

**Desarrollo de estrategias sostenibles para la reducción de cadmio en masa
fermentativa de híbridos experimentales de cacao mediante inoculación de *rhizobium
japonicum***

Development of sustainable strategies for reducing cadmium in fermentative mass of
experimental cocoa hybrids through inoculation of *rhizobium japonicum*

Luis Humberto Vásquez Cortez

Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador
lvazquezc@utb.edu.ec <https://orcid.org/0000-0003-1850-0217>

Martha Viviana Uvidia Velez

Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador
muvidia@utb.edu.ec <https://orcid.org/0000-0002-6715-9951>

Alvaro Martín Pazmiño Pérez

Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador
apazmino@utb.edu.ec <https://orcid.org/0000-0002-9869-253X>

José Ricardo Rojas Sánchez

Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador
rojassanchez@utb.edu.ec <https://orcid.org/0009-0007-6188-227X>

Recepción: 29 de septiembre de 2024

Aprobación: 10 de febrero de 2025

DOI: <https://doi.org/10.48204/semillaeste.v6n1.7227>

Resumen

La materia prima más importante a nivel internacional en países europeos es el cacao, crucial para pequeños y medianos agricultores. Esta investigación analizó la incidencia del *Rhizobium japonicum* en la fermentación de cacao Nacional e Híbrido, aplicando concentraciones del 0% (testigo), 3% (60 ml) y 5% (100 ml). Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con 6 tratamientos y 4 repeticiones, usando análisis de varianza (ANDEVA). Los resultados mostraron que el porcentaje de testa fue 15,15% en T3 (Híbrido, 3%) y 15,50% en T6 (Nacional, 5%); el índice de semilla fue 1,40% en T3 y 1,46% en T6. La fermentación fue 77,75% en T5 (Nacional, 3%), 68,50% en T6, y 66,00% en T3. El cadmio disminuyó de 0,45 a 0,29 mg/kg en híbridos y de 0,45 a 0,30 mg/kg en Nacional. En conclusión, mayor inoculación de *Rhizobium japonicum* mejora la calidad fermentativa.

Palabras-clave: análisis, cacao, sensorial, tratamiento

Abstract

Cocoa is the most important raw material internationally in European countries, playing a crucial role for small and medium-scale farmers. This study analyzed the impact of *Rhizobium japonicum* on the fermentation of Nacional and Hybrid cocoa varieties, applying concentrations of 0% (control), 3% (60 mL), and 5% (100 mL). A completely randomized design (CRD) with 6 treatments and 4 replications was used, and analysis of variance (ANOVA) was conducted. Results showed that the testa percentage reached 15.15% in T3 (Hybrid, 3%) and 15.50% in T6 (Nacional, 5%), while the seed index was 1.40% in T3 and 1.46% in T6. Fermentation levels reached 77.75% in T5 (Nacional, 3%), 68.50% in T6, and 66.00% in T3. Cadmium content decreased from 0.45 to 0.29 mg/kg in hybrids and from 0.45 to 0.30 mg/kg in Nacional beans. In conclusion, higher inoculation rates of *Rhizobium japonicum* enhanced fermentation quality.

Keywords: analysis, Cocoa, Sensory, Treatment

INTRODUCCIÓN

La presente investigación tiene como objetivo general "Evaluar la efectividad de la inoculación de *Rhizobium japonicum* en la reducción de cadmio durante la fermentación de híbridos de cacao., con el fin de desarrollar estrategias sostenibles que mejoren la calidad del cacao y su aceptación en el mercado internacional. Para lograr esto, se diseñaron tratamientos específicos que incorporan *Rhizobium japonicum* en diferentes concentraciones, permitiendo comparar efectos en la disminución de cadmio y en las propiedades físicas del cacao (Vera et al., 2023). Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con tres tratamientos y un testigo, replicado cuatro veces, aplicando análisis de varianza ANOVA y la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para determinar diferencias significativas.

