

**Fermentación asistida de cacao (*Theobroma cacao*) y participación de Zamorano en la investigación e innovación de derivados de este cultivo: Revisión literaria**

**Lester Iván Morales Cán**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Honduras**  
Noviembre, 2020

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Fermentación asistida de cacao (*Theobroma cacao*) y participación de Zamorano en la investigación e innovación de derivados de este cultivo: Revisión literaria**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Lester Iván Morales Cán**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2020

## **Fermentación asistida de cacao (*Theobroma cacao*) y participación de Zamorano en la investigación e innovación de derivados de este cultivo: Revisión literaria.**

**Lester Iván Morales Cán**

**Resumen.** El cacao es un importante rubro agrícola a nivel mundial y es la base de la economía de algunos países de África, Sudamérica y Asia. La fermentación es el proceso más importante para el desarrollo de sabor y aroma del cacao. El objetivo de este estudio fue realizar una revisión de literatura sobre la fermentación asistida en cacao, describir el potencial de Zamorano para el desarrollo de investigación en cacao. Así mismo, se efectuó una recolección y análisis de proyectos especiales de graduación realizados en cacao por parte de los cuatro departamentos académicos. La recopilación de información se realizó mediante una estrategia de búsqueda, criterios de inclusión y exclusión y, la extracción de datos relevantes para el estudio. La revisión de literatura contiene aspectos importantes relacionados con la industria del cacao como: cultivo, producción, procesamiento, comercialización, situación actual del cacao en Latinoamérica y Honduras. Respecto al estudio de la fermentación, se describe la ecología microbiológica de la fermentación espontánea del cacao, la sucesión microbiológica del proceso y sus efectos, factores influyentes en el desarrollo de investigaciones y, el uso de cultivos iniciadores en la fermentación. De igual forma se describen las investigaciones realizadas en forma de proyectos especiales de graduación relacionadas al cacao y la propuesta de diversificación de procesos relacionados al beneficiado y procesamiento del cacao. En total se revisaron 68 fuentes bibliográficas relacionadas al tema de estudio. Se analizó el potencial de diversas especies microbianas para su uso como cultivo iniciador y se revisó un total de 18 proyectos especiales de graduación en cacao.

**Palabras clave:** Aroma, bacterias ácido-acéticas, bacterias ácido-lácticas, cultivos iniciadores, investigación, levaduras.

**Abstract.** Cocoa is an important agricultural commodity worldwide and is the base of the economy of some countries in Africa, South America and Asia. Fermentation is the most important process for the development of cocoa flavor and aroma. The objective of this study was to carry out a review of the literature on assisted fermentation in cocoa, describe the potential of Zamorano to conduct research in cocoa. In addition, a collection and analysis of special graduation projects made in cocoa by the four academic departments was carried out. Information was collected using a search strategy, inclusion and exclusion criteria, and the extraction of relevant data for the study. The literature review contains important aspects related to the cocoa industry such as: cultivation, production, processing, marketing, and current situation of cocoa in Latin America and Honduras. Regarding the study of fermentation, the microbiological ecology of spontaneous cocoa fermentation, the microbiological succession of the process and its effects, influencing factors in the development of research and the use of starter cultures in fermentation are described. The investigations carried out in the form of special graduation projects related to cocoa and the proposal for diversification of processes related to the beneficiation and processing of cocoa are described. A total of 68 bibliographic sources related to the study topic were reviewed. The potential of various microbial species for use as a starter culture was analyzed and a total of 18 special graduation projects in cocoa were reviewed.

**Key words:** Acetic acid bacteria, flavor, lactic acid bacteria, starter cultures, research, yeast.

## ÍNDICE GENERAL

Portadilla .....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen .....	iii
Índice general .....	iv
Índice de Cuadros, figuras y anexos.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. METODOLOGÍA .....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>29</b>
<b>5. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>30</b>
<b>6. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>31</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Proyectos especiales de graduación realizados en cacao. ....	21
2. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Agroindustria.....	22
3. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Agronegocios. ....	24
4. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria.....	25
5. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Ambiente y desarrollo. ....	26
6. Recursos disponibles por el desarrollo de temas de investigación.....	27

Figuras	Página
1. Fruto y granos de cacao.....	5
2. Cotiledones y testa del grano de cacao en la sucesión de la fermentación .....	6
3. Primera etapa de procesamiento de cacao.....	9
4. Segunda etapa de procesamiento de cacao.....	10
5. Resumen del proceso de fermentación.....	15

Anexos	Página
1. Croquis de ubicación área de investigación e innovación de cacao.....	37
2. Distribución de áreas para la investigación e innovación de cacao .....	37

# 1. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) proviene de los trópicos y subtropicos de África y Latinoamérica (Caligiani *et al.* 2016). Los frutos y semillas provenientes del cacao varían en tamaño, color y forma debido a sus diferencias genéticas (Minifie 2012). En base a estas características, se han clasificado en tres variedades: Forastero, Criollo y Trinitario (Iulia Predan *et al.* 2015.). Existen dos clases de cacao: el cacao básico y el cacao fino de aroma. Alrededor del 95% de la producción mundial anual es considerado como cacao básico (Arvelo Sánchez 2017; Teneda Llerena 2017). El cacao y sus productos derivados (Polvo de cacao, licor de cacao y chocolate) son fuentes ricas en componentes bioactivos antioxidantes, entre ellos, los polifenoles (Giacometti *et al.* 2015).

El cacao es uno de los más importantes rubros agrícolas en el mundo y es base de la economía de algunos países de África, Sudamérica y Asia (Ozturk y Young 2017). Su producción anual es aproximadamente de 4.23 millones de toneladas. La mayor producción proviene de Ghana, Indonesia, Nigeria, Ecuador, Camerún, Brasil y Malasia. El chocolate proveniente del cacao, posee un distintivo sabor y aroma que está relacionado con la genética del grano, las condiciones de crecimiento y desarrollo y, el tipo de proceso recibido (Afoakwa 2016b). La calidad del cacao para el mercado mundial depende de la genética, fermentación y tostado (Teneda Llerena 2017). Latinoamérica y el caribe lideran la producción de cacao fino a nivel mundial. Honduras produce del 50 a 75% de cacao fino del total de sus exportaciones (Ulloa Leitón 2019).

El procesamiento de cacao y su conversión a chocolate se divide en dos etapas. La primera consiste en el proceso primario de los granos. Los procesos de esta etapa lo conforman: la fermentación, secado, limpieza, clasificación, tostado, separación de nib y testa. La segunda etapa, referente a la conversión del cacao a chocolate, incluye los procesos de molido, obtención de licor de cacao, mezcla con azúcar y otros ingredientes, refinamiento, conchado, estandarización, temperado, formado y refrigeración. Los procesos de mayor efecto en el desarrollo de sabor y aroma son la fermentación, secado, tostado, alcalinización y conchado (Minifie 2012; Hartel *et al.* 2018).

El cacao crudo posee un sabor astringente desagradable, y por lo tanto debe ser fermentado, secado y tostado para modificar sus componentes y así obtener el característico sabor y aroma a cacao (Wacher 2011). La fermentación es un proceso espontáneo y complejo dirigido por un gran número de microorganismos presentes en el ambiente (Ozturk y Young 2017). Determina las propiedades sensoriales y fisicoquímicas del cacao (Urbańska *et al.* 2019). Los cambios fisicoquímicos del cacao se presentan en la pigmentación interna (color violeta y marrón), cambio del sabor astringente de los cotiledones y transformación de azúcares en alcoholes provocado por las levaduras (Teneda Llerena 2017). La actividad microbiológica en la pulpa promueve la producción de etanol, ácido acético y ácido láctico los cuales provocan la muerte del grano (Afoakwa 2016b). La primera etapa de fermentación ocurre en las primeras 24 - 36 h. Los granos y la pulpa interactúan con diversos microorganismos y reducen el pH de la pulpa a 3.5 (Iulia Predan *et al.* 2015). Estas condiciones dan lugar a la fermentación alcohólica provocada por las levaduras. Estos microorganismos transforman los azúcares sencillos de la pulpa a etanol y CO<sub>2</sub>. Provocan la degradación de la pectina modificando así la textura del grano. Se elimina el ácido cítrico. Las levaduras crean un ambiente anaerobio que favorece el crecimiento y desarrollo de bacterias ácido lácticas (Wacher 2011). En la segunda etapa, la temperatura de la masa fermentativa se encuentra

a 50 °C y el pH incrementa a 5.6 (Minifie 2012). Esta fase ocurre bajo condiciones aerobias y es dominada por bacterias ácido-lácticas (Afoakwa 2016b). Estas bacterias, fermentan los carbohidratos residuales y continúan con el consumo de ácido cítrico. Debido a la hidrolización de pectinas por parte de las levaduras, se presenta una disminución de la viscosidad de la pulpa, lo que favorece la entrada de aire. En este ambiente se presenta el desarrollo de bacterias acéticas. En la tercera fase de fermentación, las bacterias acéticas transforman el etanol producido por las levaduras en ácido acético. Este es un proceso exotérmico, en el cual se produce calor, y provoca que el etanol y el ácido acético se difundan hacia el interior de los granos y que, junto a temperaturas altas provocan la muerte del embrión (Wacher 2011).

Tradicionalmente, el proceso de fermentación del cacao se realiza de manera espontánea, utilizando microorganismos del ambiente que entran en contacto con los granos recién retirados de la vaina (Nielsen *et al.* 2013). Sin embargo, durante los últimos años se han realizado diversos estudios sobre nuevas prácticas y metodologías para mejorar la calidad del grano de cacao. Dentro de estos estudios se incluyen ejemplos como: variaciones en el tiempo de almacenamiento de granos de cacao (Pereira *et al.* 2016); variación en el tiempo de fermentación (Warren *et al.* 2019) o la aplicación de cultivos iniciadores para la fermentación de cacao (Assi-Clair *et al.* 2019). El uso de cultivos iniciadores provee un mejor control de la fermentación y permite el desarrollo de una mejor calidad de cacao (Papalexandratou *et al.* 2019).

La investigación sobre cacao en Latinoamérica ha estado concentrada mayormente en aspectos agronómicos, lo cual se refleja en la producción primaria de cacao. La situación es contraria a la tendencia global, en donde se ha tomado con mayor importancia la investigación relacionada con los temas de calidad, industria y mercado. Zamorano actualmente, posee el potencial necesario para aportar a la industria cacaotera de Honduras y de la región Latinoamericana, mediante la ejecución de investigaciones en las que se podrían integrar sus cuatro áreas de operación. Por lo tanto, en el presente estudio se realizó la revisión y recopilación de información acerca de la situación actual del cacao y de estudios relacionados al uso de cultivos iniciadores para la fermentación de este. Así mismo, se realizó la recopilación de investigaciones realizadas en cacao y una propuesta de diseño para un centro de investigaciones.

Los objetivos del estudio fueron:

- Realizar una revisión de literatura descriptiva acerca de estudios realizados en el uso de cultivos iniciadores en el proceso de fermentación de cacao.
- Analizar las recomendaciones realizadas en diferentes estudios para el uso de cultivos iniciadores en la fermentación de cacao.
- Evaluar investigaciones realizadas en Zamorano relacionadas al cacao.
- Proponer la diversificación de procesos para la producción, comercialización y procesamiento del cacao en Zamorano.

## 2. METODOLOGÍA

### **Descripción del estudio**

La revisión de literatura tuvo como enfoque la revisión de estudios y/o investigaciones realizadas en la fermentación de cacao, específicamente en el uso de cultivo iniciadores en este proceso y su impacto en la calidad final del cacao. Así mismo, se realizó el análisis de los recursos que posee Zamorano para el desarrollo de investigaciones relacionadas al cacao y se recopiló información acerca de las investigaciones realizadas en forma de proyectos especiales de graduación relacionados con este cultivo.

Además de la recopilación de información relacionada al tema de fermentación asistida, también se revisó información que involucra los aspectos más importantes de la industria del cacao como: la descripción del cultivo, genética, antecedentes históricos, producción, comercialización y procesamiento de los granos. En este último, se recopiló información de los principales procesos que conforman la cadena de procesamiento de los granos del cacao. Esta información fue utilizada como complemento de la revisión de literatura, para así entender la importancia del proceso de la fermentación en el procesamiento de cacao.

En el caso de los estudios de fermentación y del uso de cultivos iniciadores se describen los resultados más relevantes de artículos u otros documentos relacionados al tema. Así mismo, dentro de la misma temática, se abordan temas como: las etapas de fermentación, el proceso de formación de precursores de sabor y aroma, los factores influyentes en este tipo de estudios, y los métodos de identificación de microorganismo.

### **Revisión de literatura**

Se realizó una revisión descriptiva acerca de la industria del cacao y del uso de cultivos iniciadores en la fermentación. El diseño de investigación, estrategia de búsqueda, criterios de inclusión y exclusión y, extracción se realizó mediante recomendaciones dadas por Vera (2009), las cuales se presentan a continuación:

**Diseño de investigación.** Se realizó una revisión de documentos relacionados con el procesamiento del cacao. La búsqueda de información se realizó utilizando fuentes primarias y secundarias, que están relacionadas con el procesamiento de cacao y el uso de cultivos de microorganismos iniciadores en la fermentación del cacao.

**Estrategia de búsqueda.** En primer lugar, se realizó una revisión de fuentes primarias que incluyen, libros y revistas científicas. Conjuntamente, se revisaron fuentes de información secundaria. Para el caso, se utilizaron buscadores académicos y bases de datos científicos como: “Springer Link”, “Scopes”, “Science direct”, “Elsevier”, “Scielo”, “Base”, “Wiley”, “Refseek”, “Academia” y “Research Gate”. El método de búsqueda se efectuó en los idiomas, inglés y español con el objetivo de obtener un amplio rango de resultados. El periodo límite de búsqueda fue de cinco años de antigüedad para cualquier fuente de información. Sin embargo, se consideraron fuentes de mayor antigüedad que aportaban información de gran relevancia.

Dentro de los buscadores o bases de datos se insertaron descriptores o palabras claves relacionadas con la investigación a realizar. Una vez que se obtuvieron los estudios relevantes, se revisaron otros términos o palabras claves que estas tenían y así, se utilizaron posteriormente en la búsqueda de más información. Así mismo, se utilizaron términos alternativos o sinónimos como palabras clave.

