

Artículo original / Original article

Actividad antioxidante y contenido fenólico de la cascarilla de cacao variedad CCN-51 inducidos durante la fermentación con microorganismos eficientes

Antioxidant activity and phenolic content of cocoa husk variety CCN-51 induced during fermentation with efficient microorganisms

Frank Guillermo Intriago-Flor¹; María Johana Zambrano-Vera¹; Jessenia Jomira Ramos-Pino¹; Kerly Estefanía Alvarado-Vásquez^{2*}

¹Facultad de Agrociencias, Universidad Técnica de Manabí, km 2 vía Boyacá - sitio Anima, Chone, Manabí, Ecuador

²Doctorante en Ingeniería de Productos y Procesos de la Industria Alimentaria, Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional del Cuyo, ICAI-CONICET, M5502JMA, Mendoza, Argentina

RESUMEN

El aprovechamiento de la cascarilla de cacao es fundamental en la cadena de valor. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante y el contenido fenólico de la cascarilla de cacao CCN-51 fermentada con microorganismos eficientes. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis tratamientos y tres repeticiones, considerando dos tipos de microorganismos (Biol Albiobatch y ME-1), dos extractos (banano y manzana) y dos zonas de estudio (Manabí y Esmeraldas). Se analizaron el pH, el contenido de ceniza y la capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH, con lecturas en espectrofotómetro UV-visible. Los resultados mostraron que el pH no presentó diferencias significativas, mientras que el contenido de ceniza fue mayor en el tratamiento T4 (11,71%) y menor en T10 (9,50%). La capacidad antioxidante fue más alta en T5, con valores de $54,53 \pm 5,17$ en ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$) y $44,70 \pm 4$ en DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$). Aunque no hubo diferencias en el contenido fenólico, el tratamiento T3 presentó el mayor nivel de flavonoides ($5,39 \pm 0,20$ mg CE/g). Se concluye que la harina de cascarilla de cacao posee propiedades antioxidantes y nutricionales con potencial de aprovechamiento en la industria alimentaria y no alimentaria.

Palabras clave: cacao; fermentación; metabolitos secundarios

ABSTRACT

The utilization of cocoa husks is fundamental to the value chain. This research aimed to evaluate the antioxidant activity and phenolic content of CCN-51 cocoa husks fermented with efficient microorganisms. A completely randomized experimental design was used with six treatments and three replicates, considering two types of microorganisms (Biol Albiobatch and ME-1), two extracts (banana and apple), and two study areas (Manabí and Esmeraldas). pH, ash content, and antioxidant capacity were analyzed using the ABTS and DPPH methods, with readings obtained from a UV-visible spectrophotometer. The results showed no significant differences in pH, while ash content was highest in treatment T4 (11.71%) and lowest in T10 (9.50%). Antioxidant capacity was highest in T5, with values of 54.53 ± 5.17 in ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$) and 44.70 ± 4 in DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$). Although there were no differences in phenolic content, treatment T3 had the highest flavonoid levels (5.39 ± 0.20 mg CE/g). It is concluded that cocoa husk flour possesses antioxidant and nutritional properties, with potential applications in both the food and non-food industries.

Keywords: cocoa; fermentation; secondary metabolites

Cómo citar / Citation: Intriago-Flor, F. G., Zambrano-Vera, M. J., Ramos-Pino, J. J. & Alvarado-Vásquez, K. E. (2025). Actividad antioxidante y contenido fenólico de la cascarilla de cacao variedad CCN-51 inducido durante la fermentación con microorganismos eficientes. *Revista Peruana de Investigación Agropecuaria*, 4(2), e97. <https://doi.org/10.56926/repia.v4i2.97>

Editor: Dr. Fred William Chu Koo 



1. INTRODUCCIÓN

Históricamente, la exportación de diferentes materias primas a todo el mundo ha aportado beneficios económicos importantes a los países que las producen (Reyes et al., 2016). En este caso, las exportaciones mundiales del cacao (*Theobroma cacao*) sin procesar y granos de cacao procesados han experimentado un crecimiento significativo durante los últimos años, donde los registros indican un total de 850 millones de dólares en 2020, frente a los reportados en el año 2019, donde se alcanzó un total de 720 millones de dólares (Alcívar et al., 2021).

