



## Caracterización química del cacao Nacional y CCN51 en Los Ríos, Ecuador

Chemical characterization of Nacional and CCN51 cocoa in Los Ríos, Ecuador

Caracterização química do cacau Nacional e CCN51 em Los Ríos, Equador

Luis Antonio Alcívar Torres<sup>1,2</sup>   
lalcivar@utb.edu.ec

Alberto Marcial Julca Otiniano<sup>1</sup>   
ajo@lamolina.edu.pe

James Gonzalo Quiroz Vera<sup>3</sup>   
james.quiroz@iniap.gob.ec

Luis Humberto Vásquez Cortez<sup>2</sup>   
lvazquezc@utb.edu.ec

Marcos David Oviedo Rodríguez<sup>4</sup>   
moviedo@utb.edu.ec

Daysi Beatriz Soto Calderón<sup>5</sup>   
dsotoc@utb.edu.ec

ARTÍCULO ORIGINAL



Escanea en tu dispositivo móvil  
o revisa este artículo en:

<https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v9i26.367>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Agraria la Molina, Escuela de Posgrado,  
Programa de Doctorado en Agricultura Sustentable, Perú

<sup>2</sup>Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Los Ríos, Ecuador

<sup>3</sup>Investigador Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Ecuador

<sup>4</sup>Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Administración Finanzas e Informática, Ecuador

<sup>5</sup>Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador

Artículo recibido: 18 de marzo 2025 / Arbitrado: 23 de abril 2025 / Publicado: 1 de mayo 2025

### RESUMEN

La caracterización química de cultivares de cacao representa una herramienta clave para fortalecer la trazabilidad, la diferenciación agroindustrial y la certificación de origen. El objetivo del estudio es evaluar el efecto del genotipo y de la localidad sobre la composición fisicoquímica de almendras fermentadas de *Theobroma cacao* L., variedades Nacional y CCN-51, cultivadas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Metodología: El enfoque del estudio es cuantitativo, tipo experimental y diseño de campo. Se aplicó un diseño factorial 2 × 3 en bloques al azar, con muestras recolectadas en los cantones Babahoyo, Montalvo y Ventanas. Las variables analizadas fueron humedad, grasa, polifenoles totales, cafeína y teobromina. Los resultados: Se observaron efectos significativos del tipo de cacao sobre el peso inicial, peso seco, temperatura y pH ( $p < 0,001$ ). La interacción genotipo × localidad resultó significativa en el contenido de polifenoles ( $p = 0,0030$ ), siendo el cacao Nacional de Montalvo el que presentó la mayor concentración (130,51 mg EAG/g). También se detectaron diferencias en teobromina ( $p = 0,0090$ ), con un valor máximo de 1,92 % en Nacional de Montalvo. Las variables humedad y grasa no mostraron diferencias significativas, lo que indica una alta estabilidad bajo condiciones controladas. Estos resultados evidencian que los compuestos bioactivos del cacao responden de manera diferencial a la interacción genotipo × ambiente, reafirmando el rol determinante del terroir en la calidad química del grano. Se concluye que el cacao Nacional cultivado en Montalvo presenta el mejor perfil funcional y que su valorización debe apoyarse en sistemas de trazabilidad bioquímica y zonificación agroecológica.

**Palabras clave:** Agroindustria, Alcaloides; Diferenciación; Metabolitos; Trazabilidad

### ABSTRACT

The chemical characterization of cacao cultivars represents a key tool for strengthening traceability, agro-industrial differentiation, and certification of origin. The objective of this study was to evaluate the effect of genotype and location on the physicochemical composition of fermented almonds of *Theobroma cacao* L., varieties Nacional and CCN-51, grown in the province of Los Ríos, Ecuador. Methodology: The study approach is quantitative, experimental, and field-based. A 2 × 3 factorial design in randomized blocks was applied, with samples collected in the cantons of Babahoyo, Montalvo, and Ventanas. The variables analyzed were moisture, fat, total polyphenols, caffeine, and theobromine. Results: Significant effects of cacao type were observed on initial weight, dry weight, temperature, and pH ( $p < 0.001$ ). The genotype × location interaction was significant for polyphenol content ( $p=0.0030$ ), with Nacional de Montalvo cacao presenting the highest concentration (130.51 mg EAG/g). Differences were also detected in theobromine ( $p=0.0090$ ), with a maximum value of 1.92% in Nacional de Montalvo. The moisture and fat variables did not show significant differences, indicating high stability under controlled conditions. These results demonstrate that cacao's bioactive compounds respond differentially to the genotype × environment interaction, reaffirming the determining role of terroir in the chemical quality of the bean. It is concluded that Nacional cacao grown in Montalvo presents the best functional profile and that its valorization should be supported by biochemical traceability systems and agroecological zoning.

**Key words:** Agroindustry; Alkaloids; Differentiation; Metabolites; Traceability

### RESUMO

A caracterização química das cultivares de cacao representa uma ferramenta fundamental para o fortalecimento da rastreabilidade, da diferenciação agroindustrial e da certificação de origem. O objetivo deste estudo é avaliar o efeito do genótipo e da localização na composição físico-química de amêndoas fermentadas de *Theobroma cacao* L., variedades Nacional e CCN-51, cultivadas na província de Los Ríos, Equador. Metodologia: A abordagem do estudo é quantitativa, do tipo experimental e delineamento de campo. Foi aplicado um delineamento fatorial 2 × 3 em blocos casualizados, com amostras coletadas nos cantões de Babahoyo, Montalvo e Ventanas. As variáveis analisadas foram umidade, gordura, polifenóis totais, cafeína e teobromina. Resultados: Foram observados efeitos significativos do tipo de cacao no peso inicial, peso seco, temperatura e pH ( $p < 0,001$ ). A interação genótipo × localização foi significativa no conteúdo de polifenóis ( $p = 0,0030$ ), com o cacao Nacional de Montalvo apresentando a maior concentração (130,51mg EAG/g). Diferenças também foram detectadas na teobromina ( $p = 0,0090$ ), com valor máximo de 1,92% em Nacional de Montalvo. As variáveis umidade e gordura não apresentaram diferenças significativas, indicando alta estabilidade em condições controladas. Esses resultados mostram que os compostos bioativos do cacao respondem de forma diferenciada à interação genótipo × ambiente, reafirmando o papel determinante do terroir na qualidade química do grão. Conclui-se que o cacao Nacional cultivado em Montalvo apresenta o melhor perfil funcional e que sua valorização deve ser apoiada por sistemas de rastreabilidade bioquímica e zoneamento agroecológico.

**Palavras-chave:** Agroindústria, Alcaloides; Diferenciação; Metabolitos; Rastreabilidade

## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un recurso fitogenético de alta relevancia económica, social y cultural para los países intertropicales, y constituye uno de los principales cultivos de exportación de Ecuador (1). Si bien su domesticación se ha atribuido históricamente a Mesoamérica, estudios filogenómicos recientes han señalado a la región del Alto Amazonas como el epicentro de su origen y diversificación genética (2). Ecuador, situado estratégicamente dentro de este centro de diversidad, ha desarrollado y conservado cultivares emblemáticos como el Nacional, cuyo perfil sensorial floral y afrutado es ampliamente reconocido en la industria chocolatera premium, así como el híbrido productivo CCN-51 (Colección Castro Naranjal 51), caracterizado por su vigor y alto rendimiento (3).

La cadena de valor del cacao en Ecuador representa el tercer rubro agroexportador más importante, después del banano y las flores, generando ingresos significativos y empleo directo a más de 100.000 familias campesinas (4). Su impacto macroeconómico se refleja en una contribución del 7 % al Producto Interno Bruto Agropecuario (PIBA), un 0,4 % al PIB nacional y aproximadamente un 3 % del total de divisas no petroleras del país. En el escenario global, Ecuador lidera las exportaciones de cacao fino y de aroma, lo que ha motivado una creciente demanda por sistemas de trazabilidad que respalden la

autenticidad y calidad diferenciada del “Cacao Arriba” (5).

Sin embargo, uno de los principales desafíos en la cadena productiva radica en la carencia de metodologías estandarizadas que permitan certificar y clasificar objetivamente la calidad química y sensorial de los diferentes genotipos de cacao cultivados en el país (6). En la práctica, la categorización del cacao como “fino y de aroma” ha estado históricamente basada en apreciaciones empíricas del productor o comercializador, sin respaldo analítico que garantice su veracidad (7). Ante esta necesidad, diversas investigaciones han propuesto el uso de parámetros físico-químicos como el contenido de humedad, grasa, polifenoles totales, metilxantinas (teobromina y cafeína), así como la relación teobromina/cafeína (T/C), como marcadores químicos discriminantes para caracterizar cultivares de interés (8).