Las principales palabras claves utilizadas en español fueron: *Theobroma cacao*, cacao, chocolate, microorganismos del cacao, fermentación, polifenoles, aroma y cultivos iniciadores; en inglés: “cocoa, chocolate, cocoa microorganisms, fermentation, polyphenols, aroma y starter cultures”. Además de las palabras clave, también se analizaron las referencias bibliográficas de las fuentes de literatura seleccionadas, a fin de rescatar algunos otros estudios potencialmente incluíbles en la revisión de literatura.

**Criterios de inclusión y exclusión.** En la búsqueda primaria, se incluyeron libros monográficos y recopilatorios de autores con trayectoria y especialización en el tema de procesamiento de cacao. En el caso de los artículos y estudios científicos, se seleccionaron aquellos en donde han realizado pruebas de inoculación de cultivos iniciadores para la fermentación de cacao. El principal criterio de exclusión fue para aquellos artículos que no incluyeron las palabras clave, descriptores o sinónimos seleccionados al tema de estudio e información desactualizada.

**Extracción de datos.** La selección de información de utilidad se realizó mediante la revisión del resumen de cada estudio seleccionado. En caso de ser necesario, se revisaron artículos completos con el fin de decidir si la información contenida en el estudio estaba relacionada o no, con los requerimientos del estudio.

### **Descripción del potencial de Zamorano para el desarrollo de investigaciones en cacao**

Se realizó una recopilación de información acerca de los recursos que actualmente posee la Escuela Agrícola Panamericana y del potencial de estos para la realización de estudios e investigaciones relacionadas al rubro. Además, se realizó una recopilación de proyectos especiales de graduación realizados en cacao por parte de cada departamento. Así mismo, de manera general, se propuso la diversificación de procesos por parte de la Planta Hortofrutícola de Zamorano, a fin de crear un espacio para la producción, procesamiento y comercialización del cacao; que en conjunto podría utilizarse para la realización de investigaciones.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Marco conceptual relacionado a los aspectos de la industria del cacao

La industria del cacao se basa en diversos procesos que van desde la producción hasta el procesamiento del cacao. Por lo tanto, en las siguientes secciones se describen los aspectos más relevantes que deben conocerse acerca del cultivo, producción, procesamiento, comercialización y estado actual de la cadena de valor de honduras respecto a este rubro.

**Descripción del cultivo.** El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol tropical, perteneciente a la familia de *Stecurliaceae*. Es cultivado principalmente en los trópicos y subtropicos de África y Latinoamérica (Caligiani *et al.* 2016). Los requerimientos climáticos del cacao son ambientes húmedos y cálidos, en un rango de temperatura de 21 a 32 °C, y elevaciones hasta 600 m.s.n.m. Requiere de precipitaciones pluviales de 1500 a 2000 mm al año (Minifie 2012). Debido a su susceptibilidad a la exposición de luz solar y viento, es cultivado bajo la sombra de cultivos como banano (*Musa paradisiaca* L), ramón (*Brosimum aliscatum*), entre otros (Ozturk y Young 2017). En épocas de floración, las flores presentan colores como: rojo, amarillo o blanco. De todas estas, únicamente un 5% son polinizadas para formar frutos. Estos presentan un color rojo, amarillo o corinto (Hartel *et al.* 2018). Poseen un tamaño de 15 - 20 cm de longitud y 7-10 cm de ancho. Cada fruto contiene entre 30-40 semillas (Nielsen *et al.* 2013; Kongor *et al.* 2016). Los granos de cacao poseen un forma ovalada y aplanada (Figura 1), y tienen un tamaño promedio de 2 cm de largo y 1 cm de ancho. Luego del secado, pueden llegar a pesar hasta 1 g (Predan *et al.* 2019). El embrión contenido dentro del grano está formado por dos cotiledones (Figura 2) y un embrión de 5 mm de longitud y 1 mm de grosor (Hartel *et al.* 2018; Predan *et al.* 2019).

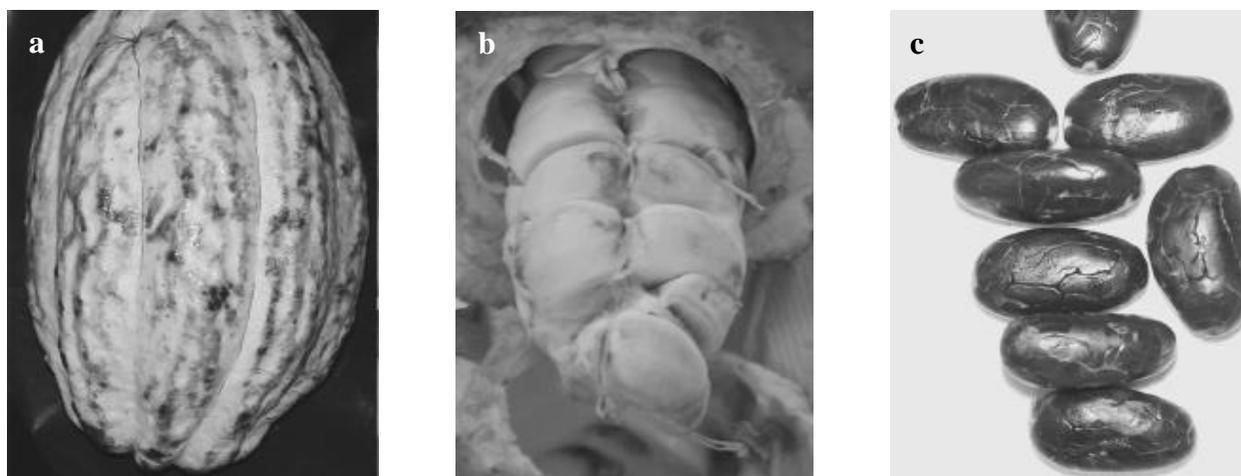


Figura 1. Fruto y granos de cacao. a: fruto del cacao (mazorca); b: granos frescos, cubiertos de pulpa mucilaginosa; c: granos fermentados y secados. Fuente: Bertazzo *et al.* 2013.

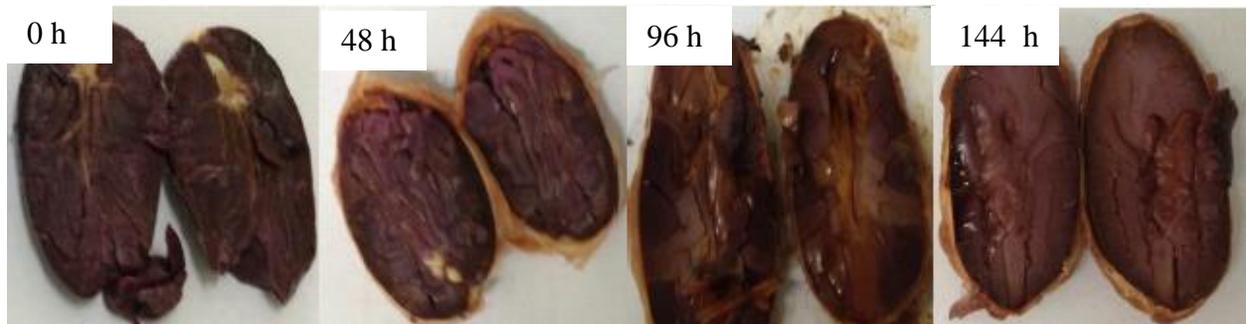


Figura 2. Cotiledones y testa del grano de cacao en la sucesión de la fermentación. Fuente: Flores Zurita 2014.

**Genética (variedades).** El cacao generalmente se clasifica de acuerdo con la percepción de su calidad física y sensorial (Predan *et al.* 2019). El sabor potencial del cacao depende principalmente de la variedad (Nigam y Singh 2014). Por ello, se han identificado tres variedades (Hartel *et al.* 2018), Criollo, forastero y trinitario.

**Criollo.** Esta variedad es cultivada a pequeña escala debido a su bajo rendimiento. Sin embargo, en la actualidad ha despertado nuevamente interés para la producción de cacao de especialidad (Predan *et al.* 2019). Los granos de esta variedad son menos amargos y poseen mayor aroma a comparación de las otras dos variedades. Su incidencia en la producción mundial es del 5% (Hartel *et al.* 2018).

**Forastero.** El 90% de producción mundial de cacao se deriva de esta variedad (Caligiani *et al.* 2016). A pesar de que sus granos son más amargos, es la variedad con mayores producciones debido a su alta resistencia a enfermedades que afectan la producción de cacao (Hartel *et al.* 2018). Esta variedad es ampliamente producida en Costa de Marfil, Ghana, Nigeria, Camerún, Malasia y Brasil (Minifie 2012).

**Trinitario.** Es considerado el resultado de la mezcla de las dos variedades anteriores (Predan *et al.* 2019). Conforman un 5 - 10% de la producción mundial de cacao. Los países productores de esta variedad son: Ecuador, Costa Rica y México (Hartel *et al.* 2018).

En la región centroamericana, se utilizan las tres variedades mencionadas. Sin embargo, la mayor parte de la producción de la región proviene de las variedades criollo y trinitario, divididos en diferentes cultivares. En el caso de Honduras, la mayor parte de la producción de cacao proviene de la variedad trinitario, mientras que, únicamente el 1% de sus producciones proviene de variedad criollo y forastero (Tapia 2016).

**Antecedentes históricos.** Inicialmente los mayas y los aztecas fueron los primeros en cultivar cacao para su consumo (Caligiani *et al.* 2016). Comúnmente preparaban una bebida llamada “chocolatl”, que consistía en la mezcla de granos de cacao tostados y molidos, agua, maíz y ciertas especias (Iulia Predan *et al.* 2015). Los aztecas consideraban que esta bebida poseía propiedades afrodisiacas, y se consumía principalmente en ceremonias importantes, como las bodas. Los aztecas tenían la creencia que el árbol de cacao tenía un origen divino. En años posteriores, el

botánico sueco Carlos von Linneo, basado en esta creencia, clasificó al árbol de cacao con el nombre de *Theobroma*, que significa “Alimento de los dioses” (Minifie 2012).

En el siglo XVII, debido a la influencia de los españoles en América, el cacao fue introducido en Europa. Durante el siglo XIX, los europeos empezaron a tratar el cacao y crearon una bebida más suave y la temprana versión del chocolate (Afoakwa 2016a). La introducción del cacao en Sudamérica y El Caribe sucedió por la demanda y popularidad del cacao entre las colonias españolas en el siglo XVI. En ese mismo periodo, el cacao empezó a cultivarse en Venezuela y posteriormente cruzó el océano pacífico hasta llegar a Filipinas. En 1678, en Trinidad y Tobago, empezó a cultivarse cacao de la variedad criollo, proveniente de Venezuela. En Ecuador, el cacao se estableció durante el siglo XVII (Ozturk y Young 2017). En los periodos de introducción en diversas regiones, fueron creados las tres variedades (Criollo, forastero y trinitario) que son las más cultivadas hoy en día. Finalmente, a comienzos del siglo XIX, la variedad Forastero fue introducida en África Central y en algunas regiones de Asia (Minifie 2012). En la actualidad, la variedad forastero es la más cultivada, representando el 95% de la producción mundial y la región de África se ha convertido en la mayor productora de cacao (Teneda Llerena 2017; Hartel *et al.* 2018).

**Países productores y procesadores.** Las principales regiones de producción de cacao son: el este de África (Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún); el sureste de Asia (Indonesia y Malasia) y Latinoamérica (Ecuador, Colombia, México, Perú y Brasil) (Minifie 2012; Hartel *et al.* 2018). Considerando estas regiones, los países con los mayores volúmenes de producción son: Costa de Marfil, Ghana, Brasil, Ecuador, Indonesia, Camerún y Nigeria (ICCO 2019). Los principales centros de molienda y procesamiento de cacao se encuentran en los países de Costa de Marfil, Holanda, Indonesia, Alemania, Estados Unidos, Ghana, Malasia, Brasil, Francia, España, Turquía, Bélgica, Italia y Canadá (Arvelo Sánchez 2017; ICCO 2019) .

**Comercialización.** Según datos estadísticos de la Organización Internacional del Cacao (ICCO), durante el periodo 2017-2018, la producción de cacao se distribuyó de la siguiente forma: África 75.2%, América 18% y Asia-Oceanía (6.9%). En total, la producción mundial para ese periodo fue de 4,651,000 toneladas. En el caso del procesamiento o molienda de cacao, en el mismo periodo se registraron los siguientes porcentajes para cada región: Europa 37.2, África 21, América 19 y Asia-Oceanía 22.9. El volumen de cacao procesado fue de 2,139,000 toneladas (ICCO 2019). De acuerdo con las estadísticas presentadas por la ICCO (2020), el precio del cacao en grano hasta junio del presente año ascendió a USD 2,228.63 por tonelada. En comparación con el precio del año 2019 (USD 2,407.73 por toneladas), el precio actual, posee una baja del 7.44% en el precio regular.

**Situación del cacao en Latinoamérica y Honduras.** En la región latinoamericana, Brasil representa un 40% de la producción, seguido por Ecuador (24%), Colombia (9%), República Dominicana (9%), Perú (6%) y Venezuela (4%). En el contexto de cacaos finos, la región latinoamericana y del caribe poseen una ventaja comparativa y competitiva, debido a que es la región donde se produce casi el total de cacao fino mundial. Países como Bolivia, Colombia, Costa Rica, México, Nicaragua y Venezuela producen entre un 95 a 100% de cacao fino respecto a su total de exportación. Mientras tanto, Perú, Ecuador, Honduras, Guatemala y Panamá, proveen cacao fino y de aroma en un 50 a 75% del total de sus exportaciones (Ulloa Leitón 2019). El cacao fino posee gran valor en los mercados internacionales por sus cualidades organolépticas para la elaboración de productos premium (Sánchez *et al.* 2019). En la región centroamericana, Costa Rica

presenta las mayores exportaciones, seguido de Guatemala, Nicaragua y Honduras. La exportación de cacao fino respecto a las exportación total se describe de la siguiente manera: Guatemala, Honduras, Panamá y Belice en un 50%; Nicaragua y Costa Rica en 100% (Arvelo Sánchez 2017; Ulloa Leitón 2019).