La producción mundial en los cultivos de cacao ha crecido de manera constante a lo largo de los años, especialmente en países del continente africano como Costa de Marfil y Ghana, siendo estos los mayores productores de cacao y de los cuales depende en gran parte el precio internacional que recibe este grano (Schwan et al., 2024).

La variedad CCN-51 se destaca como una fortaleza actual del Ecuador, la cual ha demostrado que, mediante la implementación de prácticas apropiadas, puede ser resistente a plagas y enfermedades que habitualmente afectan a este tipo de cultivos, logrando niveles excepcionales de productividad (Aguilar, 2016).

La fermentación de los granos de cacao es considerado uno de los procesos más importantes para la obtención del beneficiado, donde actúan levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias acéticas que dan origen a reacciones bioquímicas que promueven una mejor sensación de las propiedades sensoriales (Jara & Rodríguez, 2022).

Durante el transcurso de este proceso, la combinación de los microorganismos junto con la actividad de las enzimas que actúan sobre las proteínas, carbohidratos y polifenoles presentes en los granos de cacao, resulta en la obtención de características singulares y distintivas en el producto final. Además, como parte de este proceso, hay una producción de metabolitos esenciales a través de la fermentación anaeróbica de azúcares convertidos en etanol, así como la fermentación microaerófila de azúcares y ácido cítrico a ácido láctico, ácido acético y manitol por bacterias del ácido láctico (Rodríguez et al., 2022; Schwan et al., 2024).

La cascarilla de cacao, que es la capa externa que cubre los granos de cacao, se forma como un subproducto durante la etapa de tostado para la fabricación del chocolate, el cual se caracteriza por su importante aporte de fibras y antioxidantes, y otros compuestos bioactivos de importancia dentro de la industria biotecnológica y en la industria alimentaria (Dubón, 2016).

En este sentido, la valorización de la cascarilla de cacao se perfila como una alternativa sostenible y estratégica, no solo para reducir los desechos generados en la cadena productiva, sino también para aprovechar sus compuestos bioactivos con potencial funcional y nutracéutico. De esta manera, se contribuye tanto a la innovación tecnológica como al fortalecimiento de la cadena de valor del cacao en Ecuador. El objetivo general planteado fue evaluar la actividad antioxidante y el contenido fenólico de la cascarilla de cacao CCN-51 fermentada con microorganismos eficientes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de la investigación

En la investigación se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con seis y tres repeticiones con un total de 18 unidades experimentales (ver Tabla 1). Se evaluó el efecto simple del uso de microorganismos 20% (400 mL) (Albiobatch y EM-1), extractos de frutas 3% (60 mL) (extracto de manzana y banano) y Localidad (Manabí y Esmeraldas).

Tratamientos evaluados

Tabla 1.
Los tratamientos fueron conformados de la siguiente manera.

Combinaciones	Localidad	Repetición
T1 Albiobatch +Extracto de manzana	Esmeraldas	3
T2 Albiobatch +Extracto de manzana	Manabí	3
T3 EM-1 + Extracto de banano	Esmeraldas	3
T4 EM-1 +Extracto de banano	Manabí	3
T5 Testigo	Esmeraldas	3
T6 Testigo	Manabí	3

Proceso de extracción de cascarilla de cacao

El proceso inició con la recepción y selección de los granos de cacao, eliminando impurezas. Luego, fueron fermentados en cajones de madera por tres días y tostados a 120 °C por 15-20 minutos. Posteriormente, se realizó el descascarillado con maquinaria especializada. La cascarilla fue envasada en fundas plásticas selladas y almacenada en un lugar fresco y seco (Figura 1).

