Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación

Wiston Javier Morales Rodríguez[1,2], Christian Amable Vallejo Torres[1,2], Paul David Sinche Bósquez[1], Yenny Guiselli Torres Navarrete[2], Jaime Fabián Vera Chang[2], Edinson Daniel Anzules Cedeño[1]

[1]Carrera de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Tecnológica Equinoccial (UTE) Campus Arturo Ruiz Mora, Km. 4 1/2 Vía a Chone, Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador.
[2]Carrera de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo-(UTEQ), km 7 ½ vía Quevedo – El Empalme - Ecuador.

Resumen

El objetivo de la investigación se orientó en el mejoramiento de las características físico-químicas y sensorial del cacao CCN-51 con la adición de la enzima PPO (polifenol oxidasa) y levaduras (Saccaromyces cerevisiae). Se utilizó un Diseño Completo Aleatorizado (DCA) con ocho tratamientos y 3 repeticiones. Las variables estudiadas fueron prueba de corte (Inen 176), aroma, sabor, porcentaje de fermentación, porcentaje teobromina, porcentaje de acidez, humedad y pH., en los laboratorios de INIAP-Pichilingue y Santa Catalina. El proceso de fermentación se realizó durante 5 y 7 días en cajas de laurel (Cordia alliodora), las temperaturas alcanzaron valores entre 31°C a 46 °C, desempeñando un papel importante en la muerte del embrión de las habas de cacao y en las reacciones bioquímicas en los tejidos del cotiledón. posteriormente se procedió con el secado al sol en tendal de cemento cubierto de plástico durante 6 días hasta alcanzar un porcentaje promedio de humedad de 3,16%. Los resultados muestran que la adición de la levadura (Saccaromyces cerevisiae) y el PPO mejoran las características físicas-químicas y sensoriales en comparación con el testigo; además se estableció que la concentración de teobromina se redujo a 1.46% al

Revista Amazónica Ciencia y Tecnología Volumen 5 N°2- (Pag 169-181)
Recibido: 11 de noviembre de 2015
Recibido en forma corregida: 16 de mayo de 2016
Aprobado: 24 de junio de 2016

utilizar el PPO durante siete días de fermentación.

Palabras claves: Saccaromyces cerevisiae, polifenol oxidasa, CCN51, Fermentación, Teobromina.

Abstract

This paper aims to improve the physical-chemical and sensorial characteristics of the cocoa CCN-51 with the addition of the enzima PPO (polyphenol oxidasa) and yeasts (Saccaromyces cerevisiae).
A Complete Randomized Design (CRD) was used with eight treatments and three repetitions. The studied variables were test of court (Inen 176), aroma, flavor, percentage of fermentation, percentage teobromina, percentage of acidity, moisture content and pH., in the INIAP-Pichilingue and Santa Catalina's Laboratories. The process of fermentation was conducted between 5 and 7 days in boxes of laurel (Cordia alliodora), the temperatures reached values between 31°C to 46 °C, playing a important role in the death of the embryo of the cocoa beans and in the biochemical reactions of the cotyledon tissue. Later it was proceded with the dried one to the Sun in a tendal of cement covered of plastic for 6 days up to reaching a moisture content of 3,16 % on average. The results shows that the addition of the yeast (Saccaromyces cerevisiae) and the PPO improve the physical-chemical and sensorial characteristics in comparison with the witness sample; in addition it was found that the concentration of teobromina was reduced to 1.46 % with the use of PPO for seven days of fermentation.

Key Words: Saccaromyces cerevisiae, polyphenol oxidasa, CCN51, Fermentation, Teobromina

Introducción

Las variedades de cacao, Nacional y CCN-51 son las que predominan en las plantaciones cacaoteras del Ecuador, de las cuales, a la variedad de cacao Nacional se le ha reconocido mundialmente por sus características de sabor y aroma, apreciadas en la preparación de chocolates, contrastándose con la variedad CCN-51 la cual no alcanza las características organolépticas del cacao Nacional (Díaz & Pinoargote, 2012).