La contaminación por cadmio en el cacao es un problema significativo que afecta tanto la salud de los consumidores como la viabilidad comercial de los productos de cacao en mercados internacionales (Intriago et al., 2023). El cadmio, un metal pesado, se acumula en los granos de cacao a través de la absorción del suelo, especialmente en regiones con suelos volcánicos ricos en metales pesados (Vásquez et al., 2023). La Unión Europea ha establecido límites máximos de cadmio en productos de cacao, lo que ha llevado a la búsqueda de

métodos eficaces para mitigar la contaminación, ya que es perjudicial para la salud humana provocando enfermedades a largo plazo (Vera & Salazar, 2021).

La exposición al cadmio puede causar diversas enfermedades graves, incluyendo daño renal e insuficiencia renal, osteoporosis y osteomalacia debido a la desmineralización ósea, y enfermedades pulmonares como enfisema y bronquitis obstructiva crónica. Además, el cadmio es un carcinógeno humano, aumentando el riesgo de cáncer de pulmón, próstata y riñón. También puede contribuir a enfermedades cardiovasculares, provocar trastornos gastrointestinales y dañar el sistema inmunológico, debilitando la respuesta inmunitaria del cuerpo. Por tanto, es crucial minimizar la exposición al cadmio para prevenir estos problemas de salud (Vera, Vásquez, Valverde, et al., 2024).

El cadmio en el cacao proviene principalmente de suelos contaminados y puede acumularse en los granos durante el cultivo. Esta acumulación es preocupante debido a los efectos tóxicos del cadmio en la salud humana, incluyendo daños renales y óseos. Además, el cumplimiento de las regulaciones internacionales sobre cadmio es crucial para la exportación de cacao, especialmente a la Unión Europea, que tiene regulaciones estrictas sobre los niveles permitidos de cadmio en productos de cacao (Valarezo et al., 2022).

Investigaciones realizadas en la Universidad Técnica de Quevedo mencionan que la utilización de *Rhizobium Japonicum* en la masa fresca de cacao mejora las cualidades organolépticas de las barras de chocolate potenciando su sabor y aromas y además minimizando las cantidades de metales pesados, siendo favorable la aplicación de la metodología para los agricultores, lo cual puede ser aplicable para varios tipos de cacao teniendo el mismo efecto significativo (Vera et al., 2023).

La mitigación del cadmio en el cacao incluye la selección de variedades de cacao con menor capacidad de absorción de cadmio, prácticas agronómicas como la rotación de cultivos, el uso de cultivos de cobertura, la aplicación de enmiendas orgánicas e inorgánicas y el ajuste del pH del suelo para reducir la solubilidad del cadmio. Además, se utilizan métodos biológicos como la inoculación de suelos y plantas con microorganismos que reducen la disponibilidad de cadmio, así como la fitorremediación con plantas hiperacumuladoras. Procesos post-cosecha como la fermentación controlada y el lavado de granos también

ayudan a disminuir los niveles de cadmio. Finalmente, la gestión integrada combina diversas técnicas adaptadas a las condiciones específicas del suelo y el clima para manejar efectivamente la contaminación por cadmio.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en la finca experimental "La Represa", situada en el Recinto Faita, en San Carlos, kilómetro 7.5, en la Provincia de Los Ríos. Esta finca forma parte de las instalaciones universitarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

En la presente investigación se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo bifactorial 6 tratamientos por 4 repeticiones, un total de 24 objetos de estudio se empleó la prueba de rangos múltiples de Tukey al ($p < 0.05$) para la comparación de medias.

En la tabla 1 se detallan el diseño experimental el cual se presenta la tabla de ANDEVA.

Tabla 1.

Tabla de ANDEVA

Fuente de Variación (FV)		Grados de Libertad (GL)
Tratamientos	(T-1)	5
Error Experimental	(h) (r-1)	18
Total	H x r-1	23

Obtención de la materia prima de las mazorcas de cacao

Al momento de realizar la cosecha o la recepción de la materia prima de las mazorcas de cacao se tomó en cuenta que los frutos estén libres de Monilla (*Moniliophthora roreri*) lo cual puede perjudicar al proceso de fermentación y producto final de la elaboración de chocolate.

Para la presente investigación se cosecho las mazorcas de la variedad de cacao Nacional sin confundir los granos de cacao.