En Honduras, actualmente se estima que existen 4,468 ha de producción de cacao bajo un sistema agroforestal. Gran parte de la producción del país es generada por pequeños productores que poseen parcelas pequeñas (1 ha en promedio) (Comite Nacional Cadena de Cacao 2020). La producción se concentra principalmente en la zona atlántica y noroccidental del país. Se estima que el 70% de la producción se concentra en los departamentos de Cortés, Atlántida, Colón y Santa Bárbara.

Sin embargo, en los últimos años los departamentos de Olancho y Santa Bárbara registran un crecimiento alto en sus producciones (Tapia 2016). En el periodo 2017, las producciones ascendieron a 1600 toneladas. Del total producido, 280 toneladas fueron destinadas para su comercialización a Suiza, lo que generó ingresos de USD 1.1 millones (incluye un 60% de valor adicional a comparación de la bolsa internacional). El resto de la producción se comercializo a través de intermediarios en forma de cacao fermentado seco o cacao corriente seco sin fermentar. Los mercados regionales para Honduras son Guatemala y El Salvador (Sánchez *et al.* 2019).

### **Procesamiento del cacao**

El procesamiento de cacao y su conversión a chocolate se divide en dos etapas. La primera etapa tiene que ver con el mero procesamiento de los granos. Los procesos de esta etapa lo conforman: la fermentación, el secado, limpieza, y clasificación (Figura 3). En la segunda etapa (Figura 4), referente a la conversión del cacao a chocolate, se incluyen los procesos de tostado, separación de nib y testa, molido, obtención de licor de cacao, mezcla con azúcar y otros ingredientes, refinamiento, conchado, estandarización, temperado, formado y refrigeración (Minifie 2012; Hartel *et al.* 2018). Para efectos del estudio, se describen los procesos que poseen gran influencia en el cambio y/o desarrollo de características de sabor y aroma del cacao. Estos procesos son: fermentación, secado, tostado, alcalinización y conchado (Hartel *et al.* 2018).

**Fermentación.** Es uno de los procesos de post cosecha que más afecta la calidad de los productos obtenidos del cacao. Durante la fermentación, la pulpa es degradada por la acción de microorganismos, lo que provoca la elevación de temperatura, la producción de etanol, ácido láctico y ácido acético (Nielsen *et al.* 2013; Iulia Predan *et al.* 2015). Este proceso resulta en la formación de precursores de sabor y aroma del chocolate, que se desarrollarán durante el proceso de tostado. Los granos completamente fermentados presentan un color marrón oscuro (Predan *et al.* 2019). Sin la fermentación, el cacao no desarrolla las características de sabor deseado durante el tostado (Hartel *et al.* 2018).

**Secado.** luego de la fermentación, los granos poseen un contenido de humedad del 55%. Para su almacenamiento y posterior proceso deben ser secados hasta alcanzar 6 - 8% de humedad (Giacometti *et al.* 2015; Caligiani *et al.* 2016). Durante este proceso, siguen teniendo lugar las reacciones oxidativas de la fermentación (Kongor *et al.* 2016). La técnica de secado más utilizada es por luz solar, debido a que induce el desarrollo de sabores más pronunciados en el chocolate (Nielsen *et al.* 2013; Predan *et al.* 2019 (Barrientos *et al.* 2019). Para tal caso, se debe secar

aproximadamente entre 12 y 20 días, hasta alcanzar el porcentaje de humedad ideal. En regiones donde la presencia de luz solar es irregular, se utilizan secadores mecánicos a 60 - 70 °C. En general, la pérdida de peso por secado es de dos tercios del peso de los granos frescos (Hartel *et al.* 2018).

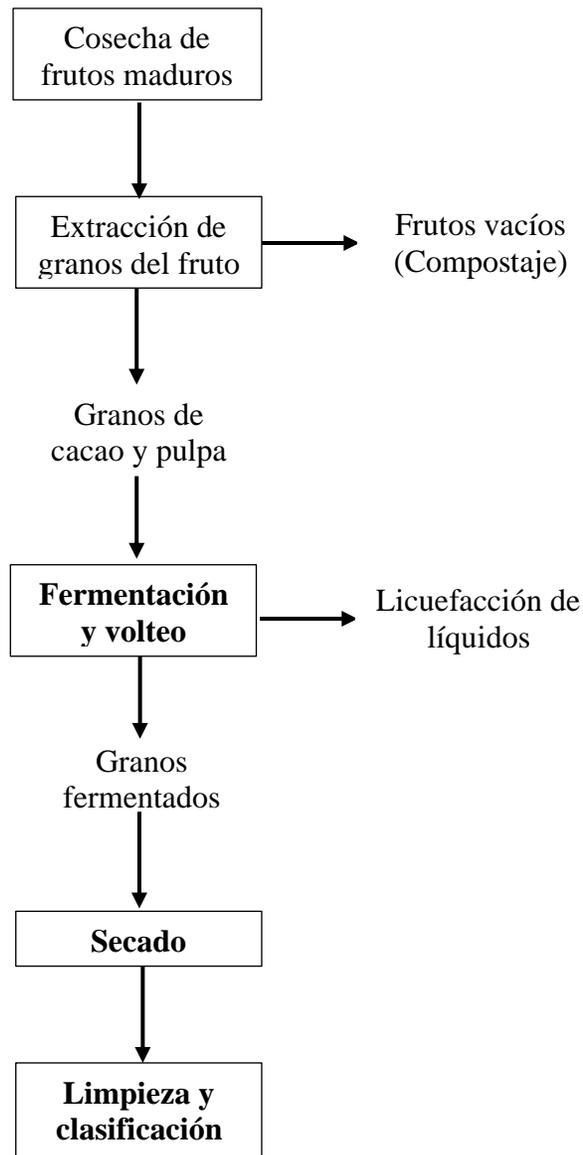


Figura 3. Primera etapa de procesamiento de cacao. Fuente: Elaboración propia. Adaptada de: Hartel *et al.* (2018).

**Tostado.** En esta etapa de procesamiento, se desarrollan los aromas y sabores característicos del cacao, que se forman de los precursores que ha sido desarrollados durante la fermentación y secado (Żyżelewicz *et al.* 2016). El desarrollo de sabor y aroma se atribuye a los aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular y azúcares reductores, que se someten a la reacción de Maillard (Afoakwa 2016c; Caligiani *et al.* 2016). El tostado debe ser controlado cuidadosamente para

garantizar el adecuado desarrollo del sabor del chocolate. Este proceso puede ser aplicado de tres formas: tostado de grano entero, tostado de nib o tostado de licor de cacao. Los parámetros de tueste dependen de la variedad del cacao y de las especificaciones de los sabores deseados Hartel *et al.* (2018). El tiempo y temperatura de tostado debe mantenerse desde los 5 a 120 minutos a temperaturas entre 110 a 160 °C. El sobre tostado de los granos, confiere resultados negativos en las características del chocolate (Predan *et al.* 2019).

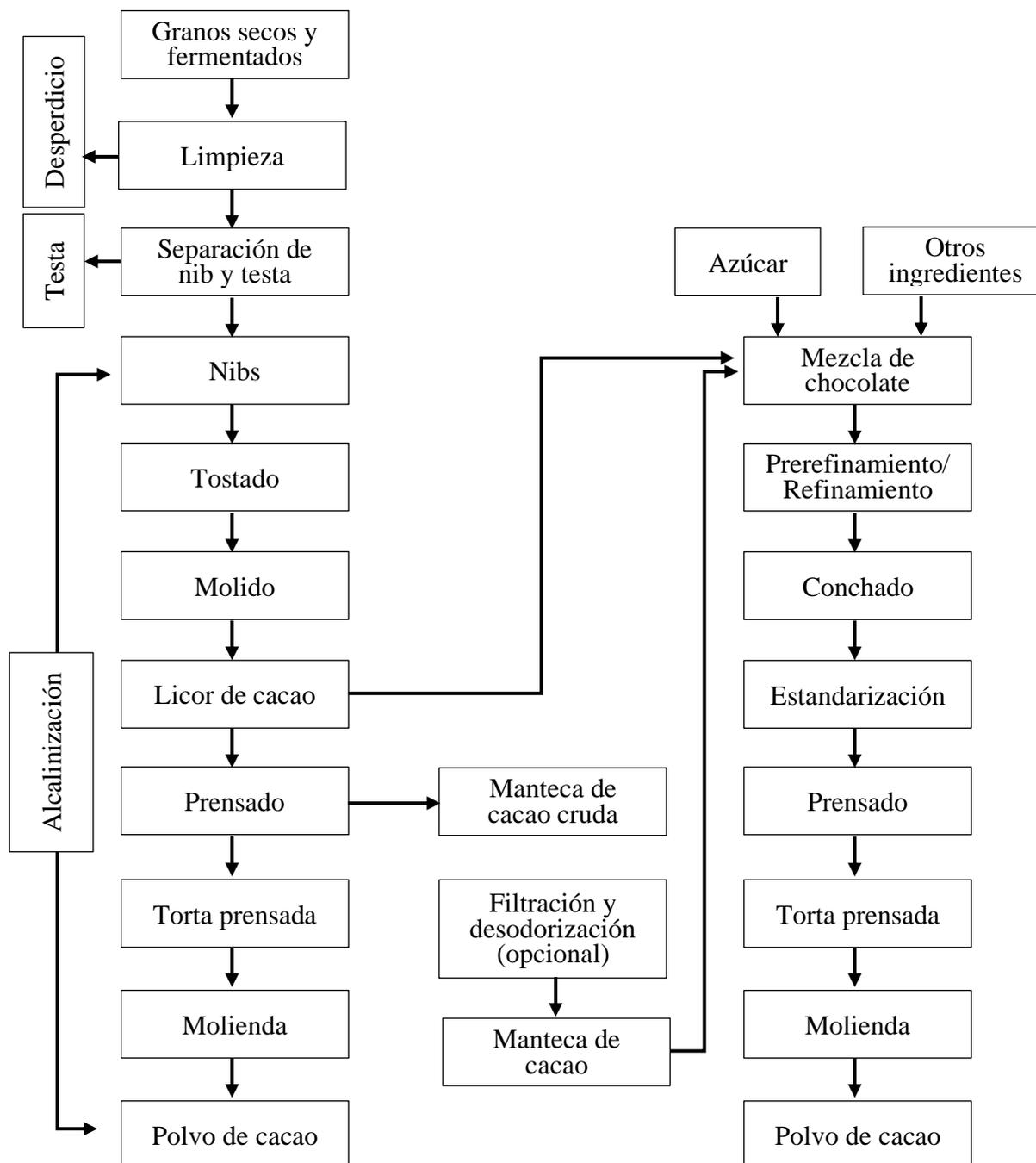


Figura 4. Segunda etapa de procesamiento de cacao. Fuente: Elaboración propia. Adaptada de: Hartel *et al.* (2018).

**Alcalinización.** Es un proceso en donde se utiliza un álcali para el tratamiento de productos de cacao (nib, licor o polvo de cacao). Los agentes principales de alcalinización usados son: hidróxido, carbonato o bicarbonato de sodio o potasio; óxido o carbonato de sodio. Este proceso es necesario debido a que, el cacao luego de la fermentación posee un pH bajo (4.7 - 5.5), resultado de la producción ácido acético. La alcalinización neutraliza este pH hasta alcanzar valores de 6.3 - 6.8 (Hartel *et al.* 2018). Este proceso confiere cambios en el color y sabor del chocolate. Respecto al color, se produce el cambio de café oscuro a un tono rojizo o negro. El sabor generalmente es menos amargo. El cambio de sabor es producido por el efecto de la alcalinización sobre el pH, el cual, también tiene influencia en la reacción de Maillard inducida en el tostado y que influye en el sabor. La alcalinización debe realizarse a temperaturas entre 75 – 100 °C (Caligiani *et al.* 2016). Este proceso también es utilizado para el incremento de solubilidad del polvo de cacao utilizado en bebidas (Giacometti *et al.* 2015; Predan *et al.* 2019).

**Conchado.** Tratamiento térmico generalmente utilizado para determinar la textura y aroma final del chocolate (Afoakwa 2016d). Consiste en utilizar rodillos de granito para mezclar y cortar el chocolate a fin de conferirle un mejor sabor y suavidad (Hartel *et al.* 2018). Así mismo, permite la mejora del perfil de sabor y la disminución de ácidos volátiles libres del cacao. Generalmente, este proceso se realiza continuamente durante tres días para asegurar el buen desarrollo de sabor, aunque en algunos procesos pueden tardarse hasta 24 horas (Predan *et al.* 2019).

### **El estudio de la fermentación**

La fermentación es un proceso por el cual diversos microorganismos inoculan de manera espontánea la pulpa del cacao, para posteriormente convertir los azúcares presentes en alcohol, ácido láctico y ácido acético sucesivamente. Un propósito adicional es facilitar la remoción de la pulpa que rodea los granos (Nielsen *et al.* 2013). Es un proceso crucial en el cual ocurren cambios bioquímicos para el desarrollo de precursores de sabor y aroma (Kongor *et al.* 2016). La fermentación, generalmente tiene una duración de 4 - 6 días o 120 horas. Durante este periodo se deben realizar varios volteos para asegurar una fermentación homogénea. La duración de este proceso depende de la variedad, clima, volumen de cacao y del método de fermentación aplicado (Caligiani *et al.* 2016).

El sustrato de la fermentación no son los granos, sino más bien la pulpa que los rodea. La pulpa está conformada principalmente por 83.5% de agua, 10% de glucosa y fructosa, 2.7% pentosas, 0.7% sacarosa, 0.6% proteína, 0.7% ácidos, 0.8% de ácidos orgánicos y 0.3% grasa (Nigam y Singh 2014). Este sustrato permite el desarrollo y crecimiento de un rango amplio de microorganismos del ambiente los cuales son los encargados de dar lugar a dicho proceso. Los factores que afectan fermentación son: la microbiota natural de la región, las características de la pulpa (pH, contenido de agua, composición, entre otros), los métodos y las condiciones de fermentación (temperatura, tiempo, frecuencia de volteo, y otros) (Hartel *et al.* 2018). Los métodos de fermentación comúnmente se realizan utilizando barriles perforados, cajas de madera, cestos y hojas (Giacometti *et al.* 2015).

La fermentación es el proceso principal para el desarrollo precursores de sabor y aroma del cacao. Generalmente, los granos de cacao fresco poseen un sabor astringente y amargo, y por lo tanto deben ser fermentados para obtener el característico sabor y aroma a cacao (Kongor *et al.* 2016).

