

UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**CAMBIOS VIBRACIONALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS EN CACAO
DURANTE LA FERMENTACIÓN Y EL SECADO**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

**BLANCA ESTELA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
LESLIE RUBÍ MONTIEL TADEO**

DIRECTOR

DR. PEDRO GARCÍA ALAMILLA

CO-DIRECTOR

DRA. ARELI CARRERA LANESTOSA

VILLAHERMOSA TABASCO, ENERO DE 2025

Declaración de Autoría y Originalidad

En la ciudad de Villahermosa, el día 10 del mes octubre del año 2024, la que suscribe Blanca Estela González Rodríguez y Leslie Rubí Montiel Tadeo alumnas del programa de Licenciatura en Ingeniería en Alimentos con número de matrícula 182C22004 y 182C2201, adscritas a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autoras de la Tesis presentada para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos intitulada “Evaluación de los cambios vibracionales por espectroscopía de infrarrojo medio y su relación con los compuestos bioactivos durante el proceso de fermentación y post-fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.)” dirigida por el Dr. Pedro García Alamilla y co-dirigida por la Dra. Areli Carrera Lanestosa.


DECLARO QUE:

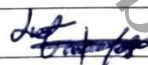
La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

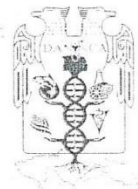
Villahermosa, Tabasco a 10 de octubre de 2024

Blanca Estela González Rodríguez
Leslie Rubí Montiel Tadeo





Autorización de impresión



División Académica de
Ciencias Agropecuarias
Coordinación de Estudios
Terminales



Asunto: Autorización de impresión
de Trabajo Recepcional.

Fecha: 11 de noviembre de 2024.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), informo que con base en el artículo 113 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo autoriza a (la) C. Blanca Estela González Rodríguez con matrícula 182C22004 y a la C. Leslie Rubí Montiel Tadeo con matrícula 182C22001 egresadas de la Licenciatura de Ingeniería en Alimentos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, la impresión de su Trabajo Recepcional bajo la modalidad de Tesis, titulado: "CAMBIOS VIBRACIONALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS EN CACAO DURANTE LA FERMENTACIÓN Y EL SECADO".

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE


M.V.Z. JORGE ALFREDO THOMAS TELLEZ
DIRECTOR

c.p. - Expediente Alumno
Archivo

Km 25. Carret. Villahermosa-Tehuacan
Rz. La Huasteca. 2ª Sección. 86298. Centro. Tabasco. México
Tel. (+52 993) 3581500 ext. 6614
Correo electrónico: terminales.daca@ujat.mx

www.ujat.mx

Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 10 de octubre de 2024

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORAS en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "Evaluación de los cambios vibracionales por espectroscopía de infrarrojo medio y su relación con los compuestos bioactivos durante el proceso de fermentación y post-fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.)".

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



Blanca Estela Gonzalez Rodriguez, Leslie Rubi Montiel Tadeo, Pedro García Alamilla y Areli Carrera Lanestosa

TESTIGOS



Fanny Adabel González Alejo



Laura Gabriela Qué Vázquez

Dedicatoria

BLANCA y LESLIE:

Agradecemos a nuestra alma máter, por brindarnos un ambiente de aprendizaje enriquecedor y por ayudarnos a conseguir nuestras metas académicas.

Al Dr. Pedro García Alamilla por creer en nuestra palabra, darnos la oportunidad de ser tesistas, por orientarnos y animarnos a siempre dar más, a la Dra. Areli Carrera por aligerar las situaciones y darnos acertados consejos.

A nuestros maestros por compartirnos sus conocimientos y tenernos paciencia durante la enseñanza y aprendizaje, también a nuestros sinodales por su activa retroalimentación y apoyo durante este trabajo.

A quienes nos acompañaron en nuestro camino por el Laboratorio de Ingeniería de procesos y nos brindaron su amistad, consejos y apoyo: La Dra. Fanny, el M.C. Ismael, el Dr. Franco, la Dra. Laura, y su hija Katya.

A nuestras compañeras y amigas de generación: Karen, Ana, Sharon, Elsy, Lupita, Perla y Nidia, con las cuales formamos un gran equipo de trabajo en todo momento.

BLANCA:

Mi agradecimiento es principalmente a Dios por darme la salud, el entendimiento, la familia y amigos que formaron parte de este logro y forman parte de mi vida.

Agradezco a mis padres por darme la oportunidad de llevar a cabo este logro el cual representaba un gran sueño para ellos también, por el apoyo y compañía en mis días de desvelos, momentos de estrés y por brindarme los recursos necesarios durante toda la vida, pero en especial por darme amor, educación e incluso regaños, porque con ello formaron el ser humano que soy el día de hoy.

A mis hermanas por todas las pláticas, risas, bromas y anécdotas que tuvimos a lo largo de los 5 años que duró la carrera y a lo largo de la vida, con las cuales hicieron más amenas las noches de desvelos, llantos, pero también por formar parte de mis momentos felices y por escucharme en todo momento. Quienes a pesar que en ocasiones discutíamos porque no las dejaba dormir a causa del ruido que hacía o la luz que utilizaba por las noches, siempre me han acompañado y brindado su cariño.

A mi gran amigo y pareja, Mateo, que fue de gran apoyo emocional en mis momentos malos cuando estaba a punto de rendirme, por formar celebrar conmigo cualquier logro por muy pequeño que fuera y todos los momentos buenos de los cuales formó parte, también por darme lucidez en mis momentos de estrés y orientarme en momentos de confusión. Así como a su familia quienes también me han brindado apoyo, amistad y cariño desde que los conozco.

A Leslie, Karen y Ana, que son un lindo lazo de amistad cultivado desde el primer semestre de la universidad siendo punto clave en el avance de todos los semestres porque día con día nos echábamos porras con un: “¡animo, animo!” dándonos apoyo en cuestiones académicas, emocionales e incluso económicas. Gracias amigas por las salidas para desestresarnos, por no tirar la toalla en las situaciones críticas de desvelos donde hacíamos o terminábamos proyectos; son momentos que están y estarán grabados en mi corazón al igual que ustedes.

Dedico parte de este proyecto a mi sobrina Rosellita, que la quiero con todo mi ser y deseo que Dios le conceda ser un gran ser humano, que cuando crezca cumpla los sueños y metas que se proponga, esperando estar presente a lo largo de su vida para brindarle mi apoyo y cariño incondicional.

También a todos aquellos familiares y amigos que no alcanzo a mencionar pero que aportaron “su granito de arena” en mi proceso de crecimiento y transformación personal y profesional.

Finalmente, me auto felicito porque a pesar que hubo momentos donde quería rendirme siempre me esforcé por hacer lo mejor que podía para seguir adelante y por disfrutar de la vida de la manera que lo he hecho, gozando de lo bueno y aprendiendo de lo no tan bueno.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

LESLIE:

“A todos los eventos afortunados e infortunados que me permitieron llegar a este momento. A la vida misma, por permitirme cumplir esta meta”

En primer lugar, agradezco a mis padres y hermano, quienes no dejaron de apoyarme, madrugaban para encaminarme a la universidad, me esperaban con un plato de comida, y me hacían llamar su “universitaria agropecuaria”. A toda mi familia materna quienes se preocuparon por preguntar por mi proceso académico y quienes, en conjunto, y sin duda, no dejaron de creer en mí, inclusive cuando yo lo hacía.

A mis amigas y ahora colegas, Ana y Karen, con quienes hicimos un muy buen equipo de trabajo como prestadoras del servicio social, y durante toda la carrera, son recuerdos que atesoraré para siempre. A ti, Blanca, mi gran amiga y confidente y con quien, hoy, concluyo este viaje llamado titulación por tesis, gracias por siempre escucharme, hacerme aterrizar en las prioridades del momento, y aguantar mis terquedades, lo logramos, finalmente lo logramos.

A mi peludita de 4 patas, Pily, quien no pudo ver el desenlace de esta historia, pero quien fue mi compañera en las noches de desvelo y me animó siempre en mis momentos más oscuros. A mi club de los 13, por estar aún en la distancia, animarnos mutuamente y celebrar nuestras pequeñas y grandes victorias.

Finalmente, me agradezco a mí misma por no desistir, por hacer lo que mi contexto me permitió durante mi vida universitaria y por dar mi máximo esfuerzo en este trabajo, siendo fiel a mis principios.

¡Gracias infinitas a todos!

Agradecimientos

El trabajo de tesis está enmarcado dentro de dos proyectos por el financiamiento de la infraestructura, materiales y reactivos:

Al proyecto de “**Cristalización y polimorfismo de la manteca de cacao en granos de diferentes orígenes geográficos y su impacto en la calidad de chocolates finos**” financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica CONCYTEC del Perú.

Al proyecto de “**Impulso de la competitividad del Ecosistema cacao chocolate del Estado de Tabasco mediante el fortalecimiento de sus capacidades científicas, tecnológicas y de innovación**” del Fomix - CONACYT project, TAB-2018-01-01-84312.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	2
2.1 El cacao	2
2.2 Origen y producción del cacao	4
2.3 Variedades del cacao	7
2.4 Productos, usos y derivados del cacao	10
2.5 Procesos en la transformación del cacao	11
2.5.1 Fermentación	11
2.5.2 Secado	13
2.5.3 Tostado	14
2.5.4 Conchado	14
2.6 Compuestos bioactivos	15
2.7 Actividad biológica de los compuestos bioactivos	16
2.8 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR)	18
III. JUSTIFICACIÓN	19
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	20
V. HIPÓTESIS	21
VI. OBJETIVOS	22
VII. METODOLOGÍA	23

7.1 Área de estudio y muestreo.....	23
7.2 Procesamiento de la muestra.....	23
7.3 Determinación de pH durante el proceso de fermentación.....	24
7.4 Determinación de acidez total durante el proceso de fermentación.....	24
7.5 Determinación del contenido fenólico total (TPC) en extracto acuoso e hidroetanólico durante el proceso de fermentación.....	24
7.6 Determinación del contenido de flavonoides totales (TFC) en extractos acuosos durante el proceso de fermentación.....	25
7.7 Ensayo de actividad antioxidante por el radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH).....	25
7.8 Ensayo de la actividad antioxidante por el radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS).....	26
7.9 Caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR).....	26
7.10 Análisis de datos y estadístico.....	27
VIII. RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	28
8.1 Determinación pH y acidez durante el proceso de fermentación.....	28
8.2 Evaluación del contenido fenólico total (TPC) en extracto acuoso e hidroetanólico de cocoa durante el proceso de fermentación.....	29
8.3 Evaluación del contenido de flavonoides totales (TFC) en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	32
8.4 Determinación de la capacidad antioxidante por medio de las técnicas DPPH y ABTS, de extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	34
8.5 Determinación del espectro de infrarrojo medio por transformada de Fourier (FT- IR) de polvo de cacao durante el proceso de fermentación.....	37
8.6 Análisis de Componentes Principales (ACP) aplicado a los espectros de infrarrojo durante el proceso de fermentación.....	43

8.7 Determinación del espectro de infrarrojo medio por transformada de Fourier (FT-IR) de polvo de cacao durante el proceso de secado.....	47
8.8 Análisis de componentes principales aplicado a los espectros de infrarrojo a los tiempos de secado.....	48
IX. CONCLUSIONES.....	51
X. RECOMENDACIONES	51
XI. REFERENCIAS	52
ANEXO.....	60
Acervo fotográfico.....	60
Abreviaturas.....	62

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales países productores de cacao en el mundo, en el 2021/2022	4
Tabla 2. Asignación de modo vibracional y atribución a la frecuencia, de acuerdo con distintos autores.	40

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) con frutos en una plantación de Tabasco.....	2
Figura 2. Cosecha y quiebre de mazorcas de cacao.	3
Figura 3. Producción de cacao a nivel mundial.	5
Figura 4. Producción de cacao en México.	6
Figura 5. Producción de cacao en Tabasco.	6
Figura 6. Distribución de la producción de cacao por variedad.	7
Figura 7. Corte longitudinal de mazorca tipo criolla de Las Delias.....	8
Figura 8. Cacao acriollado fermentado y secado al sol.....	8
Figura 9. Mazorcas de cacao forastero.....	9
Figura 10. Corte radial en mazorca de cacao forastero.....	9
Figura 11. Mazorcas cerradas de cacao trinitario.....	9
Figura 12. Granos con mucílago de cacao trinitario.....	9
Figura 13. Cacao desgrasado (cocoa) después del prensado del licor de cacao.	10
Figura 14. Manteca de cacao.....	10
Figura 15. Nibs de cacao.....	11
Figura 16. Chocolate.	11
Figura 17. Cacao fresco en caja de fermentación.	13
Figura 18. Aireación del cacao durante la fermentación.....	13
Figura 19. Secado de cacao fermentado.....	13
Figura 20. Tostado de cacao.....	14
Figura 21. Conchado de licor de cacao.	15
Figura 22. Estructura química de los polifenoles.....	16
Figura 23. Estructura química de los flavonoides.....	16
Figura 24. Comportamiento del pH durante la fermentación de cacao tipo criollo.....	28

Figura 25. Comportamiento de la acidez durante la fermentación de cacao tipo criollo.....	29
Figura 26. Contenido Fenólico Total en extractos hidroetanólicos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	30
Figura 27. Contenido Fenólico Total en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	31
Figura 28. Contenido de Flavonoides Totales en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	33
Figura 29. Actividad antioxidante en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	35
Figura 30. Capacidad Antioxidante Equivalente de Trólox (TEAC) en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.....	36
Figura 31. Espectros de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón deshidratado por liofilización por cada tiempo de fermentación en la región 4000-2600 cm^{-1}	38
Figura 32. Espectros de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón deshidratado por liofilización por cada tiempo de fermentación en la región 1800-400 cm^{-1}	39
Figura 33. Varianza acumulada con respecto a los cinco primeros componentes a partir del ACP.....	43
Figura 34. Gráfico de puntaje del ACP aplicado a matriz de datos de FT-IR durante la fermentación.....	44
Figura 35. Gráfico de análisis discriminante por mínimos cuadros parciales durante la fermentación.....	44
Figura 36. Mapa de calor de las señales de infrarrojo durante el proceso de fermentación de cacao (0, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h).....	46
Figura 37. Espectro de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón secado por convección forzada a 60°C por cada tiempo en la región 4000-2600 cm^{-1}	47
Figura 38. Espectros de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón secado por convección forzada a 60°C por cada tiempo en la región 1800-400 cm^{-1}	48

Figura 39. Gráfico de puntaje del ACP aplicado a matriz de datos de FT-IR durante el secado de cacao por convección forzada a 60°C.	49
Figura 40. Mapa de calor de las señales de infrarrojo durante el proceso de secado de cacao (0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 480, 600, 1200 y 1440 min), por convección forzada a 60°C....	50
Figura 41. Quebrado de mazorcas.....	60
Figura 42. Cacao en cajas de fermentación.....	60
Figura 43. Toma de muestra del inicio de la fermentación.....	60
Figura 44. Preparación de la muestra para medición física.	60
Figura 45. Titulación en muestras de cacao fresco.	61
Figura 46. Muestras de medición de acidez.....	61
Figura 47. Desgrasado de cacao fresco liofilizado, por método Soxhlet.	61
Figura 48. Preparación de la muestra para medición de fenoles.....	61
Figura 49. Muestras de la medición de fenoles.....	61
Figura 50. Muestras de la medición de flavonoides.....	61

Cambios vibracionales y compuestos bioactivos en cacao durante la fermentación y el secado.