Extracción de los granos de cacao

Una vez que se obtuvieron las mazorcas necesarias, se procedió a realizar el proceso de despulpado, que implica separar el grano de cacao de la parte carnosa “Placenta” que lo rodea el fruto.

Posteriormente se realizó un corte longitudinal o transversal para la extracción de las almendras de cacao.

A la vez despulpadas las almendras de cacao se separaron en tachos limpios. Las cuales se colocaron en las celdas de las micro fermentadoras que cada celda puede abastecer hasta 2 kg de masa fresca de cacao.

Proceso Fermentativo

Posteriormente los granos de cacao, se procedió a colocar en cajas micro fermentadoras fabricadas con guayacán blanco, que posee una capacidad de 30 espacios con dimensiones de 125*75*10 centímetros, mismos que se ocuparon solo 24 celdas de la caja micro fermentadora lo cual se requirió 2 kilogramos de almendra de cacao, teniendo un total de 48 kg de masa almendras frescas de cacao, lo cual solo consto de 4 días de estudio para ambas variedades de cacao, se procedió a la toma de las variables: Temperatura, pH, °Brix (Vera, Vásquez, Alvarado, et al., 2024).

Inducción de *Rhizobium japonicum*

Se indujo *Rhizobium japonicum*, a la masa fresca dependiendo del croquis experimental con las dosis requeridas para cada tratamiento y repeticiones fueron 0% (testigo), 3% (60 ml) y 5% (100 ml) su aplicación permite acelerar el drenaje del mucilago y a su vez determinar su efecto en la disminución de cadmio presente en la masa fermentativa fresca de cacao y así mejorar la calidad, productividad previo a su industrialización y exportación, determinando si el concentrado de microorganismo podrá penetrar la pared de la almendra en este caso las testa.

Dosis de aplicación

Se utilizó por cada dos kilos de masa fermentativa o 0. 60 y 100 mL de producto líquido, respectivamente) como segundo factor variedades de cacao (Nacional y Trinitario) de *Rhizobium japonicum* de los cuales de distribuyo aplicaciones al 0%, 3%, 5% para el 3% se aplicó 60 ml, para el 5% se empleó 100 ml, teniendo en cuenta que la investigación se conformó por 6 tratamientos y 3

repeticiones cada una con dosis dosificadas según el porcentaje de aplicación en base al croquis de campo. en cada celda puede ingresar 2000 gramos de masa fresca de cacao (106).

Remociones

Se procedió a realizar remociones adecuadas con el objetivo que haya una fermentación optima, estas remociones es de vital importancia para que exista fermentación homogénea, cuya temperatura no debe exceder mayor a 50°C ni menor a 40°C debe subir la temperatura de manera paulatina por motivo que puede existir una sobre fermentación, la primera remoción se lo realizó después de las primeras 24 horas después de la aplicación del la inducción del microorganismo, posterior a este día se realizó dos veces por día las remociones por los días restantes de estudio.

Secado de las almendras de cacao.

Ya culminado el proceso de fermentación esta etapa importante para la calidad del grano donde existe el desarrollo de precursores de aroma y sabores y calidades sensoriales, se realizó el secado de las almendras de cacao directa del sol de tal modo de forma cuidadosa sin que exista una mezcla de los granos de cacao ya que están sometidos a varias adiciones y tipos de fincas (Bertorelli et al., 2004).

El secado del cacao se efectuó en superficies de madera la cual fue adecuado para esta práctica; no debe colocarse sobre cualquier superficie debido a la contaminación de agentes externos, las almendras de cacao deben tener remociones adecuadas y constante para que exista un secado homogéneo que normalmente oscila en un periodo de días de 7-8 días al sol, con la finalidad que tengan un porcentaje adecuado de humedad siendo estos de 6 a 8% (Vallejo et al., 2018).

Almacenamiento de las almendras de cacao.

Para el secado se procedió a guardar las almendras de cacao en bolsas de papel con una humedad de 7 % (Ortíz & Guilcapi, 2020)(Saza & Jiménez, 2020).

Índice de mazorca.