La provincia de Los Ríos constituye una de las principales zonas de producción cacaotera del país, tanto por su superficie cultivada como por la diversidad genética presente, pero paradójicamente presenta una limitada base de datos analítica sobre los perfiles químicos de sus principales cultivares. La falta de información científica sistematizada dificulta el diseño de programas de mejoramiento genético, la consolidación de denominaciones de origen y la implementación de estrategias de valorización agroindustrial con fundamento técnico (Vásquez, et al. 2022) (9).

Recientes estudios han abordado la caracterización química del cacao en diferentes regiones del país, identificando variaciones significativas en la composición de grasa, polifenoles y metilxantinas entre genotipos (Álvarez, et al. (10); Cuellar et al., (11). No obstante, los avances en la provincia de Los Ríos son aún limitados, y los vacíos de información persisten, especialmente en lo referente a la comparación sistemática entre los cultivares Nacional y CCN-51 (García et al., (12). Esta limitación plantea un problema científico y técnico relevante: la imposibilidad de fundamentar decisiones de manejo agronómico, procesamiento postcosecha y comercialización en datos analíticos robustos, lo que compromete la competitividad y diferenciación del cacao ecuatoriano en mercados internacionales.

Ahora bien, la caracterización química de los cultivares Nacional y CCN-51 en la provincia de Los Ríos adquiere una relevancia importante al permitir la identificación de marcadores de calidad que respalden la autenticidad, trazabilidad y valorización del producto. Además, contribuye a la generación de estándares nacionales y al fortalecimiento de la cadena de valor, con impacto directo en la rentabilidad de los productores y la reputación del país como exportador de cacao fino y de aroma.

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del genotipo (Nacional y CCN-51) y de la localidad sobre

la composición fisicoquímica de almendras fermentadas de *Theobroma cacao* L., variedades Nacional y CCN-51, cultivadas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Para ello, se determinaron variables clave como contenido de humedad, grasa, polifenoles totales, teobromina y cafeína mediante técnicas analíticas validadas. Se plantea la hipótesis de que si existen diferencias significativas en la composición química entre ambos cultivares, lo que permitirá establecer criterios objetivos para la clasificación y valorización del cacao producido en la región. Esta investigación pretende aportar evidencia científica que respalde el desarrollo de estándares nacionales de calidad, fortalezca la trazabilidad varietal y contribuya a posicionar al cacao ecuatoriano como un producto de alto valor agregado y excelencia sensorial en los mercados internacionales más exigentes.

## MATERIALES Y MÉTODO

Este estudio adoptó un enfoque cuantitativo, de tipo experimental y diseño de campo, orientado a la comparación de la composición fisicoquímica de almendras de cacao fermentadas de las variedades Nacional y CCN-51 cultivadas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Se aplicó un diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) con arreglo factorial  $2 \times 3$ , donde los factores fueron la variedad de cacao (Nacional y CCN-51) y la localidad (Babahoyo, Montalvo y Ventanas). Los bloques se definieron agrupando

fincas con condiciones edafoclimáticas similares para controlar la variabilidad ambiental.

**Unidades experimentales:** Cada combinación de variedad y localidad constituyó un tratamiento, replicado en varias fincas dentro de cada bloque.

**Muestreo:** En cada finca, se seleccionaron al azar 10 árboles de cada variedad, de los que se cosecharon 20 frutos por duplicado (40 frutos por finca), obteniendo aproximadamente 1 kg de cacao seco y fermentado por muestra.

Se obtuvo muestras en duplicado por variedad y localidad, distribuidas aleatoriamente entre los bloques, para un total de 60 unidades analíticas ( $n = 60$ ), como se muestra en la Tabla 1.

El manejo postcosecha, consistió en la extracción manual de las almendras de cacao, seguida de presecado al sol durante ocho horas. Posteriormente, se realizaron microfermentaciones durante cuatro días en cajas de madera de laurel (120 x 120 x 180 cm, capacidad aproximada de 120 kg de cacao). Finalizada la fermentación, el secado se realizó mediante exposición directa al sol sobre tendales de cemento, hasta alcanzar un contenido de humedad cercano al 7% en los granos. Las muestras fermentadas y secas fueron transportadas al Laboratorio de Seguridad Alimentaria e Inocuidad Agroalimentaria (LSAIA) de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP, donde se almacenaron en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la fecha de los respectivos análisis (13).

**Tabla 1.** Estructura de Andeva.

| Fuente de Variación         |                             | Grados de Libertad |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Tipo de Cacao               | (a-1)                       | 1                  |
| Localidades                 | (b-1)                       | 2                  |
| Bloques                     | (c-1)                       | 5                  |
| Tipo de Cacao * Localidades | (a-1)(b-1)                  | 2                  |
| Error experimental          | $a*b*(r-1)$                 | 43                 |
| <b>Total</b>                | <b><math>a*b*r-1</math></b> | <b>53</b>          |

En la Tabla 1, se visualiza el Cuadro o estructura de Andeva correspondiente su fuente de variación y grados de libertad.

El peso de la masa fresca fue determinado después de la cosecha, se pesaron 4.000 g (4 kg) de almendras frescas con mucílago, utilizando una balanza digital de precisión ( $\pm 0,01$  g). Esta masa fue transferida directamente a las cajas de fermentación para el inicio del proceso (14).

Tras la finalización de la fermentación (duración de cinco días) y el secado solar en tendales hasta alcanzar un contenido de humedad inferior al 7 %, se procedió a registrar el peso del grano fermentado seco. Los granos fueron homogeneizados y pesados nuevamente bajo las mismas condiciones instrumentales, anotando el peso neto del cacao seco por unidad experimental (15).

La relación entre el peso inicial de la masa fresca y el peso final del grano seco permitió calcular el rendimiento de transformación postcosecha, expresado como porcentaje de recuperación, parámetro fundamental para evaluar la eficiencia del proceso fermentativo y de secado (16).

La medición de la temperatura interna de la masa de almendras de cacao se realizó durante el primer día del proceso de fermentación, con el objetivo de monitorear el inicio de la actividad microbiana exógena y su efecto en la generación de calor. Para ello, se utilizó un termómetro digital de sonda tipo penetración ( $\pm 0,1$  °C de precisión),

el cual fue insertado en el centro geométrico del fermentador a una profundidad aproximada de 30 cm, zona representativa del núcleo de fermentación (17).

Las lecturas se tomaron cada seis horas durante las primeras 24 horas, esta información permitió establecer la dinámica térmica inicial del proceso, la cual está asociada al metabolismo de levaduras y bacterias acidolácticas presentes de forma natural en el mucílago del cacao. El seguimiento térmico fue fundamental para validar las condiciones adecuadas de activación fermentativa, considerando que el incremento progresivo de la temperatura en esta etapa es un indicador clave de la viabilidad microbiológica del proceso (18).

Durante el primer día del proceso de fermentación, se realizó la medición del pH de las almendras de cacao con el objetivo de caracterizar las condiciones iniciales de acidificación. Para ello, se tomaron muestras, aproximadamente 10 g de pulpa fueron diluidos en 90 mL de agua destilada para cada punto de muestreo, obteniéndose una suspensión al 10 % (p/v), la cual fue homogeneizada por agitación manual (19).

El pH fue determinado utilizando un pH-metro digital de mesa, previamente calibrado con soluciones patrón de pH 4,00 y 7,00. El electrodo de vidrio fue sumergido directamente en la suspensión, y se registró el valor una vez alcanzada la estabilidad de la lectura, bajo condiciones

controladas de temperatura ambiente (25 °C). Este registro permitió identificar la tendencia descendente del pH característica del inicio del proceso fermentativo, atribuida a la producción de ácidos orgánicos por levaduras y bacterias acidolácticas (20).

El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) del mucílago de cacao fue determinado al inicio del proceso de fermentación, como indicador del nivel de azúcares fermentables presentes en las almendras frescas. La medición se realizó utilizando un refractómetro digital portátil, previamente calibrado con agua destilada a temperatura ambiente (20–25 °C), asegurando lecturas precisas dentro del rango de 0 a 32 °Brix (1).

Para el análisis, se recolectaron manualmente muestras representativas de mucílago fresco directamente de las almendras recién cosechadas. Se extrajo el jugo del mucílago por presión suave y se depositaron de 2 a 3 gotas sobre la lente del refractómetro. La lectura fue registrada una vez estabilizado el valor en pantalla, expresado en grados Brix (°Bx), correspondiente al porcentaje de sólidos solubles en peso. Esta medición inicial de °Brix permitió establecer la concentración de azúcares disponibles para la fermentación microbiana, dato clave para comprender la dinámica fermentativa y el potencial de formación de compuestos precursores de aroma y sabor en el grano de cacao (18).

