE INEN 173), se pesaron 2 g de muestra de cacao molido y previamente esterilizado, las muestras se colocaron en una estufa “MEMMERT” y se incubaron a 130° C por 2 horas. El porcentaje de humedad contenido en la almendra se determinó en función del peso fresco, por diferencia, empleando la siguiente fórmula,

$$W_o = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

Dónde:

W₀ = Peso de la Muestra (g)

W₁ = Peso del crisol vacío.

W₂ = Peso del crisol más la muestra calcinada.

Variables Químicas evaluadas

Porcentaje de grasa. Se colocaron las muestras en estufa a 110° C por 2 horas, luego fueron transferidos al desecador por 30 minutos, se pesó 1 g de muestra colocadas en el interior del dedal, tapadas con algodón y ubicadas en el porta dedal, llevando los ganchos metálicos en el equipo goldfish según la norma técnica (NTE INEN 174 y 535). Se empleó la siguiente fórmula:

$$Grasa (\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_n} \times 100$$

Dónde:

W₀ = Peso de la muestra

W₁ = Peso del vaso beaker vacío

W₂ = Peso del vaso más la grasa

Análisis sensorial. Se evaluó las principales características con cinco jueces catadores y se realizó la valoración de los siguientes atributos: acidez, amargor, astringencia, dulce, cacao, floral,

frutal, nuez; además, se identificaron los defectos: Crudo/verde (Jiménez, 2000, Jiménez, 2003).

La escala ordinal de evaluación fue 1=Ausente, 2=Bajo, 3=Medio, 4=Alto, 5=Muy alto y/o fuerte.

Descripción del proceso de la pasta (licor) de cacao.

Se pesó 200 g de cacao de cada muestra, fueron tostadas en una estufa con circulación de aire forzado marca “MEMMERT”, calibrada para homogenizar la temperatura en su interior a 120° C x 45 minutos.

Seguido del tostado, las almendras se colocaron en un descascarillador marca John Gordon International, con la finalidad de separar las almendras de las cascarillas y eliminar la humedad que queda en la almendra de cacao. Los cotiledones triturados (0.5-0.25 cm) sin cascarilla se colocaron en un molino tipo mortero (modelo 0, Pascall Co., UK) que se calienta inicialmente a 40° C con una pistola de aire caliente (Black and Decker) y se muele durante 60 minutos para obtener una pasta semilíquida conocida como licor de cacao. La pasta se almacenó a -20° C en envases plásticos estériles de 120 ml de capacidad, se identificaron debidamente con el código de cada muestra.

Antes de la degustación, las muestras se prepararon a una temperatura de 45° C x 15 minutos. Cada catador tomo una pequeña cantidad en el extremo de una paletita para probarla en la boca por 15 a 20 segundos, para el efecto las cuantificaciones de los distintos sabores que percibían fueron registrados en un formato diseñado para el efecto, estas se realizaron en forma individual, para cada muestra los catadores esperaban uno a dos minutos para desvanecer los sabores permanentes de la muestra anterior. Para ayudarse consumían galletas y tomaban agua. Se realizaron dos sesiones de degustación por día. En cada sesión se degustaba un máximo de cinco muestras de cacao (Gutiérrez, 2002).

Evaluaciones sensoriales

Durante la evaluación, los licores se llevaron a una temperatura de 40 a 45° C x 15 min, para determinar los atributos de cada muestra, cada catador tomaba una cantidad pequeña de licor de cacao en el extremo de una paleta plástica pequeña colocándola sobre su lengua por un espacio de 15 a 20 segundos, los resultados fueron registrados en un formato diseñado. Los catadores esperaron de 2 a 3 min después de enjuagar la boca para que se pierdan los sabores remanentes de la muestra anterior tomando agua. Se realizó dos sesiones por día, evaluando en cada sesión un máximo de 5 muestras de licor de cacao.

Análisis estadístico

Las variables experimentales de 12 clones DIRCYT y tres clones testigos comerciales procedentes de la Finca Experimental La Represa, fueron fermentados (5 días) y secados (7 días), luego se obtuvo el licor de cacao de las almendras. Para las variables físico-químico de las almendras se realizó análisis de correlación lineal de Pearson (+1 a -1) empleando la siguiente fórmula:

$$-1 \leq r = \frac{\text{Cov}(X, Y)}{s_x s_y} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} * \sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}} \leq +1$$

$$r = \frac{\text{Cov. X, Y}}{\sqrt{S_x^2 \cdot S_y^2}}$$

Dónde:

Cov. X, Y= Covarianza de X e Y

S_x^2 = Varianza de X

S_y^2 = Varianza de Y

Las variables organolépticas fueron sometidas a análisis multivariado por Componentes Principales.

Análisis de componentes principales (APC)

Se aplicó APC para obtener gráficos de dispersión (biplot) de las variables cuantitativas agrupadas de acuerdo a sus componentes óptimos de los perfiles sensoriales aplicando la siguiente fórmula (Infostat, 2002).

$$r_{ij} = \frac{\text{cov}(F_i, F_j)}{\sqrt{\text{var}(F_i)\text{var}(F_j)}}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características físicas

Índice de semilla. Se observa que hay diferencias ($p < 0.05$) entre los clones de cacao estudiados para la variable índice de semilla. El mayor índice lo obtuvo el clon DIRCYT-C103 con 1.65 g, seguido por el testigo CCN-51 con 1.62 g. Se aprecia que el promedio general fue de 1.32 g con un coeficiente de variación de 15.52% (Cuadro 2).

Los clones de cacao tipo Nacional EET-575; EET-576 presentaron promedios entre 1.2 y 1.3 g y el clon CCN-51, 1.4 g. Los otros materiales tuvieron un rango de entre 1.04 a 1.19 g. Similares resultados fueron obtenidos por Pastorelly (1992) quien indica que las

muestras tienen valores con amplitud que varían entre 0.76 y 1.89 teniendo un valor promedio de 1.32 g.