La calidad del cacao radica principalmente en la etapa de pos cosecha, tiempo en el cual las almendras de cacao son tratadas en condiciones adecuadas con el fin de cumplir una serie de transformaciones bioquímicas que favorecen la calidad organoléptica (aroma y sabor). La fermentación del cacao es una operación indispensable, en la cual la pulpa que envuelve las semillas son metabolizadas por microorganismos que producen compuestos como el etanol y ácido acético los cuales promueven cambios fisicoquímicos importantes en las almendras (Navia & Pazmiño, 2012).

El objetivo de la investigación es el mejoramiento de las características físicas, químicas y sensoriales de cacao CCN-51 mediante la aplicación de levadura (Saccaromyces cerevisiae) y enzima (polifenol oxidasa), con dos tiempos de fermentación y de esta manera reducir el amargor y astringencia para desarrollar los sabores básicos y específicos de las almendras del cacao.

Materiales y Métodos

Esta investigación fue realizada en la Parroquia la Unión del cantón Quinindé Provincia de Esmeraldas-Ecuador ubicada en las coordenadas geográficas 0°10'30.0"N 79°24'13.2"W (0.175000, -79.403667).

Diseño del experimento

Se utilizó un Diseño Completo Aleatorizado (DCA) con ocho tratamientos y 3 repeticiones consideradas como cosechas periódicas (Cuadro 1). Se efectuó un análisis de varianza y la comparación de medias de los tratamientos a través de comparaciones ortogonales.

Cuadro 1. Detalle de los tratamientos en estudio

Trat	DESCRIPCIÓN
E 5	Polifenol oxidasa (1.5%) x 5 días de fermentación
E 7	Polifenol oxidasa (1.5%) x 7 días de fermentación
L 5	Saccharomyces cerevisiae (0.04%) x 5 días de fermentación
L 7	Saccharomyces cerevisiae (0.04%) x 7 días de fermentación
E - L 5	Polifenol oxidasa (1.5%)+ Saccharomyces cerevisiae (0.04%) x 5 días de fermentación
E - L 7	Polifenol oxidasa (1.5%)+ Saccharomyces cerevisiae (0.04%) x 7 días de fermentación
T 5	Testigo x 5 días de fermentación
T 7	Testigo x 7 días de fermentación

Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron; aroma, sabor, porcentaje de fermentación, porcentaje teobromina, porcentaje de acidez, humedad y pH.

Manejo del experimento

La recolección del cacao se realizó en la Parroquia la Unión del cantón Quinindé Provincia de Esmeraldas, el proceso de fermentación se realizó en cajas de madera de laurel (50cm x 28cm x 30 cm), se utilizaron 24 cajas con 25 kg de cacao CCN-51 fresco provenientes de mazorcas en estado de madurez y libre de enfermedades, se removió cada 24 horas hasta completar los 5 y 7 días de fermentación. El secado se realizó en tendales de cemento por tres días en condiciones artesanales, se utilizó una muestra testigo de variedad de cacao Nacional recolectado en condiciones similares a la variedad CCN-51.

Preparación de las muestras y variables estudiadas

Las muestras fueron recolectadas de manera aleatoria y enviadas al laboratorio 24 horas previo a la fase anaeróbica, es decir el secado para garantizar la fiabilidad de los resultados y el nivel de frescura de las muestras.

Los análisis físicos-químicos de porcentaje de fermentación fueron realizados a través de la prueba de corte en INIAP "Estación Experimental Tropical Pichilingue". Se determinó la humedad de acuerdo a la norma INEN 176 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1986), el pH a través

de un potenciómetro digital Mettler Toleto, la presencia de teobromina de acuerdo al método de referencia AOAC 980.14-1998 en INIAP "Estación Experimental Santa Catalina" (AOAC INTERNATIONAL, 2005) y acidez mediante volumetría.