Luego, se inició el procedimiento colocando los vasos de precipitación (beakers) en una estufa a una temperatura constante de 110 °C durante dos horas, para eliminar cualquier la humedad. Finalizado este paso, se trasladaron al desecador por un período de 30 minutos para permitir el enfriamiento en condiciones controladas. Posteriormente, se pesó exactamente 1,00 g de muestra, la cual fue introducida en un dedal de extracción. Este fue adecuadamente sellado en su parte superior con algodón para evitar pérdidas de material particulado, luego, se colocó en un soporte tipo Goldfish.

Se añadieron 40 mL de éter de petróleo (solvente) en el matraz receptor del equipo, abriendo el sistema de reflujo y asegurando el montaje con anillos metálicos, permitiendo así la extracción continua de la fracción lipídica. Una vez finalizado el proceso de extracción, los vasos que contenían el residuo graso fueron llevados a una estufa a 105 °C para evaporizar completamente el solvente residual durante 30 minutos. Finalmente, se realizó el pesado de los vasos con el extracto graso, registrando la masa obtenida para el posterior cálculo del contenido de grasa cruda mediante la siguiente fórmula:

$$g = \frac{w_2 - w_1}{w_0} * 100$$

Para la determinación de polifenoles totales en el polvo de cacao se llevó a cabo siguiendo el

protocolo establecido por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria (21), mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Para ello, se pesó con precisión 1,00 gramo de muestra desengrasada, la cual fue colocada en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, adicionándose 75 mL de una solución hidroalcohólica de metanol al 70 % (v/v). La mezcla fue sometida a agitación magnética continua durante 45 minutos a temperatura ambiente, para extraer los compuestos fenólicos. El extracto resultante se filtró a través de papel Whatman N° 4 y se transfirió a un balón volumétrico de 100 mL, completando el volumen con la misma solución extractora.

Para la cuantificación, se tomó una alícuota de 1 mL del extracto y se diluyó con 9 mL de agua destilada. A partir de esta dilución (denominada "A"), se extrajo 1 mL, al cual se le adicionaron 6 mL de agua destilada, 1 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y, tras un intervalo de tres minutos, 2 mL de una solución de carbonato de sodio al 20 %. La mezcla fue agitada vigorosamente en un vortex y calentada a 40 °C durante 2 minutos en baño maría, favoreciendo así el desarrollo de la coloración azul. Finalmente, la absorbancia fue medida en un espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 760 nm. La concentración de polifenoles totales se expresó como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg EAG/g), a partir de una curva de calibración construida con soluciones estándar en el rango de 5 a 140 ppm.

En cuanto a la determinación de los alcaloides teobromina y cafeína en polvo de cacao se realizó conforme al protocolo del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Inicialmente, la muestra fue desengrasada mediante extracción continua en un sistema Soxhlet durante 12 horas, empleando éter de petróleo como disolvente (rango de ebullición 40–60 °C). Posteriormente, 0,30 g de la muestra desengrasada fueron transferidos a un matraz Erlenmeyer de 250 mL, adicionándose 90 mL de agua bidestilada y 10 mL de una solución estándar interna de teofilina.

La mezcla fue llevada a ebullición suave sobre hasta reducir el volumen a la mitad (50 mL). En caliente, se adicionaron sucesivamente 1 mL de las soluciones Carrez I y II, compuestas por hexacianoferrato de potasio y sulfato de zinc, respectivamente, con el fin de precipitar proteínas y otras interferencias. El extracto fue filtrado a través de papel Whatman N° 4 en un balón volumétrico de 100 mL, enjuagado con agua bidestilada y aforado al volumen final. Una alícuota del extracto clarificado se filtró nuevamente utilizando una membrana Millipore de 0,22 µm y fue transferida a viales para su análisis instrumental.

El análisis cromatográfico se realizó en un sistema HPLC equipado con una columna ODS II (150 mm × 4,6 mm ID), empleando como fase

móvil una mezcla de metanol y agua (25:75 v/v), a un flujo de 1,0 mL/min. El detector UV-Vis se programó a una longitud de onda de 273 nm, y el volumen de inyección fue de 20  $\mu$ L. La cuantificación de los compuestos se efectuó mediante comparación con una curva de calibración generada a partir de estándares de teobromina y cafeína, expresando los resultados en miligramos por gramo de muestra seca (mg/g) (8).

La cuantificación del contenido de humedad en almendras de cacao secas se efectuó utilizando el higrómetro portátil de resistencia eléctrica Aqua-Boy AGRO-MODEL. Previamente a la medición, las almendras fueron acondicionadas a temperatura ambiente (20–25 °C) durante al menos dos horas. Para cada medición, se tomaron al azar 100 almendras representativas por muestra. Las almendras fueron colocadas en la cámara de presión del equipo. El electrodo fue aplicado manualmente mediante presión constante, garantizando el contacto eléctrico homogéneo con la muestra. El equipo Aqua-Boy opera mediante el principio de resistencia dieléctrica, correlacionando la conductividad del grano con su contenido de humedad interno, previamente calibrado con curvas específicas para cacao.

Cada lectura fue registrada directamente desde el dial del higrómetro, expresada en porcentaje de humedad (%) se realizaron tres mediciones por muestra para garantizar precisión (1).

El análisis estadístico se realizó mediante análisis de varianza (ANOVA) bajo un modelo factorial de efectos fijos, considerando los factores variedad, localidad y su interacción. Los bloques se incluyeron como factor aleatorio para controlar la variabilidad ambiental. Se verificaron los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (prueba de Levene). En caso de diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey para comparaciones múltiples. El nivel de significancia se estableció en  $p < 0,05$ . Los análisis se realizaron con el software estadístico R o SPSS, según corresponda.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente apartado se exponen los principales resultados obtenidos a partir del análisis de las variables fisicoquímicas evaluadas en almendras de cacao fermentadas de las variedades Nacional y CCN-51, cultivadas en distintas localidades de la provincia de Los Ríos. A continuación, Tablas 2 y 3.

**Tabla 2.** Efecto del tipo de cacao y localidad en variables fisicoquímicas iniciales.

| Factores      |                             | Variable         |               |                |         |         |    |         |    |        |    |
|---------------|-----------------------------|------------------|---------------|----------------|---------|---------|----|---------|----|--------|----|
| Tipo de cacao | Localidades                 | Peso inicial (g) | Peso seco (g) | Temperatura °C | Ph      | °brix   |    |         |    |        |    |
| CCN-51        | Ventanas                    | 3.95             | 2.71          | 26.18          | 3.31    | 19.14   |    |         |    |        |    |
|               | Montalvo                    | 2.98             | 2.38          | 27.49          | 3.39    | 17.6    |    |         |    |        |    |
|               | Babahoyo                    | 3.57             | 2.61          | 25.17          | 3.43    | 18.23   |    |         |    |        |    |
| Nacional      | Ventanas                    | 2.92             | 1.81          | 28.4           | 3.44    | 18.94   |    |         |    |        |    |
|               | Montalvo                    | 2.92             | 1.81          | 28.4           | 3.44    | 18.94   |    |         |    |        |    |
|               | Babahoyo                    | 2.18             | 1.3           | 26.34          | 3.6     | 17.33   |    |         |    |        |    |
|               | Eem ±                       | 0.27             | 0.21          | 0.37           | 0.03    | 0.27    |    |         |    |        |    |
|               | Cv                          | 26.42            | 30.56         | 4.07           | 2.57    | 4.49    |    |         |    |        |    |
|               | Dms                         | 1.14989          | 0.90688       | 1.54926        | 0.12477 | 1.16267 |    |         |    |        |    |
| Probabilidad  | Tipo de cacao               | 0.0006           | *             | <0.0001        | **      | <0.0001 | ** | <0.0001 | ** | 0.7184 | Ns |
|               | Localidades                 | 0.0964           | Ns            | 0.3740         | Ns      | <0.0001 | ** | 0.0001  | ** | 0.0002 | *  |
|               | Bloque                      | 0.5619           | Ns            | 0.0039         | *       | 0.6481  | Ns | 0.3794  | Ns | 0.3187 | Ns |
|               | Tipo de cacao * localidades | 0.0533           | Ns            | 0.2333         | Ns      | 0.1799  | Ns | 0.1674  | Ns | 0.0007 | *  |

**Nota:** EEM = Error estándar de la media; CV = Coeficiente de variación; DMS = Diferencia mínima significativa ( $p < 0.05$ ). \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ , ns = no significativo.