Índice de mazorca. Para la variable índice de mazorca, en el análisis de varianza no se encontró diferencias entre los clones evaluados. El mayor índice de mazorca lo registró el clon DIRCYT-C129 con 34.36 seguido por DIRCYT-C225 (31.65 g), DIRCYT-C228 (31.22 g), mientras que los más bajos considerados como deseables fueron los testigos EET-103 con 15.57 g y CCN-51 con 13.88 g. El promedio general es 21.95 g con un coeficiente de variación de 35.10% (Cuadro 2). Según Saucedo (2003), los índices deben estar entre 13.00 en Trinitarios y 22.00 mazorcas en Nacional, para completar un kilogramo de cacao fermentado y seco. Este es un carácter importante en la industria y en la selección de material para mejoramiento genético, siendo preferible seleccionar materiales con un índice menor a 20 mazorcas, como indicador de productividad.

Número de almendras. Con respecto al número de almendras, el análisis de varianza presentó diferencias ($p < 0.05$), el clon DIRCYT-C255 con 46.4, seguido por el testigo CCN-51 con 45.00. El promedio general del número de almendras fue 40.4 con un coeficiente de variación de 7.47% (Cuadro 2). Fowler (1999) y Sánchez (2007), indican que el número de semillas es variable y está en dependencia de la adaptación de la genética y el medio ambiente, encontrándose rangos entre 20 hasta 60 almendras por mazorca, este valor es considerado un componente importante durante la fecundación de la flor, posiblemente asociado al rendimiento y al peso promedio de la almendra influida por la época, conociendo que en el verano este rendimiento decrece. Mientras que Graziani *et al.* (2002), expresan que el número de semillas depende de la fecundación individual de los ovarios, estando el máximo controlado por el número de óvulos por ovario, es un carácter muy constante.

El número de semilla por mazorca fue el atributo más variable de las características evaluadas de los frutos de cacao, puede deberse a la inconsistencia de la polinización natural. Además, como es un carácter controlado genéticamente, está influenciado por el grado de incompatibilidad entre el polen y los óvulos (Hardy, 1961; Cros, 1997; Graziani *et al.*, 2002; y Cros, 2004b).

Peso de 100 almendras. Con respecto al peso de 100 almendras, el análisis de varianza no presentó diferencias estadísticas. El promedio general fue 136.42 g con un coeficiente de variación de 21.55% (Cuadro 2).

En el peso de las 100 almendras, los granos fermentados y secos mostraron ser similares. Según Cedeño (2010), los granos comerciales de cacao tienen un peso promedio comprendido entre 100 a 120 gramos registrándolo como un tipo de cacao “Fino” constituyéndose en su mayoría por granos bien fermentados (mayor del 80%), que presentan características de aroma y sabor del cacao, exentos de cualquier tipo de alteración, según lo señalado por la norma NTE-INEN 175. Mientras que Álvarez *et al.* (2007) en estudios realizados menciona que obtuvo promedio de 157.45 g en almendras expuestas al sol. No obstante Sánchez (2007), obtuvo promedio de 110.30 g con un coeficiente de variación de 7.01%.

Porcentaje de testa. En el porcentaje de testa, el análisis de varianza no presentó diferencias ($p > 0.05$), sin embargo, el clon DIRCYT-C102 tuvo el mayor porcentaje de testa (39.49) seguido por DIRCYT-C107 (38.21). El promedio general del porcentaje de testa fue 18.92 con un coeficiente de variación de 90.46% (Cuadro 2). Los resultados de este estudio mostraron que almendras grandes presentaron un porcentaje más elevado de testa, contradiciendo la teoría de Anchundia y

Verdezoto (2001) y Sánchez (2007), quienes mencionan que el contenido de testa de la almendra guarda relación inversamente proporcional con su tamaño. Es posible que tal teoría se aplique al comparar el porcentaje de testa en almendras del mismo genotipo, pero no cuando se compara almendras de genotipos distintos. En esta investigación, los valores de peso del grano fueron mayores y mostraron más peso de testa. Jiménez (2000), menciona que la cantidad de cascarilla en las almendras tiene importancia para la elevación del rendimiento industrial del cacao.

pH de testa. Los clones no presentaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$), en el pH de la testa. El mayor valor se registró en el clon DIRCYT-C107 (6.88) seguido por los testigos CCN-51 (6.87), IMC-67 (6.76) y el clon DIRCYT-C234 (6.63), con un promedio general de 6.31 y un coeficiente de variación de 12.25% (Cuadro 2). Estos resultados difieren con los obtenidos por Calderón (2004), que fueron entre 3.4 y 4.6 de pH en la testa, quién lo explica por la permeabilidad del ácido acético, que penetra al embrión y baja el pH (Wood, 1982). Este último valor, según Rohan (1960), al ser menor de 5.0 es indicio de una fermentación defectuosa. Biehl (1982)

Cuadro 2. Datos de índice de semilla y mazorca, número de almendras, peso de 100 semillas, porcentaje y pH de testa y humedad de semilla

Tratamientos	Índice de semilla	Índice de mazorca	Número de almendra	Peso 100 semillas (g)	Testa (%)	pH de testa	Humedad
DIRCYT-C102	1.26ab	15.80a	43.58abc	122.33a	39.49a	6.47a	6.08a
DIRCYT-C103	1.65b	19.55a	41.09abc	148.67a	14.91a	6.13a	7.02a
DIRCYT-C107	1.28ab	18.29a	36.42abc	157.67a	38.21a	6.88a	7.29a
DIRCYT-C114	1.10ab	27.59a	35.83a	109.33a	14.14a	6.46a	6.37a
DIRCYT-C120	1.34ab	18.13a	37.78abc	136.33a	14.70a	6.26a	6.76a
DIRCYT-C129	1.19ab	34.36a	41.62abc	116.33a	19.77a	6.31a	6.51a
DIRCYT-C225	1.29ab	31.65a	38.65abc	134.00a	15.80a	6.05a	5.88a
DIRCYT-C228	0.94a	31.22a	35.07a	95.00a	18.58a	5.43a	6.40a
DIRCYT-C234	1.24ab	21.99a	41.36abc	121.33a	9.30a	6.63a	6.81a
DIRCYT-C251	1.31ab	22.37a	39.05abc	157.00a	17.37a	6.35a	6.92a
DIRCYT-C238	1.44ab	21.57a	39.22abc	161.00a	16.00a	6.57a	6.91a
DIRCYT-C255	1.34ab	18.51a	46.35c	131.67a	16.95a	5.43a	6.45a
CCN-51	1.62b	13.88a	46.35bc	165.67a	16.71a	6.87a	5.67a
IMC-67	1.20ab	18.71a	43.63abc	128.00a	14.85a	6.76a	5.98a
EET-103	1.55ab	15.57a	40.62abc	162.00a	16.97a	6.10a	6.35a
Promedio	1.32	21.95	40.44	136.42	18.92	6.31	6.49
CV (%)	15.52	35.10	7.47	21.55	90.46	12.25	12.20

Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.05$).

menciona que este fenómeno se presenta cuando hay una sobre fermentación. Esto no concuerda con Wood (1982), que registró un pH de 4.8 sin encontrar defectos en la fermentación. Este mismo comportamiento lo obtuvo Saltos (2005), que obtuvo un pH de 4.6. Todas estas diferencias podrían atribuirse a la variabilidad genética del material de la zona, según Lemus *et al.* (2002) y Juran *et al.* (2005), y a la aplicación de distintos métodos de beneficio.

Contenido de humedad. En el contenido de humedad del grano (Cuadro 2), según el análisis de varianza, no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$), donde todas las muestras estaban dentro del rango de 6 a 7% de humedad, de acuerdo a lo recomendado por Braudeau (1970) y Álvarez *et al.* (2007). Los referidos autores señalan que las almendras con un rango de humedad entre 6 y 7% no son propensas a sufrir ataques de mohos. Palacios (2008), es más riguroso y señala que las almendras de cacao deben tener el 5% de humedad para garantizar su almacenamiento. Bekele y Buttler (2000) mencionan que el contenido de humedad es un factor de calidad clave para la preservación, empaque, transporte y almacenamiento. En la Norma NTE-INEN 176 se recomienda un 7% de humedad de cacao beneficiado. Los valores obtenidos en este trabajo, se encuentran dentro del rango establecido por la norma NTE-INEN 173.

Características químicas

Contenido de Grasa (%). En el Contenido de grasa, hubo diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre los clones. El mayor contenido de grasa se obtuvo en el testigo CCN-51 con 41.44%; mientras que el clon DIRCYT-C255 con 20.31% tuvo el menor promedio. El promedio general del contenido de grasa fue de 30.82% con un coeficiente de variación de 21.81% (Cuadro 3). Los resultados no coinciden con lo obtenido por Steimberg *et al.* (2003), citados por Jahurul *et al.* (2012) quienes indican que el porcentaje de grasa, en las almendras de cacao, debe estar entre 50 y 57% ya que es el responsable directo de las propiedades y el aroma del licor del cacao. López y Pasos (1984); Lerceteau *et al.* (1999) y López y Canales (2011) sostienen que el contenido de grasa usualmente varía de 50 al 55% en cacao fresco y luego de ser tostado, el contenido oscila entre 48 y 52% en el licor de cacao. Los bajos porcentajes de grasa encontrados pueden estar relacionados con los factores genéticos.

Biehl (1982); Nielsen *et al.* (2010) señalan que este es uno de los parámetros más importantes: a mayor contenido de grasa, el grano tardará más en el proceso de fermentación. Por esta razón, en cacaos forasteros, se necesitan hasta de seis días de fermentación, mientras

que el cacao fino solo tres días y en el caso más extremo está el cacao Arriba, que por su bajo contenido graso (48%), solo requiere de 15 a 24 horas. Los tipos forastero tienen más del 52% de grasa y cacaos finos menos de 50%.

Contenido de Ceniza (%). Los valores obtenidos para esta variable no presentaron diferencias ($p > 0.05$) entre los tratamientos; sin embargo, el mayor contenido de ceniza se registró en el clon DIRCYT-228 con 4.09%, seguido del IMC-67 (testigo) con 4.04%. El promedio general fue 3.49% y el coeficiente de variación de 30.82 por ciento.

Estos valores no coinciden con Braudeau (1970), quien obtuvo 2.63% de cenizas en cotiledones de cacao seco no fermentados mientras que en el estudio el promedio fue de 3.49%. Por otra parte, Steinkamp *et al.* (1999) y Guerrón (2009) afirman que el cacao CCN-51 posee características predominantes de Trinitario con promedios de cenizas del 4.18% y en el cacao tipo Nacional de 3.62%; promedios que tienden a coincidir con los obtenidos en el presente estudio (Cuadro 4).

Energía (kcal). Los clones presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$); sin embargo, el mayor valor se encontró en los clones EET-103 con 7.07 kcal y el DIRCYT-120 con 7.24 kcal, que superaron a los clones testigos CCN-51 que tuvo 5.35 kcal y DIRCYT-103 con 5.53 kcal (Cuadro 4).

Características sensoriales. La mayor intensidad (5=alto y 4= medio alto) sabor a cacao fue para los clones IMC-67, DIRCYT-C129 y DIRCYT-C225 con 5.00; 4.33 y 4.25, respectivamente. Liendo (2003) y Perea (2011) explican que este fenómeno se expresa por la variabilidad entre grupos de cacao de la misma variedad. Investigaciones realizadas en Venezuela con la variedad Criollo determinaron que existe un bajo sabor a cacao, sin embargo, perfiles con sabor a nuez son más intensos. Por otra parte, De La Cruz y Pereira (2009) indican que en la elaboración de un chocolate de calidad lo primero es la materia prima.