En este proceso, tienen lugar diversas reacciones enzimáticas provocadas por proteasas, peptidasas, invertasas, polifenol oxidasa y glucosidasas. Estas enzimas son las que contribuyen al desarrollo de los precursores de sabor y aroma. Es importante que este proceso sea realice de manera adecuada, debido que una sub-fermentación o sobre fermentación producen un pobre desarrollo de sabor y aroma durante el tostado (Hartel *et al.* 2018). Además, para la elaboración de chocolate o polvo de cacao, el grado de fermentación es considerado el mayor criterio de calidad (Caligiani *et al.* 2016). Nigam y Singh (2014) describen que, la fermentación tiene tres propósitos: la licuefacción y remoción de la pulpa, la muerte del grano y el desarrollo de precursores de color, sabor y aroma.

**Ecología microbiológica de la fermentación de cacao.** Durante el último siglo se han realizado numerosos estudios relacionados a la investigación de la microbiología de la fermentación en cacao. La mayoría de ellos, han utilizado métodos de biología molecular para la identificación de especies asociadas a este proceso (Nielsen *et al.* 2013). Generalmente, los microorganismos involucrados en la fermentación dependen de una región específica, incluso dentro de un mismo país (Sarbu y Csutak 2019). Además, cambios de pH durante la fermentación son muy importantes en la actividad microbiana (Copetti *et al.* 2011). Los principales microorganismos involucrados en este proceso son: levaduras, bacterias ácido-lácticas (LAB) y bacterias ácido acéticas (AAB) (Hartel *et al.* 2018).

**Levaduras.** Las levaduras comúnmente encontradas en orden de abundancia son los géneros: *Kloeckera* spp, *Saccharomyces* spp, *Hansenula* spp, *Candida* spp y *Pichia* spp (Nigam y Singh 2014; Caligiani *et al.* 2016). Nielsen *et al.* (2013) reportan la abundancia de especies como: *Pichia kudriavzevii*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia membranifaciens*, *Pichia fermentans*, *Candida vini*, *Candida awuawai*, *Candida zemplinina*, *Candida michaelii*, *Candida diversa*, *Candida ethanolica*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces* spp, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces crataegensis*, *Schizosaccharomyces* spp, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Hanseniaspora opuntiae*. En un estudio realizado en Brasil por Copetti *et al.* (2011) para la identificación microbiota del cacao, las especies de mohos y levaduras con mayor proliferación en la masa fermentativa fueron: *Monascus ruber*, *Penicillium paneum*, *Geotrichum candidu*, *Absidia corymberfera* y *Aspergillus* sp. Warren *et al.* (2019), mediante el aislamiento de microbiota natural, reportan que las especies más abundantes encontradas fueron: *S. cerevisiae*, *Hanseniaspora valbyensis* y *P. kudriavzevii*.

**Bacterias ácido-lácticas.** Caligiani *et al.* (2016) reportan la abundancia de los géneros *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Pediococcus*. Nielsen *et al.* (2013), reportan la abundancia dominante de las especies *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus mali*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus collobiosus* en los países de Ghana e Indonesia. Así mismo se reporta la presencia de géneros como: *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus* y *Fructobacillus* para la región de Brasil y el caribe. (Nigam y Singh 2014) describen para África la presencia de las especies *L. plantarum*, *Lactobacillus mali*, *L. collinoides*, *L. fermentum*. Para Malasia se encontraron: *L. plantarum*, *L. collinoides*. En el caso de Trinidad y Tobago se identificaron las especies: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *L. fermentum*, *Lactobacillus lactis* y *L. plantarum*. En Ecuador se han identificado las especies: *L. fermentum*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Lactobacillus fabifermentans*, *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus nagelii*, *Lactobacillus cacaonum*, *Lactobacillus amylovorus*, y *Lactobacillus satsumensis* (Sarbu y Csutak 2019).

**Bacterias ácido-acéticas.** Este grupo de microorganismos contribuyen significativamente a la fermentación de cacao. Nielsen *et al.* (2013) reportan que las especies de mayor abundancia encontradas en Alemania fueron: *Gluconacetobacter xylinus*, *Acetobacter orleansis*, *Acetobacter pasteurianus*. En Trinidad y Tobago se reporta la presencia de *A. pasteurianus*, *Acetobacter rances*, *A. xylinum*, *Acetobacter ascendens*, *Acetobacter lavaniensis* y *Gluconobacter oxydans* (Nigam y Singh 2014). En Ghana e Indonesia, se reporta la presencia de: *Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus* y *Gluconobacter* spp. (Warren *et al.* 2019) reporta las siguientes especies: *Acetobacter tropicalis*, *Acetobacter* sp, *G. oxydans*, *Gluconobacter frateurii* y *Gluconobacter nephelii*. En el caso de Ecuador, (Sarbu y Csutak 2019) reportan la presencia de *A. pasteurianus*, *Acetobacter senegalensis*, *Acetobacter ghanensis*, *Acetobacter fabarum*, *Acetobacter cibinongensis*, *Acetobacter malorum* y *Frateuia autantia*.

**El proceso de fermentación en cacao.** Previo a la fermentación, los frutos son cortados del árbol, y son almacenados durante 2 - 5 días con el fin de inducir una actividad pre fermentativa. Luego de ese periodo, los granos son retirados del fruto para su fermentación (Caligiani *et al.* 2016). Inicialmente la pulpa del cacao presenta las siguientes condiciones: pH menor a 4, presencia de ácido cítrico y bajos niveles de oxígeno (Giacometti *et al.* 2015). A partir de este punto, comienza el proceso fermentativo. Generalmente la fermentación se divide en tres etapas.

**Etapas 1. Fase anaeróbica: levaduras.** Ocurre la proliferación de levaduras que convierten los azúcares y ácido cítrico de la pulpa en alcohol en las primeras 24 – 36 horas (Nielsen *et al.* 2013; Caligiani *et al.* 2016). En esta etapa tiene lugar el proceso glucólisis, donde la glucosa o fructosa son degradados para formar ácido pirúvico. Y dadas las condiciones anaeróbicas, a través de la fermentación acética, el ácido pirúvico se transforma en etanol (Teneda Llerena 2017). La concentración del etanol en este punto es del 5 - 6% (Nielsen *et al.* 2013; Hartel *et al.* 2018).

**Etapas 2. Fase semi-anaeróbica: bacterias ácido-lácticas (LAB).** El proceso de conversión de azúcares a etanol decrece lentamente, hasta que la pulpa presente condiciones favorables para el desarrollo de bacterias ácido lácticas (LAB) (Giacometti *et al.* 2015). Estas bacterias descomponen los azúcares y ácido cítrico de la pulpa a ácido láctico (Nielsen *et al.* 2013; Caligiani *et al.* 2016). El pico de actividad de estas bacterias se presenta entre la 36 - 48 horas del comienzo de la fermentación (Nigam y Singh 2014; Pereira *et al.* 2016). Después de que la pulpa ha sido degradada, la población de bacterias ácido-lácticas decrece y las condiciones de la masa fermentativa se vuelven aerobias y la temperatura incrementa a 50 °C (Iulia Predan *et al.* 2015).

**Etapas 3. Fase aeróbica: bacterias ácido-acéticas (AAB).** Dadas las condiciones aeróbicas, a las 48 - 96 horas luego de la fermentación, comienza la tercera etapa de fermentación, también llamada fase aeróbica (Iulia Predan *et al.* 2015), en donde se desarrollan las bacterias ácido acéticas (AAB) que convierten el alcohol en ácido acético. Este proceso es dado a través de una fermentación oxidativa del etanol, donde primero el etanol se oxida a acetaldehído y luego este, se transforma en ácido acético (Teneda Llerena 2017). En este punto, la concentración de etanol se encuentra por debajo del 1% (Nielsen *et al.* 2013).

Luego de las 96 horas, la actividad fermentativa disminuye de acuerdo con la disponibilidad del sustrato donde se alojan los diversos microorganismos. Comúnmente, el tiempo de fermentación alcanza las 120 horas o 5 días (Predan *et al.* 2019). Además, en este periodo, toman lugar las reacciones enzimáticas que desarrollan los precursores de sabor y aroma (Hartel *et al.* 2018).

**Efectos de la fermentación.** Durante la fermentación, ocurren diversas reacciones enzimáticas que se presentan tanto en la pulpa como en los granos. Las enzimas mayormente presentes incluyen invertasas, pectinasas, proteinasas, polifenol oxidasa y glucosidasas. En la pulpa, la inversión de sacarosa es provocada por la invertasa y la descomposición de las pectinas es provocada por las pectinasas. Estas reacciones causan que, la pulpa se convierta en un líquido claro que drena hacia el fondo de la caja de fermentación.

En la finalización del periodo de fermentación, el ácido acético sintetizado de la pulpa se difunde en los granos causando una reducción del pH y la muerte del embrión (Hartel *et al.* 2018). Así mismo, diversas enzimas son activadas y las células de los cotiledones se rompen, permitiendo así la interacción del contenido celular con las enzimas, lo que da lugar al desarrollo de reacciones químicas enzimáticas y la formación de precursores de sabor y aroma (Nigam y Singh 2014; Papalexandratou *et al.* 2019).

Los polifenoles se involucran en el desarrollo del perfil de sabor de los productos del cacao. Confieren sabores astringentes y amargos; e incrementa la capacidad antioxidante de los granos. El flavonol y la epicatequina son los polifenoles con mayor abundancia, con una concentración de 12 - 18% en granos crudos (Bertazzo *et al.* 2013; Hartel *et al.* 2018). La oxidación de los polifenoles (causada por el polifenol oxidasa), provoca que estos sean insolubles y que puedan reaccionar con las proteínas. Así mismo, es responsable de los cambios del color de los granos, el cual pasa de violeta a marrón (Giacometti *et al.* 2015). Las reacciones de oxidación son responsables de la reducción del sabor amargo del cacao. Sin embargo, una de las más importantes consecuencias en estas mismas reacciones, es la reducción de polifenoles totales (75 - 80%) que son responsables de las propiedades antioxidantes y saludables del cacao (Caligiani *et al.* 2016).

Durante y después de la fermentación, además de la oxidación de polifenoles, ocurren otros cambios bioquímicos. Entre estos se encuentran: la síntesis de enzimas autolíticas (carboxipeptidasas y endoproteasa aspártica), producidas por el bajo pH y que provocan hidrólisis de proteínas, lo que da lugar a aminoácidos y oligopéptidos (Hartel *et al.* 2018) (Figura 5).

Las proteínas presentes en el cacao se fraccionan en albúminas, globulinas, glutelinas y prolaminas. En el caso de las albúminas, su contenido de aminoácidos y valor nutricional son afectados durante el tostado. Las globulinas, por efectos de la fermentación se descomponen en aminoácidos hidrofóbicos y péptidos de diferente longitud, considerados precursores de sabor (Bertazzo *et al.* 2013). Entre estos aminoácidos se encuentran: la leucina, alanina, fenilalanina y tirosina. Estos conforman el mayor porcentaje del perfil de aminoácidos (Giacometti *et al.* 2015). La liberación de estos aminoácidos es provocada por la endoproteasa aspártica y carboxipeptidasa (Bertazzo *et al.* 2013).

Los precursores de sabor derivan de dos procesos importantes; la primera, de la hidrólisis (inversión) de sacarosa en azúcares reductores, en este caso, glucosa y fructosa. Y la segunda, la descomposición de proteínas en aminoácidos libres. Los azúcares reductores y aminoácidos libres actúan en la reacción de Maillard, dando origen a los precursores de sabor, los cuales se desarrollan en la etapa de tostado (Caligiani *et al.* 2016; Hartel *et al.* 2018). Además de la formación de los precursores de sabor y aroma, también se presenta un incremento de compuestos volátiles como alcoholes, ácidos orgánicos, ésteres y aldehídos (Voigt 2013; Kongor *et al.* 2016).

Los componentes activos de sabor más importantes producidos durante la fermentación incluyen: 2-metilbutanoato de etilo, tetrametilpirazina y determinadas pirazinas. La teobromina y la cafeína confieren las notas amargas. Los precursores de sabor derivados de los aminoácidos liberados durante la hidrólisis de proteínas incluyen: etil-2-metilbutanoato, tetrametilpirazina, 3-metilbutanal, fenilacetaldehído, 2-metil-3-(metilditio) furano, 2-etil-3,5-dimetilpirazina y 2,3-dietil-5-metilpirazina (Afoakwa 2016b; Kongor *et al.* 2016). De igual forma, Saunshia *et al.* (2018) reporta componentes de sabor como: ciclohexil metil cetona (etanona 1-ciclohexil), 2-heptanona 3-metil (3-metil 2-heptanona), éster metílico del ácido butanoico 3-hidroxi 3-metílico (ácido β-hidroxiisovalérico, éster metílico), metil isobutil cetona, 2-fenilacetaldehído, 2-etilo, 5-metil pirazina, tetrametilpirazina y 2-acetilpirazina, 2-hidroperoxihexano y 3-hidroperoxihexano. Los compuestos menores tales como 3-metilpentanal, 2-etil 4-pentenal, 3-metilciclopentanona, lactato de isobutilo, acetato de isoamilo, acetofenona, linalol, alcohol feniletílico, acetato de feniletilacetato, butilbenzoato que también contribuyen al sabor general. Además, se reportan pirazinas como dimetil pirazina, trimetil pirazina, 2,6-dietil pirazina, 2,3-dimetil, 5-etil pirazina y 3,5-dietil, 2-metil pirazina que tienen cierta incidencia en el desarrollo de sabor y aroma.

Los granos inmaduros y poco fermentados desarrollan poco sabor a chocolate cuando se tuestan y una fermentación excesiva produce sabores pútridos y a jamón no deseados (Afoakwa 2016b). Los granos de cacao completamente fermentados poseen un color marrón. Los granos no fermentados presentan un color marrón pálido (pizarroso), mientras que los granos parcialmente fermentados tienen un color violeta. Además, los granos pálidos poseen un perfil de sabor ácido y astringente, mientras que los granos violetas causan un sabor amargo y áspero (Caligiani *et al.* 2016).