En la Tabla 2, el análisis de varianza evidenció discrepancias altamente significativas del tipo de cacao sobre las variables peso inicial, peso seco, temperatura y pH, lo cual refleja diferencias intrínsecas entre las variedades Nacional y CCN-51 durante la etapa de postcosecha. Estas diferencias pueden estar asociadas a características genéticas y fisiológicas propias de cada variedad, que influyen en la pérdida de humedad, la tasa metabólica y la respuesta a los procesos fermentativos.

En contraste, la variable °Brix no presentó diferencias significativas entre los tipos de cacao, lo que sugiere que, al finalizar la fermentación, la concentración de sólidos solubles tiende a homogenizarse, posiblemente como resultado de una dinámica microbiana y bioquímica común durante la degradación de los azúcares presentes en la pulpa.

El efecto de la localidad fue altamente significativo para las variables temperatura, pH y °Brix, lo que demuestra que las condiciones ambientales particulares de cada cantón evaluado influyen en la evolución fisicoquímica del grano durante la fermentación. Factores como la temperatura ambiente, la altitud y la humedad relativa pueden modificar el microclima del proceso postcosecha, afectando la intensidad de la actividad microbiana y la eficiencia en la transformación de compuestos.

En cuanto al bloque (repeticiones), se observó significancia únicamente en el peso seco, lo que podría indicar una ligera variabilidad entre repeticiones, posiblemente atribuible a diferencias en las condiciones de secado o manipulación de la muestra durante el experimento.

La interacción entre tipo de cacao y localidad fue significativa únicamente para la variable °Brix, lo que revela una respuesta diferencial en el contenido de sólidos solubles según la combinación específica de variedad y cantón. Esta interacción sugiere que el comportamiento fermentativo y la acumulación de azúcares solubles no dependen únicamente del genotipo ni del ambiente por separado, sino del efecto conjunto de ambos factores. Los coeficientes de variación (CV) se mantuvieron dentro de rangos aceptables, lo que indica buena precisión experimental. Además, los errores estándar de la media (EEM) fueron bajos, respaldando la consistencia de los datos generados.

**Tabla 3.** Perfil fisicoquímico de almendras de cacao fermentadas y secas según variedad y localidad.

| Factores      |                             | Variable |    |         |    |             |    |         |    |            |    |
|---------------|-----------------------------|----------|----|---------|----|-------------|----|---------|----|------------|----|
| Tipo de cacao | Localidades                 | Humedad  |    | Grasa   |    | Polifenoles |    | Cafeina |    | Teobromina |    |
| CCN-51        | Ventanas                    | 4.3      | a  | 53      | a  | 106.94      | ab | 0.31    | a  | 1.81       | a  |
|               | Montalvo                    | 4.43     | a  | 51.47   | a  | 100.52      | ab | 0.33    | a  | 1.79       | ab |
|               | Babahoyo                    | 3.76     | a  | 52.29   | a  | 156.76      | ab | 0.33    | a  | 1.87       | a  |
| Nacional      | Ventanas                    | 4.47     | a  | 52.09   | a  | 98.63       | b  | 0.28    | a  | 1.76       | ab |
|               | Montalvo                    | 4.06     | a  | 52.14   | a  | 130.51      | ab | 0.36    | a  | 1.92       | a  |
|               | Babahoyo                    | 4.52     | a  | 52.99   | a  | 92.54       | b  | 0.34    | a  | 1.62       | b  |
|               | Eem ±                       | 0.51005  |    | 0.71    |    | 12.92       |    | 0.03    |    | 0.06       |    |
|               | Cv                          | 21.78    |    | 4.06    |    | 33.89       |    | 25.01   |    | 9.67       |    |
|               | Dms                         | 1.30792  |    | 2.99646 |    | 54.65428    |    | 0.11437 |    | 0.24484    |    |
| Probabilidad  | Tipo de cacao               | 0.4612   | ns | 0.7893  | ns | 0.1863      | ns | 0.8025  | ns | 0.2198     | ns |
|               | Localidades                 | 0.7325   | ns | 0.4443  | ns | 0.2476      | ns | 0.1716  | ns | 0.1509     | ns |
|               | Bloque                      | 0.6214   | ns | 0.4656  | ns | 0.9033      | ns | 0.3761  | ns | 0.0563     | *  |
|               | Tipo de cacao * localidades | 0.1966   | ns | 0.4383  | ns | 0.0030      | *  | 0.5726  | ns | 0.0090     | *  |

La Tabla 3, muestra el análisis de las variables fisicoquímicas en almendras fermentadas y secas de cacao. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las variedades (Nacional vs. CCN-51) ni entre localidades para humedad, grasa, cafeína o teobromina. Sin embargo, la interacción genotipo  $\times$  localidad mostró efectos altamente significativos en polifenoles totales ( $p = 0.003$ ) y teobromina ( $p = 0.009$ ), lo que sugiere que la acumulación de estos compuestos depende de sinergias entre factores genéticos y ambientales.

Respecto al contenido de polifenoles totales, el cacao Nacional de Montalvo registró el valor más alto (130.51 mg EAG/g), mientras que el CCN-51 de Ventanas el más bajo (98.63 mg EAG/g). Esta variación podría vincularse a diferencias en la exposición solar, estrés hídrico o prácticas de fermentación entre localidades, factores que modulan la síntesis de compuestos fenólicos.

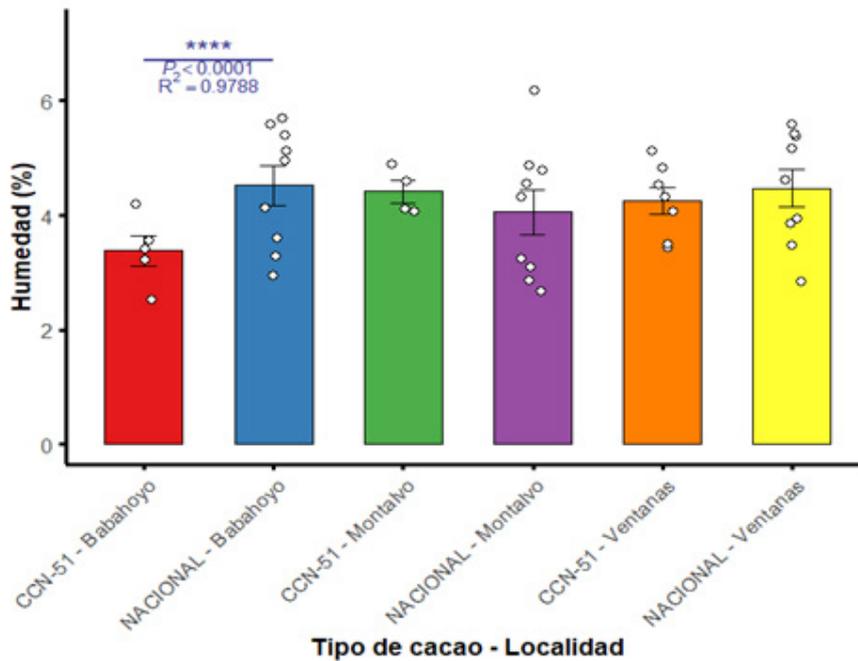
En el caso de la cafeína, si bien el ANOVA no mostró diferencias significativas para los factores principales ni su interacción ( $p > 0,05$ ), se identificaron diferencias estadísticas entre

tratamientos en el test de comparación de medias, con valores más altos en cacao Nacional de Montalvo (0,36 %) y valores más bajos en CCN-51 de Ventanas (0,28 %), lo cual podría reflejar variaciones bioquímicas inducidas por el ambiente.

Para la teobromina, se detectaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) tanto en la interacción tipo de cacao  $\times$  localidad ( $p = 0,0090$ ) como en el factor principal tipo de cacao ( $p = 0,0563$ ), aunque este último con significancia marginal (\*). El cacao Nacional de Montalvo mostró el mayor contenido de teobromina (1,92 %), en contraste con el cacao Nacional de Babahoyo (1,62 %), lo cual sugiere una respuesta diferencial en la acumulación de alcaloides según la interacción genotipo-ambiente.

Los coeficientes de variación (CV) fueron aceptables para humedad (21.78%) y grasa (4.06%), pero elevados en polifenoles (33.89%) y cafeína (25.01%), lo que refleja la influencia de factores no controlados, como la heterogeneidad genética dentro de las variedades o fluctuaciones microclimáticas durante el secado.

**Interacción sobre la evaluación de la variable de humedad.**



**Figura 1.** Variable de humedad.

La Figura 1, muestra la distribución del contenido de humedad (%) en almendras de cacao fermentadas, analizando la interacción entre el tipo de cacao (Nacional y CCN-51) y la localidad de origen (Babahoyo, Montalvo y Ventanas). El análisis de varianza (ANOVA) no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los factores principales ni su interacción ( $p > 0,05$ ), lo que indica que, bajo las condiciones experimentales evaluadas, ni el tipo de cacao ni la localidad afectaron significativamente el contenido de humedad final de las almendras.