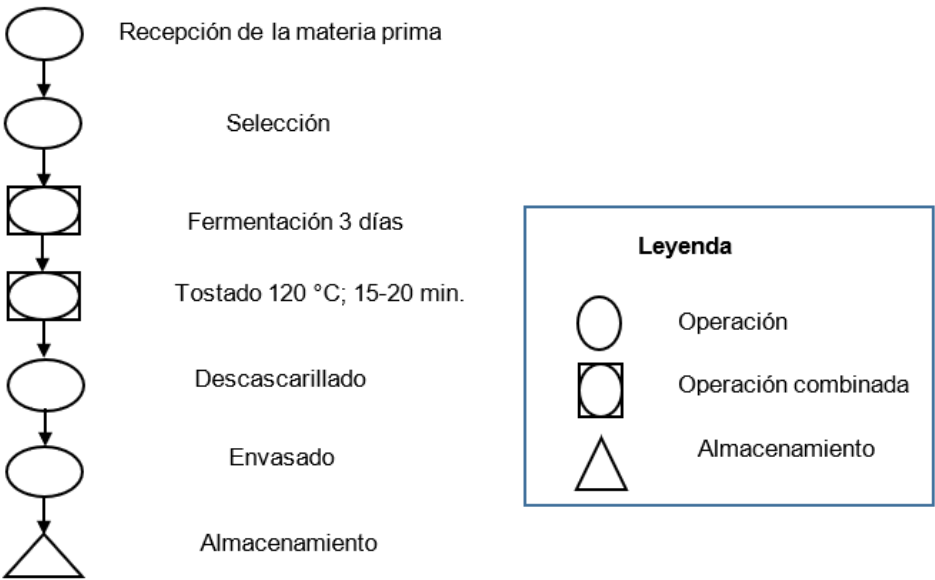


Figura 1. *Procedimiento de fermentación de almendras de cacao para la extracción de cascarilla de cacao*

Descripción del proceso

Recepción de la materia prima: Se recibieron los granos de cacao provenientes de ambas provincias, los cuales fueron alojados en un lugar libre de contaminación biológica.

Selección: Se procedió a realizar un proceso de selección de los granos donde se eliminaron granos vanos y con daños por la presencia de hongos en las mazorcas.

Fermentación: La fermentación de los granos de cacao se desarrolló en cajones de madera por un periodo de tres días.

Tostado: Los granos de cacao fueron tostados mediante el uso de un tostador eléctrico por un periodo de 15 a 20 minutos a una temperatura de 120 °C.

Descascarillado: El descascarillado de los granos se desarrolló mediante la utilización de una descascarilladora conectada a una fuente de energía eléctrica.

Envasado: La cascarilla se almacenó en fundas plásticas y respectivamente sellada para evitar la contaminación microbiológica.

Almacenamiento: Las muestras se almacenaron en un lugar fresco y seco a temperatura ambiente.

Análisis fisicoquímicos de la cascarilla de cacao CCN-51 (*Theobroma cacao* L)

Los parámetros fisicoquímicos a determinar en la cascarilla de cacao es el pH el cual se realizará bajo la aplicación de la norma NTE INEN 616 (Aguilar, 2016), considerando los siguientes parámetros:

- Ceniza: mediante el método de ensayo NTE INEN-ISO 2171.
- pH: mediante la aplicación del método potenciómetro.

Análisis de actividad antioxidante de la cascarilla inducida con microorganismos

Extracción

Para la extracción se inició con la preparación de las muestras utilizando una dilución de 1:10 (Por cada gramo del material vegetal, 10 ml de solvente), utilizando como diluyente alcohol (etanol al 96 %). Consecutivamente se procedió a dejar en maceración las muestras por un periodo de 24 horas y se colocaron sobre un equipo de ultrasonido por una hora. Posterior a ello se procedió a preparar las diluciones con las que se desarrolló la lectura en el espectrofotómetro. El volumen de dilución del extracto fue de 10 mL a una concentración de 200 ppm y se determinó mediante la siguiente ecuación (ver Ecuación 1) (Fernández et al., 2016).

$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1} \quad (1)$$

Donde:

V1: volumen 1

V2: volumen 2 (volumen esperado)

C1: (concentración inicial)

C2: concentración 2 (concentración deseada)

Método ABTS+•

Para la determinación de la actividad antioxidante mediante el radical ABTS^{•+}, se preparó inicialmente una solución madre mezclando ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2,45 mM). Esta mezcla se dejó reposar en oscuridad durante un periodo de 12 a 16 horas, lo que permitió la formación estable del radical. Posteriormente, la solución se diluyó con etanol hasta ajustar una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. El ensayo consistió en mezclar 100 µL de la solución del extracto con 3 mL de la solución de ABTS^{•+}, dejándose en reposo durante 6 minutos para favorecer la reacción antioxidante. Transcurrido ese tiempo, la absorbancia se midió a 734 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. La capacidad antioxidante se expresó como equivalentes de Trolox (µmol TE/g de muestra), utilizando una curva de calibración construida con concentraciones de Trolox en el rango de 100 a 2000 µM, lo que permitió una cuantificación confiable de la inhibición del radical (Fernández et al., 2016).