RESUMEN

Un estudio particular sobre fermentación tradicional y secado de cacao tipo criollo se llevó a cabo para caracterizar el comportamiento fisicoquímico (pH y acidez total), contenido fenólico y de flavonoides totales, así como la capacidad antioxidante por los ensayos DPPH y ABTS. El estudio presenta énfasis en el análisis vibracional por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) aplicado a polvos de cotiledón de cacao fino de aroma. Los resultados mostrados sobre pH y acidez fueron inversamente proporcional durante la fermentación con valores finales aproximados de 4.6 y 0.66 mL de NaOH/g. El contenido fenólico total (TPC) encontrado en el extracto acuoso se mantuvo con valores promedios de 7 mg EAG/100 g muestra liofilizada durante todo el proceso de fermentación. Sin embargo, el extracto hidroetanólico mostró valores de TPC de 60 mg EAG/100 g muestra liofilizada, durante el inicio de la fermentación, observándose un decremento a partir de las 48 h. El contenido de flavonoides totales (TFC) mostraron un incremento durante el proceso de fermentación a partir de las 72 h con valores en este punto 24 mg EQ/100 g de muestra liofilizada. La capacidad antioxidante evaluada por DPPH mostró un ligero incremento durante la fermentación con valores de 465 mM ET/g de muestra liofilizada, de igual manera el ensayo ABTS presentó un aumento en la capacidad antioxidante a las 72 h, exhibiendo valores de 64 mM ET/g de muestra liofilizada. El Análisis de Componentes Principales (ACP) aplicado a la matriz de datos de señales de vibración del FT-IR de fermentación mostró que los dos componentes principales describen el 88.9% de la variancia total. Tres grupos fueron definidos que consideran las 48 h, 72 h y 96-168 h por el ACP, mientras que el Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLSDA) mostró mejor discriminación. El mapa de calor y el análisis de agrupamiento definieron los cambios y la formación de grupos. Los números de onda que pueden explicar la agrupación son $1646-1638\text{ cm}^{-1}$, $1385-1250\text{ cm}^{-1}$, y 2849, 2915, 1732, 1471, 1175, 1176 y 717 cm^{-1} . Por otro lado, el ACP aplicado a la matriz de datos de señales de vibración por FT IR del secado mostró cambios en señales en dos grupos a 3285 cm^{-1} y $1800-400\text{ cm}^{-1}$ que confirman las variaciones asociadas a los compuestos fenólicos como punto de inflexión a los 300 min.

Palabras clave: Cacao, Análisis de componentes principales, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier, contenido fenólico, fermentación, secado.

ABSTRACT

A particular study on traditional fermentation and drying of Criollo-type cocoa was carried out to characterize the physicochemical behavior (pH and total acidity), total phenolic and flavonoid content, as well as the antioxidant capacity by DPPH and ABTS assays. The study presents emphasis on vibrational analysis by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) applied to fine aroma cocoa cotyledon powders. The results shown on pH and acidity were inversely proportional during fermentation with approximate final values of 4.6 and 0.66 mL of NaOH/g. The total phenolic content (TPC) found in the aqueous extract was maintained with average values of 7 mg EAG/100 g freeze-dried sample throughout the fermentation process. However, the hydroethanolic extract showed TPC values of 60 mg EAG/100 g of lyophilized sample during the beginning of fermentation, with a decrease observed after 48 h. The total flavonoid (TFC) content showed an increase during the fermentation process from 72 h with values at this point of 24 mg EQ/100 g of lyophilized sample. The antioxidant capacity evaluated by DPPH showed a slight increase during fermentation with values of 465 mM ET/g of lyophilized sample, likewise the ABTS assay presented an increase in the antioxidant capacity at 72 h, exhibiting values of 64 mM ET/g of lyophilized sample. The Principal Component Analysis (PCA) applied to the data matrix of vibration signals from the FT-IR of fermentation showed that the two principal components describe 88.9% of the total variance. Three clusters were defined considering 48 h, 72 h and 96-168 h by PCA, while Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLSDA) showed better discrimination. Heatmap and cluster analysis defined the changes and cluster formation. The wavenumbers that can explain the clustering are 1646-1638 cm^{-1} , 1385-1250 cm^{-1} , and 2849, 2915, 1732, 1471, 1175, 1176 and 717 cm^{-1} . On the other hand, PCA applied to the FT IR vibration signal data matrix of drying showed signal changes in two clusters at 3285 cm^{-1} and 1800-400 cm^{-1} confirming the variations associated with phenolic compounds as an inflection point at 300 min.

Keywords: Cocoa, Principal component analysis, Fourier transform infrared spectroscopy, phenolic content, fermentation, drying.

I. INTRODUCCIÓN

El cacao en México tiene una historia de 3000 años, con un papel primordial en aspectos ceremoniales por las culturas prehispánicas hasta nuestros días (Vela, 2012). La producción tiene beneficios ambientales y económicos, debido que al ser cultivado por pequeños productores el ingreso por su venta contribuye a la economía familiar. (Tadeo-Sánchez y Tolentino-Martínez, 2020). Hoy en día el cacao despierta interés por la cantidad de sustancias bioactivas que contiene y le confieren diversas actividades biológicas, que dependen del varietal y su composición química (Saltini et al., 2013; Mrduljas, 2017)

Los flavanoides del cacao pueden inhibir las enzimas digestivas lipasa pancreática, α -amilasa pancreática, fosfolipasa A2 y α -glucosidasa, implicadas en la digestión de hidratos de carbono y lípidos in vitro y, por lo tanto, disminuir la absorción de estos macronutrientes y la ingesta de energía en conjunto. Distintos estudios in vivo muestran que el cacao tiene propiedades similares a las de la insulina, ejerce un efecto hipoglucemiante en ratas obesas y diabéticas, disminuye la inflamación y la hipertensión arterial, las cuáles son enfermedades crónicas degenerativas (Cordero-Herrera et al., 2013).

Diversos estudios han demostrado que los compuestos bioactivos presentes en el cacao juegan un papel fundamental en la actividad antioxidante (Saltini et al., 2013), sin embargo, las técnicas convencionales utilizadas (DPPH, ABTS y FRAP) requieren un alto costo de tiempo e insumos, mientras que la espectroscopia de infrarrojo es una alternativa rápida y eficiente (Nara-Batista et al., 2016; Domínguez-Pérez et al., 2019) y es por ello, que resulta de gran interés realizar estudios puntuales de su aplicación en cacao y en diversos productos alimentarios.

El presente trabajo tiene como metas demostrar que la actividad antioxidante se mantiene a través de la fermentación y los procesos de post-fermentación aún con la disminución del contenido de fenoles y flavonoides, y que, además, el estudio de los cambios vibracionales a través de espectroscopía de infrarrojo medio durante el procesamiento de cacao fino de aroma es una herramienta de caracterización rápida y precisa. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios vibracionales por espectroscopia de infrarrojo medio por transformada de Fourier y su relación con los compuestos bioactivos (fenoles y flavonoides totales) y la capacidad antioxidante por medio de técnicas espectrofotométricas durante el procesamiento de fermentación y secado de cacao (*Theobroma cacao* L.) fino de aroma.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 El cacao.

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie perenne de la familia *Malvaceae*. La palabra *Theobroma*, proviene del idioma griego, cuyo significado es “alimento de los dioses”; mientras que la palabra cacao proviene del náhuatl “Cacahuatl” (Ramírez-Guillermo et al., 2018; Tadeo-Sánchez y Tolentino-Martínez, 2020).

El árbol del cacao de acuerdo con Avendaño-Arrazate et al. (2011) es de tamaño mediano, cuyo crecimiento está asociado a árboles de sombra y puede alcanzar hasta 20 m de altura. El árbol de cacao, emite su primera ramificación entre los 0.80 m a 1.20 m de tres a seis ramas. Si el árbol de cacao no tiene un manejo agronómico y se deja a libre crecimiento los chupones se desarrollan en el molinillo y usualmente forman un segundo piso (Figura 1).



Figura 1. Árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.) con frutos en una plantación de Tabasco.

Fuente. Foto por Pedro García Alamilla.

El fruto del cacao es comúnmente llamado mazorca en español, *pod* en inglés, *cabosse* en francés, sin embargo, es una vaina formada por una cascara relativamente gruesa que alberga entre 20 y 50 semillas, que se encuentran alineadas en 5 hileras; las semillas se encuentran en el interior sujeta a una placenta y sumergidas en pulpa blanca mucilaginosa azucarada (Ramírez-Guillermo et al., 2018; Graziani et al., 2003). Cuando las frutas se encuentran fisiológicamente listas para cosechar, se cortan y se realiza el quiebre de éstas para extraer las semillas (Figura 2). De acuerdo

con la NOM-186-SSA1/SCFI-2013, estas semillas maduras, pueden ser fermentadas o no, y secadas.



Figura 2. Cosecha y quiebre de mazorcas de cacao.

Fuente. Arqueología mexicana, (2016).

El cacao se ha convertido en un fruto importante para la economía, mismo que es el sustento de muchas familias productoras, pese a las problemáticas a las que se han enfrentado: Inseguridad, robo, plagas y cambio climático. Sin embargo, los productores cacaoteros no desisten en su sembradío, pues se considera también, una actividad de relevancia histórica. En Tabasco, desde la década de los 60's han surgido diferentes organismos y programas, como lo es la Unión Nacional de Productores de Cacao, que han incentivado a mejorar esta área de oportunidad, sin embargo, aún no son suficientes para todos los productores. No obstante, cada vez son más los esfuerzos por unir a productores, investigadores, empresarios y funcionarios en esta lucha denominada valorización del cacao mexicano (Tadeo-Sánchez y Tolentino-Martínez, 2020).

Por otra parte, la precipitación es un factor fundamental en el crecimiento de los cacaotales, pues la lluvia es el factor ecológico más influyente sobre la cantidad y distribución de estos árboles. En México, el denominado trópico húmedo, conformado por los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán, Chiapas, Oaxaca, Guerrero y Puebla; representa una precipitación de 1,500–2,500 mm. durante el año, considerada más que ideal para este cultivo (Avendaño-Arrazate et al., 2011; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2013).

2.2 Origen y producción del cacao.

El cacao se produce en los países situados en una franja entre los 10° N y los 10° S del Ecuador. Es originario de América del Sur y América Central; comprendiendo lugares como el Valle del Amazonas (Ríos Napo, Putumayo y Amazonas), dentro de los límites de Colombia, Brasil y Ecuador; así como en el sureste de México (Tabasco, Chiapas y Guerrero). Por otra parte, el cacao es el principal cultivo comercial de varios países de África Occidental, principalmente Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún; así como en Asia Oriental, principalmente en Indonesia y Malasia (Tabla 1) (Beckett, 2008; Ogata et al., 2009; Wessel & Foluke, 2015; The International Cocoa Organization, 2020).

Tabla 1. Principales países productores de cacao en el mundo, en el 2021/2022

Continente/ país	Producción en miles de toneladas	Porcentaje
África	3589	74%
Costa de marfil	2121	
Ghana	683	
Camerún	295	
Nigeria	280	
Otros	210	
América	973	20%
Ecuador	365	
Brasil	220	
Otros	388	
Asia y Oceanía	265	5.0%
Indonesia	180	
Papua Nueva Guinea	42	
Otros	43	
PRODUCCIÓN TOTAL MUNDIAL	4826	100%

Fuente. Adaptación con datos de *ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics (QBCS)*, Vol. L, No. 1, Año del cacao 2023/2024

La Figura 3 muestra la distribución geográfica por países en el mapa mundial de producción de cacao durante el periodo 2021/2022.

Producción de cacao mundial 2021/2022

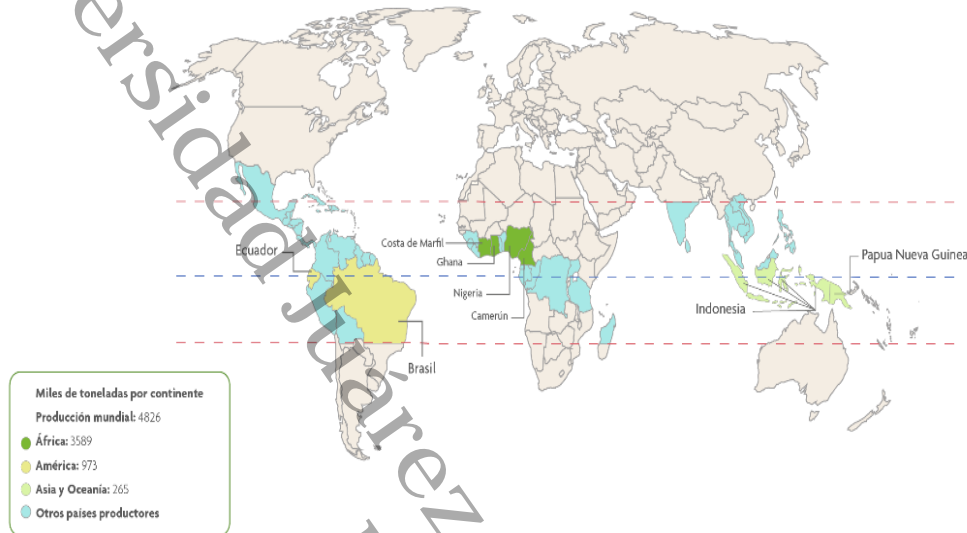


Figura 3. Producción de cacao a nivel mundial.

Fuente. Creada por Emilia Régules para este documento.

La producción en México (29,119.83 ton) recae en los estados de Chiapas (10,936.85 ton), Guerrero (288.07 ton) y Tabasco, y siendo este último, el líder productor de cacao a nivel nacional con 17,822.48 ton, de las totales producidas durante el 2023 (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2023). Sin embargo, como se observa en los datos de *The International Cocoa Organization, 2024* (ICCO) (Tabla 1), México no se considera como un país líder productor de cacao. La imagen mostrada por la Figura 4 señala en forma esquemática los estados productores de cacao en México.

Producción de cacao en México 2023

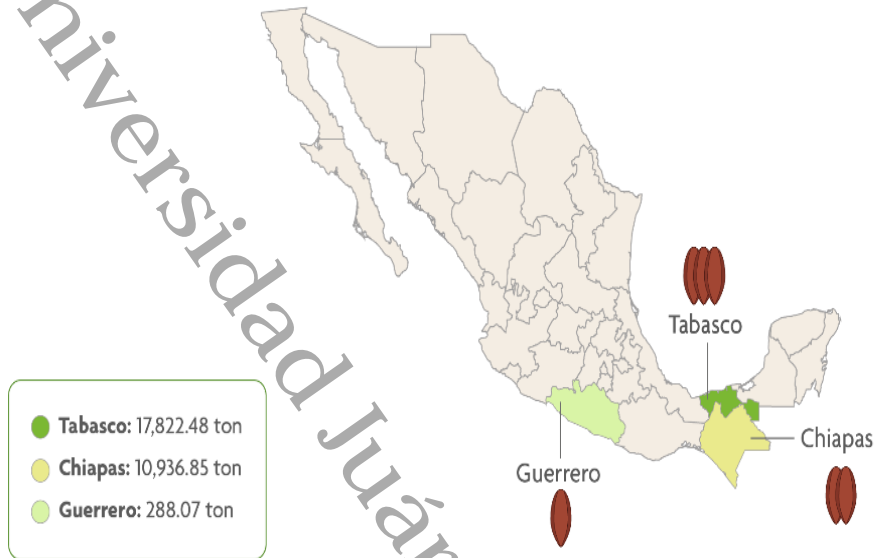


Figura 4. Producción de cacao en México.

Fuente. Creada por Emilia Régules, para este documento.

La producción en Tabasco se concentra en 13 de los 17 municipios que lo conforman, siendo Cárdenas (6,235.22 ton), Comalcalco (4,535.64 ton), Cunduacán (2,806.25 ton) y Huimanguillo (2,189.77 ton), los que mayor participación tienen (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2023). La Figura 5 muestra el mapa del estado de Tabasco con sus divisiones municipales, señalando los cuatro principales productores de cacao.

Producción de cacao en Tabasco 2023



Figura 5. Producción de cacao en Tabasco.

