

Determinación del perfil de sabor de doce cacaos autóctonos (*Theobroma cacao* L.) producidos en siete fincas cacaoteras de El Salvador

García-Escobar HM

Estudiante Tesista,

Departamento de Fitotecnia,

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo Electronico: garcia.15escobar@gmail.com

González-Rosales SO

Docente Director,

Departamento de Fitotecnia,

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo Electronico: saulovidio_g@yahoo.com

Martínez-Ramírez RN

Estudiante Tesista,

Departamento de Fitotecnia,

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Correo Electronico: rebemramirez@gmail.com

Bermúdez-Márquez MA

Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El

Salvador.

Correo Electronico: apaneca44@yahoo.com



Resumen

Entre los meses de octubre 2016 a Julio de 2017, se determinaron los perfiles de sabor de doce cacaos autóctonos de El Salvador, provenientes de cuatro fincas de la región oriental (finca Concepción en Berlín, Usulután; finca Cáceres en Tecapán, Usulután y fincas Josefina y Rogelio Luna en Chinameca, San Miguel) y tres fincas de la región occidental (finca La Sierra en San Julián, Sonsonate; finca El Carmen en Nahulingo, Sonsonate y finca Santa Luisa en Jujutla, Ahuachapán). Se cosecharon mazorcas de cacao en su punto óptimo de madurez, evaluando tamaño y grosor de mazorca, coloración, número y tamaño de semillas. Posteriormente se fermentaron las muestras utilizando el protocolo de micro-fermentación establecido por Edward Seguíne. Las muestras de cacao fermentadas se secaron, tostaron y molieron de acuerdo a los procedimientos de la guía de Darin Sukha “Requisitos de Calidad de la Industria del Chocolate y del Cacao”. Los licores de cacao fueron analizados por un panel de cinco catadores entrenados, evaluando los atributos a cacao, dulce o caramelo, amargo, astringente, ácido, afrutado, floral, nueces, y crudo o verde, utilizando la escala de evaluación de licores de cacao de 0-10 (Sukha 2015). Los resultados sensoriales fueron analizados por métodos multivariados de componentes principales y se compararon con los 50 perfiles de los mejores cacaos del mundo establecidos en la International Cocoa Awards en 2015, utilizando la prueba T-student. Los materiales autóctonos como los cacaos FRLP (Finca Rogelio Luna Mazorca de Cacao Pequeña) y FCR (Finca Concepción Mazorca Roja) mostraron un alto grado de similitud con los perfiles de sabor de los cacaos clasificados como Coex Code 214, 275, 028 y 035 provenientes de Perú, Australia, Trinidad y Tobago y Colombia, respectivamente.

Palabras clave: Cacao, autóctono, perfil, sabor, micro-fermentación, licor, análisis, sensorial.

Abstract

Between the months of October 2016 to July 2017, the taste profiles of twelve autochthonous cocoas of El Salvador were determined, from four farms in the eastern region (farm Concepción in Berlín, Usulután; farm Cáceres in Tecapán, Usulután and farms Josefina y Rogelio Luna in Chinameca, San Miguel) and three farms in the western region (farm La Sierra in San Julián, Sonsonate; farm El Carmen in Nahulingo, Sonsonate and farm Santa Luisa in Jujutla, Ahuachapán). Cocoa pods were harvested at their optimum point of maturity, evaluating cob size and thickness, coloration, number and size of seeds. Subsequently the samples were fermented using the micro-fermentation protocol established by Edward Seguíne. The samples of fermented cocoa were dried, roasted and ground according to the procedures of Darin Sukha’s guide “Quality Requirements of the Chocolate and Cacao Industry”. The cocoa liquors were analyzed by a panel of five trained tasters, evaluating the attributes of cocoa, sweet or caramel, bitter, astringent, acid, fruity, floral, nuts, and raw or green, using the evaluation scale of cocoa liquors. from 0-10 (Sukha 2015). The sensory results were analyzed by multivariate methods of principal components and compared with the 50 profiles of the best cocoas in the world established in the International Cocoa Awards in 2015, using the T-student test. The indigenous materials such as the FRLP cocoa (Rogelio Luna Mazorca de Cacao Pequeña) and FCR (Finca Concepción Mazorca Roja) showed a high degree of similarity with the flavor profiles of the cocoas classified as Coex Code 214, 275, 028 and 035 from Peru, Australia, Trinidad and Tobago and Colombia, respectively.

Key words: Autochthonous, cocoa, flavor, profile, micro-fermentation, liquor, sensory, analysis.

Introducción

En El Salvador los productores de cacao se ven limitados para poder competir en el mercado nacional e internacional con la comercialización de grandes volúmenes de cacao debido a que existen pocas áreas para dicha producción; sin embargo, estudios recientes, realizados por Castañeda *et al.* (2016) sobre la Bioprospección del cacao Criollo de El Salvador, demuestra la existencia de genética de gran potencial en sabor para la producción de cacao fino y de aroma, el cual se ve desaprovechado por la baja fertilidad de los suelos, mal manejo post cosecha y poco control en el secado y almacenamiento del grano. La conveniencia de apostarle a producir calidad para mejorar la competitividad de la producción nacional de cacao, debe de ser la estrategia a seguir para que los productores puedan obtener mejores beneficios económicos por un aumento en el precio de sus productos.

Según Guerrero Martínez (2016), la clasificación de la calidad se debe primordialmente a la composición aromática y de sabor que el cacao posee, siendo el genotipo, el factor de mayor importancia, sin embargo las condiciones agroclimáticas en las que se desarrolla el cultivo, los procesos de cosecha, fermentación, secado y procesamiento son factores que tienen importantes efectos en la formación de componentes volátiles y no volátiles que definen la calidad final del producto. El sabor es uno de los más importantes criterios de calidad para los fabricantes de chocolate. El análisis sensorial es considerado una técnica esencial para determinar la calidad de un producto por sus propiedades de aroma, sabor y textura, permitiendo identificar productos de alto valor comercial (Argout *et al.* citado por Guerrero Martínez 2016).

Contreras *et al.* Citado por Rivera Fernández (2012), establece que la fermentación del cacao es una etapa muy importante en el procesamiento del grano, ya que se producen cambios bioquímicos que dan origen a los precursores del aroma y sabor, lo que determina su calidad física y química. Sin embargo, en El Salvador se carece de normas, parámetros y estándares de calidad para el beneficiado del cacao, que permitan asegurar la calidad del producto final. Ocasionalmente que la gran mayoría de cacaocultores no realicen la fermentación, y los que lo hacen no cuentan con un método uniforme y estandarizado que permita la formación de la mayoría de sus precursores en sabor, por lo cual se ve desaprovechada la riqueza genética con la que cuentan para establecerse en mercados más selectivos como el fino y de aroma (Steinau Dueñas 2017).

Colombia, uno de los países de Sur América encaminados en el mercado del cacao fino y de aroma cuenta con investigaciones importantes sobre la caracterización sensorial del cacao de Colombia, la cual les permitió evaluar e identificar genotipos promisorios con características sensoriales especiales (Casa Luker s.f). En El Salvador no se cuentan con estudios que describan las características sensoriales de los materiales autóctonos, que ayude a seleccionar cacaos de gran potencial para ser considerados finos y de aroma.