Método DPPH

Para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]), se realizó un procedimiento similar al utilizado con el radical ABTS. Se preparó una solución madre de DPPH en etanol a una concentración de 0,1 mM, la cual se protegió de la luz para evitar su degradación. En el ensayo, se mezclaron 100 µL de la solución del extracto con 3,9 mL de la solución de DPPH[•], y la reacción se dejó en reposo durante 30 minutos en oscuridad para permitir la estabilización de los radicales libres. Posteriormente, se realizaron las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 517 nm, que corresponde al máximo de absorción del DPPH[•]. La capacidad antioxidante se calculó a partir de la disminución de absorbancia respecto al control, y se expresó como equivalentes de Trolox (µmol TE/g de muestra), utilizando una curva de calibración con concentraciones de Trolox en el rango de 100 a 2000 µM (Li et al., 2022).

La capacidad antioxidante se determinó mediante la siguiente ecuación (ver Ecuación 2).

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{blanco}}} \times 100$$

Donde:

A_{blanco}: Es la absorbancia del radical libre sin el extracto, es decir, con el reactivo puro (máxima intensidad de color).

A_{muestra}: Es la absorbancia con el extracto ya añadido, después de que reaccionó con el radical.

Análisis de contenido fenólico y flavonoides de la cascarilla de cacao inducido durante la fermentación

La determinación del contenido fenólico de los tratamientos en estudio se desarrolló mediante la utilización de un equipo de espectrofotómetro de la marca GENESYS 180 de UV-visible a una longitud de onda de 725 nm utilizando el método de Folin-Ciocalteu. Se mezcló 1 mL de la concentración extracto con 2,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu al 10% (p/v). Después de 5 minutos, se añadieron 2,0 mL de Na₂CO₃ (75%) a la mezcla y se incubaron a 50°C durante 10 minutos con

agitación (Piedrahita et al., 2018; Freire & Díaz, 2022). Los resultados se expresaron en miligramos de ácido gálico equivalente por gramo de cascarilla (mg GAE/g).

Para el cálculo del contenido fenólico total se siguió la siguiente ecuación (ver Ecuación 3).

$$CFT: \frac{C * V}{M}$$

Donde:

CFT: Contenido fenólico total (mg GAE/g de muestra seca)

C: Es la concentración de ácido gálico estabilizada por la curva de calibración en mg/L

V: Es el volumen de la muestra en mL

M: El peso de la muestra en gramos

La determinación del contenido de flavonoides totales se desarrolló mediante los procedimientos descritos por Pallares et al. (2016). Se empleó el método colorimétrico de cloruro de aluminio y quercetina (QT). Se procedió a mezclar 250 µL de la concentración de extracto con 150 µL de NaNO₂ 5% y se incubó durante 6 minutos antes de adicionar 300 µL de AlCl₃ 10%. Después de 5 min, se añadió a la mezcla 1 mL de NaOH 1 M y se aforó a 5 mL con agua ultra pura. El cálculo de flavonoides totales se aplicó la siguiente ecuación (ver Ecuación 4).

$$FnT: \frac{A510 - b2}{m2} * \frac{FD}{gH}$$

FnT: Flavonoides totales expresados en mg QT/g de cascarilla de cacao

A510: Absorbancia medida a 510 nm

m2 y b2: Pendiente e intercepto de la recta de regresión del calibrado con QT

FD: comprende el factor de dilución

gH: gramos de cascarilla seca empleada.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables de pH, cenizas, capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH, contenido de fenoles y flavonoides totales. Para la comparación de medias se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Previo al ANOVA, se constató la normalidad de los datos, así como la homogeneidad de varianzas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades fisicoquímicas de la cascarilla de cacao CCN-51 (*Theobroma cacao* L)

Como se aprecia en la tabla 2, el pH de la cascarilla de cacao, mostró valores que oscilaron entre 5,90 y 6,65, lo que es un indicador de un sabor medio ácido. Sin embargo, estos resultados no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. De acuerdo con Aldas et al. (2023), las variaciones encontradas en el contenido de pH de los tratamientos responden a las características

fermentativas de los granos de cacao durante mayores periodos de tiempo donde se observa una disminución en el pH y aumento de la acidez total, además de la incidencia del tiempo y temperatura con la que se desarrolla el proceso de tostado, no obstante, bajo los criterios expuestos por (Perea et al., 2009). Los valores de pH del presente estudio se encuentran muy cercanos a los reportados por Chancay et al. (2022), quien desarrolló una caracterización fisicoquímica de cascarilla de cacao y documenta un promedio de pH de 6,77.