Para el perfil sensorial floral se destacó el clon DIRCYT-C114 con una intensidad de sabor medio (3=medio), principal atributo de cacao fino de aroma o "sabor Arriba". Contrariamente a esto, el CCN-51 no expresó este atributo especial (Figura 1). Estudios realizados por Sánchez (2007); Alvis *et al.* (2010); Araujo *et al.* (2010); Rivera *et al.* (2012); y atribuyen que esta característica especial podría estar contenida en la grasa del cacao donde se encuentran ácidos grasos, principalmente oleico y esteárico, esto también podría

Cuadro 3. Matriz de correlaciones de los atributos físicos, químicos y sensoriales de 15 clones de cacao Tipo Nacional

Variables	Cacao	Floral	Frutal	Nuez	Dulce	Amargor	Acidez	Astringencia	Verde	Moho	Grasa	Ceniza
Cacao	r ² 1.0											
Floral	r ² 0.2	1.0										
Frutal	r ² 0.9**	0.1	1.0									
Nuez	r ² 0.8**	0.1	0.8**	1.0								
Dulce	r ² 0.3	0.1	0.3	0.3	1.0							
Amargor	r ² 0.6**	0.3	0.7**	0.7**	0.6**	1.0						
Acidez	r ² 0.7**	0.2	0.7**	0.4	0.1	0.3	1.0					
Astringencia	r ² 0.5*	0.3	0.8**	0.5*	0.5*	0.8**	0.5*	1.0				
Verde	r ² 0.7**	0.5*	0.9**	0.6*	0.2	0.8**	0.6**	0.3	1.0			
Moho	r ² 0.5*	0.3	0.2	0.4	0.1	0.4	0.1	0.9**	0.2	1.0		
Grasa	r ² 0.2	0.6**	0.2	0.3	0.5*	0.4	0.3	0.2	0.5*	0.1	1.0	
Ceniza	r ² 0.2	0.1	0.3	0.4	0.6**	0.6**	0.3	0.2	0.5*	0.1	0.2	1.0
Energía	r ² 0.3	0.2	0.4	0.2	0.2	0.1	0.6**	0.5*	0.3	0.1	0.2	0.5*
I. Semilla	r ² 0.3	0.2	0.2	0.1	0.4	0.1	0.5*	0.3	0.2	0.1	0.3	0.2
I. Mazorca	r ² 0.5*	0.2	0.2	0.3	0.3	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
N° Almendra	r ² 0.3	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.4	0.2	0.3	0.2	0.3	0.5*
P. 100 semillas	r ² 0.1	0.3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.1	0.3	0.2	0.2	0.4
(%) Testa	r ² 0.1	0.1	0.1	0.1	0.4	0.3	0.3	0.1	0.2	0.1	0.5*	0.5*
pH testa	r ² 0.2	0.4	0.1	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.1	0.3	0.5*	0.2
Humedad	r ² 0.5*	0.5*	0.4	0.2	0.4	0.4	0.4	0.3	0.6**	0.3	0.5*	0.4

> 0.641= altamente significativo (**)

0.514 = significativo (*)

Todos los valores con negrita son correlaciones negativas

Cuadro 4. Datos registrados para las variables grasas, cenizas y energía

Tratamientos	Grasa (%)	Ceniza (%)	Energía (kcal)
DIRCYT-C102	32.79 ab	3.43 a	6.67 a
DIRCYT-C103	29.33 ab	3.92 a	5.53 a
DIRCYT-C107	29.37 ab	5.56 a	7.61 a
DIRCYT-C114	33.53 ab	3.29 a	6.93 a
DIRCYT-C120	29.20 ab	3.47 a	7.24 a
DIRCYT-C129	28.96 ab	3.26 a	5.82 a
DIRCYT- C225	30.48 ab	3.40 a	6.79 a
DIRCYT-C228	30.03 ab	4.09 a	6.57 a
DIRCYT-C234	28.74 ab	3.07 a	6.43 a
DIRCYT-C251	24.52 ab	2.92 a	6.87 a
DIRCYT-C238	33.77 ab	3.38 a	6.42 a
DIRCYT-C255	20.31 a	2.55 a	5.40 a
CCN-51	41.44 b	2.79 a	5.35 a
IMC-67	32.13 ab	4.04 a	6.70 a
EET-103	37.72 ab	3.22 a	7.07 a
Promedio	30.82	3.49	6.49
CV (%)	21.81	30.82	19.72
Límite Inferior	28.06	3.10	6.12
Límite Superior	33.58	3.89	6.87

Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.05$).