Esta variable indica el número de frutos de cacao requeridos (20 mazorcas) que se necesita para obtener 1 Kg de cacao seco según la ecuación: (Vera et al., 2015) (Sánchez Mora et al., 2014).

Ecuación 1. Ecuación. Índice de semilla.

$$IM = \frac{\text{Numero de mazorcas}}{\text{peso en gramos de las almendras secas}} * 1000$$

Índice de semilla.

Se realizó la toma de la variable de índice de semilla, para lo cual se tomó 100 almendras de cacao estas deben estar fermentadas y secas (Quintana et al., 2015).

Ecuación 2. Ecuación. Índice de semilla.

$$IS = \frac{\text{Peso en gramos de 100 almendras de cacao fermentadas y secas}}{100}$$

Prueba de testa y cotiledón.

Se obtuvo por medio del peso de las almendras de cacao las cuales se pesaron en una balanza analítica de precisión con una cantidad de cacao que es considerable de 30 g de cacao (Vallejo et al., 201 C.E.) (Batallas et al., 2021).

Ecuación 3. Prueba de testa y cotiledón.

$$\% \text{ de testa} = \frac{(\text{Peso de la testa})}{\text{Peso de 30 gramos de cacao}} * 100$$

Prueba de corte.

Este valor se obtuvo al seleccionar al azar 100 almendras de cacao, se pesaron en una balanza analítica de precisión, con ayuda de un estilete se realizó un corte transversal en los granos secos, la evaluación

se realizó por medio de un test observatorio, se utilizó la normativa y lineamientos de clasificación de las normativa INEN 176/2018 (INEN, 2018) (Vallejo et al., 201 C.E.) (Batista, 2018).

Peso de granos de cacao en 100 gramos.

En este apartado se realizó aleatoriamente tomadas al azar 100 g que posteriormente se tomó el número de almendras para completar los 100 g (Vallejo et al., 2016).

Humedad.

Al momento de tener las almendras secas y fermentadas se procedió a medir esta variable de humedad que es de punto clave para el almacenamiento debe ser un máximo de 7% de humedad y un mínimo de 6% por motivo comercial no rentable para la industria cacaotera al ser inferior a estos porcentajes mencionados afectando su precio y sus características para procesar y tener un chocolate de baja calidad, el instrumento que se utilizó para medir la humedad interna del grano fue el AQUA BOY III, por ser adecuado específicamente para granos y de prioridad de cacao, se coloca la muestra de los granos de cacao en el sensor y se procede a dar lectura según el manual del equipo y su modelo (INEN, 1986).

Muestreo método cuartil.

Dicho método se realizó para clasificar al azar almendras de cacao dividiéndolas en 4 cuadrantes homogéneos ejemplo (1,2,3,4), se procedió a descartar extremos aleatorio al azar hasta alcanzar una muestra pequeña reducida repitiendo al menos dos veces el mismo proceso hasta tener aproximadamente 100 g de almendras secas fermentadas de cacao, este método fue utilizado de la normativa INEN 175 previo a la prueba de corte (INEN, 1986), de igual manera se utilizó para el análisis de cadmio ver la imagen en Anexos (Contreras & Pérez, 2017).

Determinación de Cadmio

Menciona Vera & Salazar, (2021) que el método de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS) permite una amplia lectura de detección ($\mu\text{g l}^{-1}$) de 0,002-0,02 la cual este método de determinación de cadmio es reconocido por el Codex Alimentarius y EFSA concuerda con Intriago et al., (2023) que este método es confiable.

Este análisis de cadmio, por lo tanto para medir los niveles de Cd^{+2} se pesó 1 gramo de muestra, posterior se realizará la trituration de los granos de cacao secos además deben estar fermentados para la determinación de cadmio al chocolate lo cual se realizó por digestión húmeda se va utilizar ácido nítrico por medio de un microondas debe alcanzar una

temperatura de 150 °C se filtran el material de muestreo y para la determinación se utilizó la norma USDAP método 3050B en un equipo de Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (Benavides, et al., 2023).