El objetivo de esta investigación fue determinar el perfil de sabor de materiales autóctonos provenientes de diferentes regiones de El Salvador y compararlos con los perfiles de los 50 mejores cacaos del mundo; para identificar cacaos con características sensoriales especiales, que permitan su clasificación como finos y de aroma.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó de octubre de 2016 a julio de 2017. Esta se llevó a cabo en dos fases: de campo y laboratorio. La de campo se desarrolló en siete fincas, cuatro de la región oriental (finca Concepción en Berlín, Usulután; finca Cáceres en Tecapán, Usulután y fincas Josefina y Rogelio Luna en Chinameca San Miguel) y tres de la región occidental del país (finca La Sierra en San Julián, Sonsonate; finca El Carmen en Nahulingo, Sonsonate y finca Santa Luisa en Jujutla, Ahuachapán). La fase de laboratorio se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de CENSALUD de la Universidad de El Salvador, donde se realizó la micro-fermentación de las muestras de cacao según el protocolo establecido por Edward Seguíne (Seguíne *et al.* 2013) y el análisis sensorial respectivo.

Metodología de campo

Identificación y recolecta de las muestras

En cada finca se tomaron datos sobre la ubicación geográfica, área de siembra y tipo de bosque asociado al cacao. Se eligieron los mejores materiales autóctonos evaluando tamaño de la mazorca, grosor de la cascara, número de semillas por fruto, color y tamaño de semilla. Se cosecharon 20 mazorcas maduras con tijeras de podar y se colocaron en sacos sintéticos de polietileno debidamente identificados. De las mazorcas cosechadas se tomó una para coleccionar los microorganismos del ambiente del cacaotal y el resto se utilizó para la micro-fermentación según el protocolo establecido por Edward Seguíne (Seguíne *et al.* 2013).

Recolecta de microorganismos ambientales en fincas cacaoteras de El Salvador

La mazorca seleccionada para recolectar los microorganismos ambientales, se desinfectó por la superficie con una solución de alcohol etílico al 70%, se partió longitudinalmente y se expuso abierta al ambiente, a la base del árbol de cacao, durante 10 minutos (Fig. 1). Después de la exposición, las semillas se recolectaron, en bolsa hermética “ziploc” debidamente etiquetada.



Figura 1. Exposición de semillas frescas de cacao dentro de cacaotales, para colecta de microorganismos.

Metodología de laboratorio

Preparación del cultivo iniciador

Se pesaron 50 g de cacao en baba de las semillas expuestas dentro de los cacaotales y se colocaron dentro de un Erlenmeyer de 250 ml, a éste se le introdujo un magneto y se le añadieron 100 ml de agua destilada estéril. Posteriormente se colocó sobre un agitador magnético y se agitó a 500 rpm durante 40 minutos. Luego se procedió a filtrar la mezcla utilizando un embudo de vidrio y gaza estéril, éste se recolectó en un Erlenmeyer estéril de 125 ml (Seguine *et al.* 2013). El filtrado recolectado se cubrió con papel aluminio, y se incubó en estufa a 37°C por 72 horas, difiriendo un poco a las establecidas en el protocolo de Ed Seguine (temperatura ambiente por tres horas).

Determinación del crecimiento de levaduras mediante incubación de filtrado

Se preparó una lámina y se observó al microscopio óptico con el objetivo de 10X cada 24 horas (Fig. 2). El recuento de levaduras se realizó utilizando la cámara de Neubauer (GAB s.f.), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Partículas}/\mu\text{l} = \frac{x \text{ levaduras}}{Y \text{ cuadros}} \times \frac{\# \text{ cuadros cámara}}{\text{volumen cámara}} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ cm}^3}$$

Dónde:

X levaduras: Promedio de levaduras contadas.

Y cuadros: grupo de cuadros de la cámara (Neubauer improved= 16)

Cuadros cámara: cuadros útiles cámara (Neubauer improved= 400)

Volumen útil cámara Neubauer improved: 0.2mm x 0.2mm x 0,1mm x 25 = 0,1 mm³



Figura 2. Inspección de crecimiento de levaduras en microscopio óptico.

Ensayo de micro-fermentación

Limpeza y desinfección de mazorcas

Las mazorcas de cacao se lavaron con agua y se desinfectaron con una solución de alcohol etílico al 70%. Se hizo un corte transversal a la cascara con cuchillo desinfectado con solución de alcohol etílico al 70% (Fig. 3), se golpeó la mazorca suavemente para abrirla y se sacaron los granos deslizando la mano por el interior de la misma. Se determinó el peso total utilizando una balanza digital COBOS D-15K.



Figura 3. Corte transversal de mazorca de cacao.

Análisis físico químico antes de la fermentación

En cada material autóctono seleccionado se determinaron los siguientes parámetros:

Tamaño de semilla utilizando un pie de rey.

Grados brix y porcentaje de acidez utilizando un refractómetro digital PAL BX/ACID

Preparación de las muestras de cacao

Los granos se transfirieron a una bolsa hermética “ziploc” de polipropileno estéril y perforada, la cual a su vez, fue introducida a otra bolsa del mismo tipo sin perforar, con capacidad de 1 kg cada una y debidamente identificada. Luego se introdujo 1 ml del cultivo iniciador por cada 100 gr de muestra del material respectivo, utilizando micro pipeta de volumen variable BioPette de 100-1000 μ l.

Fermentación de muestras de cacao

Las bolsas con las muestras de cacao se introdujeron en estufa bacteriológica Selecta ajustada durante todo el proceso, siguiendo la curva de temperatura típica de una fermentación tradicional propuesta por Ed Seguíne (Seguíne *et al.* 2013) (Fig. 4). Las muestras se fermentaron por un total de 144 horas: 48 horas de la fase anaeróbica y 72 horas de la fase aeróbica. Durante el proceso se realizaron volteos a las 48, 72, 96 y 120 horas y se eliminaron las exudaciones producidas por las semillas (Seguíne *et al.* 2013). Durante cada volteo se evaluó la fermentación de las muestras tomando cinco semillas al azar, se partieron de forma longitudinal y se observaron los cambios desarrollados durante la fermentación, evaluando: coloración interna y externa del grano, desarrollo de fisuras en los cotiledones y muerte del embrión.

Secado

Inmediatamente después de terminada la fermentación se procedió al secado el cual tomó un total de seis días y se realizó en dos etapas: pre-secado y secado.

El pre-secado consistió en dejar reposar los granos bajo sombra durante 24 horas, en plataformas de madera con malla tipo zaranda. El secado se hizo incrementando el tiempo de exposición al sol en forma gradual. Se inició con una hora de sol y se fue aumentando una por día hasta completar el secado.



Figura 4. Incubación de muestras de cacao, en estufa bacteriológica.

Al cuarto y quinto día de secado se pesaron 100 gr de cacao de cada muestra, se depositaron en un determinador de humedad GEHAKA AGRI G600 calibrado para determinar humedad en cacao con rango de 3 a 18% y se estableció el contenido de humedad de cada muestra, si el contenido de humedad del grano era del 7% se daba por finalizado el proceso. Las muestras secas se almacenaron a temperatura ambiente empacadas en bolsas herméticas tipo Ziploc sobre estantes metálicos dentro del laboratorio de Agroindustria de CENSALUD.