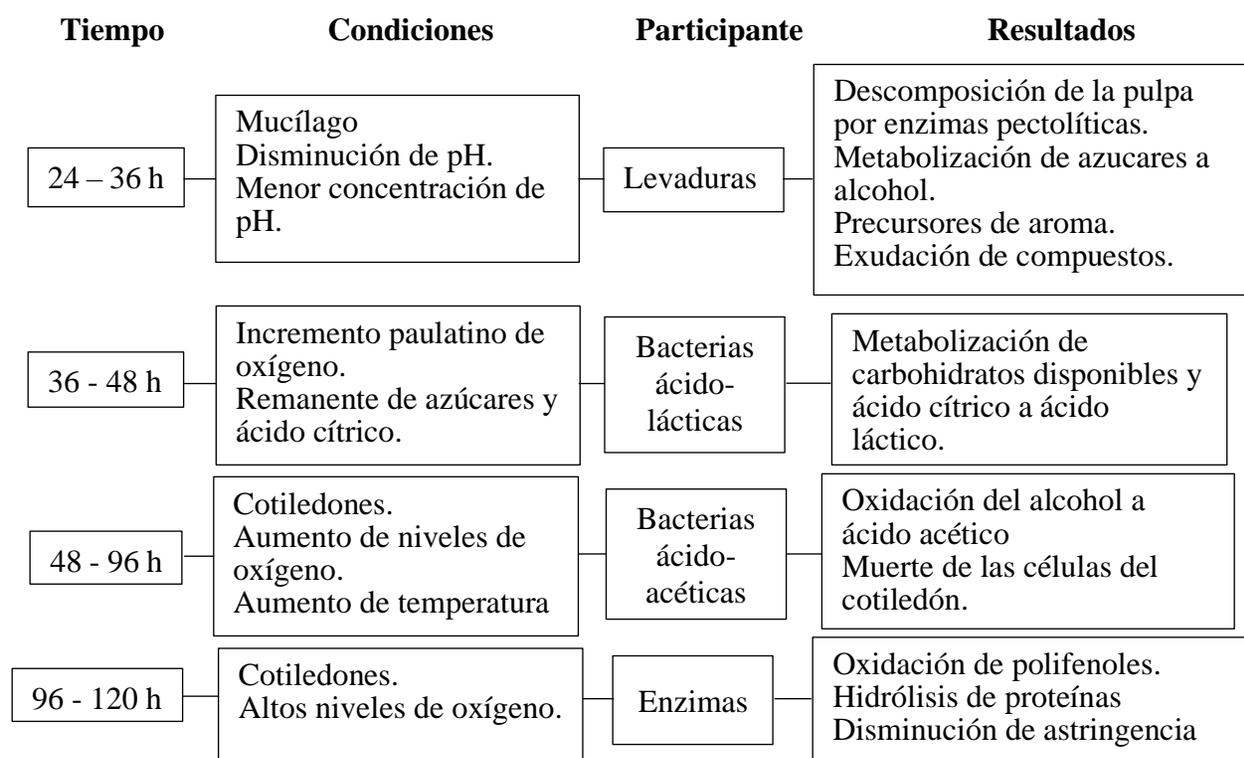


Figura 5. Resumen del proceso de fermentación. Fuente: Elaboración propia.

Recapitulando los incisos anteriores, la importancia de la fermentación radica en su involucramiento para la formación de precursores de sabor y aroma. La restricción e identificación de especies de levaduras, bacterias ácido lácticas (LAB) y bacterias ácido-acéticas (AAB) es crítica para determinar la calidad final del cacao. Cada tipo de microorganismo que participa en la fermentación promueve diversas reacciones químicas que contribuyen al desarrollo precursores de sabor, color y aroma en el cacao, los cuales posteriormente influyen en la elaboración de chocolate (Giacometti *et al.* 2015).

### **Situación actual de investigaciones sobre la fermentación de cacao**

Durante más de 100 años, se han realizado diversas investigaciones sobre la fermentación del cacao. Sin embargo, la relación entre los microorganismos en este proceso y la calidad final del cacao aún no ha sido comprendidas completamente (Pereira *et al.* 2016). Las investigaciones en fermentación generalmente se realizan siguiendo diversos enfoques de estudio. Generalmente, van dirigidas en: la evaluación de distintos sistemas o métodos de fermentación, evaluación de nuevas metodologías o protocolos de procesos, la identificación de comunidades microbianas de una región específica (Pacheco Montealegre *et al.* 2020), el aislamiento de microorganismos de mayor relevancia en la fermentación, el uso de cultivos iniciadores de fermentación, entre otros. El enfoque del presente estudio está relacionado con el uso de cultivos iniciadores y su efecto en la calidad final del cacao. Así mismo, se consideran las condiciones o pruebas necesarias para la identificación y selección de cultivos iniciadores útiles en la fermentación de cacao.

**Identificación de microorganismos.** La identificación de microorganismos presentes en el cacao fermentado ha sido estudiada desde 1960. Sin embargo, el uso de tecnologías de secuencia de ADN para la identificación de perfil de microorganismos se ha ido desarrollando en los últimos 10 años (Figuroa Hernández *et al.* 2019). El desarrollo de tecnologías modernas de biología molecular ha permitido ampliar el conocimiento acerca de la identificación de la ecología microbiana y el metabolismo del proceso de fermentación de cacao. Estas técnicas se basan generalmente en la caracterización genética de cepas. Entre estos métodos de identificación se encuentran: la electroforesis en gel de campo pulsado (Pulsed-Field Gel Electrophoresis - PFGE); la restricción del ADN mitocondrial en longitud del fragmento polimorfismo (Mitochondrial DNA Restriction Fragment Length Polymorphism - mtDNA-RFLP); PCR en tiempo real (real-time PCR) y; ADN polimórfico amplificado al azar (Random Amplification of Polymorphic DNA - RAPD-PCR) (Pereira *et al.* 2016; Visintin *et al.* 2016; Figuroa Hernández *et al.* 2019). Así mismo (Pacheco Montealegre *et al.* 2020), ejemplifica otros métodos utilizados como: Electroforesis en gel de gradiente desnaturante (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis – PCR-DGCE) y bibliotecas de clones de genes. Estos métodos, además de identificar especies de microorganismos presentes en la fermentación también identifican el cambio de estos en dicho proceso.

Además de las técnicas de biología molecular, la identificación de microorganismos utilizando células intactas o extractos de células también se ha detectado mediante espectrometría de masas de tiempo de vuelo de ionización por desorción láser asistida por matriz (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry- MALDI-TOF MS). Además de estas técnicas, se han utilizado estudios morfológicos y bioquímicos convencionales para perfilar la diversidad microbiana en granos de cacao fermentados.

**El papel de los microorganismos durante la fermentación.** de acuerdo con lo descrito por Copetti *et al.* (2011), la pulpa que se encuentra dentro del fruto es microbiológicamente estéril. Una vez el fruto ha sido abierto, es contaminado progresivamente por microorganismos provenientes del ambiente, de herramienta, manos de trabajadores, recipientes de fermentación. Durante la fermentación, la actividad microbiológica en la pulpa del cacao genera calor y produce etanol, ácido láctico, y ácido acético. Este último provoca la muerte del embrión. Las levaduras, en su etapa de actividad se involucra en la degradación de la pectina en la pulpa del cacao y de la producción de precursores de aroma como alcoholes y ésteres, que contribuyen en el desarrollo del perfil de aroma del chocolate (Figueroa Hernández *et al.* 2019). En la etapa de actividad de las bacterias ácido-lácticas (LAB), estas producen componentes volátiles como los son el diacetilo, acetonas y 2,4-butanediol que ayudan al desarrollo de las bacterias y para la elevación del pH de la pulpa (Papalexandratou *et al.* 2019). Las bacterias ácido-acéticas (AAB), en su etapa, son las encargadas de oxidar el etanol a ácido acético y de la misma forma convierte el ácido láctico producido por las bacterias ácido lácticas a ácido láctico y acetonas. A partir de este punto, ocurren las reacciones descritas anteriormente para el desarrollo final de precursores de sabor y aroma de los granos.

**Factores influyentes en la investigación sobre fermentación.** En estudios de fermentación, los factores ambientales y geográficos poseen un papel importante en la obtención de resultados. Por lo tanto, la consideración de estos factores implica el desarrollo de nuevas tecnologías de fermentación y la optimización de protocolos. En el caso de estudios de identificación comunidades microbianas, (Pacheco Montealegre *et al.* 2020), reportan que los resultados comúnmente varían debido a la localización geográfica, clima, época del año y del protocolo de fermentación.

**Uso de cultivos iniciadores en la fermentación.** El uso de cultivos iniciadores se realiza para el mejor control de la fermentación (estandarización) y para el desarrollo de una mejor calidad del cacao (Schwan 1998; Papalexandratou *et al.* 2019). Múltiples estudios han realizado diversos intentos en diseñar y/o establecer un cultivo iniciador microbiano para el proceso de fermentación del grano de cacao. Generalmente, durante el proceso de fermentación espontánea, a partir un amplio grupo de microorganismos del ambiente que actúan en dicho proceso, se selecciona un número de especies con mayor actividad fermentativa. Así mismo, muchos de los microorganismos del ambiente que intervienen durante la fermentación, no son específicamente necesarios para el desarrollo de la calidad del cacao (Figueroa Hernández *et al.* 2019).

Los cultivos iniciadores consisten en levaduras, bacterias ácido-lácticas (LAB) y bacterias ácido-acéticas (AAB) o la mezcla de estos. Generalmente, estos cultivos son evaluados en orden con el fin de simular el desarrollo secuencial de una fermentación espontánea. La selección de cepas para su uso como cultivos iniciadores puede realizarse de dos maneras: la primera, mediante la extracción de especies de microorganismos involucrados en una fermentación espontánea. Y la segunda, es el aislamiento de especies involucradas en la fermentación de otros productos como el vino, café, entre otros; con potencial de uso en la fermentación de cacao (Meersman *et al.* 2015).

Los criterios de selección de iniciadores se resumen de la siguiente forma: primero, conocer cuáles son las especies de levaduras y/o bacterias presentes y dominantes en la fermentación espontánea. De esta forma, se asegura que la especie elegida puede predominar durante la fermentación inoculada (Meersman *et al.* 2015). El segundo criterio se basa en elegir aquellas cepas con una alta actividad pectolítica, con el fin de inducir la degradación de la pulpa. La remoción de la pulpa

facilita el proceso de secado y permite la difusión de las moléculas producidas durante la fermentación hacia el interior del grano, donde reaccionarán con sustancias responsables del sabor y aroma final del cacao (Visintin *et al.* 2016). El último criterio consiste en elegir aquellas especies de levaduras y bacterias que tengan la capacidad de inhibir la producción de Ocratoxina, que es sintetizada generalmente por hongos del género *Aspergillus* sp (Meersman *et al.* 2015). Este tipo de micotoxinas afecta la calidad de los granos en el caso de una sobre fermentación o en el caso de un mal secado (Nielsen *et al.* 2013).

En la última década, especies como *Kloeckera marxianus*, *Pichia kluyveri*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum* *Acetobacter pasteurianus* han sido extensamente estudiadas (Figuroa Hernández *et al.* 2019). En un estudio realizado en Nicaragua por Papalexandratou *et al.* (2019), en el cual se realizó un perfilado de microorganismos identificadas de diferentes varietales de cacao, se reporta que, especies de levaduras como: *Saccharomyces cerevisiae* *Hanseniaspora uvarum* y *Pichia kudriavzevii* tienen un gran potencial para su utilización en cultivos iniciadores debido a su predominio en la fermentación espontánea. Así mismo se reporta el potencial iniciador de especies de bacterias ácido lácticas como: *Tatumella* spp., *Tatumella punctata* y *Tatumella terreus*. En el caso de las bacterias ácido-acéticas, el potencial de cultivo iniciador se presentó en las especies: *Acetobacter* spp y *Gluconobacter* spp.

En el caso de *Saccharomyces cerevisiae* ha sido una de las especies más escogidas para dicho propósito, debido a sus características que la hacen adecuada para uso (Ramos *et al.* 2014). De acuerdo con lo descrito por Meersman *et al.* (2015), las características más importantes de *Saccharomyces cerevisiae* son: alta tolerancia a la presencia de etanol y altas temperaturas; rápida y eficiencia en la metabolización de carbohidratos y su capacidad de crecer en ambientes aeróbicos y anaeróbicos. Además, esta especie produce diversos componentes de sabor como: ésteres volátiles. Un estudio dirigido por Assi-Clair *et al.* (2019) en el cual se inocularon dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de la fermentación de vino, concluye que, el uso de este microorganismo en la fermentación posee un gran efecto en el perfil volátil, los cuales influyen en las propiedades sensoriales del chocolate comparados con la fermentación espontánea. Así mismo, aunque también existieron diferencias entre estas dos cepas; ambas produjeron mayores concentraciones de componentes clave de aroma como: ésteres (acetato de etilo) y pirazinas (di-, tri- y tetrametil pirazina). Los chocolates producidos a partir de la influencia de estas dos cepas mostraron dominancia en amargura y notas frutales.

*Kloeckera marxianus*, de acuerdo con lo descrito por (Figuroa Hernández *et al.* 2019), se encontró que, los chocolates producidos a partir de la fermentación de esta especie fueron más aceptados sensorialmente por los panelistas a comparación de aquellos obtenidos de la fermentación espontánea. Además, los granos de cacao previamente inoculados con esta especie modificaron la dinámica de los microorganismos y la degradación de proteínas. Así mismo se describe que, *Pichia kluyveri* es una especie reconocida por su capacidad de producción de compuesto aromáticos, por lo cual también es utilizada como inóculo para llevar a cabo la fermentación. El uso de esta levadura como inóculo propicia un diferente desarrollo de componentes orgánicos volátiles en el cacao tostado, licor y chocolates; esto a comparación de la fermentación espontánea. Los chocolates producidos a partir de esta inoculación se describen con notas frutales, ácidas, yogurt y con sabores balsámicos, mientras que los chocolates producidos de la fermentación espontánea presentaron notas dulces y sabores acaramelados.