Pasos previos para la obtención de la pasta de cacao con pureza del 100%

- Primero: Se procedió a clasificar la materia prima (cacao) eliminando cualquier cuerpo extraño ajeno a las almendras de cacao.
- Segundo: Continuamente se tostaron las almendras en una vasija de barro a una temperatura media 120°C para evitar que se quemen, por un tiempo de 18 a 25min ayudando a desprender cualquier agente, humedad que contengan las almendras.
- Tercero: Posteriormente se realizó el descascarillado manual separando la testa del cotiledón, se almacenaron en fundas de papel.
- Cuarto: Para este paso se procedió a la molienda con la ayuda de un molino manual tradicional, con el objetivo de reducir el grosor del cotiledón a un tamaño que facilite el proceso del refinado.
- Quinto: Seguidamente el refinado va mejorar la calidad final para que no exista gránulos y este no tenga inconvenientes a la hora de consumir o que afecta o sea hallado por las papilas gustativas es recomendable que sea menor de 40 micras los gránulos.
- Sexto: En este paso con ayuda de una conchadora de capacidad de 5kg se introdujo la muestra de cacao poco a poco con el fin de que la conchadora valla atrapando toda la materia prima que queda en la pared de la conchadora a su vez que se valla diluyendo este proceso se mantuvo durante 6 horas por cada tratamiento.
- Séptimo: A continuación, se esperó que la pasta de cacao se atempere es decir reduzca la temperatura para pasar a los moldes donde reposaran hasta tener consistencia.
- Octavo: Se procedió a envolver la pasta de cacao en papel aluminio para su almacenamiento en refrigeración a temperatura de 4°C, las envolturas se guardaron en funda con su respectiva codificación además de evitar alguna contaminación cruzada (Vásquez et al., 2022b).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de corte “Calidad de Fermentación”

La Tabla 2 muestra que diferentes proporciones de *Rhizobium japonicum* afectan significativamente la fermentación del cacao ($p \leq 0.05$). El tratamiento T5 tuvo 77.75% de fermentación total. Las almendras violetas fueron más en T4 (44.75%) y menos en T5 (21.75%). No hubo diferencias significativas en las almendras pizarras. *Rhizobium japonicum* mejora la fermentación y reduce defectos.

Vera et al., (2023), indica que la aplicación de agentes microbiológicos en los granos de cacao tiene un efecto significativo mejorando la calidad fermentativa de los granos de cacao, menorando la presencia de granos violetas y pizarras, siendo factible la aplicación de esta metodología.

Tabla 2.

Análisis de Prueba de corte de las almendras fermentados. La Represa. UTEQ 2023.

	Variedad	T.Fermentados	Violeta	Pizarro	Catalogación de cacao
Híbridos	1	65.75abc	33.00abc	1.25a	C.S.C
	2	62.75bc	35.00 bc	2.25a	C.S.C
	3	66.00abc	33.50abc	0.50a	C.S.C
	4	54,75c	44,75c	0.50a	A.S.E
Nacional	5	77.75a	21.75a	0.50a	A.S.S.S
	6	68.50ab	30.59ab	1.00a	A.S.S
Promedio		65.92	33.10	1.00	
CV		8.67	17.44	83.33	

Prueba de Testa, prueba de Índice de semilla

En la tabla 3, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de testa, con T1 en 15.65% y T4 y T6 en 15.50%. Sin embargo, hubo diferencias significativas en el índice de semilla: T6 fue el más alto (1.46 g) y T1 el más bajo (1.32 g), mejorando la calidad física del cacao, superando los rangos reportados por Intriago et al., (2023) destacando la importancia del IS en el mejoramiento de la calidad física del cacao según INEN 176.

Tabla 3.

Análisis de Prueba de testa, índice de semilla almendras fermentados. La Represa. UTEQ 2023.

Variedad	T.	%Testa	IS
Híbridos	1	15.65a	1.32 a
	2	13.33a	1.41 ab
	3	15.15a	1.40 ab
	4	15.50a	1.43 ab
Testigos (Nacional)	5	14.83a	1.39 ab
	6	15.50a	1.46 b
Promedio		14.99	1.40
CV (%)		10.61	4.12

Cadmio

Según los resultados experimentales descriptivos de la concentración de cadmio, se evidencia una interacción entre el factor de cacao (Híbridos y Nacional) y las dosificaciones de *Rhizobium Japonicum*, lo cual tiene un efecto beneficioso a mayor inducción de este agente biológico sobre los productos fermentados del cacao. Esto es favorable para la industria, ya que se observa una reducción en la concentración de este elemento químico contaminante, como se puede observar en la Tabla 4.