Calidad física del grano de cacao

Se realizó el análisis físico en grano mediante la prueba de corte, para ello se tomaron 50 granos al azar de cada muestra y se cortaron de forma longitudinal utilizando una navaja tipo “cútter”. Los granos cortados se clasificaron de acuerdo a su grado de fermentación (grano bien y levemente fermentado) y defecto (granos pizarrosos), (Fig. 5) categorías utilizadas por la norma ISO 2451 para las especificaciones del cacao en grano (Sukha y Seguire 2015).

Determinación del índice de grano

Se pesaron 100 g de cacao en una balanza digital y se contó el número de granos en los 100 g, luego se determinó el Índice de Grano utilizando la siguiente fórmula:

$$IG = \frac{100 \text{ g}}{\# \text{ de granos en } 100 \text{ g}}$$



Figura 5. Granos cortados y clasificados de acuerdo a su grado de fermentación: a) grano bien fermentado; b) levemente fermentado; c) defectuosos, granos pizarrosos.

Determinación del índice de mazorca

Este valor se determinó utilizando la siguiente fórmula.

$$IM = (1000 / IG) / \text{semfrut}$$

Donde

IM = Índice de mazorca

1000 = 1000 gramos que conforman un kg

IG= Índice de grano

Semfrut = Cantidad de semillas en cada fruto.

Evaluación del sabor

Las muestras se tostaron en horno Raypa de secado por convección natural de aire, pesando 300 g de cacao. La combinación de temperatura y tiempo se estableció de acuerdo al tipo de cacao: cacao criollo ancestral a 112 ° C durante 30 min, trinitarios y criollos moderno a 120 ° C durante 30 min (Sukha y Seguíne 2015). Para obtener el licor de cacao, los granos se procesaron en un molino de nixtamal marca Victoria hasta obtener un tamaño de partícula entre 20-25 μ (Fig 6.). este proceso tomo 1 hora. Los licores obtenidos se depositaron en recipientes herméticos y se almacenaron a 7°C.

Los licores fueron sometidos a un análisis sensorial descriptivo, los cuales fueron evaluados por cinco catadores entrenados, acreditados por la Mesa Nacional del Cacao. Pevio a la catación se realizó la calibración del panel a través de la cata de licores de referencia obtenidos del laboratorio de cacao de Edward Seguíne, provenientes de Ghana, Madagascar, Venezuela, Ecuador y Nicaragua. Posteriormente se llevó a cabo el análisis de doce muestras de cacaos autóctonos en los cuales se evaluaron los siguientes atributos: cacao, dulce, amargo, astringente, ácido, afrutado, floral, nueces, y crudo o verde, utilizando la escala de evaluación de licores de cacao de 0-10 (Sukha y Seguíne 2015).

Metodología estadística

Los resultados del análisis sensorial fueron evaluados por métodos multivariados de componentes principales, realizando un análisis exploratorio sobre el comportamiento de los cacaos autóctonos con respecto a los atributos evaluados. Se utilizó el software estadístico Infostat versión estudiantil, con la función “R” para análisis sensorial, trabajando con un nivel de significancia del 5%.



Figura 6. Los granos se procesaron en un molino de nixtamal para obtener el licor de cacao.

Los perfiles de sabor de los cacaos autóctonos se compararon con los 50 perfiles de los mejores cacaos del mundo establecidos en la International Cocoa Awards en 2015 (ICA 2015). Se aplicó la prueba T-student, conformada por 62 tratamientos (12 cacaos autóctonos y 50 cacaos premiados), comparando todos contra todos. Se elaboró un cuadro resumen, a partir de los resultados de la prueba, donde se identificaron los cacaos autóctonos con los valores de probabilidad más altos para cada comparación ($p\text{-valor} > 0.05$), posteriormente se determinó el porcentaje de intercepción que comparten los perfiles de cada comparación, de las cuales se seleccionaron los porcentajes más altos.

Resultados y Discusión

Potencial de rendimiento de los cacaos en evaluación

En cacao se utilizan los índices de grano e índices de mazorca como criterios para la evaluación del rendimiento y la identificación de materiales promisorios, los cuales toman gran importancia en los programas de fitomejoramiento y las industrias chocolateras.

Índice de grano (IG)

Los índices de granos variaron de 0.92 g (FECA) a 1.61 g (FRLG), con un promedio de 1.27 g. La Norma Técnica Colombiana NTC 1252, clasifica los granos de cacao de acuerdo a su peso, como premio (1.20 g), corriente (1.05-1.19 g) y pasilla (0.40 g) (ICONTEC 2003), al comparar los índice de grano con esta clasificación, nueve de las muestras evaluadas se catalogan como tipo premio (FCV, FCA, FCR, FLS, FSL-I, FCT, FJC, FRLG Y FRLP), una como tipo corriente (FECAR) y dos cercanas a corriente pero sin cumplir con el requisito establecido (FSL-II y FECA) (Fig.7).

Los resultados demuestran que los cacaos evaluados poseen una buena calidad física en cuanto al tamaño de los granos, los cuales se establecen como grandes según la clasificación de la norma ISO 2451 (recuento de granos ≤ 100 granos/100 g) (ISO 2014), por lo tanto, representan un interés muy importante para la industria del chocolate, ya que poseen un peso superior a 1 gramo/grano.

Índice de mazorca (IM)

Los Índices de mazorca variaron de 15 (FRLG) a 37 (FSL II), con un promedio de 22 mazorcas (Fig. 8). FUNDESYRAM (2014), establece que un valor entre 20 y 21 se considera bueno.

De acuerdo con esto, seis de los cacaos evaluados poseen índices de mazorcas favorables para el rendimiento con valores menores a 20 (FCV, FCA, FCR, FSL-I, FJC y FRLG), criterio utilizado para seleccionar genotipos como parentales en programas de fitomejoramiento (Guerrero Martínez 2016).

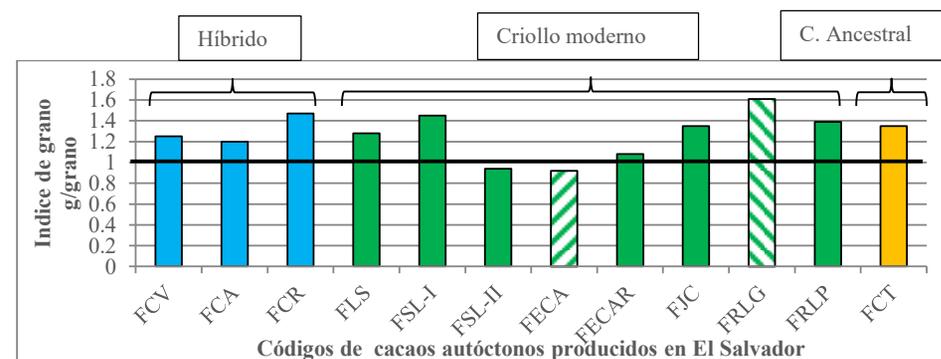


Figura 7. Índice de granos de doce cacaos autóctonos de El Salvador.