Sin embargo, la regresión aplicada sobre el conjunto de datos mostró un efecto altamente significativo ( $p < 0,0001$ ) y un coeficiente de determinación elevado ( $R^2 = 0,9788$ ), lo que sugiere que la variabilidad observada puede ser modelada adecuadamente por factores adicionales o combinaciones de variables que no fueron consideradas explícitamente en el ANOVA de dos vías. Es importante aclarar que, en este caso, la regresión no modela una relación causal directa entre la humedad y los factores estudiados, sino que refleja la capacidad del modelo para explicar

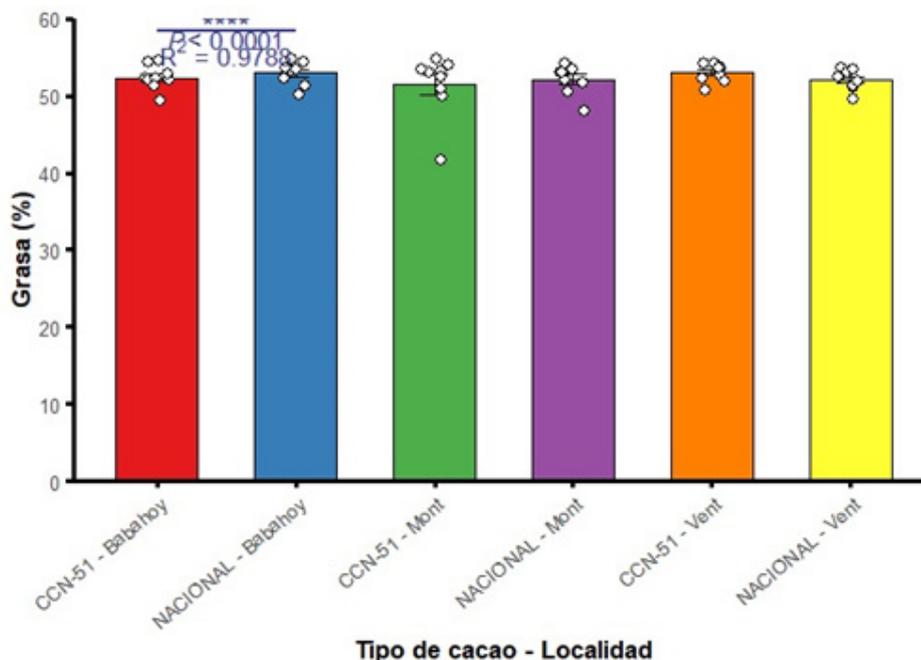
la dispersión de los datos, posiblemente debido a covariables no incluidas en el diseño experimental original, como variaciones microambientales, tiempo de secado o heterogeneidad dentro de las muestras.

En cuanto a los valores promedio de humedad oscilaron entre 3,76 % (CCN-51 – Babahoyo) y 4,52 % (Nacional – Babahoyo), todos por debajo del umbral crítico del 7 % establecido por la normativa ecuatoriana (INEN 176) lo que garantiza condiciones óptimas de almacenamiento posfermentativo. El cacao Nacional, en general, presentó valores ligeramente superiores a la localidad de Babahoyo, lo cual podría estar vinculado con diferencias fisiológicas o microestructurales entre variedades, como la porosidad del cotiledón o la capacidad de transferencia de masa durante el secado, aunque estas hipótesis requieren validación experimental adicional. La dispersión observada en los tratamientos Nacional–Babahoyo y Nacional–Ventanas, representada por los puntos individuales

en la figura, podría estar asociada a condiciones microambientales heterogéneas durante el secado solar, como sombreamiento parcial, gradientes térmicos o diferencias en el grosor de la capa de grano expuesta al sol, factores que suelen influir en la eficiencia de la deshidratación.

En síntesis, aunque el análisis estadístico no detectó diferencias contundentes entre tratamientos en términos absolutos, la humedad residual del grano puede verse influenciada de manera sutil pero consistente por la interacción genotipo y el ambiente, así como por factores microambientales durante el secado. Este hallazgo resalta la importancia de considerar tanto la variabilidad fisiológica como las condiciones de procesamiento en el diseño de protocolos poscosecha y en la selección de materiales para sistemas agroindustriales de alta eficiencia, aunque se requiere investigación adicional para validar las causas específicas de la variabilidad observada. Se presenta la Figura 2.

**Interacción sobre la evaluación de la variable de grasa.**



**Figura 2.** Variable de grasa.

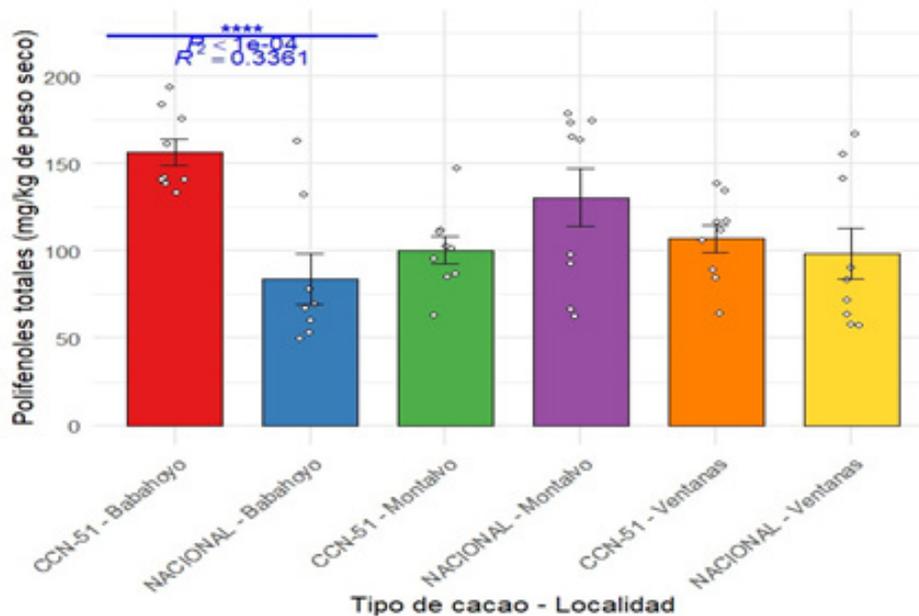
La Figura 2, representa la distribución del contenido lipídico (%) en almendras de cacao fermentadas, diferenciadas por tipo genético (Nacional y CCN-51) y procedencia geográfica (Babahoyo, Montalvo y Ventanas). El análisis de varianza (ANOVA) no reveló diferencias estadísticamente significativas entre los factores evaluados ni en su interacción ( $p > 0,05$ ), lo que indica que, bajo las condiciones experimentales evaluadas, ni el tipo de cacao ni la localidad afectaron significativamente el contenido de grasa. No obstante, el modelo de regresión

aplicado sobre el conjunto de datos mostró un efecto altamente significativo ( $P < 0.0001$ ) y un coeficiente de determinación elevado ( $R^2 = 0.9781$ ), este resultado refleja que la variabilidad observada puede ser explicada por factores adicionales o interacciones no consideradas en el ANOVA de dos vías, tales como variabilidad intrínseca de las muestras, diferencias microambientales durante el secado o características fisiológicas de los granos, pero no establece relación causal directa entre los tratamientos y el contenido de grasa.

En general, los valores promedio de grasa oscilaron entre 51,47 % y 53 %, sin desviaciones extremas. El tratamiento CCN-51 – Babahoyo presentó el mayor contenido lipídico (53 %), mientras que el menor se registró en Nacional – Montalvo (aproximadamente 51,29 %), aunque sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ( $p > 0,05$ ). Las diferencias mínimas podrían estar relacionadas con características varietales intrínsecas, así como con las condiciones agroclimáticas locales que influyen en la biosíntesis y acumulación de lípidos en el cotiledón.

Las barras de la figura representan las medias con su error estándar ( $\pm$ ), mientras que los puntos individuales indican la dispersión de los datos por unidad experimental. Se observa una distribución relativamente homogénea entre tratamientos, lo que evidencia la consistencia del proceso fermentativo y de secado aplicado. Desde el punto de vista agroindustrial, este comportamiento homogéneo es favorable, ya que la grasa constituye un parámetro crítico en la calidad del licor de cacao y en la formulación de productos derivados como chocolate y manteca de cacao. Variable de Polifenoles totales, en la Figura 3.