Según los resultados experimentales descriptivos de la concentración de cadmio, se evidencia una interacción entre el factor de cacao (Híbridos y Nacional) y las dosificaciones de *Rhizobium Japonicum*, lo cual tiene un efecto beneficioso a mayor inducción de este agente biológico sobre los productos fermentados del cacao. Esto es favorable para la industria, ya que se observa una reducción en la concentración de este elemento químico contaminante, lo cual Vásquez et al., (2022) en su estudio determinó la incidencia de la aplicación de este microorganismo lo cual tuvo un efecto concluyente además mejorando las cualidades organolépticas en las barras de chocolate.

Tabla 4.
Resultado de cadmio. La Represa. UTEQ 2023.

Código muestra	Resultado mg/kg	Incert.	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	LMR UE* mg/kg
R1I0	0.45	±0.03	0.006	0.10	0.8
R2I0	0.36	±0.03	0.006	0.10	0.8
R3I0	0.29	±0.03	0.006	0.10	0.8
I1N0	0.45	±0.03	0.006	0.10	0.8
I2N0	0.36	±0.03	0.006	0.10	0.8
I3N0	0.30	±0.03	0.006	0.10	0.8

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que la inoculación con *Rhizobium japonicum* reduce significativamente el cadmio y mejora la fermentación de almendras de cacao, especialmente en la variedad Híbridos. Los híbridos son más eficientes que la variedad Nacional en la disminución del cadmio. Estos hallazgos sugieren que *Rhizobium japonicum* es una estrategia sostenible para mejorar la calidad del cacao según INEN 176:2018.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Batallas, Preciado, M., & Pesantez, F. (2021). Evaluación de cadmio y plomo en almendras de cacao por espectroscopia de absorción atómica. *Ciencia Unemi*, 14(37), 49–59. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol14iss37.2021pp49-59p>
- Batista. (2018). Guía técnica el cultivo de cacao. *Santo Domingo, Republica Dominicana. Centro Para El Desarrollo Agropecuario y Forestal CEDAF*, 2(1), 1–232.
- Bertorelli, Camacho, G., & Fariñas, L. (2004). Efecto del secado al sol sobre la calidad del grano fermentado de cacao. *Agronomía Tropical*, 54(1), 31–43.
- Contreras, & Pérez, M. (2017). Instructivo para el control de calidad de granos de cacao. *Swisscontact Colombia*, 1–17.
- INEN. (1986). Cacao en gramo, ensayos de corte NTE INEN 175. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1–3.