Batista *et al.* (2015), realizaron un estudio en la inoculación de tres especies de levaduras: *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri* y *Hanseniaspora uvarum*. Los resultados de la investigación demostraron que, *Saccharomyces cerevisiae* predominó en las muestras control e inoculadas. En el caso de *Pichia kluyveri* y *Hanseniaspora uvarum* presentaron mayor actividad en las muestras inoculadas. Así mismo, se demostró que, el uso del cultivo iniciador aceleró el consumo de carbohidratos, lo que derivó en una mayor concentración de etanol. Además, el aumento de la concentración etanol y ácido acético en los cotiledones contribuye a la aceleración de la muerte del cotiledón. El nivel de aceptación de los chocolates producidos de la fermentación inoculada y fermentación espontánea no difieren significativamente. Sin embargo, la fermentación inoculada presentó fuertes notas amargas y a café, a comparación de la fermentación espontánea. Este estudio fue realizado para el mejor entendimiento de la importancia de las levaduras durante la fermentación y su efecto en los chocolates producidos.

En el caso de bacterias ácido-lácticas Pereira *et al.* (2016), reportan que la cepa de *Lactobacillus fermentum*, posee un potencial como cultivo iniciador, debido a su dominancia durante la fermentación de cacao. Así mismo los autores describen también que las especies de bacterias ácido-acéticas como: *Acetobacter pasteurianus* y *Acetobacter tropicales*, pueden ser utilizadas durante la fermentación del cacao. Así mismo, Figueroa Hernández *et al.* (2019) reportan que, *L. fermentum* y *A. pasteurianus*, son considerados como buenos candidatos para uso como cultivos iniciadores. La cepa *L. fermentum*, posee un metabolismo hetero fermentativo, capacidad de producción de fructosa, conversión de citrato, producción de manitol y resistencia a etanol. Estas características son adecuadas para una cepa iniciadora de fermentación (Papalexandratou *et al.* 2013). En el caso de *A. pasteurianus*, esta cepa muestra una gran capacidad de oxidación del etanol, manitol y ácido láctico a ácido acético. Además, muestra una alta tolerancia al calor (Moens *et al.* 2014).

De manera general, se puede concluir que un cultivo iniciador adecuado puede dirigir un correcto proceso de fermentación del cacao. Así mismo, debe estar compuesto por al menos una cepa de cada grupo de microorganismos (levadura, bacterias ácido-lácticas y bacterias ácido-acéticas). Sin embargo, en el caso de las bacterias ácido-lácticas, es necesario seleccionar una cepa apropiada a fin de evitar la sobre producción de ácido láctico que pueda tener un impacto negativo en la calidad de los granos de cacao (Figueroa Hernández *et al.* 2019).

Los aspectos más importantes en el uso de cultivos iniciadores son: la estandarización y aceleración de la fermentación y el control del proceso bajo condiciones establecidas (para evitar contaminación de microorganismos no deseados). La más importante ventaja en el uso de iniciadores es que, los resultados de calidad deseados pueden reproducirse igual o de manera similar. Sin embargo, las condiciones del proceso como: frecuencia de volteo, adecuado control de temperatura y pH poseen un gran efecto en la sucesión microbiana. Estos factores, deben ser considerados al momento de diseñar un cultivo iniciador (Pereira *et al.* 2016).

El éxito del uso de cultivos iniciadores es influenciado por el ambiente y las prácticas agrícolas del país productor de cacao. Por ello es recomendable, que cada región de producción caracterice la diversidad microbiológica de sus procesos (Figueroa Hernández *et al.* 2019). La caracterización del perfil de microorganismos de cada región permitiría el diseño de una adecuada mezcla de cultivos iniciadores para el proceso de fermentación, y así obtener granos de cacao fermentados con calidad competitiva en el mercado internacional.

### **Zamorano como centro de investigación experimental de cacao**

La producción mundial de cacao reportada por la Organización Internacional del Cacao – ICCO (2020) para el periodo 2017-2018 fue de 4,751,000 toneladas. En tal caso, África continúa siendo el principal productor de cacao en el mundo. Sin embargo, América presenta incrementos en sus producciones y aumento en la calidad de su cacao. Además, es importante señalar que el mercado de cacao fino y de aroma es dominado por países latinoamericanos como: Ecuador, Perú, Colombia y Otros, los cuales producen el 80% de la producción mundial de este tipo de cacao (FHIA 2019).

Actualmente, en Honduras se estima que existen aproximadamente 4,468 ha de producción de cacao bajo un sistema agroforestal, que se encuentran distribuidos en 3,469 productores. Además, gran parte de la producción de cacao (41%) es generada por pequeños productores que, poseen parcelas de una hectárea en promedio (Tapia 2016). Las áreas de producción se concentran principalmente en los departamentos de la zona atlántica y noroccidental del país, específicamente en los departamentos de: Atlántida, Colón, Comayagua, Copán, Cortés, El Paraíso, Ocotepeque, Olancho, Santa Bárbara y, Yoro (FHIA 2019). Por otro lado, se estima que el 70% de la producción es generada en los departamentos de Atlántida, Colón, Cortés y Santa Bárbara. Así mismo, el Comité Nacional Cadena de Cacao, reporta que, las producciones generadas por pequeños productores son reunidas por 16 cooperativas y asociaciones, distribuidas en las zonas de producción del país. En los últimos años, se ha estado promoviendo la producción de cacao orgánico y actualmente, siete organizaciones de productores han comenzado con este tipo de producción en los departamentos de Gracias a Dios, Olancho, Cortés, Yoro y Santa Bárbara, con un aproximado de 1,600 ha cultivadas (Tapia 2016).

La producción de cacao de Honduras se encuentra encaminada a la obtención de granos con características de fineza y aroma. De acuerdo con las estadísticas presentadas por la Organización Internacional del Cacao (2020), el precio del cacao en grano hasta junio del presente año ascendió a USD2,228.63 por tonelada. El precio de cacao en Honduras se encuentra en HNL7-8 por libra de cacao en baba, mientras que la libra de cacao seco fermentado se encuentra en 36-40 lempiras. En el caso del cacao fino y de aroma, se estima que el precio se encuentra en USD3,400.00 por tonelada. En Honduras el 50% de las exportaciones de cacao corresponden a cacao fino. Esto genera altas expectativas en la producción y comercialización de cacao del país. Y en caso de que se dé un aumento en el porcentaje de producción de cacao fino, las condiciones de comercialización y mejora de precio son prometedoras.

**Investigación en cacao en Honduras.** Uno de los mayores referentes de investigaciones agrícolas en Honduras ha sido la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), encargada de la generación y transferencia de tecnología en el país. Actualmente, la fundación se encuentra instalada en La Lima, Cortés, y cuenta con cuatro centros experimentales y demostrativos ubicados en diversas regiones de Honduras. Respecto a la investigación y asistencia técnica en la producción de cacao, durante los últimos años ha estado implementando diversos programas para la mejora de la producción y calidad del cacao. Estos programas son implementados en conjunto con diversas organizaciones y asociaciones involucradas en cada eslabón de producción y comercialización de cacao. Las entidades relacionadas en dichos programas son: la Asociación de Productores de Cacao de Honduras (APROCACHO), la Fundación para el Desarrollo Empresarial Rural (FUNDER) y el Comité Nacional de la Cadena de Cacao (CNCC). Por parte del sector público-privado, se tiene la participación continua de la Secretaría de Agricultura y Ganadería.

**Investigación del cacao en Zamorano.** La Escuela Agrícola Panamericana, cuenta con un historial de estudios relacionados con la industria del cacao (Cuadro 1). Estas investigaciones han sido realizadas en las cuatro carreras de Zamorano, y poseen un alto potencial para la colaboración en el desarrollo y mejora de la industria del cacao. En los últimos 20 años se han realizado un total de 18 estudios en el tema de cacao (Cuadro 2, 3, 4 y 5).

Cuadro 1. Proyectos especiales de graduación realizados en cacao.

Departamento	Periodo	Investigaciones realizadas
Agroindustria Alimentaria	2009-2019	9
Agronegocios	2016-2019	4
Ciencia y Producción Agropecuaria	2017-2019	3
Ambiente y Desarrollo	2012-2017	2

**Creación de una planta de investigación e innovación del cacao.** Actualmente, el cuerpo estudiantil, académico y administrativo de Zamorano está compuesto por personas provenientes de más de 20 países, muchos de ellos productores de cacao. Estas condiciones podrían representar una fuerte herramienta para la creación y operación de una Planta de Investigación e Innovación de Cacao, que a futuro podría convertirse en un centro de investigaciones oficial. De igual manera, la presencia de Zamorano en los diferentes países productores de cacao en Latinoamérica representaría una excelente oportunidad para un centro de investigación en la generación de un impacto. La planta de investigación e innovación iniciaría con la idea de apoyar a la industria del cacao en Honduras, para después replicarse en las regiones de Latinoamérica. Además, puede presentarse una colaboración entre Zamorano y las entidades de investigación presentes en Honduras y en la región Latinoamericana.

La propuesta de la planta de investigación e innovación puede tomar como referencia otros centros de investigación como el “Centro Zamorano del Café”, y así mismo, poder replicarse en otras industrias agrícolas que requieran la participación de sus actores. El desarrollo de este tipo de centro puede convertirse en una excelente herramienta de apoyo para la industria cacaotera hondureña y, posteriormente de la región centroamericana. Sin embargo, también es necesario que exista una vinculación con el sector público y la industria privada, además del apoyo económico y de servicios de entidades internacionales y privadas.

**Integración de las cuatro áreas de operativas de Zamorano.** Actualmente, la Escuela Agrícola Panamericana está conformada por cuatro áreas operativas que conforman la cadena de valor de las universidades y que, de las cuales se basan sus cuatro departamentos (Cuadro 6). Estas áreas son: producción, procesamiento, comercialización y, responsabilidad ambiental. Idealmente, la planta de investigación e innovación de cacao debería estar integrada por estos cuatro eslabones, a fin de desarrollar diversas investigaciones relacionados a cada uno de estos campos.

Cuadro 2. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Agroindustria.

<b>Título</b>	<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Resumen</b>
Evaluación de sobrevivencia de <i>Salmonella</i> spp. en proceso de elaboración de bebida tradicional nicaragüense “Pinolillo”	Aquileo Daniel González De León	2019	Estudio de la sobrevivencia de <i>Salmonella</i> durante el procesamiento de la bebida desde el tostado del cacao hasta el reconstituido final (Gonzales De León 2019).
Fermentación microbiana de compuestos polifenólicos presentes en cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ) y mango ( <i>Mangifera indica</i> )	María Joselyn Castellón Chicas	2017	Evaluación de la influencia de compuestos fenólicos de extractos de mango y cacao en el crecimiento de un grupo de bacterias probióticas, mediante la actividad tanasa del grupo de bacterias probióticas y, se investigó el efecto de los polifenoles de mango y cacao en la microbiota humana (Castellón Chicas 2017).
Evaluación del uso de mesocarpio de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) como agente espesante en la elaboración de mermelada de mango	Karen Dayana Tonato Chica	2017	Se contrastaron las características fisicoquímicas y sensoriales de utilizar mesocarpio de cacao pulverizado como agente espesante. Se elaboró mermelada de mango evaluando características fisicoquímicas, sensoriales y económicas (Tonato Chica 2017).
Efectos del secado en la fermentación y características del cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ) de almendra blanca var. Caramelo.	Daniela Ivany Gálvez Del Cid	2016	Evaluación de los efectos del secado en la fermentación y en las características del cacao de almendra blanca var. Caramelo. Los parámetros de calidad evaluados: grados brix, temperatura durante la fermentación, pH y niveles de fermentación (Gálvez Del Cid 2016).
Actividad antiinflamatoria de los coproductos de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ) en células humanas cancerígenas (HT-29).	Katherine Nicolle Chávez Velásquez	2015	Cuantificación e identificación de polifenoles en cinco partes del fruto de cacao y evolución de su actividad antiinflamatoria. Observación, de la proliferación de células cancerígenas de colon HT-29, proliferación de células intestinales de miofibroblasto CCD-18, generación de especies oxígeno reactivo (ROS) y expresión genética (Chávez Velásquez 2015).

Cuadro 2 (continuación). Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Agroindustria.

<b>Título</b>	<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Resumen</b>
Desarrollo de una barra de chocolate oscuro evaluando dos edulcorantes en tres concentraciones.	Martha Marina Escoto Sabillón	2014	Elaboración de un prototipo de chocolate oscuro usando dos edulcorantes (miel y azúcar) en diferentes concentraciones y evaluando sus características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y los costos variables (Escoto Sabillón 2014).
Evaluación del almacenamiento en mazorca y frecuencia de volteo del grano durante la fermentación de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.)	Martín Flores Zurita	2014	Evaluación del efecto de tiempo de almacenamiento en mazorca y la frecuencia de volteo de la masa durante la fermentación sobre características fisicoquímicas y microbiológicas. Se analizó la temperatura, pH, % de grasa, polifenoles totales, levaduras, bacterias ácido-lácticas y ácido acéticas y se determinó la calidad mediante la prueba de corte (Flores Zurita 2014).
Evaluación de tostado y desarrollo de chocolate con leche a partir de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ) var. Trinitario.	José Carlos Bonilla Oliva	2014	Determinación de la temperatura y tiempo adecuados para tres tipos de cacao hondureño. Se realizaron fisicoquímicos a los cacao y chocolates para cada tratamiento. Aplicación de pruebas sensoriales de aceptación a los chocolates desarrollados (Bonilla Oliva 2014).
Caracterización química preliminar de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> ) de los municipios de Omoa y La Másica, Honduras	Patricia Soraya Verdesoto Estévez	2009	Cuantificación de la concentración de 18 componentes químicos en cacao proveniente de cinco fincas. La identificación del potencial de calidad del cacao se basó de cuatro estándares (ASSS, ASS, ASE y Standard Oficial Good Fermented). Parámetros evaluados fueron análisis proximal, cuantificación de teobromina y cafeína, polifenol, taninos totales y ácidos grasos (Verdesoto Estévez 2009).

Cuadro 3. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Agronegocios.