Tabla 2.

Comportamiento del pH y contenido de cenizas de los tratamientos en estudio

Tratamientos	pH	Cenizas (%)
T1	5,92±0,37 a	10,41±0,52 cde
T2	6,29±0,17 a	11,54±0,11 a
T3	6,08±0,68 a	10,70±0,14 bcd
T4	6,65±0,09 a	11,31±0,04 abc
T5	5,90±0,41 a	10,71±0,19 bcd
T6	6,48±0,14 a	9,50±0,12 e
p-valor	0,1064	<0,0001

Medias con una letra en común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

En cuanto a los análisis de contenido de ceniza, sí se observaron diferencias significativas, siendo el tratamiento T2 (11,54%) el de mayor contenido, mientras que el T6 presentó el valor promedio más bajo (9,50%). Con respecto a estos valores, Machado et al. (2018) reportan un menor contenido de cenizas al efectuar una caracterización de la cascarilla de cacao donde documentan valores que oscilaron de 2,21 a 2,85%, siendo estos relativamente inferiores a los reportados en el presente estudio. Sin embargo, Ordoñez et al. (2019), documentan contenidos máximos de cenizas de 10,80%, los cuales son más cercanos a los reportados en este trabajo, teniendo en cuenta que las posibilidades de una mayor presencia de este tipo de compuestos responden a la presencia de minerales en los extractos utilizados.

Evaluación de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en tratamientos de cascarilla de cacao CCN-51 inducida con microorganismos eficientes

Con relación a los resultados reportados para la capacidad antioxidante (ABTS) de la cascarilla de cacao sometida a diferentes tipos de fermentación, se pudo determinar que hubo diferencias significativas con relación a los resultados expuestos en cada tratamiento (ver Tabla 3). Para este caso se puede apreciar que el tratamiento 5 mostró tener una mayor capacidad antioxidante con un total de 54,53±5,17 μmol equivalente a Trolox / g de cascarilla, a diferencia del tratamiento T2, donde se obtuvo la menor capacidad antioxidante, 29,77±3,08 μmol equivalente a Trolox / g de cascarilla.

Tabla 3.

Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en tratamientos de cascarilla de cacao (Theobroma cacao L.)

Tratamientos	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)	Fenoles totales (mg GAE/g)	Flavonoides (mg QT/g)
T1	37,96±2,33 ab	50,17±5,62 ab	6,26±2,28 a	5,39±0,20 a
T2	29,77±3,08 ab	36,02±3,74 abc	6,35±2,19 a	2,26±0,51b

T3	44,70±4,24 a	54,53±5,17 a	6,00±1,45 a	2,90±0,99 b
T4	34,66±16,00 ab	42,98±19,84 abc	5,16±1,80 a	3,06±0,51 ab
T5	37,34±8,23 ab	45,56±10,05 abc	4,07±1,28 a	1,55±0,11 b
T6	25,65±12,00 ab	32,32±15,91 abc	3,53±1,12 a	1,94±0,51 b
p-valor	0,0058	0,0079	0,7831	0,0008

Medias con una letra en común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

GAE= Equivalentes de Ácido Gálico (Gallic Acid Equivalents).

CE= Equivalentes de Catequina (Catechin Equivalents), expresa el contenido de flavonoides totales

Los resultados del análisis de la capacidad antioxidante por medio del método de DPPH mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en estudio, donde se obtuvo una mayor actividad antioxidante en el T3 con un valor de $44,70 \pm 4,24$ μmol equivalente a Trolox / g de cascarilla, similar al comportamiento reportado por el método ABTS.

En relación a la capacidad antioxidante reportada en el presente estudio, investigaciones desarrolladas por Hidalgo (2020) en cascarilla de cacao de la variedad nacional, reporta una capacidad antioxidante por el método de ABTS de 400 μmol equivalente a Trolox/g de cascarilla, considerando que estas variaciones están asociadas con el tipo de diluyente utilizado para la maceración del material vegetal (Ordoñez et al., 2019).