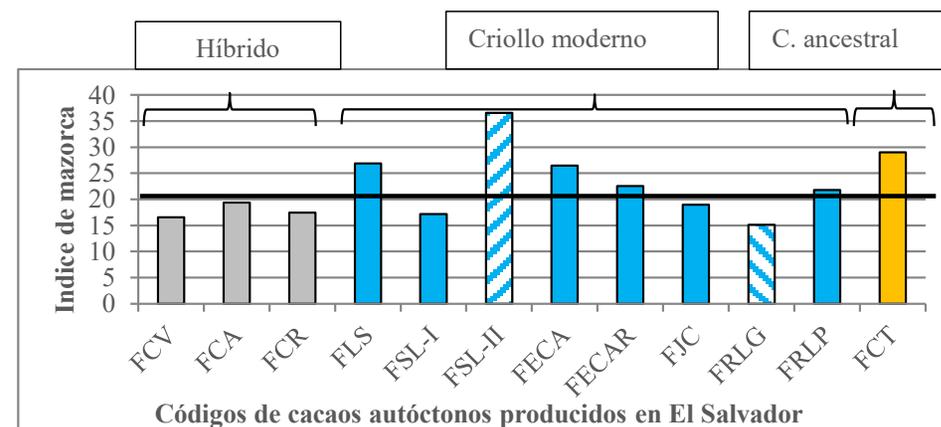


Figura 8. Índice de mazorca de doce cacaos autóctonos de El Salvador.

Características físico-químicas de semillas frescas de doce cacaos autóctonos

Los parámetros de calidad físico-químicos evaluados en el grano de cacao (tamaño, grados brix y contenido de acidez) presentaron diferentes variaciones según el material genético, estos se describen a continuación.

Tamaños de los granos

Los tamaños de los granos, variando de 20 mm (FECA) a 30 mm (FCT), con un promedio de 25 mm (Fig. 9). Es importante resaltar que de los doce cacaos evaluados, los ubicados en las fincas del oriente del país mostraron los granos con mayor tamaño que los encontrados en el occidente del país. Guerrero Martínez (2016), establece que el tamaño de los granos está relacionado con factores ambientales como altura sobre el nivel del mar, temperatura y precipitación, esto coincide con lo propuesto por Daymond y Hadley citado por Guerrero Martínez (2016), quienes reportan relaciones inversas entre temperatura y tamaño de grano.

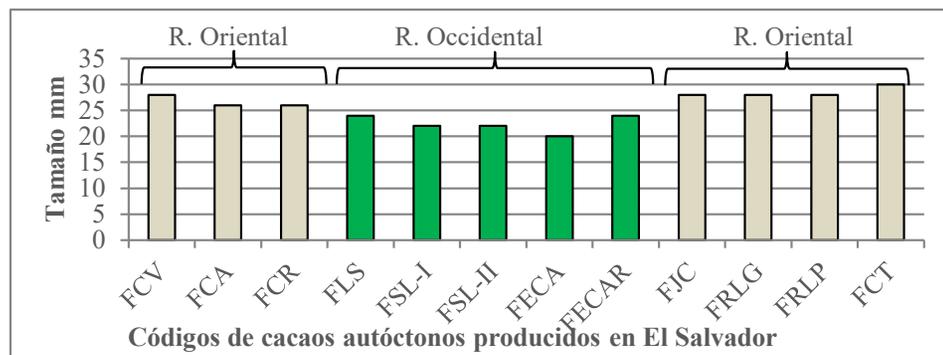


Figura 9. Tamaños de los granos de doce cacaos autóctonos.

Al comparar los resultados con los factores ambientales en los que se encuentra cada finca, se observa que existe una influencia directa de estos en el tamaño de los granos, siendo las fincas del oriente las que presentaron mayor altitud (700-990 msnm), temperaturas más bajas (23-24°C) y precipitaciones mayores (1669-1829 mm), en comparación a las fincas del occidente de El Salvador (Cuadro 1).

Cuadro 1. Factores ambientales de siete fincas cacaoteras de El Salvador.

Finca	msnm	T° anual	Precipitación anual	Ubicación
Concepción (FC)	995	23 °C	1829 mm	Oriente
La Sierra (FLS)	250	25.2 °C	1750 mm	Occidente
Santa Luisa (FSL)	520	23.2°C	1747 mm	Occidente
El Carmen (FEC)	210	25.2 °C	1750 mm	Occidente
Cáceres (FCT)	700	23°C	1829 mm	Oriente
Josefina (FJC)	752	24°C	1669 mm	Oriente
Rogelio Luna (FRL)	752	24°C	1669 mm	Oriente

Grados Brix en pulpa de cacao

Romero y Sambrano (2012), indican que el crecimiento de levaduras está directamente relacionado con el contenido de azúcares totales en la pulpa. De acuerdo con esto Sullivan (2012), establece que grados brix superiores a 18, favorecen la actividad metabólica de las levaduras. En relación a lo propuesto por Sullivan (2012), los materiales FCV, FCA, FCR, FSL-I, FSL-II, FECA, FECAR, FJC y FCT, cumplen con las condiciones iniciales de grados brix necesarios para desarrollar una buena fermentación en los granos, debido al alto contenido de azúcar en pulpa (Fig.10).

Acidez

Los resultados de acidez de los cacaos evaluados presentaron diferentes variaciones según el material genético (híbrido, criollo moderno y ancestral), variando así de 0.75 (FCA) a 5.83 (FRLG), con un porcentaje promedio de 2.7%. En la figura 10 se puede observar que los cacaos clasificados como criollo moderno y ancestral mostraron los porcentajes más altos de acidez en comparación a los híbridos, esto coincide con lo dicho por Romero y Sambrano (2012), quienes afirman que los cacaos clasificados como criollos, contienen al menos dos veces mayor proporción de ácido cítrico, respecto a los híbridos y forasteros. Romero y Sambrano establecen que las levaduras desarrollan una buena fermentación con porcentajes de acidez entre 3,3 y 4,0%.

De acuerdo con esto, el cacao FSL-I posee el porcentaje de acidez (3.84%) necesario para el buen desarrollo de las levaduras durante la fermentación.

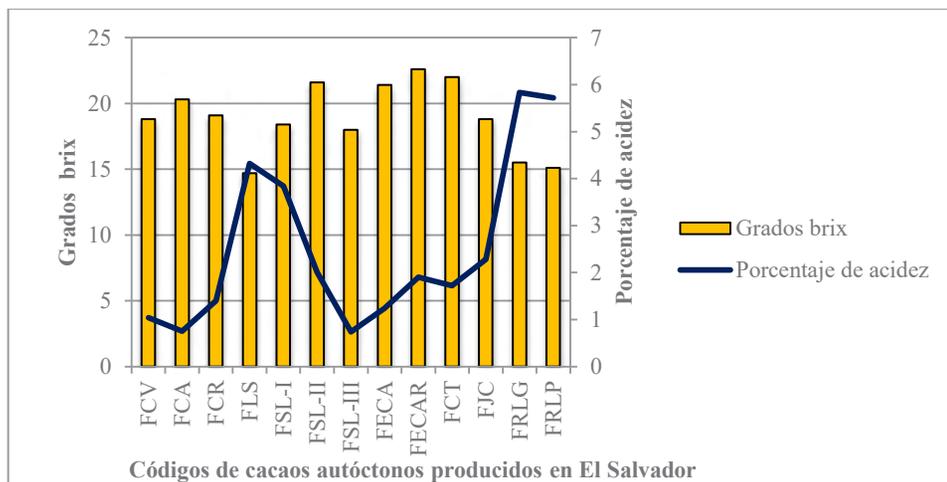


Figura 10. Condiciones iniciales de grados brix y porcentaje de acidez de doce cacaos autóctonos.