### Interacción sobre la evaluación de la variable de polifenoles.



**Figura 3.** Variable de polifenoles totales

La Figura 3, muestra la distribución del contenido de polifenoles totales en almendras de cacao fermentadas, expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por kilogramo de peso seco (mg EAG/kg), considerando la interacción entre el tipo de cacao (Nacional y CCN-51) y la localidad de origen (Babahoyo, Montalvo y Ventanas). La cuantificación se realizó mediante el método espectrofotométrico de Folin–Ciocalteu, a partir de extractos hidroalcohólicos obtenidos por agitación magnética con metanol al 70 %, seguidos de reacción colorimétrica, y lectura de absorbancia a 760 nm.

Los valores medios oscilaron entre 92,54 mg EAG/g (Nacional – Babahoyo) y 156,76 mg EAG/g (CCN-51 – Babahoyo), según los datos de la Tabla 3, lo que indica una variabilidad sustancial en la concentración de compuestos fenólicos entre tratamientos. El análisis de regresión ajustado al modelo mostró un nivel de significancia altamente

confiable ( $p < 0,0001$ ), con un coeficiente de determinación moderado ( $R^2 = 0,3361$ ), lo que implica que aproximadamente el 33,6 % de la variabilidad observada en el contenido fenólico puede ser explicada por la interacción de los factores evaluados. Cabe señalar que el análisis de varianza (ANOVA) también reveló una interacción significativa entre el tipo de cacao y la localidad ( $p = 0,003$ ), lo que refuerza la importancia de considerar ambos factores de manera conjunta.

Las barras representan los valores promedio por tratamiento, acompañados de su error estándar, mientras que los puntos superpuestos indican la dispersión individual de los datos experimentales. Se observa un patrón de distribución variable entre tratamientos, lo que evidencia diferencias en la acumulación de metabolitos secundarios en respuesta a factores genéticos y condiciones edafoclimáticas particulares. Figura 4.

### Interacción sobre la evaluación de la variable de cafeína.

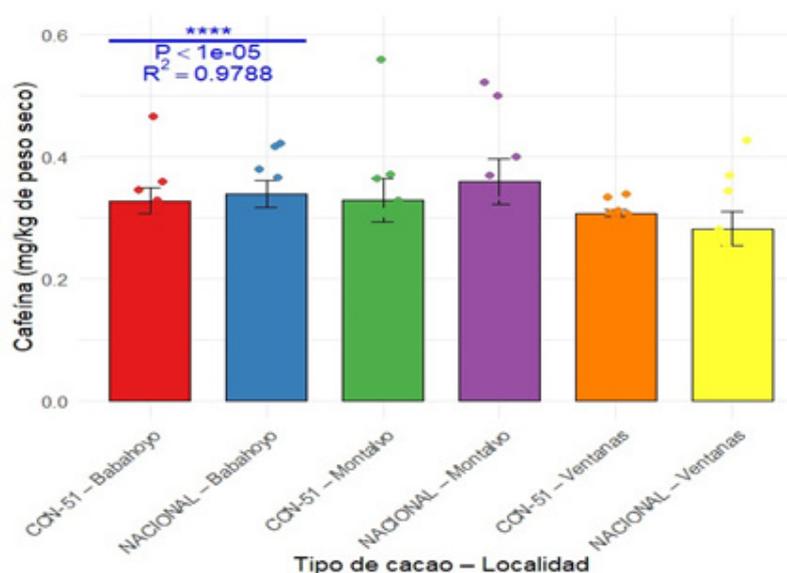


Figura 4. Variable de cafeína.

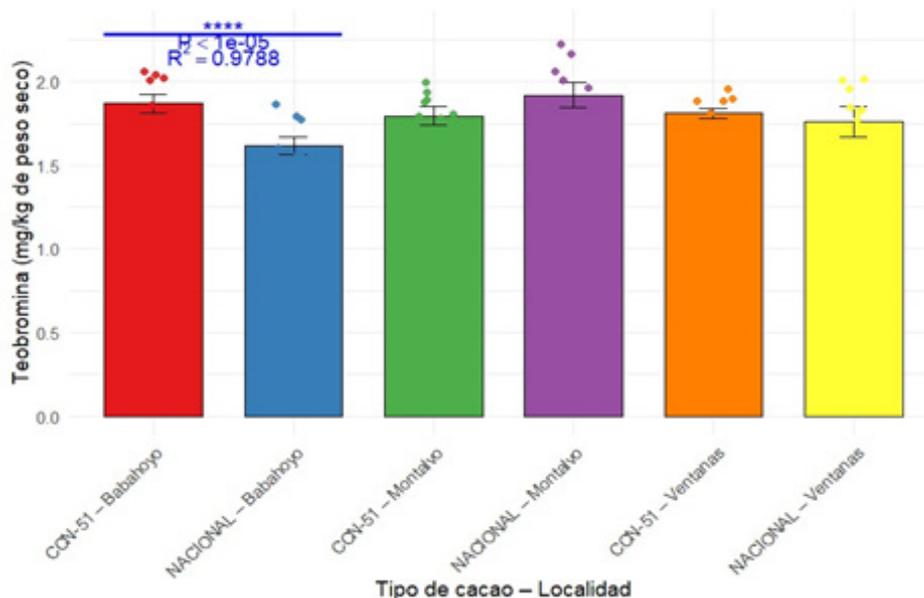
La Figura 4, presenta el contenido de cafeína (mg/kg de peso seco) en almendras de cacao fermentadas, evaluado según la interacción entre la variedad (*Theobroma cacao* L. cv. Nacional y CCN-51) y la procedencia geográfica (Babahoyo, Montalvo y Ventanas). La cuantificación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), técnica ampliamente reconocida por su selectividad y sensibilidad para la determinación de alcaloides en matrices alimentarias como el cacao. El análisis empleó una columna ODS-II (150 mm × 4,6 mm ID), fase móvil metanol: agua (25:75 v/v), flujo de 1 mL/min, volumen de inyección de 20 µL, y detección UV-Vis a 273 nm. Antes del análisis, la muestra se desengrasó mediante extracción Soxhlet con éter de petróleo, y la cafeína se extrajo en agua bidestilada bajo ebullición. Posteriormente, el extracto fue clarificado con soluciones Carrez I y II, filtrado a través de membranas de 0,22 µm y almacenado a 4 °C hasta su análisis.

Los valores promedio de cafeína oscilaron entre 0,28 mg/kg (Nacional – Ventanas) y 0,36 mg/kg (Nacional – Montalvo), lo cual evidencia

una variabilidad moderada entre tratamientos. El modelo estadístico aplicado mostró un nivel de significancia altamente confiable ( $P < 1 \times 10^{-5}$ ) y un coeficiente de determinación robusto ( $R^2 = 0.9788$ ), lo que indica una asociación estrecha entre la combinación de los factores y la concentración de cafeína registrada en las muestras. Sin embargo, el análisis de varianza (ANOVA) realizado previamente no detectó diferencias significativas entre los factores principales ni en la interacción ( $p > 0,05$ ), lo que sugiere que la variabilidad observada puede ser explicada por factores adicionales o por la alta sensibilidad del modelo de regresión, más que por diferencias intrínsecas entre los tratamientos evaluados.

Las barras representan la media  $\pm$  error estándar por tratamiento, mientras que los puntos superpuestos reflejan la distribución individual de las observaciones experimentales. El comportamiento gráfico sugiere uniformidad general en los perfiles de cafeína entre las distintas combinaciones de factores, con ligeras fluctuaciones atribuibles a la interacción genotipo  $\times$  ambiente. Figura 5.

**Interacción sobre la evaluación de la variable de teobromina.**



**Figura 5.** Variable de teobromina.

La Figura 5, representa el contenido de teobromina (mg/kg de peso seco) en almendras de cacao fermentadas, en función de la interacción entre el tipo de cacao (*Theobroma cacao* L. cv. Nacional y CCN-51) y su procedencia geográfica (Babahoyo, Montalvo y Ventanas). La determinación cuantitativa de este alcaloide se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando una columna ODS-II (150 mm × 4,6 mm ID), fase móvil compuesta por metanol: agua (25:75, v/v), a un flujo de 1,0 mL/min y detección UV-Vis a 273 nm. El volumen de inyección fue de 20 µL.

Las muestras fueron previamente desengrasadas por extracción Soxhlet utilizando éter de petróleo (40–60 °C) y el extracto alcaloidal

se obtuvo mediante ebullición en agua bidestilada, seguido de clarificación con soluciones Carrez I y II. El extracto fue filtrado a través de membranas Millipore de 0,22 µm antes de su análisis instrumental.