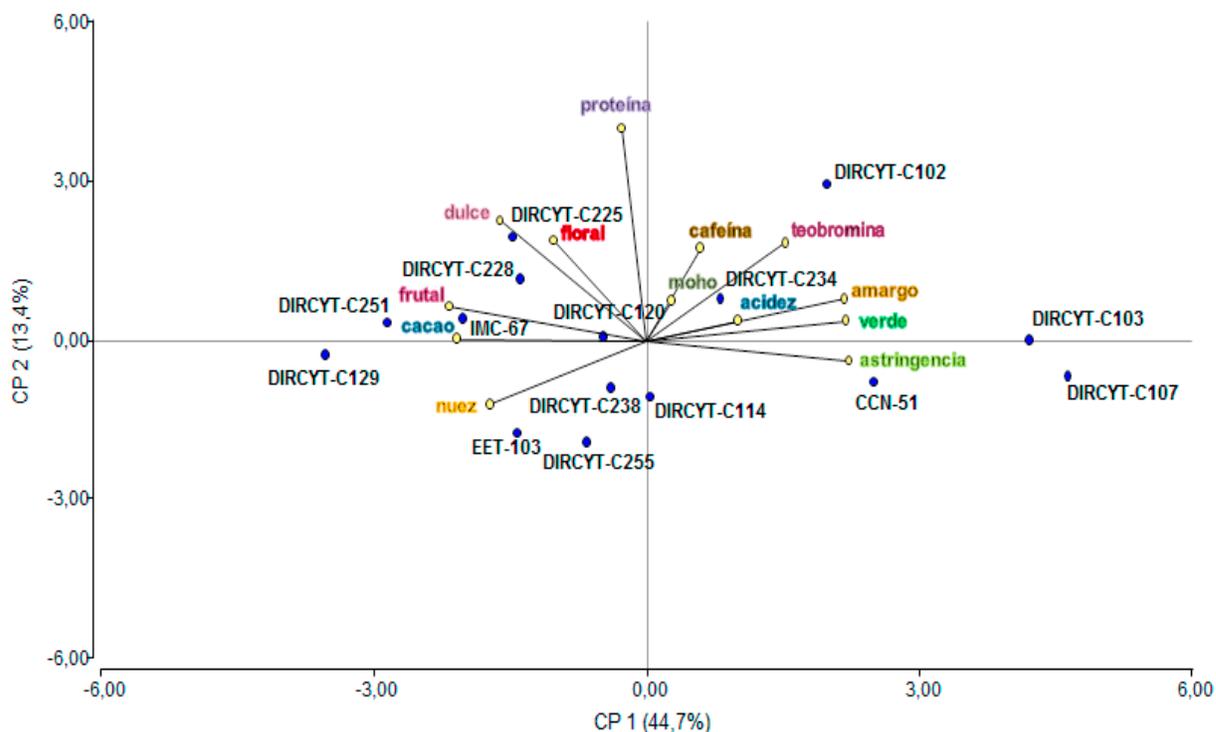


Figura 1. Análisis de componentes principales de los perfiles del sabor de 15 clones a cacao Nacional

estar relacionado a la expresión de aromas agradables (Bruni *et al.*, 2001), quienes concuerdan con Perea (2011) que obtuvo 52% a 54% de grasa en el cacao CCN-51, grasa neutra no aterogénico y ácido linoleico. Esta variabilidad es notoria cuando la industria usa cacao proveniente de Brasil, Ghana, Costa de Marfil, Indonesia y Ecuador (Spangenberg y Dionisi, 2001), cuyos contenidos de grasa y la composición en ácidos grasos de la manteca de cacao sí varía con el genotipo además de la influencia climática y la época de cosecha. Esta variabilidad puede explicar por qué es heterogénea la calidad del licor y su aroma. A menudo, los fabricantes mezclan diversos tipos de granos para lograr la calidad, el aroma y el sabor requerido.

Los clones DIRCYT-C129, C251 y C225 presentaron sabor frutal (4= media alta) con valores de 4.33, 3.33 y 4.50, respectivamente. Mientras que el testigo IMC-67 fue superior (3.67) a los testigos CCN-51 (0.67) y EET-103 (2.38) mostrando intensidad media, ausente y medio bajo respectivamente (Cuadro 5). Posiblemente este perfil frutal en la variedad Nacional de Ecuador podría estar estrechamente relacionado con el sabor dulce o acaramelado y nuez, cuando está presente este atributo podría estar ligado al medio ambiente e higroscopia de la almendra cerca de árboles frutales, a esto se suma un segundo componente que es el

manejo pos-cosecha o curado (Rohan, 1960; Calderón, 2002; Álvarez *et al.*, 2010; Alvis *et al.*, 2010) ya que las almendras frescas sufren transformaciones importantes como la temperatura durante la fermentación y el secado. En la primera etapa se producen reacciones bioquímicas que causan una disminución del amargor y de la astringencia lo que refleja una mayor cantidad de almendras bien fermentadas siendo esto el origen a los precursores de los aromas y sabores agradables inclusive es posible que la fermentación continúa en la fase anaeróbica o de oxidación durante su almacenamiento a 16° C en ambientes secos, sin embargo esto depende de la genética. El CCN-51 se encuentra distante lográndose un perfil cacao y dulce con intensidades baja a media según la escala de clasificación.

Para el sabor amargo los clones DIRCYT-C103, C107, C102, C234 y C228 presentan una alta intensidad (4= Medio alto y 5=alto) con puntuaciones de 5.00; 5.00; 4.33; 4.33 y 4.00, en su orden, siendo estos superiores a los testigos EET-103, CCN-51 e IMC-67. Mientras, los clones DIRCYT-C129 y C251 expresan una baja intensidad para el sabor amargo (1.67). Las notas más astringentes están vinculadas a las muestras del DIRCYT-C107 y DIRCYT-C103 posiblemente estén relacionados al sabor amargo, exceptuando el clon DIRCYT-C251 con la menor astringencia. Resultados

Cuadro 5. Perfil de sabores de las muestras de pasta de cacao de 15 clones de cacao Tipo Nacional

Código	Sabores (0-5)								Defectos	
	Cacao	Floral	Frutal	Nuez	Dulce	Amargo	Acidez	Astring.	Verde	Moho
DIRCYT-C102	2.33	0.00	1.67	0.33	0.67	4.33	2.33	3.00	1.33	1.00
DIRCYT-C103	2.67	0.00	1.00	0.00	0.00	5.00	1.67	5.00	2.67	0.33
DIRCYT-C107	2.00	0.00	0.33	0.67	0.00	5.00	3.33	5.00	3.00	0.00
DIRCYT-C114	3.33	2.00	2.00	0.33	0.33	3.33	1.00	2.00	0.67	0.00
DIRCYT-C120	4.00	0.33	2.67	1.00	0.00	3.33	2.00	3.33	0.33	0.00
DIRCYT-C129	4.33	0.00	4.33	2.00	1.33	1.67	1.67	1.33	2.00	0.25
DIRCYT-C225	4.25	0.25	4.50	1.50	1.00	2.00	1.25	1.50	0.00	0.00
DIRCYT-C228	4.00	0.00	2.67	1.67	0.67	4.00	1.33	3.00	1.33	0.00
DIRCYT-C234	4.00	0.33	2.33	0.67	0.33	4.33	0.67	3.00	0.67	0.00
DIRCYT-C251	4.00	0.33	3.33	1.33	1.33	1.67	1.00	0.33	0.00	0.00
DIRCYT-C238	3.33	0.67	3.00	1.33	0.00	3.00	1.00	2.33	0.00	0.33
DIRCYT-C255	4.00	0.33	2.00	1.00	0.33	2.67	2.00	2.00	0.33	0.00
EET-103*	3.58	0.53	2.38	1.07	0.53	3.27	1.71	2.69	0.82	0.11
CCN-51*	2.67	0.00	0.67	0.67	1.33	2.67	3.33	3.33	2.00	0.00
IMC-67 *	5.00	1.33	3.67	2.33	0.67	2.00	0.67	2.67	0.00	0.00
Promedio	3.59	0.41	2.44	1.06	0.57	3.24	1.66	2.72	1.01	0.13
Error estándar	0.22	0.14	0.32	0.17	0.13	0.30	0.22	0.33	0.26	0.07
Desviación estándar	0.88	0.57	1.23	0.65	0.49	1.17	0.84	1.29	1.01	0.27
Límite Inferior 0.05*	3.10	0.04	1.76	0.70	0.29	2.59	1.20	2.01	0.45	0.01
Límite Superior 0.05*	4.03	0.69	3.12	1.42	0.84	3.84	2.13	3.44	1.57	0.28