<b>Título</b>	<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Resumen</b>
Gobernanza de la cadena de cacao en Ecuador	Sandra Doménica Samaniego Reyes	2019	Análisis y explicación de la cadena de valor, relación actores y funcionamiento de distintos tipos de gobernanza en la cadena de cacao en Ecuador (Samaniego Reyes 2019).
Plan de inversión de una finca de cacao orgánico en la Aldea de Ticamaya, Honduras	Marlon Gerardo Bravo Motiño	2018	Análisis de factibilidad financiera en la inversión para la producción, procesamiento, almacenamiento y comercialización de cacao. Estudio financiero ejecutado bajo el método de presupuesto de capital (Bravo Motiño 2018).
Plan de negocios para el establecimiento de una exportadora de cacao fino de aroma en Cobán, Alta Verapaz, Guatemala.	Walter Oliver Ac Pangán	2017	Plan de negocios que evaluó la factibilidad de la implementación de una exportadora de cacao fino de aroma en grano seco y fermentado ubicada en Cobán, Alta Verapaz, Guatemala. Idea de empresa que opera bajo la política de comercio para la valoración del esfuerzo de los productores de cacao (Ac Pangán 2017).
Factores que afectan la demanda de cacao en Estados Unidos y exportaciones de cacao en grano en Ecuador.	Aníbal Andrés Hidalgo Cevallos	2016	Análisis de la producción de cacao en Ecuador en el periodo de 1995 al 2013, utilizando un método descriptivo en el tiempo, complementándola con métodos de regresión lineal de OLS (mínimos cuadrados ordinarios, por sus siglas en inglés), incluyendo variables de la competencia como variables independientes (Hidalgo Cevallos 2016).

Cuadro 4. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria.

<b>Título</b>	<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Resumen</b>
Evaluación de dos medios de cultivo para la formación de callo en pétalos y estaminoides de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) cultivados in vitro.	Sebastian Hidalgo Echeverria	2019	Evaluación de la respuesta en la formación de callo en pétalos y estaminoides de cacao en los medios de cultivo Murashige (MS) y Skoog y Driver-Kuniyuki Walnut, (DKW), modificado con los macroelementos MS y ambos suplementados con 2,4-D 2 mg/L y Thidiazuron 0.025 mg/L. la fenolización de los pétalos y estaminoides a los siete días después de siembra, y el crecimiento de estructuras callogénicas sobre estaminoides y pétalos de cacao variedades ISC-1 y Cauca 39 (Hidalgo Echeverria 2019).
Efecto de reguladores de crecimiento en la inducción de callo embriogénico en láminas foliares de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) variedad CCN 51 establecidas in vitro.	Fernando Augusto Fernández Leal	2018	Evaluación del efecto de reguladores de crecimiento en la formación de callo embriogénico en explantes foliares de cacao CCN 51. Los medios de cultivo utilizados fueron Murashige y Skoog suplementado con 1 mg/L AIA + 1 mg/L BAP; 2 mg/L 2,4-D, Thidiazuron (TDZ) a 2 mg/L, 0.2 mg/L y 0.002 mg/L y un testigo sin reguladores (Fernández Leal 2018).
Identificación de áreas potenciales para cultivo de cacao en Honduras y propuesta de programa de fertilización	Danilo Peña Urriola	2017	Determinación de áreas potenciales para el cultivo de cacao en Honduras y propuesta de programas de fertilización de acuerdo con estado de los suelos. El estudio revisó los resultados de 38,364 análisis químicos de suelos de Honduras, analizados por el laboratorio de la Fundación Hondureña de Investigación agrícola, información climatológica y edáfica según los tipos de suelos del país (Peña Urriola 2017).

Cuadro 5. Proyectos especiales de graduación en cacao realizados en el Departamento de Ambiente y desarrollo.

<b>Título</b>	<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Resumen</b>
Diseño de un sistema agroforestal de cacao en la hostería Hakuna Matata en Napo, Ecuador	Ariana Belén Briones Vélez	2017	Diseño de un sistema agroforestal de cacao en asociación a bosque tropical mediante el análisis de suelo, densidad de la cobertura del dosel y sotobosque, y uso actual del terreno (Briones Vélez 2017).
Análisis de la capacidad institucional de tres organizaciones productoras en cacao de Esmeraldas, Ecuador	Henry Ubaldo Navarrete Alvarado	2012	Determinación de la capacidad institucional de tres asociaciones relacionadas a la producción de cacao en la provincia de Esmeraldas. Se evaluó el desempeño de las asociaciones en cuanto a su manejo administrativo y financiero, relación con sus clientes (socios, donantes, gobierno) y su estrategia hacia el futuro (Navarrete Alvarado 2012).

Cuadro 6. Recursos disponibles por el desarrollo de temas de investigación.

Área	Recursos	Temas de desarrollo
Agroindustria	Laboratorios: - Análisis de Alimentos - Microbiología de Alimentos - Nutrición Humana - Análisis sensorial  Plantas: - Innovación de Alimentos. - Lácteos	Análisis de alimentos Evaluaciones organolépticas Evaluaciones microbiológicas Innovación y desarrollo de nuevos productos Ingeniería Procesamiento
Agronegocios	Softwares: - Estadísticos - Análisis financieros - Análisis de datos - Registro	Análisis y diagnósticos empresariales Análisis de eficiencia Análisis financiero Estudios de mercado e inteligencia comercial Emprendimiento e innovación Planes de producción Planes de negocio Promoción y ventas
Producción	Laboratorios: - Suelos - Entomología - Fitopatología - Análisis Molecular y Cultivo de Tejidos - Control Biológico	Estudios y análisis de suelos Estudios en control biológico Análisis entomológicos y fitopatológicos Pruebas de cultivo de tejidos Pruebas de cultivo
Ambiente y desarrollo	Laboratorios: - Sistemas de Información Geográfica - Análisis de Calidad de Agua	Biodiversidad Desarrollo económico y social Ecología Manejo ambiental Sistemas de ubicación geográfica Evaluaciones socioeconómicas

Actualmente, estas áreas operativas cuentan con diversos laboratorios, recursos y equipo que tienen el potencial de ser utilizados para el desarrollo de diversos temas de investigación. Sin embargo, se debería implementar un espacio dirigido al beneficiado y procesamiento de este cultivo, y en el cual se puedan realizar investigaciones que puedan aportar a la industria.

Un área dirigida para el procesamiento del cacao debería contar un flujo de proceso, en el cual se pueda tener una participación de los estudiantes y profesionales en el rubro. Dicha área debería contar con espacios como: recibo de materia prima, para la recepción y preprocesamiento del cacao. Un espacio para la fermentación, donde el cacao en baba pueda ser sometido a dicho proceso. Esta área debería contar con materiales y equipos como: cajas de madera, barriles perforados y cestos. Así mismo se necesitan equipos para el monitoreo del proceso. Los equipos básicos necesarios serían: termómetros, medidores de pH, medidores de humedad, entre otros.

Posteriormente, sería oportuno, un área de secado, a la par del área de fermentación. Esta área estaría destinada al secado de los granos de cacao fermentado. Los equipos necesarios en esta área serían: medidores de humedad, termómetros y herramientas de remoción.

Anexo al área de fermentación y del área de secado se necesitaría un área de procesamiento primario del cacao. En esta área, se realizarían los procesos de limpieza de granos, tueste y descascarillado. Para tales procesos sería necesario contar con equipos como, zaranda fina, tostador y descadillador de cacao. Seguidamente, sería necesaria un área de procesamiento final del cacao. Los procesos que se llevarían a cabo en este espacio serían: molienda, alcalinización, mezcla, conchado/refinado, temperado, moldeado y empaque. Para dichos procesos se necesitarían los siguiente equipos y herramientas: molinos, prensas, mesas de trabajo, barriles de mezclado, atemperadoras, canchadoras y empacadoras.

La industria del cacao en Honduras y región centroamericana posee una amplia posibilidad de desarrollo. Por lo tanto, debe fortalecerse con la utilización de tecnologías que se adecuen a la región y que garantice una mejora de los procesos productivos. La investigación en ciencia y tecnología del cacao, de manera secuencial podrían aportar a la mejora de producción, incremento de la calidad del producto y acceso a mejores mercados. La realización de investigaciones y capacitación de los diferentes eslabones involucrados en este rubro promueve el crecimiento del sector cacaotero y del desarrollo de alternativas para la industria. Esto de manera extendida podría contribuir en una mayor estabilidad económica de los sectores involucrados en la producción, procesamiento y comercialización del cacao. Por lo tanto, un centro de investigaciones jugaría un papel importante como generador de tecnologías y alternativas que permitan aprovechar de mejor forma la capacidad del país y de la región de producir cacao de excelente calidad.

## 4. CONCLUSIONES

- Se realizó una revisión de literatura de 48 fuentes bibliográficas relacionadas con aspectos relevantes de la industria del cacao y del uso de cultivos iniciadores en la fermentación asistida del cacao.
- Se revisó el uso de especies como *Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera marxianus*, *Pichia kluyveri*, *Hanseniaspora uvarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus* y *Acetobacter tropicales*, poseen un alto potencial para su uso como cultivos iniciadores de fermentación debido a su influencia en la estandarización y aceleración de este proceso, y en la mejora sensorial de chocolates producidos.
- Se revisaron 18 proyectos especiales de graduación relacionados a cacao, de los cuales, 50% fueron realizados en el departamento de Agroindustria Alimentaria.
- Se propuso la diversificación de los procesos en Zamorano para la producción, procesamiento y comercialización de cacao.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Realizar una recopilación de información acerca de otros procesos que influyen en el desarrollo de sabor y aroma del cacao, y en los cuales, puedan realizarse investigaciones.
- Desarrollar pruebas o investigaciones relacionadas al proceso de fermentación y del uso de cultivos iniciadores en este proceso.
- Desarrollar un diseño conceptual en caso se decida ampliar las instalaciones de la Planta Hortofrutícola.
- Realizar un estudio de factibilidad técnica y económica para el desarrollo de un área de investigación e innovación de cacao, considerando los diferentes servicios ofrecidos por los laboratorios, plantas y unidades de Zamorano que podrían estar asociados.

## 6. LITERATURA CITADA

- Ac Pangán WO. 2017. Plan de negocios para el establecimiento de una exportadora de cacao fino de aroma en Cobán, Alta Verapaz, Guatemala [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 53 p; [consultado el 20 de sep. 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6136/1/AGN-2017-001.pdf>
- Afoakwa EO, editor. 2016a. Chocolate science and technology. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9781118913758.
- Afoakwa EO. 2016b. Cocoa bean composition and chocolate flavor development. En: Afoakwa EO, editor. Chocolate science and technology. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. p. 80–101.
- Afoakwa EO. 2016c. History, origin and taxonomy of cocoa. En: Afoakwa EO, editor. Chocolate science and technology. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. p. 1–16.
- Afoakwa EO. 2016d. The chemistry of flavor development during cocoa processing and chocolate manufacture. En: Afoakwa EO, editor. Chocolate science and technology. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. p. 154–170.
- Arvelo Sánchez MÁ. 2017. Estado actual sobre la producción, el comercio y cultivo del cacao en América. San José Costa Rica, México: IICA; Colegio de Postgraduados; Fundación COLPOS. 89:247-254 (ISBN: 978-92-9248-719-5).
- Assi-Clair BJ, Koné MK, Kouamé K, Lahon MC, Berthiot L, Durand N, Lebrun M, Julien-Ortiz A, Maraval I, Boulanger R, et al. 2019. Effect of aroma potential of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation on the volatile profile of raw cocoa and sensory attributes of chocolate produced thereof. Eur Food Res Technol. 245(7):1459–1471. doi:10.1007/s00217-018-3181-6.
- Barrientos LDP, Oquendo JDT, Garzón MAG, Álvarez OLM. 2019. Effect of the solar drying process on the sensory and chemical quality of cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivated in Antioquia, Colombia. Food Res Int. 115:259–267. Eng. doi:10.1016/j.foodres.2018.08.084.
- Batista NN, Ramos CL, Ribeiro DD, Pinheiro ACM, Schwan RF. 2015. Dynamic behavior of *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri* and *Hanseniaspora uvarum* during spontaneous and inoculated cocoa fermentations and their effect on sensory characteristics of chocolate. LWT-Food Science and Technology. 63(1):221–227. doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.051.
- Bertazzo A, Comai S, Mangiarini F, Chen S. 2013. Composition of cacao beans. En: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, editores. Chocolate in Health and Nutrition. Totowa, NJ: Humana Press. p. 105–117.
- Bonilla Oliva JC. 2014. Evaluación de tostado y desarrollo de chocolate con leche a partir de cacao (*Theobroma cacao*) var. Trinitario [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 26 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3342/1/AGI-2014-T003.pdf>

- Bravo Motiño MG. 2018. Plan de inversión de una finca de cacao orgánico en la Aldea de Ticamaya, Honduras [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 41 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6240/1/AGN-2018-T007.pdf>
- Briones Vélez AB. 2017. Diseño de un sistema agroforestal de cacao en la hostería Hakuna Matata en Napo, Ecuador [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 37 p; [consultado el 20 de sep. de 2020] <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6035>
- Caligiani A, Marseglia A, Palla G. 2016. Cocoa: production, chemistry, and use. En: Encyclopedia of Food and Health. Elsevier. p. 185–190. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00177-X
- Castellón Chicas MJ. 2017. Fermentación microbiana de compuestos polifenólicos presentes en cacao (*Theobroma cacao*) y mango (*Mangifera indica*) [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 31 p; [consultado el 20 de sep. de 2020] <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5963/1/AGI-2017-012.pdf>
- Chávez Velásquez KN. 2015. Actividad antiinflamatoria de los coproductos de cacao (*Theobroma cacao*) en células humanas cancerígenas (HT-29) [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 36 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4556/1/AGI-2015-015.pdf>
- Comité Nacional Cadena de Cacao. 2020. Productores de cacao. Honduras: CNCC. [consultado el 03 de sep. de 2020]. <https://cadenacacao.hn/productores/>.
- Copetti MV, Iamanaka BT, Frisvad JC, Pereira JL, Taniwaki MH. 2011. Microbiota of cocoa: from farm to chocolate. Food Microbiol. 28(8):1499–1504. eng. doi:10.1016/j.fm.2011.08.005.
- Escoto Sabillón MM. 2014. Desarrollo de una barra de chocolate oscuro evaluando dos edulcorantes en tres concentraciones [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 30 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3350/1/AGI-2014-T013.pdf>
- Fernández Leal FA. 2018. Efecto de reguladores de crecimiento en la inducción de callo embriogénico en láminas foliares de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN 51 establecidas in vitro [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 23 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6314/1/CPA-2018-T037.pdf>
- Figueroa Hernández C, Mota Gutiérrez J, Ferrocino I, Hernández Estrada ZJ, González Ríos O, Cocolin L, Suárez Quiroz ML. 2019. The challenges and perspectives of the selection of starter cultures for fermented cocoa beans. Int J Food Microbiol. 301:41–50. Eng. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.002.