Determinación de la calidad del grano fermentado

Para conocer la calidad de fermentación obtenida en las muestras de cacao, se utilizó la prueba de corte, con la cual se evaluó el protocolo de micro-fermentación establecido por Ed Seguine (Seguine *et al.* 2013), a fin de conocer su aplicabilidad en los diversos grupos genéticos estudiados: híbridos, criollos modernos y criollo ancestral.

Prueba de corte

Utilizando la prueba de corte se determinó que los cacaos tipo criollo moderno presentaron los mejores resultados, con los porcentajes más altos de buena fermentación, como puede verse en la figura 11. Estos resultados están relacionados con las condiciones iniciales de grados brix, acidez y tamaño de semilla de los materiales evaluados, donde los criollos modernos presentaron de manera general mayor contenido de azúcares y porcentajes de acidez y tamaños más variables de semillas (pequeñas y grandes) en comparación a los híbridos, lo que propició la creación de condiciones favorables para las levaduras y de esta manera realizar una buena fermentación. Cabe mencionar que de entre los criollos modernos los que presentaron los mejores resultados de fermentación fueron aquellos que obtuvieron grados brix entre 14.7 a 21.6, porcentajes de acidez entre 2.01 a 4.32 y tamaños de semillas entre 20 a 24 mm (Figs. 9 y 10).

La Norma Técnica Colombiana (NTC) 1252 clasifica el grano de cacao como premio, corriente y pasilla de acuerdo a los niveles de fermentación (Cuadro 2) (ICONTEC 2003).

Haciendo una comparación de la norma con base a los resultados se determinó que la muestra FSL-II cumple con los requisitos establecidos para ser catalogada como tipo premio, ya que obtuvo el mayor porcentaje de buena fermentación (76%) y la menor cantidad de granos levemente fermentados (24%), con cero pizarrosos. Las muestras FLS, FSL-I y FECA se clasifican como tipo corriente, ya que los porcentajes de granos levemente fermentados se encuentran dentro del rango de 26 a 35% según la norma (34, 34 y 32% respectivamente), con cero granos pizarrosos. El resto de las muestras poseen una calidad inferior en cuanto a fermentación, por lo cual no se pueden clasificar como corriente o pasilla.

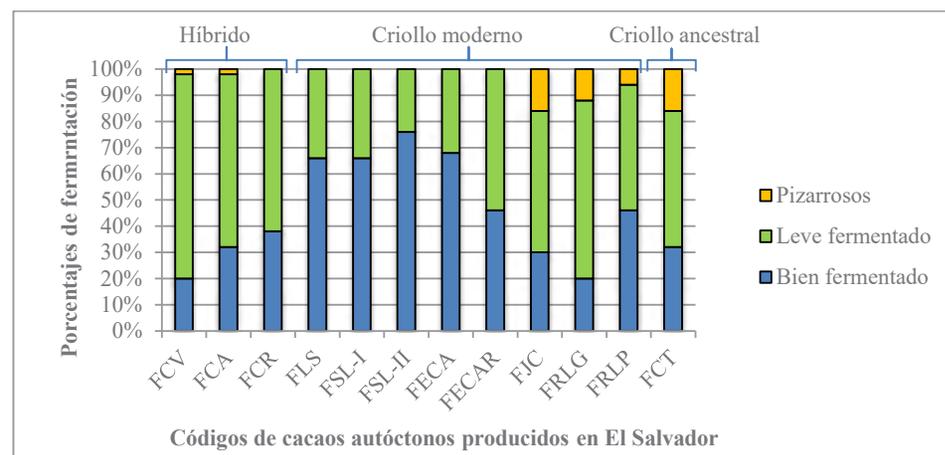


Figura 11. Evaluación de la calidad de la fermentación de doce cacaos autóctonos utilizando la prueba de corte.

Cuadro 2. Requisitos específicos del grano de cacao, según la Norma Técnica Colombiana 1252 (ICONTEC 2003).

Requisitos	Premio	Corriente	Pasilla
Granos bien fermentados, min.	65	65	60
Granos insuficientemente fermentados, max	25	35	40
Pizarrosos, max	1	3	3

Evaluación del protocolo de Ed Seguire (Seguire *et al.* 2013)

Utilizando el protocolo de micro-fermentación se determinó que el tiempo y temperatura de incubación del cultivo iniciador requería más de tres horas y temperaturas arriba de la ambiental para poder identificar levaduras al microscopio, según lo establecido en el protocolo. Sin embargo con las pruebas realizadas se comprobó que el crecimiento de levaduras fue mayor a las 72 horas y a una temperatura de 37°C, con las cuales se obtuvieron poblaciones arriba del millón de células por centímetro cúbico.

Los resultados de fermentación demuestran que los cacaos clasificados como criollos modernos presentaron los mejores resultados de buena fermentación, por lo cual, las muestras clasificadas como tipo premio y corriente corresponden al grupo genético de los criollos modernos, destacando la aplicabilidad del protocolo de Ed Seguire en este tipo de materiales. Sin embargo, el resto de los cacaos evaluados no alcanzaron porcentajes superiores al 50% de granos bien fermentados, entre los cuales se encuentran criollos modernos, criollos ancestrales e híbridos.

Al relacionar los tamaños de semillas con los niveles de fermentación, se logró determinar que existe una relación inversamente proporcional entre los granos bien fermentados y el tamaño de las semillas, y una relación directa entre el tamaño de las semillas y los granos levemente fermentados y pizarrosos (Fig. 12), por tanto, semillas con tamaños superiores a 25 mm presentaron menor cantidad de granos bien fermentados y una mayor de levemente fermentados y pizarrosos, mientras que las semillas con tamaños menores a 25 mm obtuvieron mayor cantidad de granos bien fermentados que de levemente fermentados y pizarrosos.

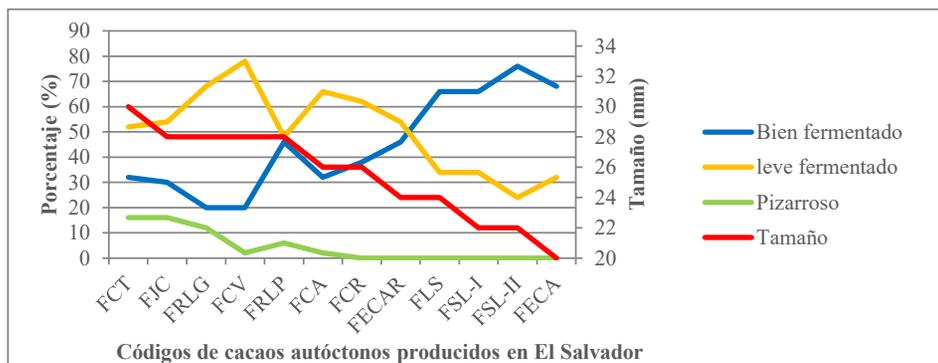


Figura 12. Comparación de los porcentajes de fermentación y el tamaño de semilla de doce cacaos autóctonos.