Fuente. Creada por Emilia Régules para este documento.

2.3 Variedades del cacao.

Las principales variedades reportadas de cacao se agrupan en tres: criollo, forasteros y trinitarios. La figura 6 muestra la distribución geográfica de estas variedades en el mundo de acuerdo con “The International Cocoa Organization, (2020)”.

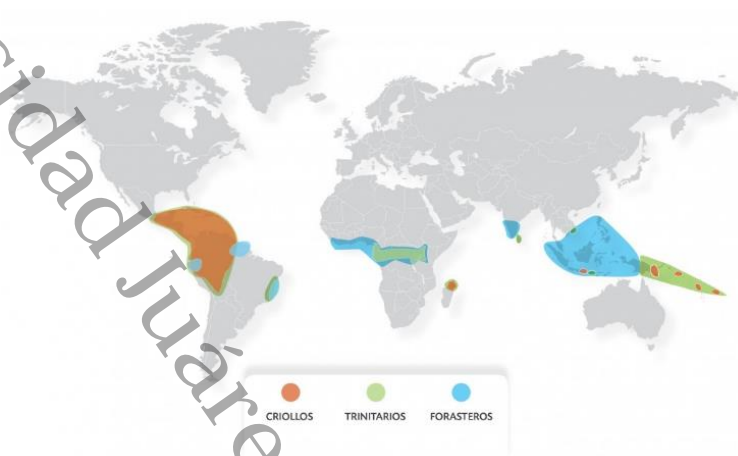


Figura 6. Distribución de la producción de cacao por variedad.

Fuente. The International Cocoa Organization, (2020).

El cacao criollo o nativo, es cultivado en Centroamérica y es reconocido por expertos de la industria chocolatera como fino de aroma, sin ser una clasificación que aparezca en norma oficial mexicana. De acuerdo al Convenio Internacional del Cacao de 2010 (<https://www.icco.org/fine-or-flavor-cocoa/>) “El cacao fino y de aroma es un cacao caracterizado por un perfil sensorial complejo, compuesto de atributos básicos bien equilibrados con notas aromáticas y de sabor; los atributos complementarios pueden percibirse e identificarse claramente en la expresión de sus aromas y sabores; resulta de la interacción entre (a) una composición genética particular, (b) condiciones de crecimiento favorables en un entorno/terroir determinado, (c) técnicas específicas de manejo de la plantación, (d) prácticas específicas de cosecha y poscosecha y (e) composición química y física estables e integridad del grano”.

Esta variedad posee granos con cotiledones blancos, que usualmente es utilizado para la fabricación de los chocolates gourmet (Cacao México, 2012; Edem-Kongor et al., 2016). La Figura 7 muestra un corte longitudinal de una mazorca de cacao, en cuyo interior se aprecia el color de las semillas previo al proceso de fermentación. La Figura 8 muestra granos de cacaos fermentados y

secos. Nótese la diferencia entre la palabra semilla y luego el uso de la palabra grano, que depende del proceso de cosecha y/o poscosecha.



Figura 7. Corte longitudinal de mazorca tipo criolla de Las Delias.



Figura 8. Cacao acriollado fermentado y secado al sol.

Fuente. Foto de Alma Delia Herrera Magaña. **Fuente.** Foto de Alma Delia Herrera Magaña.

El forastero, es originario de la alta Amazonia y cultivado en África Occidental, conocido comúnmente como cacao a granel en el ámbito comercial. Posee semillas planas, astringentes, con cotiledones púrpura (raramente marfil), vigorosos y moderadamente resistentes a plagas y enfermedades (Motamayor et al., 2008; Edem-Kongor et al., 2016). Las Figuras 9 y 10 muestran las mazorcas en el árbol de cacao y corte radial donde se aprecian semillas cortadas con apreciación del color de los cotiledones.



Figura 9. Mazorcas de cacao forastero.



Figura 10. Corte radial en mazorca de cacao forastero.

Fuente. Rincón-Robayo, (2023).

Fuente. Rincón-Robayo, (2023).

El trinitario por su parte, es un híbrido y se originó al cruzar de manera natural, un genotipo criollo con un amelonado de Brasil (forastero del bajo Amazonas). Poseen granos que van del tamaño mediano a grande, con cotiledones violetas; desarrollando aromas pronunciados a chocolate y sabores afrutados. Normalmente se usa mezclándolo con otras variedades (Cacao México, 2012; García-Rincón et al., 2021). Las figuras 11 y 12 muestran el color de las mazorcas en estado de madurez fisiológica y el arreglo de las semillas al interior.



Figura 11. Mazorcas cerradas de cacao trinitario.

Fuente. Rincón-Robayo, (2023).



Figura 12. Granos con mucílago de cacao trinitario.

Fuente. Rincón-Robayo, (2023).

2.4 Productos, usos y derivados del cacao.

Del prensado de los granos de cacao se obtienen tres productos principales: el licor, la manteca, y el polvo de cacao desgrasado (cocoa). Al combinar estos productos se obtiene la pasta de cacao, que es la base para la fabricación de las tabletas de chocolate y de los diferentes tipos de chocolate que existen hoy día (Valenzuela, 2007). Siendo el licor de cacao definido por la NOM-186-SSA1/SCFI-2013, como el “producto que se obtiene de la molienda del cacao fermentado o no, tostado, descascarillado y sin eliminar o agregar ninguno de sus constituyentes, que puede tratarse químicamente”.

En la actualidad el chocolate tiene usos en diferentes industrias como lo son la alimentaria, confitería, panadería, farmacéutica y química. En Tabasco; el cacao, tradicionalmente se consume en diferentes formas; el pozol, atole y polvillo como bebida; y el mole y chocolate casero, como alimento (Córdova-Lázaro et al., 2018). Las Figuras 13 a 16 muestran en imágenes los distintos productos obtenidos del cacao.



Figura 13. Cacao desgrasado (cocoa) después del prensado del licor de cacao.

Fuente. Soho A Estudio, (2019).



Figura 14. Manteca de cacao.

Fuente. Diana Taliun/Getty images, (2022).



Figura 15. Nibs de cacao.

Fuente. Valley of tea, (2022).



Figura 16. Chocolate.

Fuente. Central Foods, (2021).

2.5 Procesos en la transformación del cacao.

Los procesos de poscosecha y transformación que involucran cambios físicos, químicos y biológicos son principalmente cuatro: Fermentación, secado, tostado y conchado. Estos procesos involucran mecanismos de transferencia de masa y energía.

2.5.1 Fermentación.

La fermentación de las semillas del cacao es un proceso por el cual se llevan a cabo cambios físicos y químicos en sistemas de cajas de madera (cestos y/o amontonamiento, Figura 17) en un tiempo promedio de 5-7 días. Es un proceso endógeno causado por la acción de las levaduras y microorganismos presentes en la microbiota del cacao, provocando variaciones de pH y acidez que dan lugar a la oxidación de los polifenoles; el objetivo es modificar el sabor astringente de los granos crudos y lograr el desarrollo y concentración de precursores de aroma (Edem-Kongor et al., 2016).

La fermentación microbiológica se lleva a cabo en el mucílago en distintas fases biológicas no estrictas. En condiciones anaeróbicas (la pulpa de los granos no permite la entrada de aire, esta condición se mantiene durante las primeras 48 h), levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii* y *Hanseniaspora spp* metabolizan los compuestos presentes en el mucílago (principalmente carbohidratos) y despolimerizan la pectina provocando el escurrimiento de éste. Es con este proceso, que se lleva a cabo la primera fermentación, denominada alcohólica (López-

Navarrete et al., 2018 y Rojas-Rojas et al., 2021). También se produce la fermentación láctica donde las bacterias lácticas responsables son principalmente *Limosilactobacillus fermentum* y *Lactiplantibacillus plantarum* con ayuda de algunas enzimas convierten el ácido cítrico y la glucosa de la pulpa, en ácido láctico. En este punto se comienza a apreciar el cambio físico, en donde los granos por penetración del agua, alcohol y ácidos, presentan un aumento de grosor o hinchazón (Velásquez-Reyes et al., 2022 y Domínguez-Pérez et al., 2019). Al finalizar esta etapa, gracias a que los granos de cacao ya no poseen el mucílago, permiten la entrada del aire entre ellos, y el proceso se convierte en aeróbico, lo cual es necesario para continuar con las reacciones bioquímicas dentro del grano; por lo tanto, es importante realizar un mezclado de los granos de cacao diariamente para liberar el CO₂ producido en las fermentaciones anteriores, así como regular la acidez y promover que el ascenso de temperatura sea lento, evitando la sobreacidificación y aglomeración de los granos (Ortiz de Bertorelli et al., 2009). Como consecuencia de la penetración de los líquidos y movimientos citoplasmáticos de las células, hay un aumento de temperatura de hasta 50°C donde se produce la fermentación acética iniciada principalmente por *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacteraceae* y *Acetobacter pasteurianus* donde metabolizan el alcohol en ácido acético, que conlleva a la muerte del embrión permitiendo que en el interior de los granos ocurra la oxidación, dando lugar al nuevo aspecto del grano que presenta grietas internas y apariencia de arriñonamiento (Figura 18) (El Salous et al., 2019; Afoakwa et al., 2008). Simultáneamente, en esta etapa existe un descenso del contenido de la (-) epicatequina y la (+) catequina, proceso conocido como oxidación de complejos proteína-polifenol, desencadenando en el cotiledón el cambio de color violáceo a marrón (Rojas-Rojas et al., 2021 y Afoakwa et al., 2008).



Figura 17. Cacao fresco en caja de fermentación.

Fuente. Nogales, (2021).



Figura 18. Aireación del cacao durante la fermentación.

Fuente. Fundación de nuestra tierra, (2012).

2.5.2 Secado.

El secado de cacao es la etapa que continúa del proceso fermentación, el cual tiene el objetivo de disminuir la humedad de los granos a un contenido menor a 7.5% (P/P) (Saltini et al., 2013) y no debe ser inferior al 6%, puesto que se convierten en granos quebradizos, difíciles de manipular (Beckett, 2008). Durante esta operación se reduce la astringencia, el amargor y la acidez; y se incrementa la tonalidad marrón característica del chocolate (Saltini et al., 2013).

Los granos pueden secarse al sol (Figura 19) o de manera artificial. Siendo el primer tipo, el más utilizado. De esta manera, los granos se extienden en capas de aproximadamente 100 mm de grosor en bandejas o terrazas, rastrillándose por intervalos, y protegiéndolos de la lluvia y durante la noche; de manera manual, o utilizando bandejas móviles (Beckett, 2008).



Figura 19. Secado de cacao fermentado.

Fuente. Foto de Pedro García Alamilla

2.5.3 Tostado.

El tostado es una operación unitaria que lleva a cabo procesos de transferencia de masa y energía, involucrando reacciones químicas, tales como degradación de proteínas, caramelización de azúcares, reacciones de Maillard, formación de compuestos volátiles (pirazinas y aldehídos, principalmente) y síntesis de compuestos azufrados (Domínguez-Pérez et al., 2024; Saltini et al., 2013), siendo estas reacciones, uno de los factores responsables de otorgar cambios en el sabor, color y aroma del producto final (Saltini et al., 2013).

La convección (circulación por aire caliente), es el mecanismo de transferencia de calor más utilizado, sometiendo los granos a temperaturas de entre 150 °C - 250 °C por tiempos de 30 min a 120 min (Domínguez-Pérez et al., 2019). El tostado artesanal se lleva a cabo principalmente con fuego directo mediante el mecanismo de conducción (Figura 20) en recipiente extendido con poca profundidad de la cama de cacao y removiéndose continuamente.



Figura 20. Tostado de cacao.

Fuente. Chocolates Pérez, (2023).

2.5.4 Conchado.

El conchado es la operación donde se realiza la mezcla de los nibs de cacao, a temperaturas superiores de 50°C. El objetivo de este proceso es homogenizar los ingredientes (si se añaden azúcar o leche), recubrir de grasa las partículas finas, evaporar compuestos volátiles no deseados (ácido acético) y agua; alcanzando la viscosidad, textura y sabor deseados; todo esto, con el fin de que se derrita en el paladar. De esta manera, las partículas más grandes en el producto final deberán ser inferiores a 30 micras. Se describe como un proceso costoso debido a la larga duración

del mismo, durante el cual se mantiene la temperatura (Beckett, 2008; Bordiga et al., 2015; Urbańska et al., 2021).

Los parámetros tiempo y temperatura son determinados de acuerdo al tipo de variedad de granos de cacao utilizados, de la composición de su materia prima, de la cantidad del material, de la configuración de la conchadora y del tipo de chocolate que se espera. Asimismo, la temperatura y la agitación definidas durante el conchado, permiten llevar a cabo en mayor o menor intensidad, las reacciones de Maillard y la degradación de Strecker (Urbańska et al., 2021). La Figura 21 muestra el conchado de licor de cacao en una conchadora cocoatown cuyo mecanismo consiste en dos rodillos de piedras que rotan de forma radial y provocan cizalla reduciendo la granulometría de las partículas.



Figura 21. Conchado de licor de cacao.

Fuente. Ambrosía de Dioses, (2018).

2.6 Compuestos bioactivos.

Los polifenoles son aquellos metabolitos presentes en las plantas que desempeñan el papel de protectores ante la invasión de factores presentes en el entorno que las rodean; existen una amplia variedad dependiendo de lo compleja o simple que sea su estructura. Se clasifican en cuatro grupos principales de acuerdo con Castro-Acosta, (2019): Flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos (Figura 22). A su vez, los polifenoles constan de varios subgrupos los cuales presentan diferentes estructuras, siendo esta, la razón por la cual cada una de ellas tiene actividad antioxidante y biológicas diferentes (Quiñones, 2012; Mrduljaš et al., 2017).

El grupo más abundante de los polifenoles en alimentos son los flavonoides, se caracterizan por poseer un heterociclo oxigenado que consta de dos anillos aromáticos ligados a tres carbonos por medio de un puente. Se subdividen en: Antocianinas, flavanoles, flavanonas, flavonas, flavonoles e isoflavonas (Figura 23) (Mrduljaš et al., 2017; Castro-Acosta, 2019).

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles, responsables de los tonos rosas, rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas y hortalizas. Químicamente hablando, son glucósidos de antocianidinas; esto se traduce en formar un enlace β -glucosídico con una fracción de azúcar y una molécula de aglicona (cuya estructura central es el ión flavilio, también llamado 2-fenilbenzopirilio) (Guerrero-Legarreta et al., 2006; Aguilera-Ortíz et al., 2011; Castro-Acosta, 2019).