Los valores medios oscilaron entre 1,62 mg/kg (Nacional – Babahoyo) y 1,92 mg/kg (Nacional – Montalvo), con diferencias observables entre tratamientos. El modelo estadístico ajustado indicó un nivel de significancia altamente confiable ( $P < 1 \times 10^{-5}$ ) y un coeficiente de determinación elevado ( $R^2 = 0.9788$ ), sugiriendo una asociación fuerte entre los factores evaluados y la concentración de teobromina en las almendras fermentadas.

Las barras representan las medias de cada tratamiento con su error estándar ( $\pm$ ), mientras que

los puntos superpuestos reflejan la distribución individual de las unidades experimentales. El perfil gráfico evidencia una diferenciación moderada en la acumulación de teobromina entre las combinaciones genotipo  $\times$  localidad.

## Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio evidencian diferencias significativas en función del tipo de cacao para los parámetros peso inicial, peso seco, temperatura y pH. Estas diferencias reflejan la influencia intrínseca del genotipo sobre las propiedades fisicoquímicas postcosecha, en concordancia con estudios previos en clones nacionales realizados por Vera, et al. (8) y Vera, J. et al. (14), quienes argumentan que las características fisiológicas y estructurales del grano inciden directamente en la tasa de deshidratación, la capacidad metabólica y la respuesta al microambiente fermentativo.

En particular, la mayor masa fresca registrada en el cacao CCN-51 podría atribuirse a una mayor densidad de mucílago, factor que también incide en la retención de humedad y en la liberación progresiva de azúcares durante la fermentación. Esta hipótesis es congruente con el comportamiento agronómico documentado por Vera, (22) en materiales híbridos Trinitario  $\times$  Nacional, donde se establece una relación entre morfología del fruto y peso seco final.

Por otra parte, la influencia del genotipo sobre el pH inicial concuerda con los hallazgos de Vásquez, et al. (1), quienes argumentan que la composición ácida del mucílago varía según la variedad y que este parámetro es clave para el desarrollo de las comunidades microbianas durante la fermentación. No obstante, a diferencia de lo observado en otras variables, el contenido de sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix) no presentó diferencias estadísticas entre los tipos de cacao. Esto sugiere un comportamiento homogéneo en la concentración inicial de azúcares disponibles, posiblemente derivado de mecanismos comunes enzimáticos que regulan la hidrólisis de pectinas y la liberación de azúcares simples al inicio de la fermentación, como también ha sido documentado en experimentos con extractos de frutas y microorganismos eficientes en fermentaciones controladas (Vásquez, L. et al., (9).

En cuanto al efecto de la localidad, las variables temperatura, pH y  $^{\circ}$ Brix fueron significativamente afectadas, lo que evidencia que las condiciones microclimáticas particulares como temperatura ambiental, altitud, humedad relativa y exposición solar inciden directamente sobre la actividad fermentativa y la dinámica bioquímica del proceso. Estos resultados coinciden con los de Vásquez, et al. (1) y Vera (14) destacan que la altitud y el régimen térmico local modulan la cinética de fermentación, modificando la tasa de producción de ácidos, etanol y otros metabolitos.

Respecto a la variabilidad observada, la significancia estadística del bloque únicamente en la variable peso seco podría estar relacionada con ligeras fluctuaciones en las condiciones de secado entre repeticiones, un aspecto crítico considerando que el contenido final de humedad es determinante para la estabilidad del producto y su calidad sensorial.

Finalmente, la interacción significativa entre tipo de cacao y localidad observada únicamente en la variable °Brix sugiere un efecto sinérgico entre el genotipo y el ambiente en la modulación del contenido de azúcares solubles. Esta interacción coincide con los planteamientos de Calvo (23), quienes sostienen que las condiciones agroecológicas pueden amplificar o atenuar los rasgos bioquímicos de cada variedad, afectando el perfil fermentativo de manera diferenciada.

En conjunto, los patrones observados en la composición fisicoquímica de las almendras de cacao fermentadas reflejan la compleja interacción entre la genética del material vegetal y el entorno agroecológico, aspectos ampliamente reconocidos como determinantes clave de la calidad funcional y tecnológica del grano de cacao Lordelo, et al.; Vera, et al. (24, 22). Aunque variables como la humedad, el contenido graso y la cafeína no exhibieron diferencias significativas, su estabilidad relativa puede interpretarse como una respuesta consistente a las condiciones homogéneas del

manejo postcosecha, lo cual es deseable desde una perspectiva industrial, especialmente para procesos que demandan estándares constantes en la materia prima Goya et al. (25).

Adicionalmente, la variabilidad en los niveles de polifenoles totales y teobromina en función de la interacción genotipo × localidad refuerza la idea de que la composición química del cacao no es un rasgo exclusivamente varietal, sino el resultado de una interacción dinámica entre el potencial genético y el microambiente fermentativo, tal como lo proponen Urbanska y Kowalska (26). Asimismo, la literatura reciente sugiere que la actividad enzimática endógena y la cinética térmica durante la fermentación pueden modular la oxidación y polimerización de los polifenoles, influyendo directamente en su retención o degradación, lo que coincide con los resultados de Guillen y Rosa (27). En este sentido, la sensibilidad de la teobromina a las condiciones bioquímicas del proceso fermentativo, en contraste con la mayor estabilidad de la cafeína, ha sido ampliamente documentada por Vera, J. et al. (14), quienes señalan que la teobromina puede sufrir redistribución y degradación parcial en condiciones de alta temperatura o baja eficiencia de volteo, mientras que la cafeína mantiene su estructura, lo que la convierte en un marcador varietal útil.

Cabe destacar que, aunque la cafeína no mostró diferencias significativas, su comportamiento

estable puede ser indicativo de una menor sensibilidad a los factores del proceso. De hecho, estudios recientes han señalado que, aunque la cafeína no sufre transformaciones estructurales marcadas durante la fermentación, su proporción relativa respecto a la teobromina (relación T/C) puede servir como un descriptor varietal útil para clasificar ecotipos de cacao con perfiles alcaloídicos diferenciados Vera, et al. (22).

Los hallazgos reafirman la importancia de considerar simultáneamente el material genético y las condiciones agroclimáticas específicas en la planificación de procesos postcosecha, particularmente cuando se busca optimizar el contenido de compuestos funcionales sin comprometer la calidad sensorial ni la estabilidad tecnológica del grano fermentado. Asimismo, refuerzan el potencial del cacao Nacional como un recurso estratégico para la diferenciación agroindustrial mediante la valorización de su perfil químico.

Finalmente, es importante reconocer que el estudio presenta algunas limitaciones, como la ausencia de datos cuantitativos sobre variables microclimáticas específicas a nivel de finca. Además, la variabilidad natural de los procesos biológicos y la heterogeneidad genética dentro de las variedades pueden limitar la generalización de los hallazgos, tal como lo advierten Lordelo et al. (24). A pesar de estas limitaciones, los resultados

obtenidos reafirman la importancia de considerar tanto el material genético como las condiciones agroclimáticas en la planificación de procesos postcosecha, especialmente cuando se busca optimizar el contenido de compuestos funcionales y la calidad sensorial del cacao.

## CONCLUSIÓN

El presente estudio aporta evidencia sobre cómo la combinación del material genético y el entorno agroecológico influye en la calidad del cacao, abriendo nuevas expectativas para la diferenciación y valorización de los granos ecuatorianos. Uno de los hallazgos más importantes fue que la calidad química del cacao no depende únicamente de la variedad, sino de la interacción entre el genotipo y las condiciones específicas de cada zona productora, lo que permite identificar combinaciones que potencian la concentración de compuestos funcionales y aromáticos.

Estos resultados tienen una implicación práctica directa al reconocer que ciertas zonas como Montalvo, favorecen la expresión de compuestos favorecen la expresión de compuestos de alto valor nutracéutico y sensorial en el cultivo del cacao nacional, se puede orientar la producción y el procesamiento hacia la obtención de productos diferenciados de mayor valor agregado y, esto es clave para el desarrollo de sistemas de trazabilidad y certificación de origen, lo que reafirma la

competitividad del cacao ecuatoriano en mercados internacionales que demandan entre las principales características calidad y autenticidad.

De igual forma, se realizaron observaciones en la consistencia de parámetros como grasa y humedad bajo un manejo poscosecha adecuado, demostrando que es posible mantener estándares elevados de calidad tecnológica, lo que facilita la integración de los productores de cadenas de valor más exigentes. Este estudio fundamenta las bases para la implementación de estrategias de zonificación productiva que optimicen la expresión de atributos clave según el terroir, contribuyendo así a la sostenibilidad y rentabilidad del sector cacaotero ecuatoriano.