La presencia de fenoles en la cascarilla de cacao es considerada como uno de los principales precursores de la capacidad antioxidante de los granos, la que adicionalmente puede estar acompañada de metilxantinas y estas a su vez puede estar asociadas a otros compuestos presentes en las muestras (Torres & Pérez, 2023). Sin embargo; en el presente trabajo la presencia de fenoles en las muestras no mostró diferencias significativas, lo que demuestra que los tratamientos utilizados y las condiciones que se presentan en ambas provincias no tienen incidencia sobre este tipo de metabolitos secundarios, teniendo en cuenta que existen diferentes factores internos y externos, entre los que se encuentra la diversidad genética, variables ambientales y el proceso de tratado del beneficiado de los granos (Sánchez et al., 2019).

Los resultados del contenido de flavonoides totales la cascarilla de cacao con la inclusión de los extractos de manzana y guineo con la combinación de dos tipos de microorganismo, determinó que la utilización del extracto de manzana y el microorganismo Albiobacht en la provincia de Manabí mostraron un comportamiento estadístico superior en comparación con los tratamientos en estudio, alcanzado un promedio de $5,39 \pm 0,20$ mg equivalentes de catequina / g de cascarilla.

Ordoñez et al. (2019), al efectuar una cuantificación de la presencia de polifenoles totales de muestras de cascarilla de cacao obtuvo como resultados 3,97 gEAG/100g, el cual está cercano a los resultados expuestos en el presente estudio. Los flavonoides son considerados como el mayor grupo representativo en la familia de los polifenoles, que a su vez están vinculados con la presencia de flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianinas y flavanoles, compuestos que ejercen un importante efecto sobre la salud, debido a la capacidad que tienen para atrapar a los radicales libres (Arévalo et al., 2016).

CONCLUSIONES

La determinación de los parámetros fisicoquímicos arrojó como resultados que la utilización de los extractos de manzana y banano con los microorganismos no mostraron incidencia sobre el contenido de pH de los tratamientos, sin embargo, se evidenció efectos significativos con relación al contenido de ceniza donde se observó una mayor presencia de este compuesto en el T2 y menor en los tratamientos T6 y T1.

La actividad antioxidante por medio de los métodos de ensayo de ABTS y DPPH demostró ser superior en el T3 que incluyó Microorganismo EM-1 con Extracto de banano en la Provincia de Esmeraldas y una menor capacidad antioxidante en el T6. La presencia de fenoles en la cascarilla de cacao no mostró efectos significativos para los tratamientos en estudio, donde se evidenció valores similares entre los promedios reportados en cada caso, a diferencia del contenido de flavonoides, el cual fue estadísticamente superior en el tratamiento T1 con $5,39 \pm 0,20$ mg quercetina equivalente/g de cascarilla.

FINANCIAMIENTO

Los autores no recibieron ningún patrocinio para llevar a cabo este estudio-artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

No existe ningún tipo de conflicto de interés relacionado con la materia del trabajo.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Concepción y elaboración del manuscrito: Intriago-Flor, F. G., Zambrano-Vera, M. J., Ramos-Pino, J. J. y Alvarado-Vásquez, K. E.

Recogida de datos: Zambrano-Vera, M. J. y Ramos-Pino, J. J.

Análisis de datos: Intriago-Flor, F. G. y Alvarado-Vásquez, K. E.

Discusión de resultados, revisión y aprobación: Intriago-Flor, F. G., Zambrano-Vera, M. J., Ramos-Pino, J. J. y Alvarado-Vásquez, K. E.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, H. (2016). Manual para la evaluación de la calidad del grano de cacao. *Fhia*, 1(1), 10–11. https://fhia.org.hn/wp-content/uploads/Manual_para_la_Evaluacion_de_la_Calidad_del_Grano_de_Cacao.pdf
- Alcívar, K., Quezada, J., Garzón, J., Barrezueta, S., & Carvaja, H. (2021). Análisis económico de la exportación del cacao en el Ecuador durante el periodo 2014 – 2019. *Polo Del Conocimiento*, 6(3), 2430–2444. <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/2522>
- Aldas, J., Otero, V., Revilla, K., Carrillo, M., & Sánchez, D. (2023). Incidencia del tostado sobre las características fisicoquímicas y alcaloides de la cascarilla de cacao (*Theobroma cacao*) y su efecto en las propiedades organolépticas de una infusión. *Agroindustrial Science*, 13(1), 15–21. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2023.01.02>