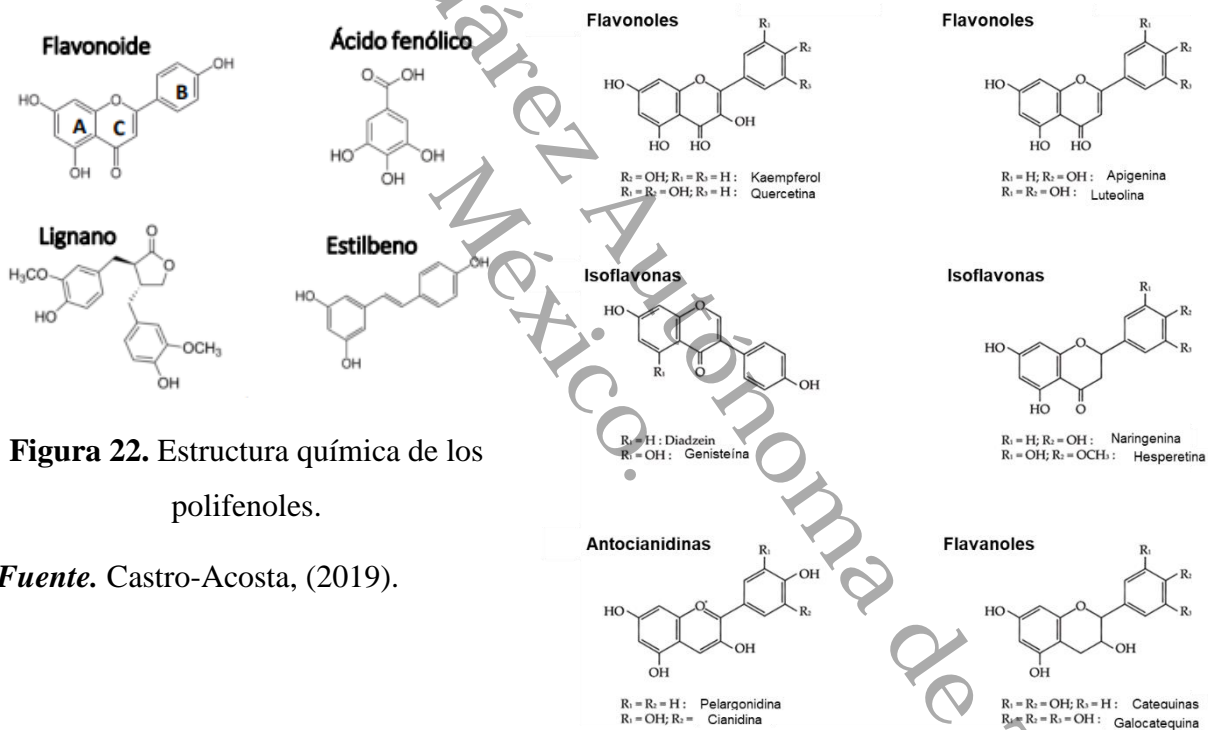


Figura 22. Estructura química de los polifenoles.

Fuente. Castro-Acosta, (2019).

Figura 23. Estructura química de los flavonoides.

Fuente. Mrduljaš et al. (2017).

2.7 Actividad biológica de los compuestos bioactivos.

En la actualidad se ha reportado que en los alimentos de origen vegetal se encuentran extensos grupos de sustancias no energéticas que son compuestos fenólicos y estos benefician a la

salud, los cuales están directamente relacionados con la ingesta diaria y la biodisponibilidad en los alimentos. Hoy en día, se considera al cacao un alimento funcional frente a la prevención y tratamiento de distintos problemas de salud (Quiñones, 2012; Mrduljaš et al., 2017).

Los efectos benéficos de los polifenoles sobre distintas enfermedades se han atribuido a su actividad antioxidante, participando en distintas reacciones metabólicas de óxido-reducción. De esta manera, actúan en distintos procesos celulares e interfieren con los mecanismos de señalización, al tener la capacidad de modular la actividad de diversas enzimas (Quiñones, 2012; Mrduljaš et al., 2017). Los polifenoles han mostrado diversos efectos biológicos: Antiinflamatorios, antialérgicos antimicrobianos, inmunomoduladores, antimutagénicos, antitumorales, anticancerígenos, vasodilatadores y vasoprotectores (mejoran el flujo sanguíneo y protegen los vasos sanguíneos, respectivamente), antitrombóticos (previenen formación de coágulos), antihiperlipidémicos (mejoran el perfil lipídico) y antiapoptóticos (evitan la muerte cerebral) (Othman et al., 2007; Quiñones, 2012).

En el caso del cacao, sus flavonoides son responsables de mejorar favorablemente el perfil lipoproteico, atenuando la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad e incrementando la concentración de colesterol de lipoproteínas de alta densidad en el plasma (Quiñones, 2012; Bordiga, 2015). Por su parte, los flavanoles ejercen una actividad anticoagulante y antiinflamatoria (Beckett, 2008). Asimismo, se ha demostrado que un consumo elevado de los flavanoles (catequina y epicatequina) muestran una asociación inversa en el riesgo de padecer diabetes tipo 2 (Castro-Acosta, 2019).

Los efectos vasodilatadores se atribuyen al resveratrol y la quercetina; a su vez, el resveratrol también previene la inflamación al inhibir la biosíntesis de prostaglandinas, así como induce a la apoptosis en células endoteliales de vena umbilical humana, teniendo un efecto moderador en dicho proceso (Quiñones, 2012). Las procianidinas actúan como antitumorales, reprimiendo el marcador pro-inflamatorio conocido como necrosis tumoral alfa (TNF α por sus siglas en inglés), en las células endoteliales vasculares (Quiñones, 2012). En conjunto, estos efectos limitan principalmente la progresión de la enfermedad cardiovascular, así como el riesgo de padecerla. Al igual que con la diabetes tipo 2, estimulando la secreción de insulina y la protección de los linfocitos B pancreáticos frente a la toxicidad de la glucosa. Siempre y cuando se complemente con una alimentación saludable y un nivel de actividad física adecuado.

Adicionalmente, actúan previniendo los padecimientos neurodegenerativos como el Alzheimer y el Parkinson (Bordiga, 2015; Mrduljaš et al., 2017; Castro-Acosta, 2019).

2.8 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR).

Se trata de una técnica física no destructiva de alta precisión, basada en la vibración de los grupos funcionales presentes en la muestra, al ser expuestos a la radiación infrarroja. Demostrando ser una herramienta útil para el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras de alimentos complejas, localizando y representando simultáneamente de manera gráfica su composición química (agua, carbohidratos, lípidos y proteínas), así como sus grupos funcionales (alcoholes, aminas, cetonas, amidas, ésteres y polifenoles) y compuestos aromáticos (piridinas, pirazinas, pirroles, furanos y tiofenos); evitando etapas previas de separación, y requiriendo una preparación mínima o nula (Veselá et al., 2006; Nara-Batista et al., 2016; Domínguez-Pérez et al., 2019).

En la industria del cacao, esta técnica se ha utilizado tanto para determinar posibles adulteraciones de la manteca y el chocolate, como para su calidad bioquímica, utilizando una celda automatizada de flujo calentada; asimismo, se ha aplicado en determinaciones analíticas, como lo son la capacidad antioxidante total (TAC), contenido polifenólico total (TPC), y concentraciones de metilxantinas (teobromina y cafeína). Cuya ventaja en dichas determinaciones frente a los métodos instrumentales convencionales (DPPH, ABTS, FRAP, entre otros) radica en tener mayor versatilidad, eficacia y rapidez en el análisis (Veselá et al., 2006; Nara-Batista et al., 2016).

III. JUSTIFICACIÓN

La transformación de cacao a licor es un proceso complejo; imposible de estandarizar un proceso sin tomar en cuenta las características implicadas en el mismo. En este caso, se consideran la diferencia entre variedades y condiciones de operación (tiempo y temperatura), a las que son sometidos los granos de cacao durante el proceso fermentativo y post-fermentativo (secado, tostado y conchado).

La naturaleza compleja en composición y multifásica de los procesos de fermentación y secado, involucra diversas actividades biológicas y enzimáticas, las cuáles han sido estudiadas mediante diferentes enfoques. Los estudios han involucrado aspectos microbianos mediante la caracterización de las cepas nativas y la formación de metabolitos, mientras que estudios sobre actividad enzimática se han enfocado al rol de proteasas, glucosidasas y oxidasas. Por otro lado, también hay enfoques matemáticos modelando los mecanismos de transferencia de masa y energía del proceso de secado. Lo anterior, involucra una fuerte capacidad analítica, tiempo y recursos materiales.

Como parte de la solución al consumo de recursos, la técnica de FT-IR sirve para dar seguimiento a una diversidad de procesos y se ha convertido en una técnica rápida y económica frente a otras. Por otro lado, evaluar la actividad antioxidante es un tema prioritario en materia de investigación y en productos de alto consumo como lo es el cacao, cuya actividad depende de compuestos fenólicos y flavonoides totales, de igual forma el pH y acidez total son variables globales que reflejan la actividad microbiana y fisicoquímica durante el procesamiento del grano.

La información disponible sobre cacao fino de aroma y el efecto de los procesos de transformación del mismo, no resulta suficiente y no existen publicaciones especializadas de cacao mexicano fino de aroma, utilizando espectroscopía de infrarrojo. Es por ello, que el presente trabajo evaluó los cambios vibracionales por espectroscopía de infrarrojo medio y su relación con los compuestos bioactivos y su actividad antioxidante durante el proceso de fermentación y secado de cacao (*Theobroma cacao* L.).

IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo afecta el proceso de fermentación del cacao al contenido de compuestos fenólicos, flavonoides totales, así como su capacidad antioxidante?

¿Pueden ser caracterizados los procesos de fermentación y secado del cacao a través de los cambios de los grupos funcionales por FT-IR?

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

V. HIPÓTESIS

La capacidad antioxidante no se ve afectada por la disminución o aumento de los compuestos fenólicos y flavonoides del cacao ocurridos durante la fermentación.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar los cambios vibracionales por espectroscopia de infrarrojo medio y su relación con los compuestos bioactivos presentes durante el proceso de fermentación y secado de cacao.

Objetivos particulares

- Determinar pH y acidez durante el proceso de fermentación de cacao.
- Evaluar el contenido de fenoles totales y flavonoides durante la fermentación de cacao.
- Determinar la capacidad antioxidante por medio de las técnicas DPPH y ABTS de extractos acuosos de cacao, durante la fermentación.
- Determinar el espectro de infrarrojo medio por transformada de Fourier (FT-IR) de polvo de cacao durante el proceso de fermentación y secado.
- Aplicar un Análisis de Componentes Principales (ACP) a la matriz espectral de infrarrojo medio.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Área de estudio y muestreo.

Las mazorcas de cacao variedad criollo fino de aroma se recolectaron en la finca “Las Delias”, en el municipio de Comalcalco, Tabasco. Las mazorcas se quebraron para obtener los granos con mucílago, posteriormente se colocaron los granos frescos en tres cajas de fermentación de 200 kg aproximadamente cada una, los cuáles fueron fermentados durante 7 días de acuerdo a los criterios del productor. Se recolectó una muestra en cada caja de aproximadamente 500 g en los siguientes tiempos 0 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h, 144 h y 168 h, las cuales se guardaron en congelación a -15°C. El procesamiento y el estudio posterior de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Procesos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en el Km. 25. Carretera Villahermosa-Teapa.

7.2 Procesamiento de la muestra.

Para el análisis de las pruebas fisicoquímicas (pH y acidez total) se molieron las muestras (cotiledón sin cascarilla) congeladas de cada tiempo de fermentación señaladas en el muestreo y por caja de fermentación. Para la determinación de compuestos bioactivos se tomaron 20 g de los granos de las cajas en cada tiempo de muestreo y se realizó el secado por el método de liofilización en una liofilizadora (Freezemobile virTis sentry 2.0 25ES, Estados Unidos); posteriormente, se molieron en un molino (Hamilton Beach, modelo 80350R) y se tamizaron en malla # 40 (425 μ m). Seguidamente, se llevó a cabo un desgrasado por el método de Soxhlet utilizando como solvente éter de petróleo (para obtener la cocoa) de acuerdo con la NMX-F-615-NORMEX-2004 (Diario Oficial de la Federación [DOF], 2004) (Domínguez-Pérez et al., 2019).

Una vez terminado el proceso de fermentación, se procedió al proceso de secado de todas las muestras fermentadas de las cajas. El proceso de secado se llevó a cabo de manera artificial en un horno en capa fina a 60°C (Felisa, FE-292ADU, Mexico). Durante el proceso de secado se llevó a cabo un muestreo de 20 g de muestras de manera intermitente a los 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 480, 600, 1200 y 1440 min, y se les realizó un secado total por el método de liofilización (Freezemobile virTis sentry 2.0 25ES, Estados Unidos). Posteriormente, se molieron en un molino (Hamilton Beach, modelo 80350R) (para obtener el polvo de cacao) y se tamizaron en malla # 40 (420 μ m). para realizar la caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR).

7.3 Determinación de pH durante el proceso de fermentación.

Se tomó 5 g de polvo de cacao molido durante el proceso de fermentación en los tiempos de muestreo (0-168 h del proceso de fermentación), el cual fue disuelto en 50 mL con agua destilada en ebullición y se agitó durante 15 min. Posteriormente, se midió a través del electrodo del potenciómetro (Hanna Instruments, P211, Rumania) mediante la técnica descrita por Senanayake et al. (1997). Las mediciones se expresaron directamente de la lectura del potenciómetro previamente calibrado con las soluciones buffer de 4.0 y 7.0.

7.4 Determinación de acidez total durante el proceso de fermentación.

La acidez total se determinó de acuerdo con la metodología descrita por Pontillon, (1998); donde se tomaron 2.5 g de polvo de cacao y llevado a aforación en 25 mL con agua destilada y se agitaron durante una hora, en un agitador orbital (Thermo Scientific 2346, China). Seguidamente, una titulación potenciométrica fue llevada a cabo con NaOH al 0.1 N hasta alcanzar un valor de pH de 8.3. Los resultados se expresaron en mL de hidróxido de sodio gastados para neutralizar la acidez libre contenida en un gramo de cacao (mL de NaOH 0.1 N/ g de cotiledón “o” mL de NaOH 0.1 N / g de grano de cacao).

7.5 Determinación del contenido fenólico total (TPC) en extracto acuoso e hidroetanólico durante el proceso de fermentación.

El contenido fenólico total fue determinado de acuerdo con el método realizado por Othman et al. (2007) para extracto acuoso e hidroetanólico. Para la preparación de los extractos, se tomaron 200 mg de cocoa, disolviéndose en 2 mL de agua destilada y una solución hidroetanólica (70:30) respectivamente, agitándose posteriormente en un agitador orbital (Thermo scientific 2346, China) durante 2 h a 200 rpm. Los extractos fueron llevados a 10,000 rpm durante 15 min en una centrífuga (HERMLE, Labor technik Gm bH, Z326 K, Alemania). Posteriormente, se tomaron 200 μ L del sobrenadante, el cual fue mezclado con 1.5 mL de Folin-Ciocalteu y cinco minutos después, se adicionó 1.5 mL de NaHCO₃ a 0.55 M. Se mantuvo en oscuridad durante 90 min. Al finalizar, la absorbancia fue leída a 725 nm, en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, UV-Vis Genesys 10S, China). Se preparó una curva de calibración con ácido gálico, a partir de una solución de trabajo de 1 mg/mL, con concentraciones de 0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 y 0.2 mg/mL. El contenido de fenoles totales fue expresado como mg equivalentes a ácido gálico/100 g de muestra liofilizada (mg EAG/100 g de muestra liofilizada).

7.6 Determinación del contenido de flavonoides totales (TFC) en extractos acuosos durante el proceso de fermentación.

El contenido de flavonoides fue evaluado por el método utilizado por Zhishen et al. (1999) con ligeras modificaciones. Los extractos fueron preparados a partir de 0.1 g de cocoa, y se extrajeron con 10 mL de agua desionizada a temperatura ambiente, durante 1 h en agitación orbital (Thermo scientific 2346, China) a 200 rpm. En un tubo cónico de centrifuga, se tomó 0.20 mL del extracto y se mezcló con 0.80 mL de agua desionizada y 0.15 mL de solución de NaNO_2 al 5%. Después de 5 min, se adicionó 0.15 mL de solución de AlCl_3 al 10 %. A los 6 min, 2.0 mL de NaOH al 4% se adicionó a la mezcla. Seguidamente, la solución fue completada hasta 5 mL con agua desionizada. La absorbancia de la solución final se leyó a 410 nm, en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, UV-Vis Genesys 10S, China). Se preparó una curva de calibración con quercetina, a partir de una solución madre de 100 $\mu\text{g/mL}$. Seguidamente, se tomó una alícuota de (2, 4, 6, 8 y 10 mL), para aforar a 10 mL, para la preparación de las soluciones de trabajo (concentraciones de 20 a 100 mg/mL , respectivamente), utilizadas para la realización de la curva. El contenido de flavonoides de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina /100 g de muestra liofilizada (mg EQ/100 g de muestra liofilizada).