En conjunto, los hallazgos obtenidos destacan la importancia de considerar la diversidad genética y ambiental como motor de innovación y diferenciación en la agroindustria del cacao, ofreciendo herramientas concretas para impulsar la calidad, la competitividad y el posicionamiento de Ecuador como referente mundial en cacao fino y de aroma.

**CONFLICTO DE INTERESES.** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses para la publicación del presente artículo científico

## REFERENCIAS

1. Vásquez L, Alvarado K, Intriago F, Raju N, Prasad R. Banana and apple extracts with efficient microorganisms and their effect on cadmium reduction in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Discov Food*. 2024;4(163):1–13. <https://link.springer.com/article/10.1007/s44187-024-00205-5#citeas>
2. Delgadillo P, Berdugo J, Mejía J, Pérez J, Yockteng R. Exploring the diversity and ancestry of fine-aroma cacao from Tumaco, Colombia. *Diversity*. 2024;16(12):1–17. [https://www.mdpi.com/1424-2818/16/12/754?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.mdpi.com/1424-2818/16/12/754?utm_source=chatgpt.com)
3. Intriago F, Alvarado K, Vera J, Vásquez L, Tigselema S, Verduga C. Post-harvest quality of cacao (*Theobroma cacao* L.) for the chocolate industry. In: García L, Naga M, Zambrano F, Aguilar D, editors. *Sustainable Cacao Cultivation in Latin America*. 1st ed. London: Routledge; 2024. 270–91. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.4324/9781003381761-17/post-harvest-quality-cacao-theobroma-cacao-chocolate-industry-frank-intriago-flor-kerly-alvarado-v%C3%A1squez-jaime-vera-chang-luis-v%C3%A1squez-cortez-solanyi-tigselema-zambrano-cristhian-verduga-l%C3%B3pez?context=ubx&refId=66c90aef-fa25-4662-821f-687e31dc2bf2>
4. Torres A, Vásquez L, Vera J, Alvarado K, Intriago F. Extraction of cocoa powder for the preparation of a drink by adding mucilage and guava. *Sarhad J Agric*. 2023;39(2):1–10. <https://researcherslinks.com/current-issues/Extraction-Cocoa-Powder-Preparation-Drink-Guava/14/32/7271>
5. Córdova E. Cacao fino de aroma : Comercio interno en el Ecuador Fine aroma cocoa : Internal trade in Ecuador. *Rev Cient Int Univ Tecnol Int*. 2024;11(2):3365–80. <https://www.uticvirtual.edu.py/revista.ojs/index.php/revistas/article/view/506>
6. Gambo R, Borjas R, Saravia D, Alarcón G, Alvaro L, Julca Al. Comportamiento en Vivero de Diferentes Patrones y Plantas Injertadas De Cacao (*Theobroma cacao* L.) en Rio Negro, Satipo, Junín, Perú. *Rev Científica Pakamuros*. 2017;5(1):34–42. <https://revistas.unj.edu.pe/index.php/pakamuros/article/view/49>
7. Intriago F, Cedeño J, Parraga C, Alvarado K, Vásquez L, Revilla K, et al. Induction of effective microorganisms (EM) in the fermenting mass of cacao (*Theobroma cacao* L.) and their impact on physicochemical and antioxidant characteristics.

- Biotecnia. 2024;26(2422):1–8. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/2422>
- 8.** Vera J, Radice M, Vásquez L, Intriago F. Peril químico de 12 clones tipo Nacional de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.). Univeridad Y Soc. 2024;16(1):126–36. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/4311>
- 9.** Vásquez L, Vera J, Erazo C, Intriago F. Induction of rhizobium japonicum in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao* L.) as a strategy for the decrease of cadmium. *Int J od Heal Sci.* 2022;6(3):11354–71.
- 10.** Álvarez C, Pérez E, Lares, M. Beneficio del cacao Criollo venezolano: variaciones en composición proximal, metilxantinas y polifenoles. *RIVAR (Santiago)*, 9(27), 113-128. 2022. <https://dx.doi.org/10.35588/rivar.v9i27.5625>
- 11.** Cuellar L, Medina E, Guzmán K, Ordóñez C. Evaluación de la calidad física y sensorial de grano de *Theobroma cacao* L. en respuesta a procesos de beneficio en municipios del norte del Huila, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental.* 2023. DOI: 10.22490/21456453.6710
- 12.** García J, Castro E, Idrogo G, Siche R, Cardenas F. Chemical and sensory evaluation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) from different regions of Peru. *Food Chemistry*, 339, 127840. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127840>
- 13.** Solórzano R, Casanova Mendoza T, Plaza Avellán L. Mejoramiento y homologación de los procesos y protocolos de investigación, validación y producción de servicios en cacao y café. *INIAP.* 2016;(433):21–30.
- 14.** Vera J, Vásquez L, Alvarado K, Intriago F, Raju M, Radice M. Physical and organoleptic evaluation of 12 cocoa clones (*Theobroma cacao* L.) of National type, in Cocoa liquor — a study from Ecuador. *Syst Smart Technol Innov Soc.* 2024;870:8–15. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-51982-6\\_18](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-51982-6_18)
- 15.** Alvarado K, Vera J, Vásquez L, Intriago G, Barzola J. Tiempos y temperaturas de torrefacción en almendras de tres variedades de cacao nacional, trinitario, forastero para la obtención de nibs. *Supl CICA Multidiscip.* 2023;7(015):100–35. <https://uleam.suplementocica.org/index.php/SuplementoCICA/article/view/94>
- 16.** Intriago F, Vera J, Vásquez L, Alvarado K. Inducción anaérobica de *Bradyrhizobium japonicum* en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa. *J Sci Res UTB.* 2022;7(2):19–23.
- 17.** Erazo C, Bravo K, Tuárez D, Fernández Á, Torres Y, Vera J. Efecto de la fermentación de cacao (*theobroma cacao* L.), variedad nacional y trinitario, en cajas de maderas no convencionales sobre la calidad física y sensorial del licor de cacao. *Rev Investig Talent.* 2021;8(2):42–55.
- 18.** Vera J, Benavides J, Vásquez L, Alvarado K, Reyes J, Intriago F, et al. Effects of two fermentative methods on cacao (*Theobroma cacao* L.) Trinitario, induced with *Rhizobium japonicum* to reduce cadmium. *Rev Colomb Investig Agroindustriales.* 2023;10(1):95–106.
- 19.** Vásquez L, Rivadeneira S, Intriago F, Durazno L, Vera J, Arboleda L. Utilización de extracto de jackfruit (*Artocarpus Heterophyllus*) como estrategia para mejorar la calidad del grano de cacao. *InvestiGo.* 2023;4(8):95–117. <https://www.revistainvestigo.com/EditorInvestigo/index.php/hm/article/view/67>
- 20.** Vera J, Vasquez L, Zapata K, Cevallos R. Caracterización morfológica, fisicoquímica y microbiológica del cacao Macambo (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl.) en Ecuador. *Rev Agrotecnología Amaz [Internet].* 2024;4(2):1–17. <https://revistas.unsm.edu.pe/index.php/raa/article/view/657>
- 21.** Espín S, Samaniego I. Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao. Quito: Instituto de Investigación de Investigaciones Agropecuarias; 2016. p. 1–67. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4072>
- 22.** Vera J, Herrera N, Alvarez R, Alvarez A, Diaz E, Vásquez L. Comportamiento agronómico de cuarenta y un cruces interclonales de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Ecuador. *Rev Actual Divulg Científica.* 2024;27(2):1–11. <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/2729>

- 23.** Calvo A, Botina B, García M, Montenegro A, Criollo J. Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality. *Sci Rep.* 2021;(16746):1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95703-2>
- 24.** Lordelo L, Marizania S, Santos L. Innovation in Cocoa Fermentation: Evidence from Patent Documents and Scientific Articles. *Fermentation.* 2024;10(5):1–18. <https://www.mdpi.com/2311-5637/10/5/251>
- 25.** Goya L, Kongor J, Pascual S. From Cocoa to Chocolate: Effect of Processing on Flavanols and Methylxanthines and Their Mechanisms of Action. *Int J Mol Sci.* 2022;23(22):1–28. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/22/14365>
- 26.** Urbanska B, Kowalska J. Comparison of the total polyphenol content and antioxidant activity of chocolate obtained from roasted and unroasted cocoa beans from different regions of the world. *Antioxidants.* 2019;8(8):1–13. <https://www.mdpi.com/2076-3921/8/8/283>
- 27.** Guillen K, Rosa J. Effects of fermentation temperature on the physicochemical properties, bioactive compounds, and In vitro Digestive Profile of Cacao (*Theobroma cacao*) Seeds. *Fermen.* 2025;11(4):1–18. <https://www.mdpi.com/2311-5637/11/4/167>