similares obtuvieron Lima *et al.* (2011) quienes indican que los precursores responsables son las metilxantinas, principalmente la teobromina y la cafeína a un nivel medio de 1.5% (w/w) en almendras secas, evidencia un sabor muy amargo y astringente en intensidades fuertes, característica natural en la pasta o en los chocolates amargos, posiblemente relacionada con problemas durante la poscosecha, acompañado de un bajo sabor a cacao que pueden disfrazar el verdadero sabor del chocolate, siendo el principal factor que determina los atributos de calidad de cacao para obtener pasta y/o chocolate. Cabe destacar que los polifenoles están directamente relacionados con la astringencia del cacao, según investigaciones realizadas por Hasing (2004); Sukha *et al.* (2006); Elwers *et al.* (2009) citados por Zambrano *et al.* (2010).

La mayor acidez fue para los clones DIRCYT-C107 y CCN-51, y puede deberse a malas prácticas poscosecha, sin embargo la presencia de sabor ácido está relacionado al componente secado (métodos artificiales) cerrándose las paredes de la testa e interrumpiéndose los cambios bioquímicos y enzimáticos dentro de la almendra, por lo tanto, la pasta tendría sabor ácido o amargo (Biehl, 1982; Fowler, 1999; Armijos, 2002; Lemus *et al.*, 2002; Cedeño, 2010).

El sabor verde o crudo lo expresó el DIRCYT-C107, este sabor es considerado un defecto que inicia en la cosecha específicamente cuando el fruto no tiene la madurez fisiológica adecuada y limita la cantidad de azúcares para la actividad microbiana sin tener ninguna respuesta a la expresión genética entre muestras. Mientras que el sabor a moho se tributa a la humedad de la almendra durante su almacenamiento, según Norma ecuatoriana (Ramos, 2004; INEN 175) puesto que, la expresión sensorial del cacao contiene un fuerte componente genético (Cros, 2004a), éste puede traducirse en diferencias entre perfiles sensoriales de muestras de distintos orígenes (Bekele y Buttler, 2000; Alvis *et al.*, 2010; Cedeño, 2010), expresiones que además son modificadas por la interacción genotipo-ambiente.

Los clones DIRCYT-C129, DIRCYT-C251, IMC-67, DIRCYT-C238, EET-103, DIRCYT-C255, DIRCYT-C225, DIRCYT-C114 se agrupan en el perfil sabor frutal, sin embargo se observa matices interesantes de sabores especiales, característicos de una almendra adecuada para la industria chocolatera, como el floral, cacao, dulce y nuez. Mientras que CCN-51 y DIRCYT-C107, tienen considerable intensidad de un gusto astringente. Los clones DIRCYT-C103, DIRCYT-C102, DIRCYT-C234 presentan una

intensidad de acidez, moho, amargor y verde y un alto nivel de teobromina y con niveles de intensidad a cafeína, siendo estas características negativas.

Las diferencias en la calidad de la fermentación podrían explicar las posibles relaciones entre el sabor a cacao con floral, frutal y nuez. Las muestras mejor fermentadas desarrollan no solo una expresión más intensa del sabor a cacao sino también notas sensoriales aromáticas típicas de los cacaos finos o de aroma, cuando estas son partes integrales de su base genética. Las relaciones negativas del sabor a cacao con el amargor, acidez y astringencia (Armijos, 2002) son consecuencia de la mala calidad de la fermentación que estimula la expresión de estos últimos, atenuando la expresión del sabor a cacao y de otros aromas de interés, en mayor o menor medida. Por el contrario, entre el amargor y aquellas notas sensoriales asociadas a los cacaos finos existe una relación inversa entre la acidez y la astringencia con los sabores floral y frutal (Pinto y Álvarez, 2001; Amarilla, 2011).

CONCLUSIONES

En las características físicas, los clones EET-103, CCN-51 y IMC-67 (testigos) presentaron los mejores atributos físicos.

Todos los clones presentaron características químicas similares.

El clon DIRCYT-C225 obtuvo el mejor perfil sensorial “sabor Arriba o floral” con alto potencial para la industria chocolatera.