En cuanto a las variables organolépticas se elaboró licor de cacao con las almendras y se realizaron evaluaciones sensoriales con un panel de 5 catadores utilizando el método de Baremo analizando tanto el aroma como el perfil de sabores (básicos y específicos).

Resultados y Discusión

Porcentaje de fermentación

Los resultados del análisis de varianza para el porcentaje de fermentación buena permitieron detectar que hubo diferencias estadísticamente significativas para el factores analizados (Cuadro N°2). La muestra E 7 alcanzó el mayor porcentaje de fermentación buena con un 45,67 % mientras que el E-L5 obtuvo el valor más bajo con 22 %. El promedio general de fermentación buena alcanzado fue 35,58 % y un coeficiente de variación de 15,22 %. Los tratamientos se encuentran bajo el intervalo establecido en la Norma INEN 176 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006) que establece un mínimo de 65% para considerarse una buena fermentación para cacao CCN-51, (Sanchez, 2007), obtuvo en su estudio 37% como promedio para fermentación buena, valor similar al obtenido en la presente investigación. Además se debe considerar que el porcentaje de fermentación depende a factores externos como la temperatura, tiempo y variedad de cacao. (Braudeu, 1970).

Cuadro N°2. Porcentaje de fermentación y defectos en almendras secas

	Fermentación						Defectos			
Tratamientos	**BUENAS**		**MEDIANAS**		**TOTAL**		**VIOLETAS**		**PIZARRA**	**MOHO**
E 5	34,67	a b c	37,67	a	72,33	b c d	27,67	b c d	0,00	0,00
E 7	45,67	a	39,67	a	85,33	a	14,67	e	0,00	0,00
L 5	30,33	b c	33,33	a	63,67	d e	36,33	a b	0,00	0,00
L 7	39,33	a b	38,67	a	78,00	a b c	22,00	c d e	0,00	0,00
E - L 5	22,00	c	33,00	a	55,00	e	45,00	a	0,00	0,00
E - L 7	29,00	b c	38,33	a	67,33	c d	32,67	b c	0,00	0,00
T 5	43,00	a b	38,00	a	81,00	a b	19,00	d e	0,00	0,00
T 7	40,67	a b	39,33	a	80,00	a b	20,00	d e	0,00	0,00

Promedio	35,58	37,25	72,83	27,17	0,00	0,00
V. Máximo	45,67	39,67	85,33	45,00	0,00	0,00
V. Mínimo	22,00	33,00	55,00	14,67	0,00	0,00
C.V. (%)	15,22	15,48	5,41	14,51	0,00	0,00

(E = enzima PPO; L = levadura S. *cerevisiae*).

*Los promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes, Tukey (P< 0.05)

En el análisis de varianza para el porcentaje de fermentación media, no se detectó diferencias estadísticas para los tratamientos, sin embargo se registraron diferencias numéricas importantes. La muestra E 7 alcanzó el nivel más alto 39,67%, mientras que la muestra E-L 5 presentó el valor más bajo 33%. Con un promedio general de fermentación media de 37,25% y un coeficiente de variación de 14,48% (Cuadro 2). De acuerdo a la Norma INEN 176 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006), establece para cacao CCN-51 como mínimo 11% de fermentación media parámetro que en la presente investigación se encuentra dentro del intervalo, al ubicarse sobre el valor mínimo establecido. (Sanchez, 2007), reporta valores parecidos en su estudio con un promedio de 47,90% y un coeficiente de 19,35%.

En el análisis de varianza para el porcentaje de fermentación total, se registró diferencias estadísticas significativas (p<0,05) entre los tratamientos. Los mayores porcentajes correspondieron a la muestra E 7 85,33%, seguido de la muestra T 5 81%, y T 7 80%, las cuales presentaron un comportamiento similar diferenciándose de las muestras restantes, entre las cuales la muestra E-L 5 registró el valor más bajo 55%. El promedio general de fermentación total fue de 72,83% y un coeficiente de variación de 5,41% (Cuadro 2).