Comportamiento de los cacaos autóctonos con respecto a los atributos

Los cacaos autóctonos evaluados se ubicaron en tres grupos que coincidieron con el tipo de material genético (híbrido, criollo moderno y ancestral), según se puede ver en la figura 13. Los cacaos clasificados como híbridos se caracterizaron por presentar atributos de sabor como: cacao, amargo, astringente y ácido; mientras que los criollos modernos se destacaron por las notas: floral, afrutado y cacao, finalmente el criollo ancestral se distinguió por atributos a nueces y dulce o caramelo.

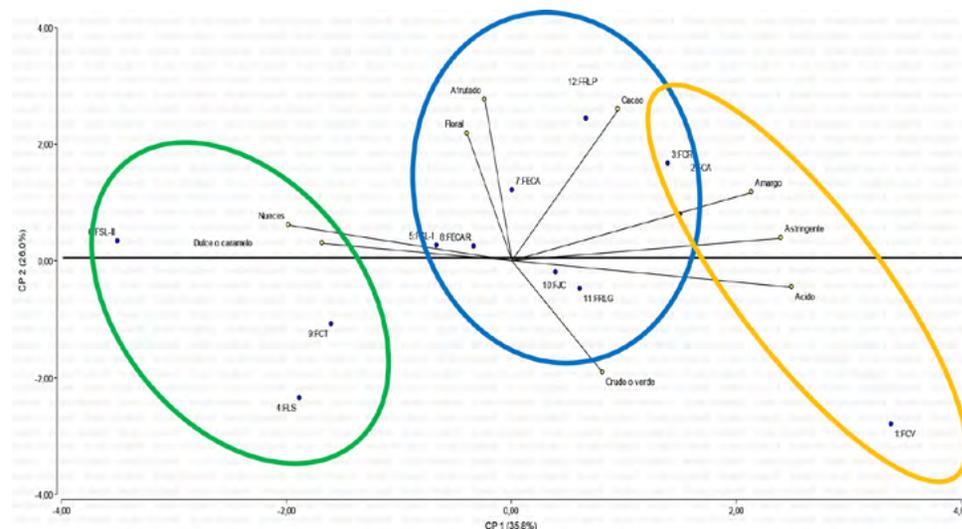


Figura 13. Análisis de componentes principales de los atributos sensoriales de doce cacaos autóctonos de El Salvador. Círculo amarillo: híbrido, círculo azul: criollo moderno y círculo verde: criollo ancestral.

Comparación de los perfiles de sabor generados contra los 50 perfiles de los mejores cacaos del mundo (ICA 2015)

El cuadro 3 presenta el resumen de las comparaciones entre los perfiles de sabor de los cacaos autóctonos y los cacaos premiados en la ICA en 2015. Se muestran únicamente los valores de $p > 0.05$ determinados con la prueba T-Student, más altos para cada muestra, como indicador de que no poseen diferencias significativas entre las muestras.

El cuadro 4 presenta el porcentaje de intercepción que comparten los perfiles de los cacaos autóctonos con respecto a los cacaos premiados. Se resaltan aquellos con los porcentajes más altos que corresponden a los cacaos FCR y FRLP.

Cuadro 3. Resumen p-valor de las comparaciones entre los cacaos autóctonos y premiados

Muestra	FCV	FCA	FCR	FLS	FSL-I	FSL-II	FECA	FECAR	FJC	FRLG	FRLP	FCT
008			0.9633									
011												0.8012
020			0.8607									
026					0.9526							
028			0.3134									
035			0.9630									
038			0.7155									
044		>0.999										
059		0.8848										
062		0.9311										
068			0.4855									
076		0.9292										
087			0.9731									
093			0.7740									
098			0.3823									
105		0.9515										
114			0.3647									
140			0.6149									
142									0.9752			
147		0.9771										
152			0.7622									
155			0.5117									
157		0.9486										
169			0.6072									
171							0.9524					
175		0.9367										
178		0.9473										
179		0.9585										
183			0.3341									
186			0.8936									
189			0.8581									
204	0.9903											
206									0.9895			
214											0.8523	
220												0.8482
229		0.9179										
238			0.8568									
242		0.9878										
243											0.9894	
248			0.9887									
275											0.7195	
277											>0.999	
282			0.9431									
285									0.9898			
294									0.9677			
296			0.8655									
300			0.4316									
329							0.8673					
343			0.7968									
346												>0.999

Cacaos autóctonos similares a los mejores cacaos del mundo (ICA 2015).

En la figura 14 se observa que el cacao híbrido FRLP, clasificado como criollo moderno, presenta mucha similitud con el cacao Coex Code 214 (75.9% de intercepción) de Tumbes, Perú, y con el cacao Coex Code 275 (67.5% de intercepción) de Queensland, Australia. Por tanto, el cacao FRLP se considera de muy buena calidad sensorial, ya que posee características similares en cuanto a la forma de los perfiles e intensidad de los atributos, a los de los cacaos premiados.

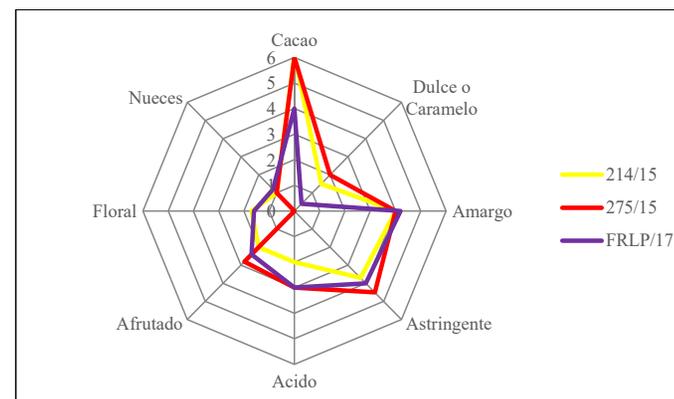


Figura 14. Comparación del perfil de sabor del cacao FRLP con los cacaos premiados Coex Code 214 y 275 (ICA 2015).

En la figura 15 se muestra el perfil de sabor del cacao híbrido FCR, el cual presenta mucha similitud con el perfil del cacao Coex Code 028 (69.1% de intercepción) de Trinidad y Tobago y con el cacao Coex Code 035 (69.3% de intercepción) de Colombia. A pesar que los perfiles no poseen las mismas intensidades en los sabores a dulce o caramelo y afrutado, el cacao FCR, si se considera de muy buena calidad sensorial, ya que comparte un porcentaje de intercepción muy alto, con respecto a los perfiles de los cacaos premiados.