- Flores Zurita M. 2014. Evaluación del almacenamiento en mazorca y frecuencia de volteo del grano durante la fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.) [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 32 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3352/1/AGI-2014-T016.pdf>.
- [FHIA] Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. 2019. Informe Anual 2018-2019. Honduras: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola - FHIA. 88 p; [consultado el 01 de sept. de 2020]. [http://www.fhia.org.hn/downloads/informes\\_anuales/ianualfhia2018-2019.pdf](http://www.fhia.org.hn/downloads/informes_anuales/ianualfhia2018-2019.pdf).
- Gálvez Del Cid DI. 2016. Efectos del secado en la fermentación y características del cacao (*Theobroma cacao*) de almendra blanca var. Caramelo [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 17 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6519/1/AGI-2019-T024.pdf>
- Giacometti J, Jolić SM, Josić D. 2015. Cocoa processing and impact on composition. En: Processing and impact on active components in food. Elsevier. 73:605–612. doi:10.1016/B978-0-12-404699-3.00073-1
- Gonzáles De León AD. 2019. Evaluación de sobrevivencia de Salmonella spp. en proceso de elaboración de bebida tradicional nicaragüense “Pinolillo” [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 19 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6565/1/AGI-2019-T029.pdf>
- Hartel RW, Elbe JH von, Hofberger R. 2018. Confectionery science and technology. Cham: Springer International Publishing. 542 p. ISBN: 978-3-319-61740-4.
- Hidalgo Cevallos AA. 2016. Factores que afectan la demanda de cacao en Estados Unidos y exportaciones de cacao en grano en Ecuador [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 41 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5836/1/AGN-2016-T025.pdf>
- Hidalgo Echeverría S. 2019. Evaluación de dos medios de cultivo para la formación de callo en pétalos y estaminoides de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivados in vitro [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 27 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6692/1/CPA-2019-T037.pdf>
- [ICCO] International Cocoa Organization. 2020. Monthly averages of daily prices. Costa de Marfil: International Cocoa Organization; [consultado 20 de jul. 2020]. <https://www.icco.org/statistics/cocoa-prices/monthly-averages.html>.
- [ICCO] International Cocoa Organization. 2019. Quarterly bulletin of cocoa statistics: Cocoa year 2019/20. Costa de Marfil: International Cocoa Organization. Vol. 46. [consultado 20 de jul. 2020] <https://www.icco.org/statistics/quarterly-bulletin-cocoa-statistics.html>

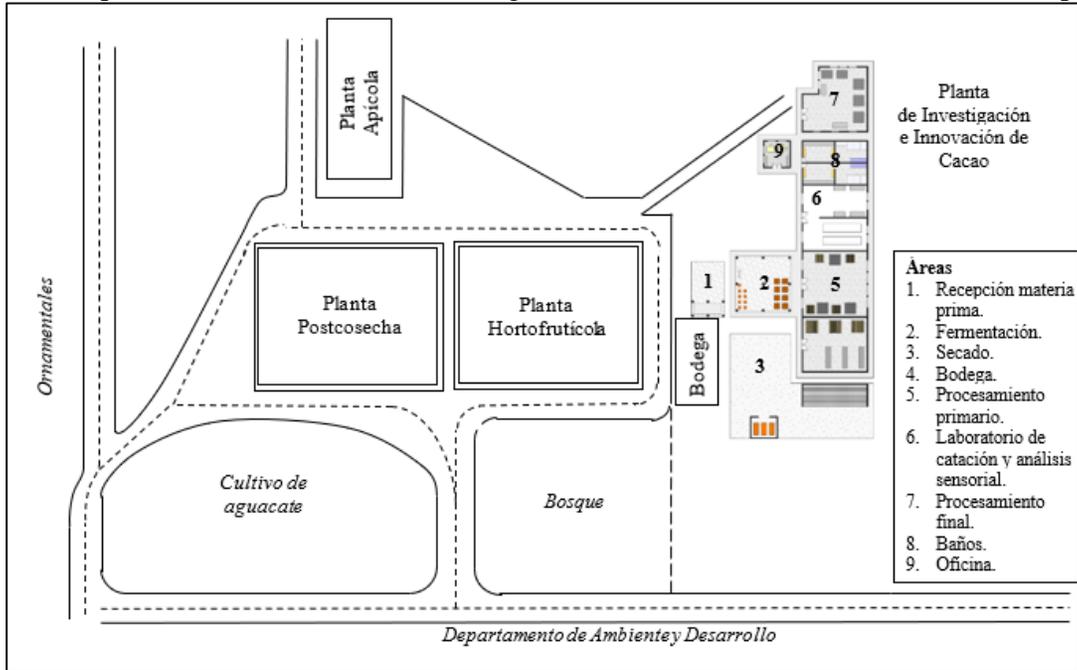
- Iulia Predan GM, Anca Lazăr D, Lungu II. 2015. Cocoa industry - from plant cultivation to cocoa drinks production. Elsevier. (15):489–957. doi:10.1016/B978-0-12-815864-7.00015-5.
- Kongor JE, Hinneh M, van Walle D de, Afoakwa EO, Boeckx P, Dewettinck K. 2016. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavor profile - A review. Food research international. 82:44–52. doi: 10.1016/j.foodres.2016.01.012.
- Meersman E, Steensels J, Struyf N, Paulus T, Saels V, Mathawan M, Allegaert L, Vrancken G, Verstrepen KJ. 2016. Tuning chocolate flavor through development of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* starter cultures with increased acetate ester production. Appl Environ Microbiol. 82(2):732–746. eng. doi:10.1128/AEM.02556-15.
- Meersman E, Steensels J, Paulus T, Struyf N, Saels V, Mathawan M, Koffi J, Vrancken G, Verstrepen KJ. 2015. Breeding strategy to generate robust yeast starter cultures for cocoa pulp fermentations. Appl Environ Microbiol. 81(18):6166–6176. Eng. doi:10.1128/AEM.00133-15.
- Minifie B. 2012. Chocolate, cocoa and confectionery: Science and technology. Hayward, California.: Springer. 904 p. ISBN: 9789401179263.
- Moens F, Lefeber T, Vuyst L de. 2014. Oxidation of metabolites highlights the microbial interactions and role of *Acetobacter pasteurianus* during cocoa bean fermentation. Appl Environ Microbiol. 80(6):1848–1857. Eng. doi:10.1128/AEM.03344-13.
- Navarrete Alvarado HU. 2012. Análisis de la capacidad institucional de tres organizaciones productoras en cacao de Esmeraldas, Ecuador [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 25 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/888/1/T3312.pdf>
- Nielsen DS, Crafac M, Jespersen L, Jakobsen M. 2013. The microbiology of cocoa fermentation. En: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, editores. Chocolate in Health and Nutrition. Totowa, NJ: Humana Press. p. 39–60.
- Nigam PS, Singh A. 2014. Cocoa and Coffee Fermentations. En: Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier. p. 485–492. Doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00074-4
- Ozturk G, Young GM. 2017. Food evolution: the impact of society and science on the fermentation of cocoa beans. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 16(3):431–455. doi:10.1111/1541-4337.12264.
- Pacheco Montealegre ME, Davila Mora LL, Botero Rute LM, Reyes A, Caro Quintero A. 2020. Fine resolution analysis of microbial communities provides insights into the variability of cocoa bean fermentation. Front microbiol. 11:650. Eng. doi:10.3389/fmicb.2020.0065
- Papalexandratou Z, Kaasik K, Kauffmann LV, Skorstengaard A, Bouillon G, Espensen JL, Hansen LH, Jakobsen RR, Blennow A, Krych L, et al. 2019. Linking cocoa varieties and microbial diversity of Nicaraguan fine cocoa bean fermentations and their impact on final cocoa quality appreciation. Int J Food Microbiol. 304:106–118. Eng. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.012.

- Papalexandratou Z, Lefeber T, Bahrim B, Lee OS, Daniel H-M, Vuyst L de. 2013. *Hanseniaspora opuntiae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, and *Acetobacter pasteurianus* predominate during well-performed Malaysian cocoa bean box fermentations, underlining the importance of these microbial species for a successful cocoa bean fermentation process. *Food Microbiol.* 35(2):73–85. Eng. doi:10.1016/j.fm.2013.02.015.
- Pereira G, Soccol VT, Soccol CR. 2016. Current state of research on cocoa and coffee fermentations. *Current Opinion in Food Science.* 7:50–57. doi: 10.1016/j.cofs.2015.11.001.
- Peña Urriola D. 2017. Identificación de áreas potenciales para cultivo de cacao en Honduras y propuesta de programa de fertilización [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 40 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6019/1/CPA-2017-081.pdf>
- Predan GMI, Lazăr DA, Lungu II. 2019. Cocoa industry - from plant cultivation to cocoa drinks production. En: *Caffeinated and Cocoa Based Beverages*. Elsevier. p. 489–507. doi: 10.1016/B978-0-12-815864-7.00015-5
- Ramos CL, Dias DR, Miguel MGdCP, Schwan RF. 2014. Impact of different cocoa hybrids (*Theobroma cacao* L.) and *S. cerevisiae* UFLA CA11 inoculation on microbial communities and volatile compounds of cocoa fermentation. *Food Res Int.* 64:908–918. eng. doi:10.1016/j.foodres.2014.08.033.
- Samaniego Reyes SD. 2019. Gobernanza de la cadena de cacao en Ecuador [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 29 p; [consultado el 20 de sep. de 2020] <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6622/1/AGN-2019-T032.pdf>
- Sánchez V, Zambrano JL, Iglesias C, Rodríguez E, Villalobos V, Díaz FJ, Carrillo N, Gutiérrez A, Camacho A, Rodríguez O. 2019. La cadena de valor del cacao en América Latina y El Caribe. Quito, Ecuador: Instituto de Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 104 p. ISBN: 978-9942-36-465-4; [consultado el 06 de jul. De 2020]. [https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/Informe\\_CACAO\\_linea\\_base.pdf](https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/Informe_CACAO_linea_base.pdf).
- Sarbu I, Csutak O. 2019. The Microbiology of Cocoa Fermentation. En: *Caffeinated and Cocoa Based Beverages*. Elsevier. p. 423–446. ISBN 978-0-12-815864-7 doi: 10.1016/C2017-0-02382-0
- Saunshia Y, Sandhya MVS, Lingamallu JMR, Padela J, Murthy P. 2018. Improved Fermentation of Cocoa Beans with Enhanced Aroma Profiles. *Food Biotechnology.* 32(4):257–272. doi:10.1080/08905436.2018.1519444.
- Schwan RF. 1998. Cocoa Fermentations Conducted with a Defined Microbial Cocktail Inoculum. *Appl Environ Microbiol.* 64(4):1477–1483. doi:10.1128/AEM.64.4.1477-1483.1998.
- Tapia S. 2016. Situación actual de la cadena de valor del cacao en Honduras: Gestión de conocimiento de la cadena de valor del cacao en Centroamérica. Honduras: Asociación de productores de cacao de Honduras. 54 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://docplayer.es/49384585-Situacion-actual-de-la-cadena-de-valor-del-cacao-en-honduras.html>.

- Teneda Llerena WF. 2017. Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). Andalucía: Universidad Internacional de Andalucía. 140 p. ISBN: 9788479933197.
- Tonato Chica. 2017. Evaluación del uso de mesocarpio de cacao (*Theobroma cacao* L.) como agente espesante en la elaboración de mermelada de mango [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 28 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6074/1/AGI-2017-052.pdf>
- Ulloa Leitón E. 2019. Caracterización de la comercialización internacional del cacao como ingrediente en las industrias cosmética y alimentaria. Costa Rica: Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica (PROCOMER). 131 p; [consultado el 05 de jul. de 2020]. <http://sistemas.procomer.go.cr/DocsSEM/5A52A4C7-2FAF-4D5B-99409F36381AEC3B.pdf>.
- Urbańska B, Derewiaka D, Lenart A, Kowalska J. 2019. Changes in the composition and content of polyphenols in chocolate resulting from pre-treatment method of cocoa beans and technological process. *Eur Food Res Technol.* 245(10):2101–2112. doi:10.1007/s00217-019-03333-w.
- Vera O. 2009. Cómo escribir artículos de revisión. Facultad de Medicina. Universidad Mayor de San Andrés. La paz, Bolivia. Scielo. 7p. [consultado el 04 de may. de 2020]. [http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v15n1/v15n1\\_a10.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v15n1/v15n1_a10.pdf)
- Verdesoto Estévez PS. 2009. Caracterización química preliminar de cacao (*Theobroma cacao*) de los municipios de Omoa y La Másica, Honduras [Tesis]. San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Agroindustria Alimentaria. 66 p; [consultado el 20 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/316/1/AGI-2009-T045.pdf>
- Visintin S, Alessandria V, Valente A, Dolci P, Cocolin L. 2016. Molecular identification and physiological characterization of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria isolated from heap and box cocoa bean fermentations in West Africa. *Int J Food Microbiol.* 216:69–78. Eng. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.004.
- Voigt J. 2013. Chocolate and Cocoa Aroma. En: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, editores. *Chocolate in Health and Nutrition*. Totowa, NJ: Humana Press. p. 89–101.
- Wacher MdC. 2011. Microorganismos y chocolate. *Revista digital universitaria- UNAM*; [consultado el 31 de jun. de 2020]. 12(4). <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art42/art42.pdf>.
- Warren JA, Böttcher NL, Aßkamp M, Bergounhou A, Kumari N, Ho P-W, D'Souza RN, Nevoigt E, Ullrich MS. 2019. Forcing fermentation: Profiling proteins, peptides and polyphenols in lab-scale cocoa bean fermentation. *Food Chem.* 278:786–794. Eng. doi: 10.1016/j.foodchem. 2018.11.108.
- Żyżelewicz D, Krysiak W, Oracz J, Sosnowska D, Budryn G, Nebesny E. 2016. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. *Food Research International.* 89:918–929. doi:10.1016/j.foodres.2016.03.026.

## 7. ANEXOS

**Anexo 1.** Croquis de ubicación área de investigación e innovación de cacao. Elaboración propia.



**Anexo 2.** Distribución posibles áreas para la investigación e innovación de cacao. Elaboración propia.