- INEN. (2018). Granos de cacao. Requisitos NTE INEN 176-5. *Norma Técnica Ecuatoriana*, 5, 8.
- Intriago, Chávez, G., Vásquez, L., Alvarado, K., Escobar, R., Vera, J., Radice, M., & Raju, M. (2023). Evaluación del contenido de cadmio y caracterización fisicoquímica de almendras y pasta de cacao (*Theobroma cacao*). *Innovaciencia*, 11(1), 1–11.
<https://doi.org/https://doi.org/10.15649/2346075X.3411>
- Ortíz, & Guilcapi, M. (2020). Manual de procesos de centro de acopio de cacao. *Pro Amazonía*, 1(1), 52.
- Quintana, Gómez, S., García, A., & Martínez, N. (2015). Caracterización de tres índices de cosecha de cacao de los clones CCN51, ICS60 e ICS 95, en la montaña de satandereana, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(1), 253–266.
- Sánchez Mora, Zambrano Montufar, J., Vera Chang, J. F., Ramos Ramache, R., Gárce Fiallos, F., & Váscónes Montúfar, G. (2014). Productividad de clones de cacao tipo Nacional en una zona del bosque humedo tropical de la Provincia de Los Ríos, Ecuador. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 38(3), 265–274.
<https://doi.org/10.35196/rfm.2015.3.265>
- Saza, & Jiménez, F. (2020). Determinación de condiciones ambientales para la conservación de granos de cacao (*Theobroma cacao* L) deshidratado durante el almacenamiento. *Sistemas De Producción Agroecológicos*, 11(1), 97–125.
<https://doi.org/https://doi.org/10.22579/22484817.461>
- Valarezo, Carrillo, M., Rubio, G., Peña, K., & Garcia, Y. (2022). Omisión de macronutrientes y biodisponibilidad de cadmio en suelos de Ecuador. *Acta Agronomica*, 71(3), 248–257.
<https://doi.org/https://doi.org/10.15446/acag.v71n3.105855>
- Vallejo, Loayza, G., Morales, W., & Vera, J. (2018). Perfil sensorial de genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la parroquia Valle Hermoso- Ecuador. *Revista ESPAMCIENCIA*, 9(2), 103–113.
- Vallejo, Vera, J., Párraga, M., Morales, W., Macias, J., & Ramos, R. (201 C.E.). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de Cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21–34.
<https://doi.org/https://doi.org/10.18779/cyt.v7i2.139>
- Vásquez, Intriago, F., & Alvarado, K. (2023). Extracto de (banano y manzana) con microorganismos eficientes y su efecto en la disminución de cadmio en almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.). *CCIUTM*, 6, 1–941.

- Vásquez, Vera, J., Erazo, C., & Intriago, F. (2022a). Induction of rhizobium japonicum in the fermentative mass of two varieties of cacao (Theobroma Cacao L .) as a strategy for the decrease of cadmium. *International Journal Od Health Sciences*, 6(3), 11354–11371. <https://doi.org/https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672> Induction
- Vásquez, Vera, J., Erazo, C., & Intriago, F. (2022b). Induction of rhizobium japonicum in the fermentative mass of two varieties of cacao (Theobroma Cacao L.) as a strategy for the decrease of cadmium. *International Journal of Health Sciences*, 3(April), 11354–11371. <https://doi.org/https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672> Induction
- Vera, Benavides, J., Vásquez, L., Alvarado, K., Reyes, J., Intriago, F., Naga, M., & Castro, V. (2023). Effects of two fermentative methods on cacao (Theobroma cacao L.) Trinitario, induced with Rhizobium japonicum to reduce cadmium. *Revista Colombiana de Investigación Agroindustriales*, 10(1), 95–106. <https://doi.org/https://doi.org/10.23850/24220582.5460>
- Vera, & Salazar, M. (2021). Aplicación de siete bioles sobre el desarrollo agronómico en cacao (Theobroma cacao L.) De origen sexual y asexual en etapa productiva en la finca experimental la represa. *Centrosur*, 1(1), 1–43.
- Vera, Vallejo, C., Párraga, D. E., Macías, J., Ramos, R., & Morales, W. (2015). ATRIBUTOS FÍSICOS-QUÍMICOS Y SENSORIALES DE LAS ALMENDRAS DE QUINCE CLONES DE CACAO NACIONAL (Theobroma cacao L.) EN EL ECUADOR. *Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21–34. <https://doi.org/10.18779/cyt.v7i2.99>
- Vera, Vásquez, L., Alvarado, K., Intriago, F., Raju, M., & Radice, M. (2024). Physical and organoleptic evaluation of 12 cocoa clones (Theobroma cacao L .) of National type , in Cocoa liquor — a study from Ecuador. *Systems, Smart Technologies and Innovation for Society*, 870, 8–15. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-031-51982-6_18
- Vera, Vásquez, L., Valverde, E., Rodriguez, S., Uvidia, M., Palacios, J., & Intriago, F. (2024). Elaboración de barras de chocolate a partir de almendras de cacao de montaña (Theobroma bicolor Hump & Bonpl L.) con adición de pasta de frutas deshidratadas de naranja (Citrus x sinensis) y mango (Mangifera indica). *Revista Agrosilvicultura y Medioambiente*, 2(1), 71–90. <https://doi.org/https://doi.org/10.47230/agrosilvicultura.medioambiente.v2.n1.2024.71-90>