- Arévalo, E., Obando Cerpa, M. E., Zúñiga Cernades, L. B., Hernández Arévalo, V. B., & He, Z. (2016). Metales pesados en suelos de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres regiones del Perú. *Ecología Aplicada*, 15(2), 81. <https://doi.org/10.21704/rea.v15i2.747>
- Chancay, L. F., Delgado Demera, M., & Salas Macías, C. A. (2022). Cadmio en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) y sus efectos ambientales. *La Técnica: Revista de Las Agrociencias*. ISSN 2477-8982, 91. https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i0.4324
- Dubón, A. (2016). Protocolo para el beneficiado y calidad del cacao. *Fhia*, 18. <https://fhia.org.hn/wp-content/uploads/Protocolo-para-el-beneficiado-y-calidad-del-cacao.pdf>
- Fernández, V., Hernández Varela, D. J., & Sulbarán Rodríguez, B. (2016). Caracterización físico-química y actividad antioxidante de frutos de mango (*Mangifera indica* cv. Tommy Atkins). *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 33(May), 216–231. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/27199>
- Freire, D., & Díaz, D. (2022). Método de fermentación y secado para el beneficio de la obtención del chocolate blanco a partir del cacao criollo (*Theobroma cacao* L.), ecuatoriano. *Revista Universidad y Sociedad*, 14(2), 323–329. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/2788>
- Hidalgo, F. (2020). Cacao y campesinos: Experiencias de producción e investigación.
- Jara, J., & Rodríguez, L. (2022). Importancia de los dispositivos usados en la fermentación de Cacao (*Theobroma cacao* L.). *Agrotec. Amaz.*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.51252/raa.v2i1.281>
- Li, M., Wang, M., Hu, S., Sun, J., Zhu, M., Ni, Y., & Wang, J. (2022). Advanced coatings with antioxidant and antibacterial activity for Kumquat preservation. *Foods*, 11(15), 1–9. <https://doi.org/10.3390/foods11152363>
- Machado, L., Ordoñez, C., Sánchez, Y., Cruz, L., & Suárez, J. (2018). Organoleptic quality assessment of *Theobroma cacao* L. in cocoa farms in northern Huila, Colombia. *Acta Agronómica*, 67(1), 46–52. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n1.66572>
- Ordoñez, S., Vera, J., & Tigselema, S. (2019). Cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) De líneas híbridas para la elaboración de rehiletes de chocolate. *Revista Universidad y Sociedad*, 11(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202019000200136
- Pallares, A., Estupiñán, M., Perea Villamil, J., & López Giraldo, L. J. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7–21. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001>
- Perea, J., Cadena, T., & Herrera, J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41(2), 128–134. <https://www.redalyc.org/pdf/3438/343835695003.pdf>
- Piedrahita, C. E., Gallego Díaz, J. D., Herrera Castañeda, J. M., & Tomayo Sánchez, C. A. (2018). Implementación de buenas prácticas agrícolas en cultivos de cacao *Theobroma cacao* L. como estrategia para prevenir la presencia de cadmio en la cadena cacaotera. In: L. D. Gómez Cruz (Ed.), *Sennova* (Vol. 1).
- Reyes, Y. C., Vergara, I., Torres, O. E., Díaz, M., & González, E. E. (2016). Contaminación por metales Pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 16(2), 66–77. <https://doi.org/10.19053/1900771x.v16.n2.2016.5447>
- Rodríguez, N. D., Chávez, B., Gómez, I., Vásquez, M. S. & Estrada, P. (2022). El cultivo del cacao, sus

características y su asociación con microorganismos durante la fermentación. *Alianzas y tendencias BUAP*, 7(25), 36–51. <http://doi.org/10.5281/zenodo.6326782>

Sánchez, M., Vargas, Y., & Burbano, R. (2019). Evaluation of the cocoa bean (*Theobroma cacao* L.), using two fermentators, Orellana and Sucumbios Provinces, Ecuador. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 8(7), 278–283.

<https://repositorio.iniap.gob.ec/server/api/core/bitstreams/3e800315-bd34-4754-bef8-6183561ba054/content>

Schwan, R., Pereira, G., & Fleet, G. (2024). Microbial activities during cocoa fermentation. *Cocoa and Coffee Fermentations, September*, 129–192.

https://www.researchgate.net/publication/285267847_Microbial_activities_during_cocoa_fermentation

Torres, J., & Pérez, R. (2023). Caracterización de los residuos de cacao generados con potencial valor, para su uso en la industria alimentaria, en el cantón Santo Domingo, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.