Por otras parte **(Moreno & Sánchez, 1989)** mencionan que el porcentaje de fermentación total se obtiene al realizar la sumatoria de los resultados de la fermentación buena y meda, la misma que está regulada por la Norma INEN 176 **(Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006)** que establece un mínimo de 76 % para la fermentación total, **(Ramos, 2004)** concuerda y considera que la relación de las almendras fermentadas a las no fermentadas debe superar el 75 %, valores que en la presente investigación se encuentran en el rango al sobrepasar el valor minino establecido

en la norma nacional.

El porcentaje de fermentación depende de factores como la temperatura que se alcance durante el proceso para que se produzca la muerte del embrión y se desencadene las reacciones bioquímicas, tomando en cuenta que las temperaturas varían por las condiciones atmosféricas y las variaciones de la temperatura ambiente. Si no se eleva adecuadamente la muerte del embrión no ocurre rápidamente y el proceso de fermentación no se realiza en su totalidad dando como resultados almendras violetas, las cuales no se han hinchado y poseen una apariencia interna compacta, desarrollando un sabor astringente y ácido.

Los defectos de almendras violetas de la fermentación tienen un comportamiento indirectamente proporcional a la fermentación total, es decir a mayor porcentaje de fermentación total disminuye la cantidad de almendras violetas, debido a que son producto de una fermentación incompleta lo que origina un sabor ácido y astringente **(Sánchez, 2007).**

El análisis de varianza para el porcentaje de almendras violetas, presentó diferencias estadísticas significativas. El menor porcentaje registró en las muestras E 714,67% mientras el valor más alto corresponde a la muestra E-L 5 45%. El promedio general de almendras violetas fue de 27,17% y un coeficiente de variación de 14,51%.

La Norma INEN 176 (**Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006)** menciona que en los defectos violetas el grano cuyos cotiledones presentan un color violeta intenso, debido al mal manejo durante el beneficiado no debe sobrepasar 18 % como requisitos en el cacao variedad CCN-51.

Humedad

Las muestras analizadas no presentaron diferencias estadísticas, sin embargo se presentó diferencias numéricas en la cual la muestra E-L 5 alcanzó la mayor humedad registrada 3,47%, mientras que la muestra T-7 registró el menor valor de humedad 2,83%. El promedio general de humedad fue 3,16% y un coeficiente de variación de 13,22%. (Cuadro 3).
La norma INEN 176 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006) establece un 7 % para el porcentaje máximo de humedad de cacao beneficiado, y que según (Álvarez, *et al*., 2007) son considerados como productos seguros con prologada vida de almacenamiento, (Ortiz de Bertorelli, et al., 2004) indica que al no exceder el 7 % se evitará el riesgo de adquirir

malos olores, ser atacados por hongos y mohos y de esa forma perdiendo el valor comercial.

Cuadro N° 3. Resultados obtenidos de pH, humedad, teobromina y acidez

Tratamientos	pH		Humedad		Teobromina		Acidez	
E 5	5,05	a b	3,30	a	1,39	a	0,10	a
E 7	5,08	a b	3,06	a	1,46	a	0,16	b c d
L 5	5,10	a	3,20	a	1,39	a	0,12	a b
L 7	4,90	b	2,97	a	1,47	a	0,19	c d
E - L 5	5,04	a b	3,47	a	1,34	a	0,13	a b
E - L 7	5,08	a b	3,37	a	1,39	a	0,14	a b c
T 5	4,96	a b	3,13	a	1,45	a	0,21	d
T 7	4,61	c	2,83	a	1,45	a	0,28	e
Promedio	4,98		3,16		1,42		0,17	
V. Máximo	5,1		3,47		1,47		0,28	
V. Mínimo	4,61		2,83		1,34		0,1	
C.V. (%)	1,32		13,22		3,58		11,06	