7.7 Ensayo de actividad antioxidante por el radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH).

La capacidad de captación de radicales libres de los extractos se determinó mediante la metodología propuesta por Shimada et al. (1992), la cual consiste en emplear el radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). Se agregaron en tubos de ensayo, alícuotas de 150 μL de los extractos evaluados y se adicionó 1,350 μL de DPPH (0.1 mM en etanol). La mezcla se agitó en un vortex por 20 s y se mantuvieron en oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. Concluida la reacción, se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, EUA) a una longitud de onda de 517 nm, siendo utilizada agua desionizada como control negativo en lugar de la muestra; y como blanco, etanol al 95%. Todos los análisis de los extractos se realizaron por triplicado. La capacidad antioxidante fue expresada como equivalente de Trolox/100 g de muestra liofilizada (mM ET/g de muestra liofilizada).

7.8 Ensayo de la actividad antioxidante por el radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS).

El ensayo ABTS Se determinó de acuerdo con el método descrito por Pukalskas et al. (2002). Una solución madre de radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), fue preparada disolviendo 54.8 mg de ABTS (2 mM) en 50 mL de buffer salino de fosfatos (PBS 0.01 M, pH 7.4). El radical catión ABTS^{•+} se originó mediante la reacción de 10 mL de la solución stock de ABTS, con 40 µL de K₂S₄O₈ a 70 mM (preparado previamente entre 16 -17 h antes de su uso).

Para estudiar los compuestos antioxidantes, se diluyeron 7 mL del radical ABTS^{•+} en 52 mL de buffer PBS hasta alcanzar una absorbancia de 0.8 ± 0.030 medida a una longitud de onda de 734 nm. Fueron agregados en tubos de ensayo 10 µL de los extractos evaluados y 990 µL de radical ABTS diluido, la mezcla se agitó en un vortex por 20 s y mantuvieron en oscuridad durante 6 min a temperatura ambiente.

Finalizada la reacción, se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, EUA) a una longitud de onda de 734 nm, siendo utilizado como blanco, PBS. Todos los análisis de los extractos se llevaron a cabo por triplicado. . La capacidad antioxidante fue expresada como Capacidad antioxidante Equivalente de Trólox (TEAC) (mM ET/100 g de muestra liofilizada).

7.9 Caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR).

Los espectros se obtuvieron de la lectura de aproximadamente 1 g de polvo de cacao seco liofilizado, siguiendo la metodología de Domínguez-Pérez et al. (2019), con leves modificaciones. En la caracterización por FT-IR se utilizó un espectrofotómetro (Perkin Elmer, Spectrum One, Reino Unido), empleando un accesorio universal de Reflectancia Total Atenuada (ATR por sus siglas en inglés) de diamante (Perkin Elmer, L1050231, EUA) controlado por software para Windows©. Se analizaron las muestras en la región de 4000 cm⁻¹-400 cm⁻¹, con 32 scans por espectro y resolución de 8 cm⁻¹. Los datos de los espectros fueron exportados en formato ASCII y se analizaron utilizando Originpro 8.0.

7.10 Análisis de datos y estadístico.

Para evaluar la cinética de las variables de respuesta: pH, acidez total, TPC, TFC y actividad antioxidante por DPPH y ABTS se utilizó estadística descriptiva.

Los datos de los espectros obtenidos de las muestras de polvo de cacao seco liofilizado fueron interpretados en el software Spectrum de espectrofotómetro FT- IR Perkin-Elmer aplicando un tratamiento de los datos como corrección de línea base, suavización y normalización. Estos datos fueron exportados como archivo .csv a Originpro 8.0 y se realizaron los gráficos con la inserción de los números de onda a las señales representativas. Los datos de señales de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier permitieron establecer una matriz de datos $m \times n$, formado por los tiempos en las filas (m) y por las señales en las columnas (n), a la cual se le aplicó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con desviaciones normalizadas de los datos utilizando para ello Metaboanalyst 5.0.

VIII. RESULTADOS y DISCUSIÓN

8.1 Determinación pH y acidez durante el proceso de fermentación.

La Figura 24, muestra el comportamiento del pH durante el proceso de fermentación, que inició con un pH de 5.7 aproximadamente y en las primeras 48 h de fermentación mostraron poca evidencia de cambios en el valor del pH. Entre el tiempo inicial y las 48 h corresponde a una fase biológica no estricta de anaerobiosis donde actúan las levaduras para formar alcoholes. Posterior a las 48 h el pH fue disminuyendo con el tiempo de fermentación a causa de la etapa siguiente que es la aerobia por acción principal de las bacterias acéticas cuyo principal metabolito formado es el ácido acético que provoca que el cotiledón se acidifique; por lo cual, se alcanzaron valores de pH de 4.6 aproximadamente a las 168 h. El comportamiento de la disminución de los valores de pH entre las cajas de fermentación del estudio fue similar, lo que indicó que el proceso fue homogéneo.

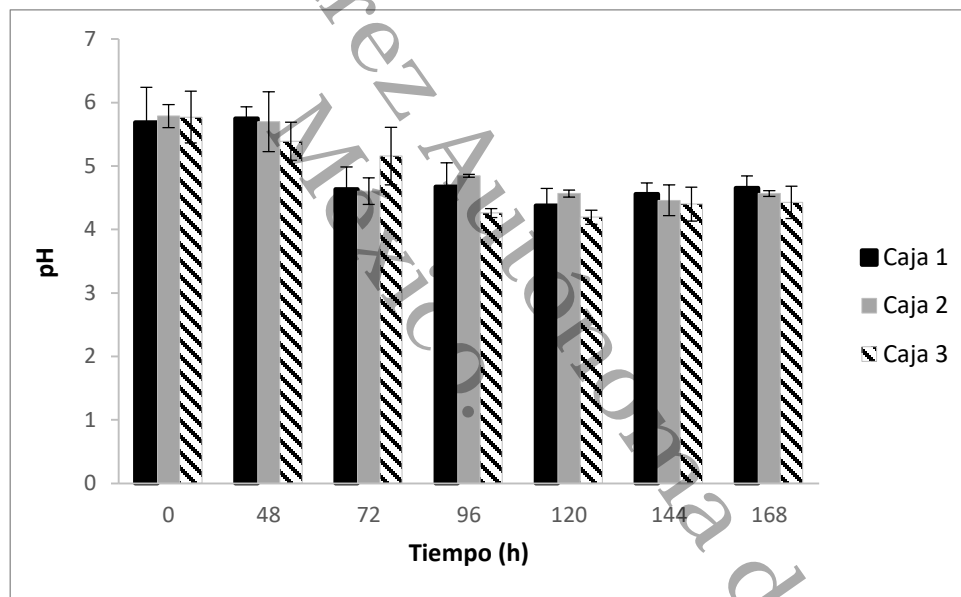


Figura 24. Comportamiento del pH durante la fermentación de cacao tipo criollo.

En la Figura 25, se observó que, al iniciar el proceso de fermentación del cacao criollo, la acidez comenzó con valores cercanos a 0.18 mL de NaOH/g, aumentando conforme transcurrió el tiempo de fermentación teniendo cambios significativos después de las 72 h de fermentación, este fenómeno se debe a lo previamente comentado sobre la producción de ácido acético principalmente. La acidez total a las 72 h presentó la mayor diferencia entre los valores obtenidos

de las cajas evaluadas; sin embargo a las 168 h se observa un descenso similar en los valores de acidez total entre las tres cajas de fermentación concluyendo con valores aproximados a 0.66 mL de NaOH/g, lo que nos indicó que el proceso fue homogéneo a nivel de la medición de esta variable.

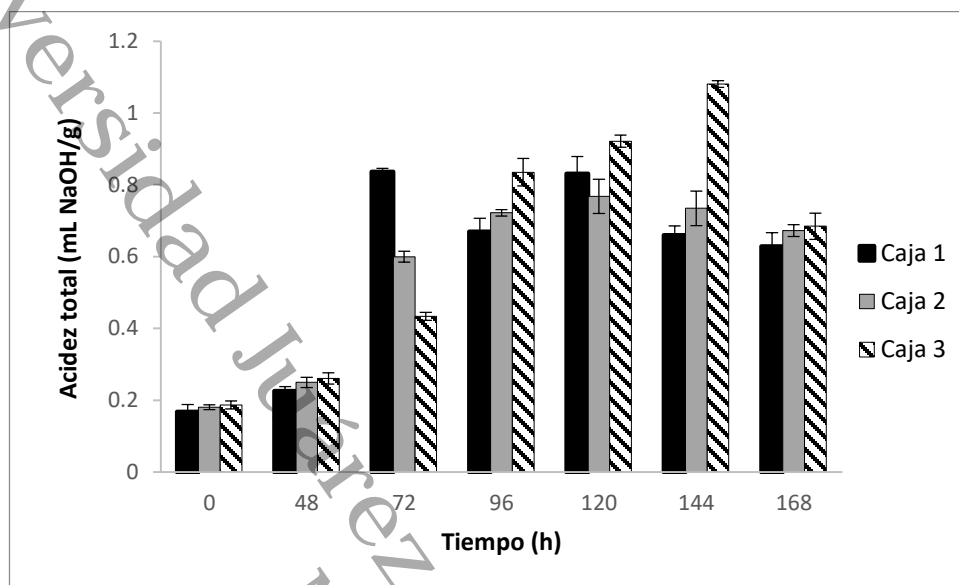


Figura 25. Comportamiento de la acidez durante la fermentación de cacao tipo criollo.

Es importante mencionar que el comportamiento en el descenso del pH (Figura 24) es inversamente proporcional al aumento de la acidez total (Figura 25), estos cambios fisicoquímicos desencadenan una serie de reacciones enzimáticas que juegan un rol clave en la formación de los precursores de aroma. La característica global de cacao fermentado es la acidificación del cotiledón como ha mencionado Senanayake et al. (1997) provocado por la disminución del pH y aumento de la acidez.

8.2 Evaluación del contenido fenólico total (TPC) en extracto acuoso e hidroetanólico de cocoa durante el proceso de fermentación.

Uno de los aspectos actualmente más estudiados es el comportamiento de los compuestos fenólicos y flavonoides totales debido a la función biológica que tienen como compuestos antioxidantes. Es por ello, que durante el presente estudio se evaluó el TPC en medio acuoso e hidroetanólico por la solubilidad que presentan estos compuestos durante el proceso de fermentación (0, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h).

Los polifenoles son compuestos bioactivos con un gran potencial antioxidante, se encuentran en el grano de cacao crudo con una concentración de 12 -18 %, aproximadamente

(Mihai et al., 2022). De esa concentración se pueden distinguir tres grupos polifenólicos principales: catequinas, antocianinas y procianidinas, cuya característica común es una estructura de tipo flavonoide. Estos flavonoides han mostrado funciones biológicas, incluyendo el aumento de la síntesis de óxido nítrico, la inhibición de enzimas metabólicas y deteniendo la producción de citocinas proinflamatorias; así como la disminución del riesgo de enfermedades crónicas, cardiovasculares y cáncer (Carrillo et al., 2014; Delgado et al., 2018).

En la Figura 26, se observa el comportamiento en el contenido de los polifenoles totales en la cocoa durante el proceso de fermentación. A la hora cero (sin fermentar), se obtuvieron valores en promedio de las tres cajas cercanos a 60 mg EAG/100 g de muestra liofilizada, observándose un decremento importante en la concentración de las cajas a partir de las 72 h. Sin embargo, finalmente se mantuvo el valor promedio aproximado de 20 mg EAG/100 g de muestra liofilizada en las 168 h (finalización de la fermentación). Los resultados mostrados, indicaron cambios importantes en el contenido fenólico total en medio hidroetanólico durante el proceso de fermentación.

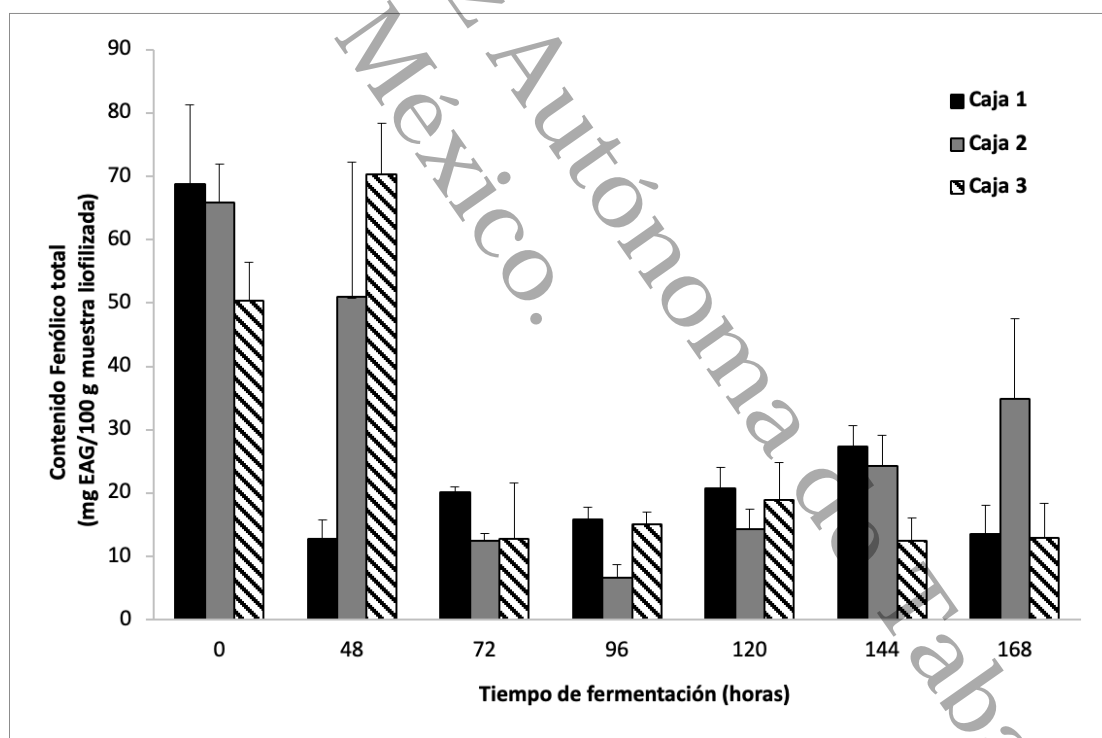


Figura 26. Contenido Fenólico Total en extractos hidroetanólicos de cocoa durante el proceso de fermentación.

La evaluación del TPC en extractos acuosos de las muestras de cocoa, durante el proceso de fermentación se puede observar en la Figura 27. Los valores iniciales (tiempo cero) fueron en promedio de las tres cajas aproximadamente de 7 mg EAG/100 g de muestra liofilizada, los cuales se mantuvieron durante todo el proceso de fermentación hasta las 168 h.

Lo anterior indica que los compuestos fenólicos extraídos en el presente estudio son solubles en medio acuoso, demostrándose su permanencia en concentración desde el inicio al final del proceso fermentativo, lo que indicaría que en el presente experimento la fermentación no afectó el contenido de compuestos fenólicos disponibles. A diferencia de la evaluación en medio hidroetanólico, que se observa un decremento en la disminución conforme pasaron las horas de fermentación. Diversos estudios han reportado que existe una disminución en el contenido fenólico en otras variedades durante el proceso de fermentación (Delgado et al., 2018; Goya et al., 2022).