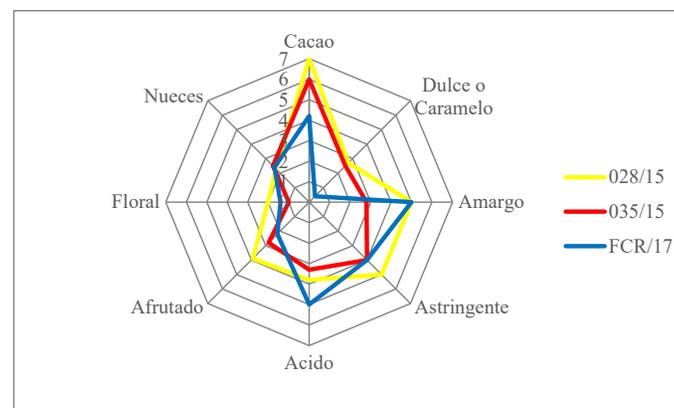


Figura 15. Comparación del perfil de sabor del cacao FCR con los cacaos premiados Coex Code 028 y 035 (ICA 2015).

Cuadro 4. Porcentajes de intercepción entre los perfiles de sabor de los cacaoos autóctonos y los mejores cacaoos del mundo (ICA 2015).

MUESTRAS			Porcentaje de intercepción por atributo								TOTAL	Promedio de Intercepción
#	Cacaoos Autóctonos	Co-Ex	Cacao	Dulce o Caramelo	Amargo	Astringente	Acido	Afrutado	Floral	Nueces		
1	FCR/17	008/15	70.0	16.0	60.0	100	36.0	68.2	40.0	83.3	473.5	59.2
2	FCR/17	020/15	76.4	10.0	56.0	57.5	20.0	73.3	35.0	77.4	405.6	50.7
3	FCR/17	028/15	60.0	14.8	100.0	80	76.0	56.4	70.0	95.8	553.1	69.1
4	FCR/17	035/15	70.0	16.0	56.0	100	66.0	78.6	71.4	96.0	554.0	69.3
5	FCR/17	038/15	60.0	13.8	58.0	77.5	56.0	90.9	28.0	62.5	446.7	55.8
6	FCR/17	068/15	64.6	20.0	82.0	80	50.0	59.5	40.0	83.3	479.4	59.9
7	FCR/17	087/15	80.8	20.0	72.0	95.0	38.0	95.5	50.0	80.0	531.2	66.4
8	FCR/17	093/15	60.0	11.4	82.0	87.0	34.0	95.5	70.0	70.8	510.7	63.8
9	FCR/17	098/15	60.0	14.3	84.0	69.0	40.0	68.8	50.0	80.0	466.0	58.3
10	FCR/17	114/15	64.6	14.3	60.0	85.1	70.0	53.7	37.8	87.5	473.0	59.1
11	FCR/17	140/15	70.0	20.0	76.0	100	76.0	57.9	40.0	41.7	481.6	60.2
12	FCR/17	152/15	61.8	16.0	96.0	66.7	60.0	86.4	66.7	0.0	453.5	56.7
13	FCR/17	155/15	64.6	10.5	60.0	83.3	56.0	68.8	25.5	0.0	368.7	46.1
14	FCR/17	169/15	70.0	26.7	84.0	57.1	50.0	88.0	56	95.8	527.6	66.0
15	FCR/17	183/15	68.9	10.8	70.0	72.7	70.0	59.5	85.7	63.2	500.7	62.6
16	FCR/17	186/15	70.0	22.2	80.0	66.7	40.0	88.0	56.0	33.3	456.2	57.0
17	FCR/17	189/15	76.4	26.7	50.0	92.5	82.0	44.0	70.0	62.5	504.0	63.0
18	FCR/17	238/15	70.0	13.3	60.0	92.5	50.0	88.0	70.0	80.0	523.8	65.5
19	FCR/17	248/15	64.6	14.8	46.0	80.0	36.0	90.9	93.3	88.9	514.6	64.3
20	FCR/17	282/15	60.0	16.0	70.0	70.0	50.0	73.3	50	41.7	431.0	53.9
21	FCR/17	296/15	76.4	11.4	60.0	75.0	30.0	95.7	60.9	41.7	451.0	56.4
22	FCR/17	300/15	57.5	26.7	84.0	78.4	60.0	62.9	35	75.0	479.5	59.9
23	FCR/17	343/15	70.0	16.0	76.0	95.2	76.0	53.7	71.4	41.7	500.0	62.5
24	FCA/17	044/15	40.0	20.0	66.1	79.5	0.0	0.0	45.0	93.8	344.4	43.0
25	FCA/17	059/15	49.2	20.0	50.0	68.2	21.7	72.7	58.1	62.5	402.4	50.3
26	FCA/17	062/15	50.0	20.0	50.0	63.6	32.6	40.0	83.3	62.5	402.1	50.3
27	FCA/17	076/15	43.5	30.0	69.6	93.2	21.7	84.2	50.0	31.3	423.5	52.9
28	FCA/17	105/15	50.0	20.0	48.2	70.5	43.5	57.1	60.0	62.5	411.8	51.5
29	FCA/17	147/15	50.0	24.0	57.1	93.6	32.6	94.1	94.4	76.2	522.1	65.3
30	FCA/17	157/15	40.0	22.2	55.4	68.2	21.7	80.0	94.4	94.1	476.1	59.5
31	FCA/17	175/15	46.2	40.0	71.4	91.7	21.7	72.7	90.0	88.9	522.6	65.3
32	FCA/17	178/15	46.2	24.0	55.4	93.2	10.9	80.0	45.0	62.5	417.1	52.1
33	FCA/17	179/15	50.0	30.0	73.2	86.3	39.1	0.0	64.3	88.9	431.8	54.0
34	FCA/17	229/15	50.0	46.2	53.6	86.4	65.2	57.1	60.0	62.5	480.9	60.1
35	FCA/17	242/15	50.0	24.0	48.2	79.5	32.6	53.3	85.7	80.0	453.4	56.7
36	FCV/17	204/15	52.8	15.4	90.9	91.7	16.1	100.0	66.7	26.7	460.3	57.5
37	FEAR/17	171/15	49.2	0.0	56.8	89.3	40.0	0.0	100.0	90.0	425.3	53.2
38	FEAR/17	329/15	53.3	0.0	93.2	93.3	90.0	93.8	27.8	50.0	501.4	62.7
39	FSL I/17	026/15	43.1	13.3	73.7	64.3	0.0	27.8	93.8	76.9	392.8	49.1
40	FCT/17	220/15	37.1	40.0	75.0	55	0.0	0.0	0.0	0.0	207.1	25.9
41	FCT/17	011/15	40.0	21.1	75.0	45.5	17.9	31.3	35.7	55.6	321.9	40.2
42	FJC/17	142/15	58.8	0.0	93.3	63.9	11.9	27.8	60.9	35.7	352.3	44.0
43	FJC/17	285/15	42.9	0.0	66.7	77.8	19.0	0.0	77.8	0.0	284.1	35.5
44	FJC/17	294/15	50.0	0.0	83.3	80	11.9	55.6	0.0	50.0	330.8	41.3
45	FRLG/17	206/15	40.0	30.8	95.2	97.6	11.9	94.4	60.0	0.0	429.9	53.7
46	FRLP/17	214/15	65.6	26.7	95.2	92.5	66.7	83.3	94.1	83.3	607.4	75.9
47	FRLP/17	243/15	56.3	26.7	73.8	100.0	50.0	8.3	64.0	83.3	462.5	57.8
48	FRLP/17	275/15	66.7	20.0	95.2	88.9	100.0	85.7	0.0	83.3	539.8	67.5
49	FRLP/17	277/15	66.7	16.0	71.4	88.9	56.7	87.5	18.8	58.3	464.2	58.0
50	FRLP/17	346/15	72.7	9.1	47.6	100	16.7	20.8	76.2	66.7	409.8	51.2

Conclusiones

De los cacaos evaluados, los criollos modernos (FLS, FSL-I, FSL-II, FECA, FECAR, FJC, FRLG Y FRLP) se caracterizaron por presentar en sus perfiles la mayor intensidad en los sabores: afrutado, floral y cacao, mientras que el criollo ancestral (FCT) se asoció más a los sabores a nueces y dulce o caramelo. Los tipos híbridos (FCV, FCA y FCR) se describieron de mejor manera por los sabores: amargo, astringente y ácido, como resultado de una deficiente fermentación desarrollada en dicho proceso.