(E = enzima PPO; L = levadura *S. cerevisiae*)
*Los promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes, Tukey (P< 0.05)

Teobromina

Los resultados obtenidos en la investigación no presentan diferencia significativa, de los cuales la muestra E-L 5 alcanzó el valor más bajo 1,34%, mientras que la muestra L 7 obtuvo el mayor valor 1,47%. Un promedio general de 1,34% y un coeficiente de variación de 3,58%. (Cuadro N° 2).

(**Wakao, 2002**) Manifiesta que con contenidos de teobromina disminuye a medida que avanza la fermentación en un 24 % aproximadamente, además indica que el sabor amargo del cacao está predominado por el contenido de purinas como la teobromina lo que es afirmado por (Braudeu, 1970).

(Amores, *et al*., 2009) Argumentan que el porcentaje de teobromina en el cacao debe estar entre l % al 5 % y el mismo reporta valores de 1,55 en su investigación, (Palacios, 2008) indica 1,87 % en su estudio, valores que concuerdan con los de la presente investigación y no superan los parámetros establecidos.

pH

Se detectó diferencias estadísticas significativas, el mayor valor de pH lo registro la muestra L 5 con 5.10. El promedio del pH fue 4,98 y un coeficiente de variación de 1,32%.

(Amores, et al., 2009), manifiesta que el pH desciende hasta el final de la fermentación y asciende después del secado, este incremento se debe posiblemente a que en la fase de secado se eliminan los ácidos presentes en el cotiledón, además de los cambios bioquímicos que ocurren dentro de la almendra durante la fermentación.

Estos resultados coinciden con (Armijos, 2002), quien determinó que el pH óptimo para un cacao de calidad debe encontrarse en un intervalo de 5,1 a 5,4, coincidiendo con lo mencionado por (Calderón , 2002), quien indica que a un pH menor a 5,0 provoca problemas en la calidad del cacao.

Acidez

Las muestras presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, el menor valor lo registró la muestra E 5 con 0,10%, seguido por L 5 0.12% y E-L 5 0.13%, las cuales se comportaron de forma similar mientras que las muestras restantes, se comportaron de forma distinta. Con un promedio general de acidez de 0,17% y un coeficiente de variación de 11,06%.

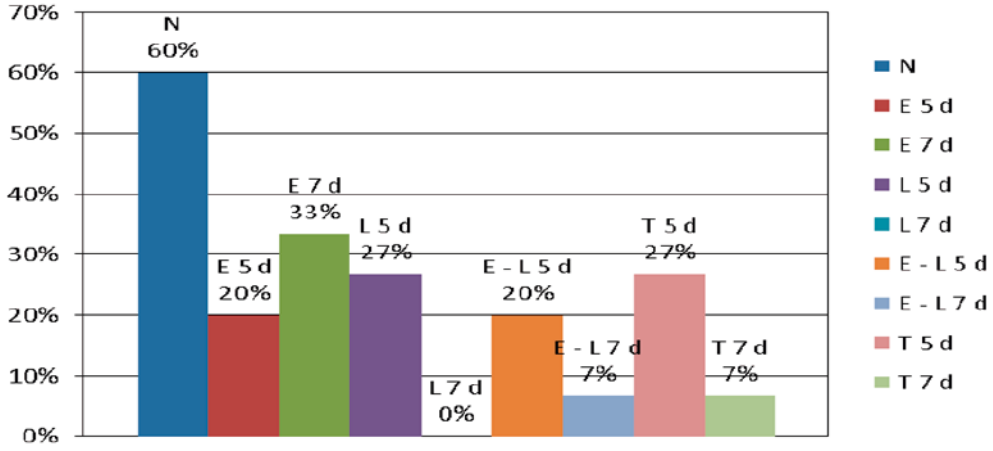
Estudios realizados por (Amores, et al., 2009), manifiesta que la acidez del cacao varía entre 1,2% y 1,6%, cuyo parámetro en la presente investigación está por debajo del indicado, lo que demuestra una ausencia de acidez en las muestras analizadas. Similares resultados los obtuvo (Aguilar, 2013), quien realizó un estudio utilizando diferentes tipos de secado obteniendo valores entre 0,14% y 0,61% para muestras de cacao CCN-51.