En la matriz de correlaciones las variables físicas y químicas están asociadas, como también los atributos sensoriales cacao, frutal (DIRCYT-C251 y IMC-67) nuez (DIRCYT-C129), dulce (DIRCYT-C228) y floral, los clones importantes que destacar que el amargor es significativo parte del chocolate acorde al APC.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, C., Pérez, E., Lares, M. 2007. Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas y secas y tostadas cultivadas en la Región de Cuyagua, Estado Arauca. Caracas-Venezuela. *Revista Agronomía Tropical* 57(4): 249-256.
- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., Sánchez, P., De Farías, A. 2010. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *Revista 76 Científica UDO Agrícola* 10(1): 76-87.
- Alvis, A., Pérez, L., Arrazola, G. 2010. Determinación de

- las propiedades de textura de tabletas de chocolate mediante técnicas instrumentales. Información tecnológica, 22(3): 11-18.
- Amarilla, J. 2011. Estudio de productividad, sanidad y perfiles organolépticos de clones Internacionales de cacao (*Theobroma cacao* L.) introducidos en la zona de Quevedo. Tesis Ing. Agr. Quevedo, Ecuador. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Anchundia, S., Verdezoto, A. 2001. Estudio de algunas características físicas en almendras de cacao que se comercializan en la zona de Quevedo. Tesis Tnglo. Quevedo-EC. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, p. 4.
- Araujo, F., Nitzke, J.A., Blauth, C., Vogt, E. 2010. Chocolate and Red wine- A comparison between flavonoids content Food Chemistry. 120: 109-112.
- Armijos, A. 2002. Características de acidez como parámetro químico de calidad en muestra de cacao (*Theobroma cacao* L.) fino y ordinario de producción Nacional durante las fermentaciones. Tesis Lic., en Química. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. 103 p.
- Bekele, F., Buttler, R. 2000. Proposed short list cocoa descriptors for characterization. In Eskes, A.B., Engels, J.M., Lass, R.A. eds. Working procedures for cocoa germplasm evaluation and selection (Proceedings of the CFC/ICCO/IPGRI project Workshop 1-6 February 1988-Montpellier, France). Rome, Italy. IPGRI. p 41-48.
- Biehl, B. 1982. Biochemistry of chocolate flavour precursors. In International cocoa research conference, (England), 12: 929 p.
- Braudeau, J. 1970. Cacao. Técnicas Agrícolas y Producciones. Barcelona-España. p. 299.
- Bruni, R., Medici, A., Guerrini, A., Scalia, S., Poli, F., Romagnoli, C., Muzzoli, M. and Sacchetti, G. 2001. Tocopherol, fatty acids and sterol distributions in wild Ecuadorian *Theobroma subincanum* (Sterculiaceae). Food Chem. 77: 337-341.
- Calderón, D. 2004. Caracterización y evaluación de accesión de cacao Amazónico con énfasis en su comportamiento sanitario y productivo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica de Babahoyo. 79 p.
- Calderón, L. 2002. Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (*Theobroma cacao* L.) de tipo fino y ordinario de producción Nacional durante la fermentación en relación con la calidad. Tesis Lic. en Química, Quito Ecuador, Pontificia Universidad Católica.
- Cedeño, P. 2010. Determinación de perfiles organolépticos en ocho grupos de cacao mediante la degustación de licor de cacao y chocolates oscuros elaborados artesanalmente. Tesis Ing. Agroindustrial. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Manabí Ecuador.
- Clough, Y., Dadang, P., Ramadhani, P. and Teja, T. 2009. Local and landscape factors determine functional bird diversity in Indonesian cacao agroforestry. Biological Conservation, 142(5): 1032-1041.
- Cros, E. 1997. Factores condicionantes de la calidad del cacao. Memorias del 1er Congreso Venezolano del Cacao y su Industria. Noviembre. Maracay, Estado Aragua. Venezuela. p. 16-32
- Cros, E. 2004a. Factores que afectan el desarrollo del sabor a cacao bases bioquímicas del perfil aromático. Memoria. Taller Internacional calidad Integral del cacao: Teoría y Práctica INIAP/EET-P. Quevedo, Ecuador.
- Cros, E. 2004b. Factores condicionantes de la calidad del cacao. In Congreso Venezolano del Cacao y su Industria, CIRAD-CP, Maison de la Technologies, Montpellier Cedex 1, Francia. 15 p
- De La Cruz, E y Pereira, I. 2009. Historias, Saberes y Sabores en torno al cacao (*Theobroma cacao* L.) en la subregión de Barlovento, Estado Miranda Sapiens. Revista Universitaria de Investigación. 10(2): 97-120.
- Enríquez, G. 2004. Cacao Orgánico. Guía para productores ecuatorianos. Botánica del cacao. Grupos genéticos. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP. Manual N° 54. Quito - Ecuador. p. 51-54.
- Fito, P., Le Maguer, M., Betoret, N., and Fito, P.J. 2007. Advanced food process engineering to model real food and processes: The "SAFES" methodology. Journal of Food Engineering. 83(2): 173-185.
- Fowler, M.S. 1999. Cocoa beans: From tree to factory. In Industrial Chocolate Manufacture and Use, 3rd edn. Beckett, S. T. (Ed.). Oxford: Blackwell Science, pp. 8-35
- Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertorelli, L., Angulo, J., Parra, P. 2002. Características físicas del fruto de cacao tipos criollo, forastero y trinitario de la localidad de Cumboto, Venezuela. Agronomía tropical 53(3): 325-342.
- Gryna, F., Chua, R. y Defeo, J. 2007. Método Juran. Análisis y planeación de la calidad. Conceptos básicos. Mc Graw-Hill. México. p 12.
- Guerrón, V. 2009. Elaboración de pasta a partir de mezclas de cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) y CCN-51 producidos en Quevedo. Tesis Ing. Agroindustrial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo-Ecuador. p 38-40.
- Gutiérrez, A. 2002. Chocolate, Polifenoles y Protección a la Salud. Acta Farm. Bonaerense 21(2): 149-152.
- Guzmán, C., Gáleas, M.Y., Casanova, L. 2012. Efecto