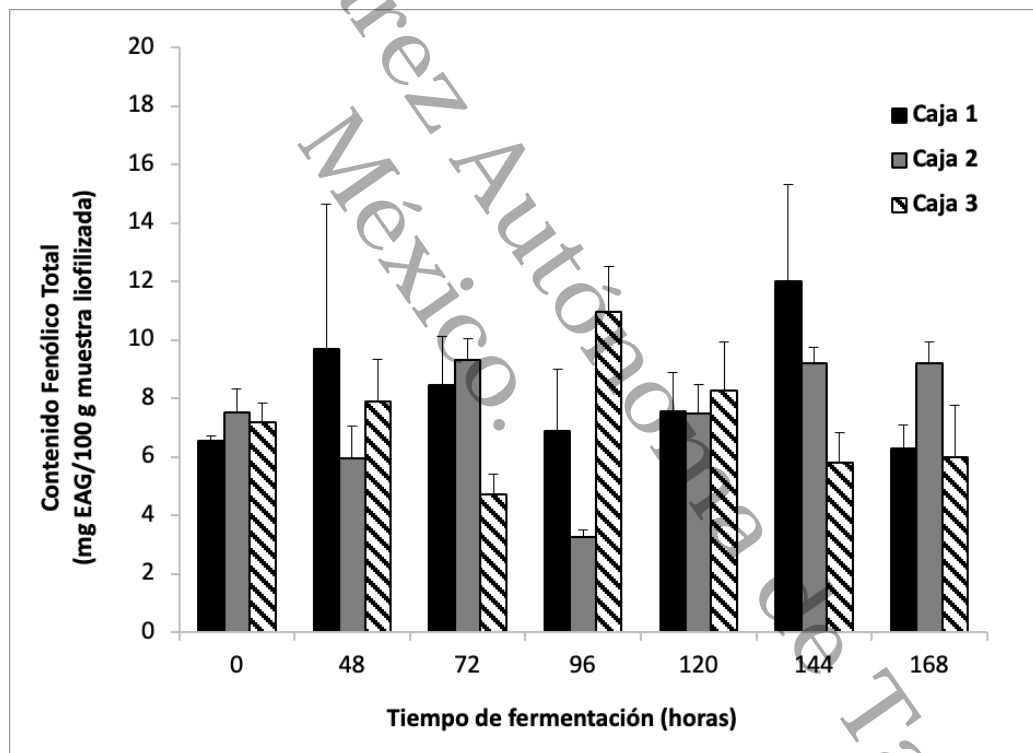


Figura 27. Contenido Fenólico Total en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.

En un estudio realizado en Colombia (Valle del Cauca y Cauca), por Delgado-Ospina et al. (2020), los cuáles analizaron extractos de cocoa de la variedad criollo, utilizando una mezcla de disolventes: acetona/agua/acido acético (70:29.5:0.5). Los granos de cacao fueron fermentados por

96 y 144 h; y secados durante 5 y 3 días, respectivamente; encontraron contenidos de fenoles totales de 85.75 y 40.66 mg EAG/g de peso seco, de ambos procesos de fermentación y secado respectivamente. Como se puede observar las unidades utilizadas en el estudio previo son diferentes, por lo que solamente se puede inferir de forma cualitativa, por lo anterior; las diferencias entre los contenidos reportados de fenoles en el presente estudio y el publicado por Delgado-Ospina puede deberse a que mientras más tiempo de fermentado lleve la semilla de cacao, puede perder poco a poco el contenido de estos compuestos fenólicos evaluados (Goya et al., 2022).

En otro estudio realizado en Nigeria por Ebuehi et al. (2019); sobre extractos hidroalcohólicos de cocoa de grano seco sin fermentar y molido, encontraron un contenido de 29.16 mg EAG/100 g de muestra seca, lo cual es similar a lo encontrado en el presente estudio en los extractos hidroetanólicos al final de la fermentación. Sin embargo, es bien sabido que el contenido de la composición química de estos analitos depende de los factores ambientales (temperatura, luz, agua del suelo y salinidad), a diversas condiciones agronómicas, así como el proceso de fermentación (Delgado et al., 2018; Mihai et al., 2022). Por otro lado, otro factor es el tipo de técnica utilizada para hacer los extractos y la forma de reportar las concentraciones, debido a que cada autor presenta diferencias en la forma de expresar el contenido de fenoles totales, por ejemplo, en la presente investigación cada muestra de cada tiempo se liofilizó cuidando los fenómenos de oxidación propios de un secado conveccional. Delgado et al. (2018), evaluaron chocolates adicionados con nibs fermentados y no fermentados de las variedades (cacao criollo común y blanco de piura) y encontraron que para los chocolates con nibs fermentados y no fermentados de cacao criollo un contenido de fenoles totales de 2.151 y 2.654 g EAG/100 g de muestra seca, respectivamente y para cacao blanco de piura un contenido de 2.208 y 2.738 g EAG/100 g de muestra seca, respectivamente; en este último estudio consultado se observa de nueva cuenta que el contenido de polifenoles es menor en los chocolates con nibs fermentados.

8.3 Evaluación del contenido de flavonoides totales (TFC) en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.

Los flavonoides presentan alta actividad antioxidante, debido a la captura de los radicales libres, la quelación de iones metálicos, y la inhibición de enzimas generadores de los radicales superóxidos (Mihai et al., 2022). Están presentes en los granos de cacao y se dividen en 4 grupos principales: 1.- Isoflavonas, neoflavonoides y chalconas, 2.- flavonas, flavonoles (quercetina y sus

glucósidos), flavanonas, 3.- flavanoles (catequinas y epicatequinas), 4.- proantocianidinas, antocianinas (Delgado et al., 2018).

En la Figura 28, se evaluó el comportamiento en el contenido de flavonoides totales de la cocoa durante el proceso de fermentación. Se encontró que este proceso poscosecha no afectó el contenido en concentración de estos compuestos, observándose que al inicio de la fermentación presentó un contenido de flavonoides totales de 15.6 mg EQ/100 g de muestra liofilizada; y a las 72 h, presentó un ligero aumento en la concentración de estos compuestos en las muestras obtenidas (24 mg EQ/100 g de muestra liofilizada) manteniéndose un contenido similar durante las horas subsiguientes del proceso realizado. Una particularidad en el presente estudio fue la conservación de la muestra por liofilización como se comentó previamente y que puede tener un rol de importancia que no ha sido comentado en las publicaciones analizadas.

Los resultados encontrados en el presente trabajo son similares a lo reportado en un estudio realizado en Nigeria por Ebuehi et al. (2019); los cuáles evaluaron el contenido de flavonoides totales sobre extractos hidroalcohólicos de cocoa de grano no fermentado, seco y molido, encontrando un contenido de 22.16 mg EQ/100 g de masa seca.

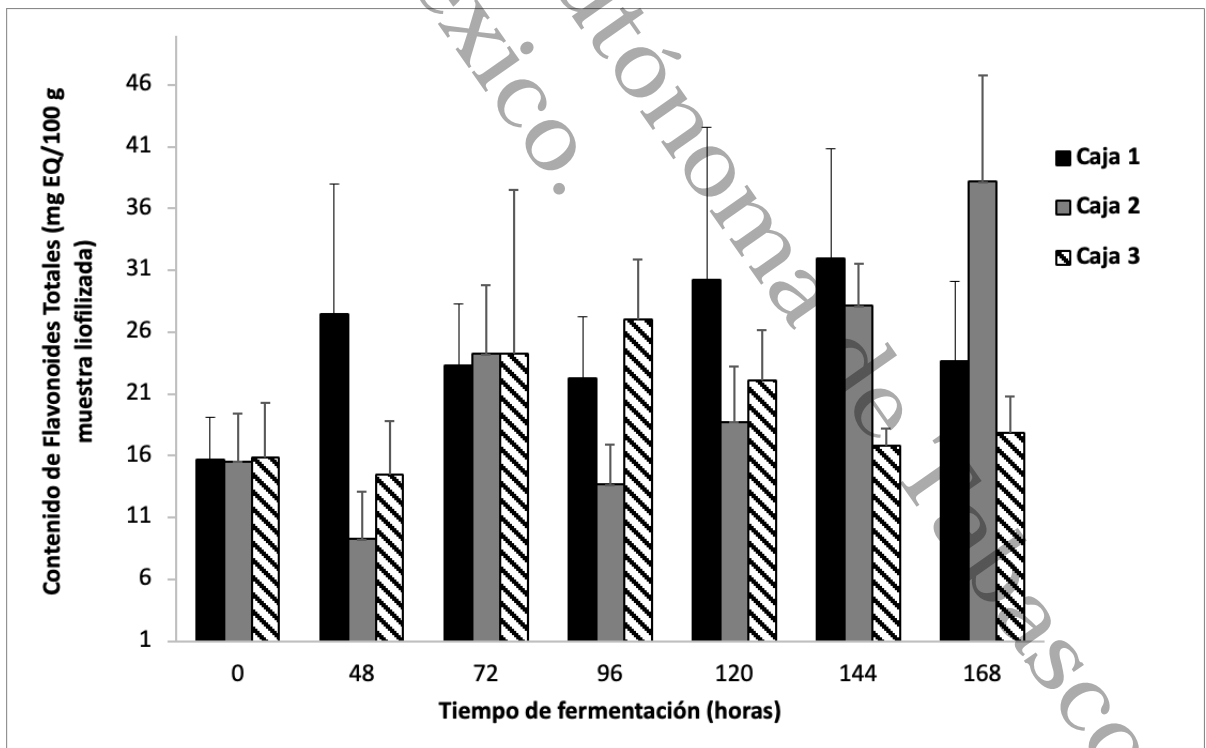


Figura 28. Contenido de Flavonoides Totales en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.

Adicionalmente, Shodehinde et al. (2021); sometieron cacao tipo amelonado (forastero) procedente de Nigeria a diferentes horas de fermentación (24, 72 y 120 h); con lo cual, encontraron que el cacao fermentado a las 24 h (73 mg EQ /100 g de muestra seca) presentó una mayor cantidad de flavonoides en comparación al no fermentado (46 mg EQ/100 g de muestra seca). Sin embargo, no existió diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el fermentado durante 72 y 120 h (25 y 30 mg EQ/100 g de muestra seca), respectivamente. Con lo que se revela que la fermentación a las 24 h es la responsable de provocar un aumento del contenido de flavonoides en el cacao tipo amelonado.

Se ha encontrado que los flavonoides y flavanoles como el flavan-3-ols previenen las enfermedades cardiovasculares, disminución de la presión arterial, regulación del azúcar en la sangre y la dependencia a la insulina, así como la reducción de los niveles de glucosa en sangre (Mihai et al., 2022).

8.4 Determinación de la capacidad antioxidante por medio de las técnicas DPPH y ABTS, de extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.

La capacidad antioxidante se encuentra relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, los cuáles actúan a través del rompimiento de la reacción en cadena de los radicales libres, por la donación de un átomo de hidrógeno (Delgado et al., 2018). Sin embargo, durante las primeras etapas de la fermentación de cacao se liberan además péptidos bioactivos que pueden mostrar también una gran capacidad antioxidante (Dominguez-Pérez et al., 2024).

En la Figura 29, se puede observar la capacidad antioxidante obtenida durante las 168 h del proceso de fermentación de cocoa de variedad cacao criollo. Durante el tiempo transcurrido del presente estudio, incrementó la capacidad antioxidante promedio de las tres cajas desde las cero horas (446 mM/g muestra liofilizada), hasta las 168 h (465 mM/g muestra liofilizada); aumentando el proceso a esta actividad biológica.

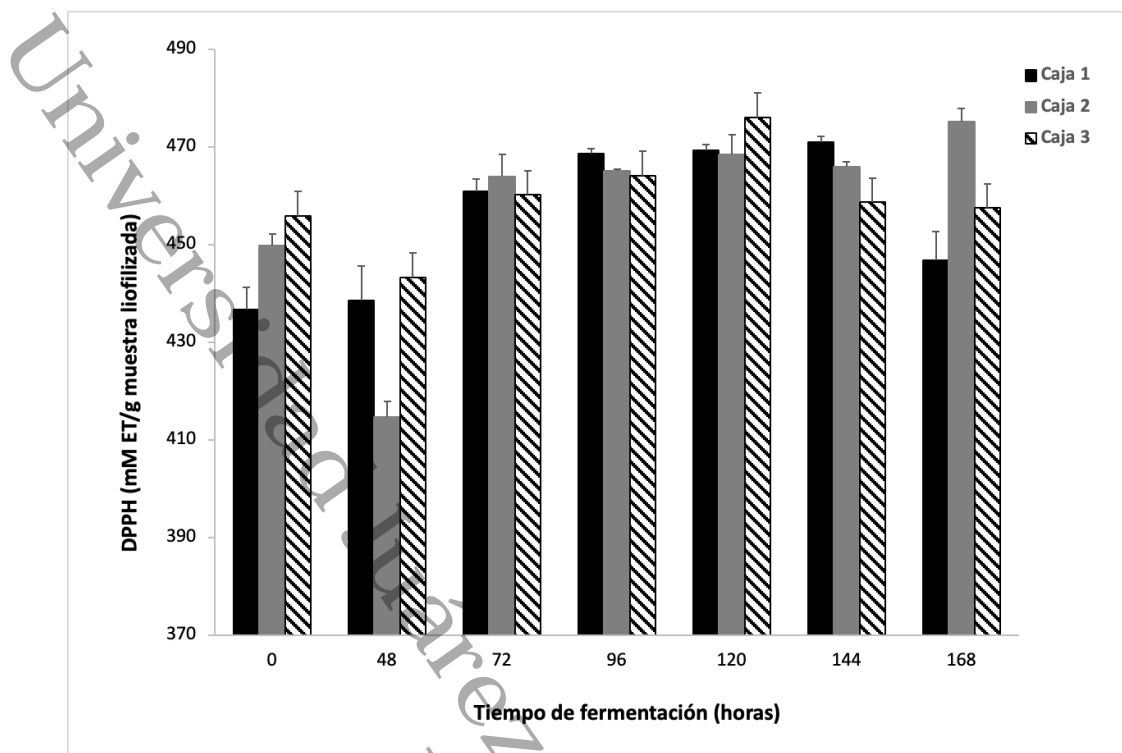


Figura 29. Actividad antioxidante en extractos acuosos de cocoa durante el proceso de fermentación.

En un estudio realizado por Gültekin-Özgüven et al. (2015), por medio de la técnica de DPPH sobre extractos hidroalcohólicos de cocoa obtenida de semillas de cacao fermentado y seco variedad forastero, reportaron una capacidad antioxidante de 173 mM/g muestra seca para cacao tostado y 298 mM/g muestra seca para cacao sin el proceso de tostado.

De igual Ramos-Escudero et al. (2021), realizaron evaluaciones de actividad antioxidante sobre un extracto etanólico de cocoa (muestras comerciales de cacao fermentado, seco y desgrasado) por medio de la técnica DPPH. Ellos encontraron distintos resultados que dependieron de las variedades y los híbridos evaluados, reportando valores de capacidad antioxidante de 156.01 y 103.38 mM ET/g de muestra seca para variedad blanco y chuncho, respectivamente; y de 244.24 y 368.40 mM ET/g de muestra seca para los híbridos (Hy1 y Hy2), respectivamente. Por otro lado, en un estudio realizado sobre extractos hidroalcohólicos (acetona/agua/ácido acético (70/29.5/0.5)) de cocoa (polvo de cacao desgrasado) de muestras comerciales de cacao, se reportaron capacidades antioxidantes (DPPH) de 50, 80, 97, 52 y 60 mM ET/g de muestra seca, para las muestras provenientes de Venezuela, Costa de Marfil, Perú, República Dominicana y África Occidental, respectivamente (Razola-Días et al., 2023).

La capacidad antioxidante reportada en el presente estudio son mayores a lo publicado por los autores mencionados en los párrafos anteriores. Esta variabilidad entre los estudios depende de varios factores como el tiempo de fermentado, secado y variedad y condiciones agronómicas durante el crecimiento y cuidado de las plantaciones de cacao (Delgado-Ospina et al, 2020).