Análisis sensorial
Aroma

Al evaluar 24 muestras de cacao fermentadas con la adición de enzima polifenol oxidasa (PPO) y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, y una mezcla de la enzima y levadura por cinco y siete días con sus respectivos testigos, en comparación con una muestra de cacao Nacional fermentado durante 4 días en cajas de madera utilizando la metodología del estudio de (Sanchez, 2007).

Los resultados obtenidos, muestran que el tratamiento E 7d tuvo la mayor aceptabilidad en cuanto al

diagnóstico muy agradable con 33%, sin embargo, al contrastarla con la muestra de cacao Nacional que obtuvo 60%, se puede expresar que no se logra alcanzar las características de la muestra testigo evaluado, pero si se muestra una mejoría en comparación con las muestras T 5 y T 7 los cuales alcanzaron una aceptabilidad de 26,67% y 6,67% respectivamente, Gráfico N° 1.



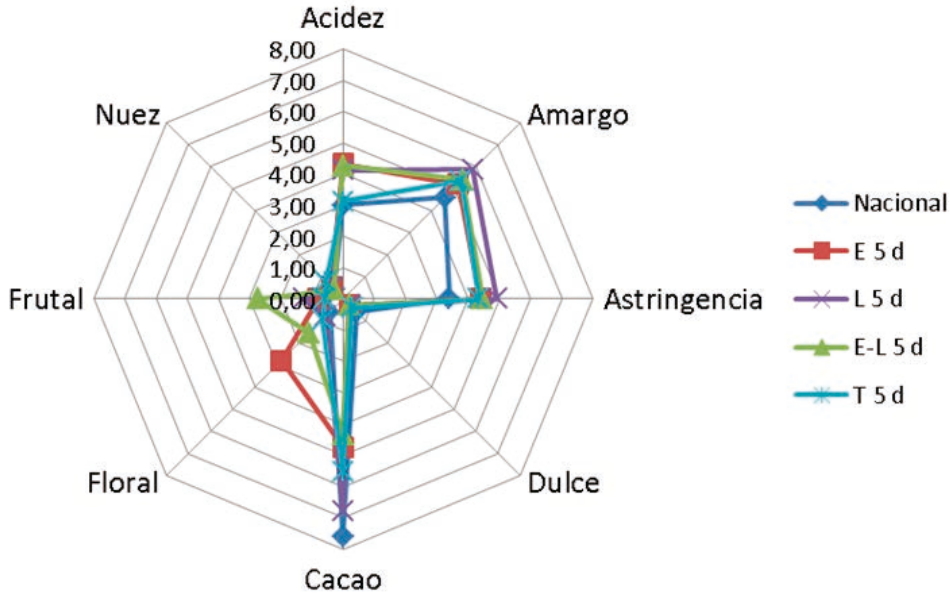
(E = enzima PPO; L = levadura *S. cerevisiae*; d = días; N cacao nacional)