- del tipo y tiempo de fermentación de la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao L.*) tipo nacional. EBSCO- ISSN. Manual técnico N° 5. Quevedo, Ecuador. pp. 7
- Hardy, F. 1961. Manual de Cacao. Turrialba, Costa Rica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. 439 p.
- Jahurul, M., Zaidul, M., Norulaini, N., Sahena, F., Jinap, S., Azmir, J., Sharif, K.M., Mohd, A.K. 2013. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *Journal of Food Engineering* 117: 467-476.
- Jiménez, J. 2000. Efecto de los métodos de fermentación sobre la calidad de tres grupos de cacao (*Theobroma cacao L.*) cultivado en la zona de Quevedo, provincia de Los Ríos. Tesis Ing. Agr. Universidad de Bolívar- Ecuador. p 20.
- Jiménez, J. 2003. Prácticas del Beneficio del cacao y su calidad organoléptica. Mimeografiado, Quevedo EC. 16 p.
- Juran, J.M., Bingham, R.S., Gryna, F.M. 2005. Manual de Control de la Calidad. 2ª ed. Reverté. Barcelona, España. 1534 pp.
- Lemus, M., Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertorelli, L., Trujillo de Leal, Y.A. 2002. Efecto del mezclado de cacaos tipos Criollo y Forastero de la localidad de Cumboto sobre algunas características físicas de los granos durante la fermentación. *Agron. Trop.* 52(1): 45-58.
- Lerceteau, E., Rogers, J., Pétiard, V., Crouzillat, D. 1999. Evolution of cacao bean proteins during fermentation: a study by two-dimensional electrophoresis. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 79: 619-625.
- Lima, L., Almeida, M., Nout, J.M. and Zwietering, M. 2011. *Theobroma cacao L.*, "The Food of the Gods": Quality Determinants of Commercial Cocoa Beans, with Particular Reference to the Impact of Fermentation, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(8): 731-761.
- Liendo, R.J. 2003. Origen del aroma del Cacao. *Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. CENIAP HOY*, número 1 (enero-abril), <http://www.ceniap.gov.ve>
- López, A., Pasos, F. 1984. Factors influencing cacao bean acidity-fermentation, drying and the microflora. In *Conference International of cocoa. Lagos-Nigeria.* p 701-704.
- López, A., y Canales, M. 2011. EL chocolate. Un arsenal de sustancias químicas. *Revista Digital Universitaria.* 12(4): 3-8.
- Montoya, D. 2012. Evaluación de 36 clones es élites de cacao (*Theobroma cacao L.*), tipos Nacional y Trinitario, procedentes de huertas tradicionales de la Cuenca Alta del Rio Guayas. Tesis de Ing. Agr. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 37 p.
- Nielsen, D.S., Jakobsen, M., Jespersen, L. 2010. *Candida halmiae* sp. nov., *Geotrichum ghanense* sp. nov., and *Candida awuuii* sp. nov., isolated from Ghanaian cocoa fermentations. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60(6): 1460-1465.
- 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 Ing. Agr. Universidad Técnica de Manabí. EC. 257 p.
- Pastorelly, D.M. 1992. Evaluación de algunas características del cacao tipo Nacional de la colección de la zona de Tenguel, Tesis Ing. Agr. Universidad Agraria del Ecuador, EC. 114 p.
- Perea, J., Ramírez, O., Villamizar, A. 2010. Caracterización fisicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano (en línea). UNICAUCA. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial. 9(1): 35-42.
- Perea, J. 2011. Características Físicas-Químicas de materiales Regionales de Cacao Colombiano. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 1: 35-42.
- Quiroz, D. 2013. Comportamiento productivo, sanitario y de calidad en 12 clones de cacao (*Theobroma cacao L.*) en la zona Quevedo y Tenguel. Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 25 p.
- Radí, C. 2005. Estudio sobre los mercados de valor para el cacao Nacional de origen y con certificaciones. *Iniciativa Biocomercio Sostenible – CORPEI Conservación y Desarrollo.* <http://www.ecociencia.org/archivos/EstudiodeMercadoparaCacaoNacionaldeOrigenyconcertificaciones-100226.pdf>
- Ramos, G. 2004. La Fermentación, el Secado y Almacenamiento del Cacao. En taller internacional de calidad integral de cacao, Teoría y Práctica (15-17 nov. 2004, Quevedo, Ecuador). *Memorias INAP.* EC.
- Rivera, R.D., Mecías, F., Guzmán, A., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, A., y Nivelá, P. 2012. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao L.*) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología* 5(1): 7-12.
- Rohan, T. 1960. El Beneficiado del Cacao. *Boletín de trabajo N° oficial 5, Roma Italia, Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO)*, p. 1 25.

- Saltos, A. 2005. Efecto de métodos de fermentación, frecuencias de remoción y volúmenes variables de masa fresca de cacao sobre la calidad física y organoléptica del “Complejo Nacional x Trinitario”. Tesis Ing. Agr. Universidad de Guayaquil, Vinces – Ecuador. 59 p.
- Sánchez, C.V.A. 2007. Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L) para la selección de árboles con perfiles de árboles de interés comercial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias. EC. http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Caracterizacion_organoleptica_cacao%20_Theobroma%20cacao%20L._seleccion_arboles_%20perfiles_sabor_interes_comercial.pdf
- Saucedo, A. 2003. Comportamiento de híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional en la zona de Quevedo. Comportamiento genético del cacao. Sistemas de incompatibilidad. Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica de Babahoyo. Quevedo-Ecuador. p 91.
- Spangenberg, J. and Dionisi, F. 2001. Characterization of Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents by Bulk and Molecular Carbon Isotope Analyses: Implications for Vegetable Fat Quantification in Chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (1): 4271-4277
- Steinkamp, J.A., Lehnert, B.E., Lehnert, N.M. 1999. Discrimination of damaged/dead cells by propidium iodide uptake in immunofluorescently labeled populations analyzed by phase-sensitive flow cytometry. *Journal of Immunological Methods*, 226(1-2): 59-70
- Vera, J. 1993. Origen del cacao, botánica y clasificación del cacao en manual del cultivo de cacao. Segunda edición, Manual número 25. Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP, Quito- Ecuador. p. 8-16.
- Wood, G. 1982. Cacao, Trad. por Marino, Primera edición en español, Compañía Editorial Continental S.A., México D.F. p. 255-274.
- Zambrano, A., Romero, C., Gómez, A., Ramos, G., La Cruz, C., Brunetto, M., Galignani, M., Gutiérrez, L., Delgado, Y. 2010. Evaluación química de precursores de aroma y sabor del cacao Criollo merideño durante la fermentación en dos condiciones edafoclimáticas. *Agronomía Tropical* 60(2): 211-219.