Con respecto a la capacidad antioxidante por medio de la técnica de ABTS, se observa en la Figura 30, que durante el inicio de la fermentación se obtuvo una Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) del promedio de las tres cajas de 64 mM ET/g muestra liofilizada; sin embargo, a partir de las 72 h se aprecia un aumento en la capacidad antioxidante de hasta en un 95 mM ET/g muestra liofilizada.

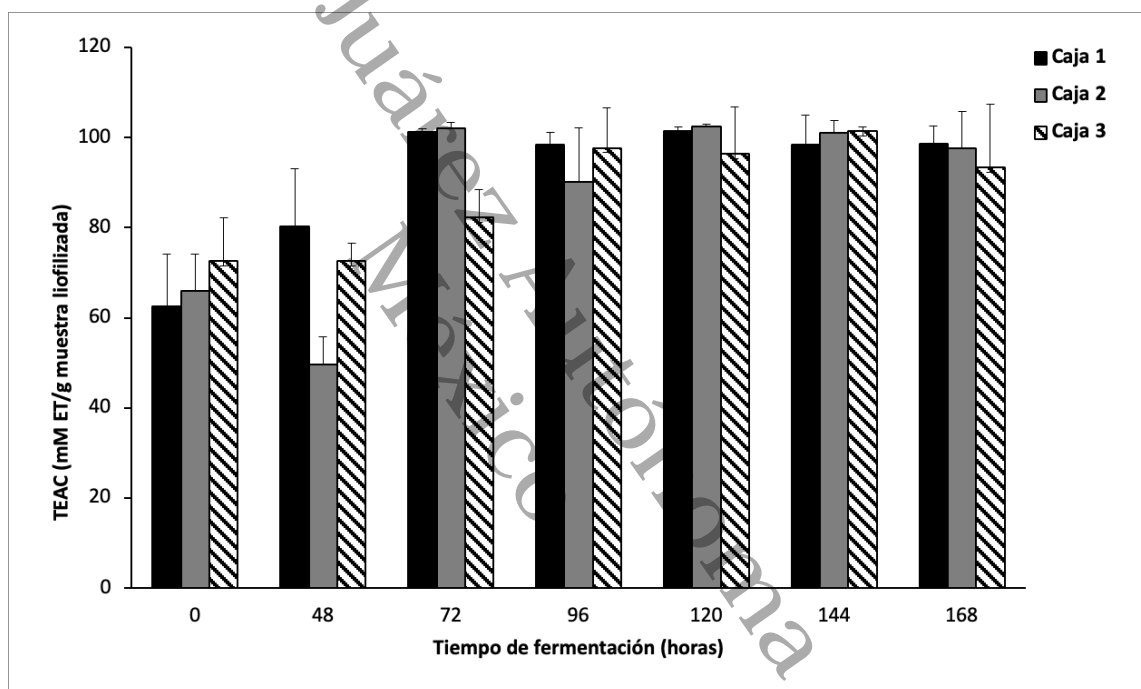


Figura 30. Capacidad Antioxidante Equivalente de Trólox (TEAC) en extractos acuoso de cocoa durante el proceso de fermentación.

En un estudio realizado por Onomo et al. (2015), en extracto acuoso de cocoa de distintos híbridos de cacao fermentado utilizando la técnica del ABTS, reportaron una capacidad antioxidante de 62, 60, 63.5, 46, 38, 114 y 86 mM ET/g muestra seca, para los híbridos F-40, F-12, F-45, F-50, F-20, F-25 y F-79, respectivamente. Observándose que algunos híbridos mostraron valores similares a lo reportado en la Figura 30.

Por otro lado, en un estudio realizado con el ensayo ABTS sobre extractos hidroalcohólicos (acetona/agua/ácido acético (70/29.5/0.5)) de cocoa (polvo de cacao desgrasado) de muestras comerciales de cacao, reportaron capacidades antioxidantes mayores: 180, 175, 267 130 y 170 mM ET/g de muestra seca, para las muestras provenientes de Venezuela, Costa de Marfil, Perú, República Dominicana y África Occidental, respectivamente (Razola-Días et al., 2023). Se puede observar que los resultados dependen del tipo y origen del material que se evalúa; es por ello, que algunos presentan mejor capacidad antioxidante que otros; de igual manera se exhibe una mayor capacidad antioxidante en cocoa, que en polvo de cacao (Oboh et al., 2014).

Nara-Batista et al. (2016), analizaron la capacidad antioxidante utilizando la técnica de ABTS, en diferentes extractos de cocoa de híbridos de cacao fermentado de manera espontánea en cajas de madera por 168 h, tomando como muestra inicial granos a tiempo cero. Los valores iniciales obtenidos fueron de 2.61, 1.98, 1.29 mM ET/g de muestra seca y al final de la fermentación se alcanzaron 3.73, 4.83, 2.54 mM ET/g de muestra seca. Los valores reportados por Nara-Batista no concuerdan con lo reportado en este trabajo; sin embargo, es similar el comportamiento en el incremento de la capacidad antioxidante con las horas de fermentación, atribuido a la reacción de *Maillard* y a la captura de radicales libres por las sustancias bioactivas presentes en el cacao.

8.5 Determinación del espectro de infrarrojo medio por transformada de Fourier (FT- IR) de polvo de cacao durante el proceso de fermentación.

El cacao es una muestra compleja y heterogénea constituida a nivel proximal por grasa, proteínas, carbohidratos, fibra, minerales y humedad, mientras que a nivel de perfil químico hay diferentes clases de compuestos, como ácidos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos grasos y pirazinas entre compuestos volátiles, mientras que para no volátiles podemos encontrar alcaloides, aminoácidos, flavonoides, ácidos fenólicos, azúcares (Afoakwa, et al., 2008; Hue et al., 2016; Nienemak et al., 2006). Los espectros del polvo de cotiledón durante la fermentación se presentan las Figura 31 y 32, que cubren los intervalos $4000-2400\text{ cm}^{-1}$ y $1800-400\text{ cm}^{-1}$. En general, en todo el espectro vibracional de infrarrojo se mostraron distintas señales relacionadas a grupos hidroxilo $-OH$, compuestos fenólicos, alcoholes, entre otros; asignándose solo aquellas que fueron de mediana a alta intensidad de frecuencia. Las señales de alta intensidad se utilizaron para definir la matriz de datos a la que se le aplicó el Análisis de Componentes Principales (ACP) y

Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLSDA). La Tabla 2 muestra la asignación y atribución de las señales de forma general, destacando diferentes fuentes bibliográficas donde reportan las señales que se encuentran en los espectros. La señal tipo aleta que se muestra a 3286 cm^{-1} (Figura 31) fue asignada a $-\text{OH}$ y está asociada a los compuestos fenólicos, alcoholes y amidas, para el caso particular del cacao en función de los antecedentes de composición. Esta señal a través del tiempo de fermentación mostró cambios y es atribuible a la degradación o formación de los compuestos de origen del cacao, por citar el hecho de la disminución de los compuestos fenólicos o la hidrólisis de proteínas (Afoakwa et al., 2008).

Por otro lado, las señales a 2954 cm^{-1} , 2915 cm^{-1} , 2849 cm^{-1} se asigna a grupos $-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2$ correlacionadas con la señal a 1732 cm^{-1} de ésteres que en conjunto definen a cadena de lípidos presente en el cacao (manteca de cacao) y se muestra picos de alta intensidad bien definidos. La señal a 1176 cm^{-1} también se encuentra asociada a grasa y se ha confirmado que a 1732 cm^{-1} y 1177 cm^{-1} aparecen juntas definiendo la presencia del grupo funcional éster. Como puede observarse estas señales comentadas no reportan cambios aparentes debido a que el contenido de grasa se mantiene prácticamente constante durante el tratamiento poscosecha, si bien se han reportado cambios en ácidos grasos (Álvarez-Villagomez et al., 2022) no se pueden determinar bajo esta técnica.

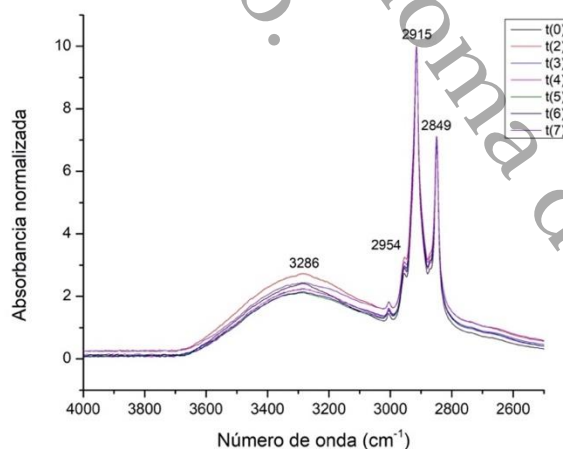


Figura 31. Espectros de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón deshidratado por liofilización por cada tiempo de fermentación en la región $4000\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$.

En la región de huella dactilar (Figura 32) se observaron cambios a 1641 cm^{-1} , entre 1471 cm^{-1} y 1385 cm^{-1} , y entre 1109 cm^{-1} y 1018 cm^{-1} . Estas regiones involucran cambios en grupos

asociados a compuestos proteicos como las Amida I, grupos carboxilos libres y esterificados. La señal a 1641 cm^{-1} corresponde a vibraciones de extensión C=O de grupos Amida I, además de posiblemente de cetonas y flavonoides. La señal a 717 cm^{-1} ha sido asociada a la sobreposición de vibraciones de balanceo de grupos de $-\text{CH}_2$ que indican una cadena lineal con cuatro o más grupos (Lozada-García et al., 2013). Las señales entre 1232 cm^{-1} y 1162 cm^{-1} fueron asignadas a vibraciones de extensión de C-O y flexión de grupos $-\text{CH}_2$ y de acuerdo con Guillén & Cabo, (1999) estas frecuencias están relacionadas con grupos acilo saturados.

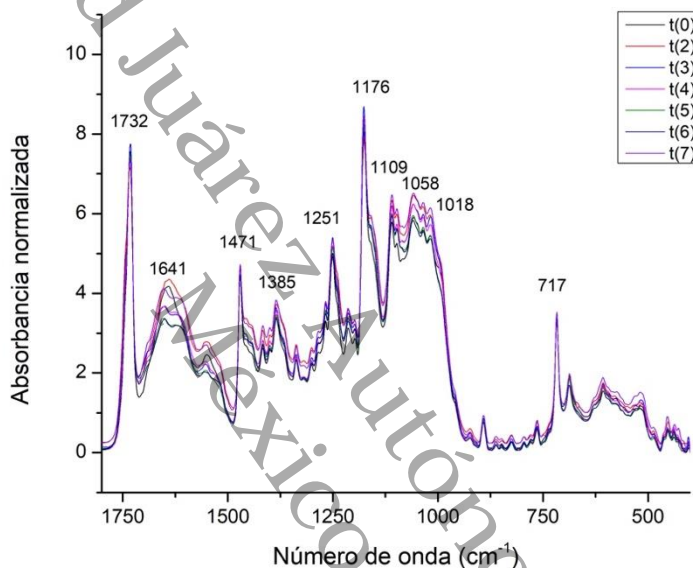


Figura 32. Espectros de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón deshidratado por liofilización por cada tiempo de fermentación en la región $1800\text{-}400\text{ cm}^{-1}$.

Tabla 2. Asignación de modo vibracional y atribución a la frecuencia, de acuerdo con distintos autores.

ID	(cm ⁻¹)	Modo vibracional	Tipo de vibración	Atribución principal	Autor
1	3700-2800	-OH	Estiramiento	Carbohidratos	Vargas-Muñoz & Kurozawa, 2020
	3413 y 1400		Estiramiento y flexión	Alcoholes y fenoles	Vargas-Muñoz & Kurozawa, 2020
	3360-3200		Estiramiento, simétrico		Castañeda-Pérez et al., 2013
	3384		Estiramiento	Celulosa	Bolio-López et al., 2011
	1631		Flexión	Agua adsorbida	
	3327.7 y 3320.9		Deformación axial	Polisacáridos (celulosa, hemicelulosa y lignina)	Hernández-Vidal et al., 2018
	3300		Estiramiento	Carbohidratos, ácidos orgánicos	Macías-Rodríguez et al., 2004
	3143-3140		Tensión	Pectinas	Chasquibol-Silva et al., 2008
2945	Estiramiento		Sánchez Aldana et al., 2015		
2	2922	-CH ₂	Extensión, asimétrico		Castorena-García et al., 2011
	2852		Extensión, simétrico		
	1456		Deformación flexión		
	2900		Estiramiento, simétrico	Castañeda-Pérez et al., 2013	

	2700		Estiramiento asimétrico	Lípidos	Soler Barrera et al., 2013
	2930		Tensión		Chasquibol-Silva et al., 2008
	1417		Flexión	Maltodextrina	Vargas-Muñoz & Kurozawa, 2020
	931 y 857		Deformación		Vargas-Muñoz & Kurozawa, 2020
3	2957	-CH ₃	Extensión, asimétrico	Lípidos	Castorena-García et al., 2011
	2873		Extensión, simétrico	Lípidos	
	1416		Flexión, simétrico		
	1377		Flexión, simétrico		
	2900		Estiramiento, simétrico		Castañeda-Pérez et al., 2013
	2882 y 2829		Estiramiento de C-H	Cafeína	Manrique-Cortés & Gutiérrez-Guzmán, 2018
4	1744	C=O	Extensión	Éster ₁	Castorena-García et al., 2011 Manrique-Cortés & Gutiérrez-Guzmán, 2018
	1755-1740			Éster alifático ₂	
	1750		Estiramiento	Peptinas (grupo carboxílico esterificado)	Sánchez-Aldana et al., 2015

	1731			Cetona no conjugada, hemicelulosa	Bolio-López et al., 2011
	1725		Estiramiento	Cetona alifática	Vargas-Muñoz & Kurozawa, 2020
	1700		Estiramiento, simétrico	Dobles enlaces	Castañeda-Pérez et al., 2013
	1690		Estiramiento		Soler-Barrera et al., 2013
	1655 y 1537		Estiramiento	Compuestos proteicos (Amida I)	Vargas-Muñoz & Kurozawa, 2020
	1630 y 1750			Grupos carboxilos libres y esterificados	Chasquibol-Silva et al., 2008

8.6 Análisis de Componentes Principales (ACP) aplicado a los espectros de infrarrojo durante el proceso de fermentación.

En el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} se identificaron señales principales dentro de la región X-H y la región de huella dactilar. Un análisis de segunda derivada filtró los picos más sobresalientes y se utilizaron para realizar el ACP y PLSDA. El primer componente principal (PC1) describió un 64.6% de la varianza total explicada, mientras que el segundo componente (PC2) describió un 24.3% (Figura 33) a partir del ACP. Las Figuras 34 y 35 muestran el ACP y el PLSDA respectivamente. El gráfico de puntaje mostró una discriminación entre los tiempos iniciales (T1 y T2) con respecto a los otros tiempos. Los principales cambios en número de onda fueron a 1646 - 1638 cm^{-1} , 1385 - 1250 cm^{-1} y 2849 , 2915 , 1732 , 1471 , 1175 , 1176 y 717 cm^{-1} . Esta metodología ha sido aplicada de forma similar para verificar autenticidad y calidad de aceites comerciales (Socaciu et al., 2020).