Gráfico N° 1. Resultados aceptación muy agradable aroma cacao CCN-51

Sabor

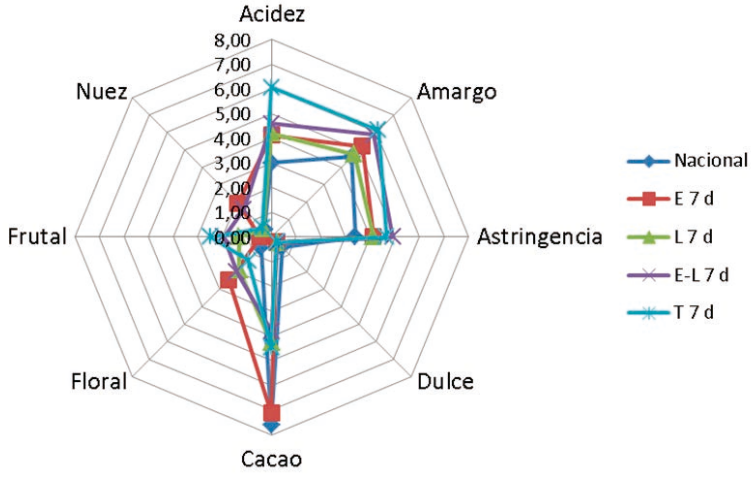
Los resultados de los perfiles de sabores de las muestras de cacao en cuanto a los sabores básicos Gráfico N° 2, N° 3 la menor intensidad de acidez se detectó en las muestras T 5 con 3.13 seguido de las muestras L 5 y E 7 con 4.13. En cuanto al sabor amargo la muestra L 7 se ubica en primer lugar con 4.73 seguido de las muestras E 5 y E 7 con un valor de 5.20, mientras que en astringencia el primer lugar lo comparten las muestras E 7 y L 7 con un valor 4.13, mostrando ausencia de sabor dulce en todas las muestras analizadas.

De las muestras analizadas en relación a sabores básicos podemos observar que la muestra E 7 presenta un mejor comportamiento seguido de la muestra L 7 y T 5, en comparación al comportamiento de la muestra de cacao Nacional.



(E = enzima PPO; L = levadura *S. cerevisiae* ;d = días; N cacao nacional)

Gráfico N° 2. Perfil de sabores básicos y específicos fermentados durante cinco días



(E = enzima PPO; L = levadura *S. cerevisiae* ;d = días; N cacao nacional)

Gráfico N° 3. Perfil de sabores básicos y específicos fermentados durante siete días

Los resultados en referencia a los sabores especificos, la muestra E 7 sobresale por la mayor intensidad de sabor a cacao con un valor 7,13. La intensidad de sabor floral, frutal y nuez reportan intensidades bajas menores a 3 lo que podemos observar en el Gráfico N° 2 y N° 3.

De acuerdo a los resultados obtenidos en lo sabores básicos y especificos podemos observar que las semillas de cacao al poseer la caracteristica de ser higroscópica, la cual le permite según (Sanchez, 2007) absorber facilmente sabores y aromas a su alrededor en este caso la naranjilla utilizada por su contenido de la enzima polifenol oxidasa le brindaria caracteristicas adicionales y reducción deamargor, y a pesar de que los tratamientos no llegaron a las caracteristicas sensoriales del cacao Nacional, si existió una mejoria con respecto al amargor, astringencia, sabor a cacao, floral y nuez, aspectos que brindan un nivel de referencia más alto en comparación al testigo fermentado por siete dias y en menor proporción una diferencia al testigo fermentado por cinco dias, lo que sería beneficioso para la industria chocolatera al mejorar su aroma y sabor.

Conclusiones

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae durante la fermentación por 7 días mejora la calidad en comparación con los testigos en blanco, pero sin embargo no alcanza los parámetros del cacao nacional y los tratamientos con *enzima polifenol oxidasa (PPO)*.

Las pruebas sensoriales identificaron que la fermentación durante siete días con la adición de la enzima polifenol oxidasa (PPO), logró obtener los mejores resultados en cuanto a acidez, amargor, astringencia, floral, frutal y nuez en cuando al sabor y una aceptabilidad muy agradable en cuanto al aroma.

Se estableció un análisis físico químico en el cual se demostró que la concentración de teobromina se reduce al 1,46% al utilizar la enzima polifenol oxidasa (PPO) durante siete días de fermentación.