El protocolo de Ed Seguire permitió altos porcentajes de buena fermentación en los cacaos autóctonos clasificados como criollos modernos en comparación a los cacaos híbridos y criollo ancestral, que no alcanzaron los niveles necesarios para ser clasificados como premio y corriente, según la Norma Técnica Colombiana (NTC) 1252. Por consiguiente el protocolo de micro-fermentación de Ed Seguire es más efectivo en los cacaos criollos modernos.

Los resultados de fermentación de los cacaos evaluados se vieron influenciados por los tamaños de las semillas, mostrando así una relación inversamente proporcional entre los granos bien fermentados y el tamaño de las semillas y una relación directa entre el tamaño de las semillas y los granos levemente fermentados y pizarrosos.

Los cacaos autóctonos de El Salvador presentaron buenos índices de grano (>1.0 g/grano), clasificándose como grandes según la norma ISO 2451. Por lo tanto, representa una ventaja competitiva en el mercado internacional.

El Salvador cuenta con cacaos que poseen gran calidad sensorial para ser considerados como finos y de aroma. Los cacaos autóctonos FRLP y FCR mostraron mucha similitud con los perfiles de sabor de los cacaos Coex Code 214, 275, 028 y 035, los cuales forman parte de los 50 mejores cacaos del mundo, según la International Cocoa Awards en 2015.

Recomendaciones

Se recomienda utilizar el protocolo de micro-fermentación establecido por Ed Seguire en los cacaos criollos modernos, ya que presentaron los mejores resultados de buena fermentación en la investigación.

Sería bueno confirmar el efecto del tamaño del grano en el proceso de fermentación, para ratificar la relación observada en esta investigación, la cual se describe como inversamente proporcional entre el tamaño de las semillas y los porcentajes de buena fermentación.

Se recomienda utilizar los cacaos autóctonos FCR y FRLP como genotipos parentales para la producción de plantas promisorias, debido al buen potencial de rendimiento que presentan en sus índices de grano e índices de mazorca y de manera muy especial a la calidad sensorial que estos cacaos muestran en sus perfiles, ya que muestran mucha similitud a los cacaos Coex Code 214, 275, 028 y 035, premiados por la International Cocoa Awards en 2015.

Bibliografía

- Casa Luker. s.f. Cacao fino de aroma: la diferenciación como recurso de sostenibilidad para el agricultor (en línea). Bogotá, Col. Consultado 2 de feb. 2018. Disponible en: http://www.worldcocoaoundation.org/wpcontent/uploads/files_mf/14425051674.JCArroyave.pdf
- Castañeda, V; Aranzazu, F; Hernández, L; Quintanilla, G; Moran, A. 2016. Guia de conceptos básicos de genética en cacao, para su aplicación en la caracterización de germoplasma de cacao nativo de El Salvador. San Salvador. El Salvador. Mesa Nacional del cacao. 89 p.
- FUNDESYRAM (Fundación para el Desarrollo Socioeconómico y restauración ambiental). 2014. Características del cacao criollo y forastero (en línea). San Salvador, El Salvador. Consultado 8 de jul. 2017. Disponible en: <http://www.fundesyr.am.info/biblioteca.php?id=4395>
- GAB (Sistemática Analítica S.L). s.f. Cámara thoma y neubauer improved para el recuento de levaduras (en línea). Madrid, España. Consultado 14 de jun. 2017. Disponible en http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Camara%20Thoma%20Neubauer_SP.pdf
- Guerrero Martínez, N. 2016. Evaluación de componentes físicos, químicos, organolépticos y del rendimiento de clones universales y regionales de cacao (*Theobroma cacao* L.) en las zonas productoras de Santander, Arauca y Huila (en línea). Bogotá, Colombia. 107 p. Consultado 7 de jul. 2017. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/52543/7/NubiaMart%C3%ADnez.2016.pdf>
- ICA (International Cocoa Awards). 2015. Cocoa of Excellence Programme and the International Cocoa Awards. Paris. Francia. 29 p.

ICONTEC (Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación). 2003. Cacao en grano (en línea). Norma NTC 1252. Bogotá, Colombia. 15 p. Consultado 7 de jul. 2017. Disponible en <https://www.grancolombia.com.co/pdf/norma.pdf>

ISO (International Organization for Standardization, Suiza). 2014. Granos de cacao: Especificaciones (en línea). Norma ISO 2451:2014. Ginebra, Suiza. 11 p. Consultado 8 de jul. 2017. Disponible en <https://www.iso.org/standard/56534.html>

Rivera Fernández, RD. 2012. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) Tipo nacional (en línea). Manabí, Ecuador. 12 p. Consultado 10 feb. 2018. Disponible en: http://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_calidad%20fisica%20quimica%20cacao.pdf

Romero, C; Sambrano, A. 2012. Análisis de azúcares en pulpa de cacao por colorimetría y electroforesis capilar (en línea). Revista Científica Agrícola 12 (4):906-913. Consultado 10 de jul. 2017. Disponible en <http://www.bioline.org.br/pdf?cg12103>

Seguine, E; Mills, D; Marelli, J; Motamayor, JC; Coelho, I. 2013. Micro-fermentation of cocoa (en línea). Consultado 15 de may. 2016. Disponible en <https://www.google.com/patents/WO2013025621A1?cl=en>

Steinau Dueñas, IA. 2017. Evaluación de la incidencia de la fermentación en la calidad del grano de cacao trinitario en Caluco, Sonsonate, El Salvador. Tesis. Ing. Agroindustrial. San Salvador, SV. Universidad de El Salvador. 101 p.

Sukha, D; Seguine, E. 2015. Cacao en grano: Requisitos de calidad de la industria del chocolate y del cacao (en línea). Bruselas, Bélgica. 110 p. Consultado 8 de jul. 2017. Disponible en: http://www.cocoaquality.eu/data/Cacao%20en%20Grano%20Requisitos%20de%20Calidad%20de%20la%20Industria%20Apr%202016_es.pdf

Sullivan, JH. 2012. Evaluación y determinación de los factores físico-químicos y microbiológico sobre el índice de fermentación tradicional y no tradicional del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) (en línea). Tesis Ing en alimentos. San Salvador, El Salvador, UJMD. Consultado 12 jul. 2017. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA%20VIRTUAL/TESIS/04/IAL/0001702-ADTESBE.pdf>