La enzima polifenol oxidasa (PPO) mejora la calidad del cacao CCN-51 en comparación los testigos en blanco al ser fermentados durante 7 días.

Literatura citada

Aguilar, M., 2013. Determinación de la calidad de cacao (Theobroma cacao L.) de dos variedades “Forastero amazónico y Trinitario CCN-51” al aplicar cuatro

tipos de secado para la elaboración de chocolates, UTE Santo Domingo 2012, Santo Domingo - Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial .

Álvarez, C., Pérez, E. & Lares, M., 2007. Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado Aragua. :Agronomia Trop 57 (4): 249 - 256.

Amores, P., Palacios, A., Jiménez, J. & Zhang, D., 2009. Entorno ambiental, genética, atributos de calidad y singularización del cacao en el Nor Oriente de la provincia de Esmeraldas, Quevedo: Boletín N° 135 INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue.

AOAC INTERNATIONAL, 2005. The Official Methods of Analysis, Estados Unidos: 18th Edition.

Armijos, A., 2002. Características de la acidez como parámetro químico de calidad en muestras de cacao (*Theobroma cacao L.*) fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación, Quito - Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Braudeu, J., 1970. El Cacao, Traducido por Angel M. Hernández Cardona. Barcelona, España: Blume.

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 a la calidad, Quito - Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Díaz, G. & Pinoargote, M., 2012. Análisis de las Características Organolépticas del Chocolate a partir de Cacao CCN-51 Tratado Enzimáticamente y Tostado a Diferentes Temperaturas, Guayaquil: Escuela Superior Politécnica de Litoral.

Forsyth, W. Q. V. R. J., 1958. Interaction of polyphenols and proteins during cacao curing.. Journal of the Science of Food and Agriculture 9, pp. 181-184.

Grupo InfoStat, 2013. InfoStat, Argentina: Primera Edicion .

Guerrón, V., 2009. Elaboración de pasta a partir de mezclas de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*) y CCN-51 producidos en Quevedo, Quevedo - Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1986. Cacao en grano. Determinación de humedad, Quito, Ecuador: Primera revisión.

Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006. Cacao en grano. Requisitos, Quito, Ecuador: Cuarta Revisión.

Moreno, L. & Sánchez, J., 1989. Beneficio del Cacao. Honduras: Fundación

Hondureña de Investigaciones Agricolas. Fascículo N° 6. 26 p..

Navia, A. & Pazmiño, N., 2012. Mejoramiento de las Características Sensoriales del Cacao CCN-51 a través de la adición de enzimas durante el proceso de fermentación, Guayaquil.

Ortiz de Bertorelli, L., Ortiz de Bertorelli, G. & Graziani de Fariñas, L., 2004. Efecto del secado al sol sobre la.. s.l.:Agronomía Trop. 54: 31-43..

Palacios, A., 2008. Establecimientos de parámetros (físicos, químicos y organolépticos) para diferenciar y valorizar el cacao (*Theobromina cacao L.*) producido en dos zonas identificadas al norte y sur del Lotoral Ecuatoriano. Tesis Ing. Agrónomo. Santa Ana: Universidad Técnica de Manabí.

Ramos, G., 2004. La fermentación, el secado y almacenamiento del cacao, Quevedo - Ecuador: Taller Internacional de Calidad Integral de cacao, Teoría y Práctica.

Sánchez, V., 2007. Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao L.*), para la selección de árboles con perfiles de sabor de interés comercial. Tesis de grado previo a la obtención del titulo de Ingeniero Agrónomo, Quevedo: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Wakao, H., 2002. Estudio de la variación del contenido de alcaloides en cacao (*Theobroma cacao L.*) de producción nacional, durante el proceso de beneficio. Tesis de Licenciatura en ciencias químicas, Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de ciencias exactas.