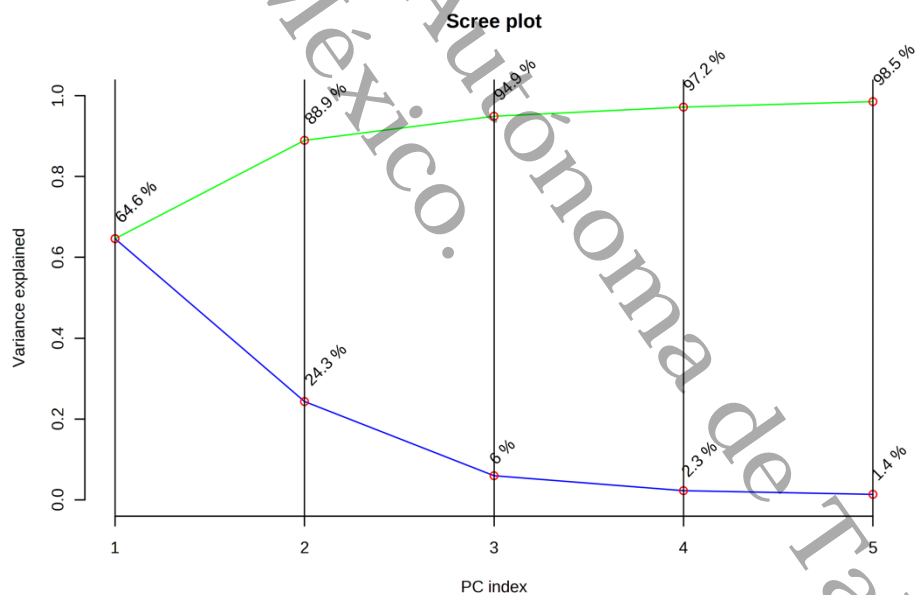


Figura 33. Varianza acumulada con respecto a los cinco primeros componentes a partir del ACP.

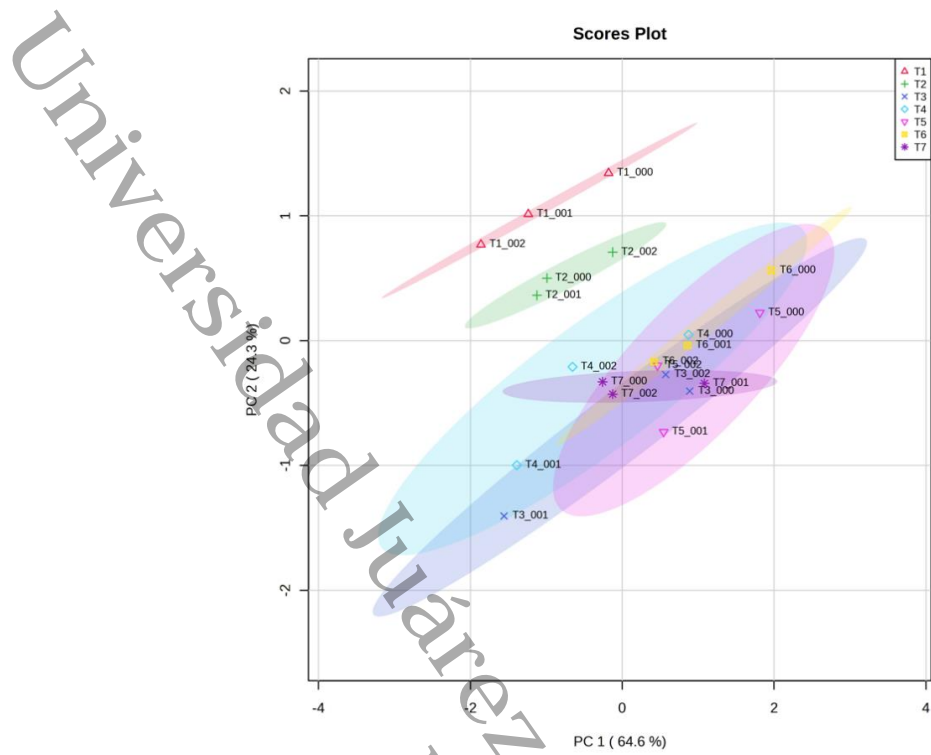


Figura 34. Gráfico de puntaje del ACP aplicado a matriz de datos de FT-IR durante la fermentación.

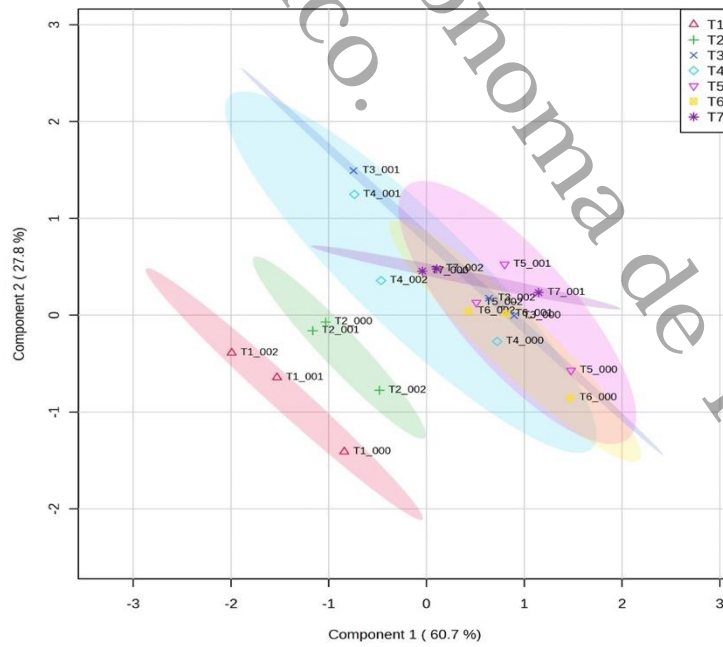


Figura 35. Gráfico de análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales durante la fermentación.

Las Figuras 34 y 35 mostraron agrupamientos de las señales de infrarrojo seleccionadas, observándose marcadamente la separación entre los tiempos de 24 y 48 h con respecto a los otros tiempos durante el proceso de fermentación. Lo anterior indica que existen cambios significativos que no se pueden apreciar por las técnicas convencionales de análisis que se utilizaron en el presente estudio, pero el ACP mostró que la primera fase biológica tiene un papel fundamental en los cambios a nivel de composición en el cacao.

La Figura 36 muestra un mapa de calor en un intervalo de 28 señales de infrarrojo que fueron significativas a través del tiempo de fermentación y que muestran los principales cambios asociados a los agrupamientos formados entre 48 h, 96 h y 120-168 h. El mapa de calor es una correlación entre las variables y las muestras que se grafican estableciendo correlaciones. Socaciu et al. (2020) menciona que el mapa de calor evidencia las correlaciones positivas (rojo intenso) entre las muestras (para nuestro caso los tiempos) y los números de onda específicos, mientras que las relaciones negativas se muestran hacia una tonalidad en azul. Por lo anterior, se puede establecer sin lugar a dudas que durante la fermentación de cacao en cada tiempo evaluado existieron cambios en las señales de los grupos vibracionales y con ello las concentraciones de los diferentes compuestos donde están involucrados las señales de estudio. Además, la mayoría de las señales que se muestran en el mapa de calor están asociada a la región de huella dactilar ($1800-400\text{ cm}^{-1}$) y solo dos señales (2915 y 2849 cm^{-1}) que han sido asignadas a estiramiento simétrico de $-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2$ respectivamente. Además, el cambio en la intensidad de color confirma los resultados presentados previamente como consecuencia de las etapas biológicas en los primeros dos tiempos, así como la intensidad de cambios entre el tiempo inicial y final de la fermentación. El mapa de agrupamiento de calor permite confirmar los resultados del ACP y PLSDA.

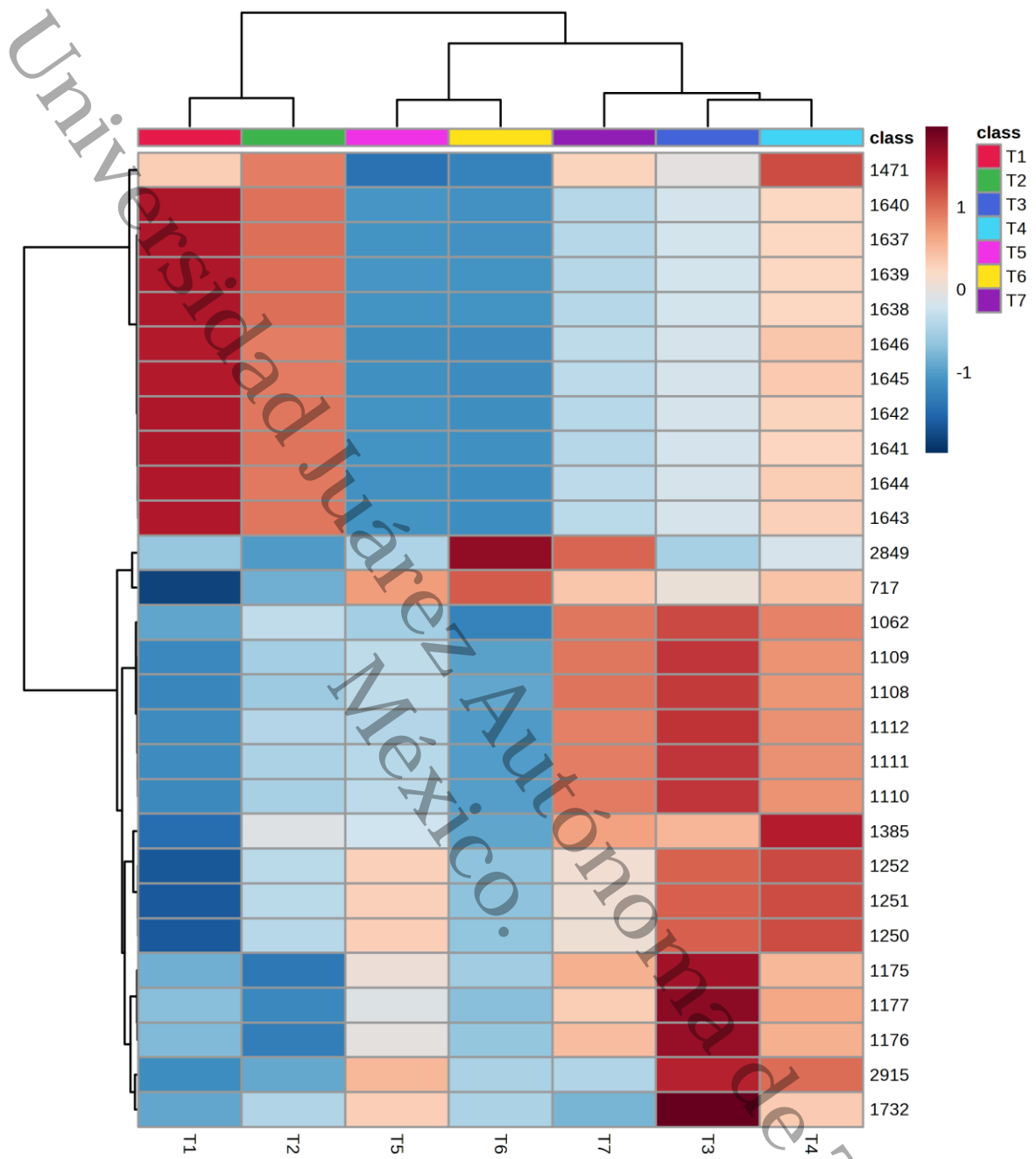


Figura 36. Mapa de calor de las señales de infrarrojo durante el proceso de fermentación de cacao (0, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h).

8.7 Determinación del espectro de infrarrojo medio por transformada de Fourier (FT-IR) de polvo de cacao durante el proceso de secado.

Las muestras derivadas del proceso de fermentación se secaron en capa fina durante 1440 minutos y se realizó un submuestreo que se llevó a liofilización y se realizó la caracterización por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR). Las Figuras 37 y 38 muestran el comportamiento por efecto del secado. En la región de estudio X-H se observó que la señal a 3288 cm^{-1} se modificó a través del tiempo, lo que indicó que el grupo $-\text{OH}$ se ve afectado por el secado, mientras que las señales grupo $-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2$ no presentó cambios aparentes. La señal $-\text{OH}$ estaría asociada al cambio de los compuestos fenólicos principalmente e involucraría una disminución en la señal de absorbancia por el proceso de secado en la concentración de los compuestos que contengan a este grupo funcional (Alean et al., 2016; Castañeda-Pérez et al., 2013).

. Las señales asociadas al contenido de lípidos o grasa del cacao aparentemente no se observó cambios (2915, 2849, 1732 y 1175 cm^{-1}).

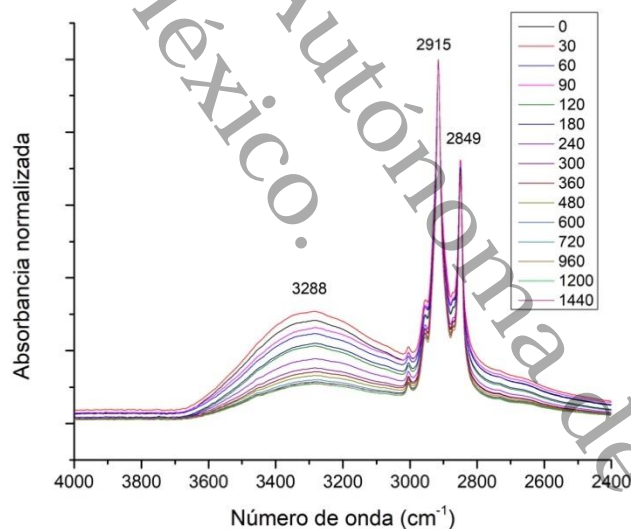


Figura 37. Espectro de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón seco por convección forzada a 60°C por cada tiempo en la región 4000-2600 cm^{-1} .

La Figura 38 muestra los cambios en la región de huella dactilar, presentándose cambios más intensos con respecto a la fermentación (Figura 32).

La variación fue observada en cuatro regiones espectrales en el intervalo de 1650-1623 cm^{-1} , 1471-1385 cm^{-1} , 1109-1058 cm^{-1} lo que permite clasificar cuatro regiones (incluyendo la señal a 3288 cm^{-1}) (Figura 37), donde se presentan por efecto del secado.

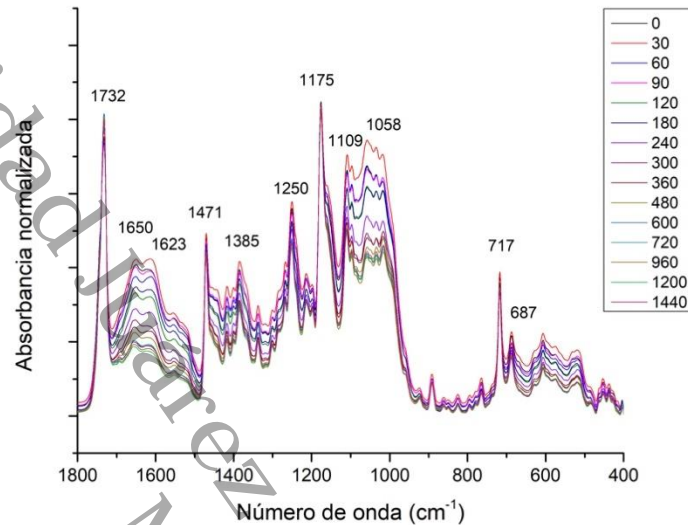


Figura 38. Espectros de FT-IR con ATR de polvo de cotiledón secado por convección forzada a 60°C por cada tiempo en la región 1800-400 cm^{-1} .

8.8 Análisis de componentes principales aplicado a los espectros de infrarrojo a los tiempos de secado.

El análisis de componentes principales mostró el primer componente (PC1) describió el 94.4 % de la varianza total, mientras que el segundo componente (PC2) el 3.3 % (Figura 39). Los principales cambios asociados durante el tiempo de secado fueron agrupados entre 0 y 120 min., y entre 180 y 1440 min en la cinética de secado, por lo que la separación está en función de señales que se mantienen, aparecen o desaparecen. El resultado del ACP sugiere la presencia de nuevos componentes o transformación de los existentes. Cabe mencionar que en el presente estudio de ACP no se analizaron las principales señales en función de la intensidad o área bajo la curva, lo cual aportaría nueva evidencia y que representa una continuación el estudio presente.

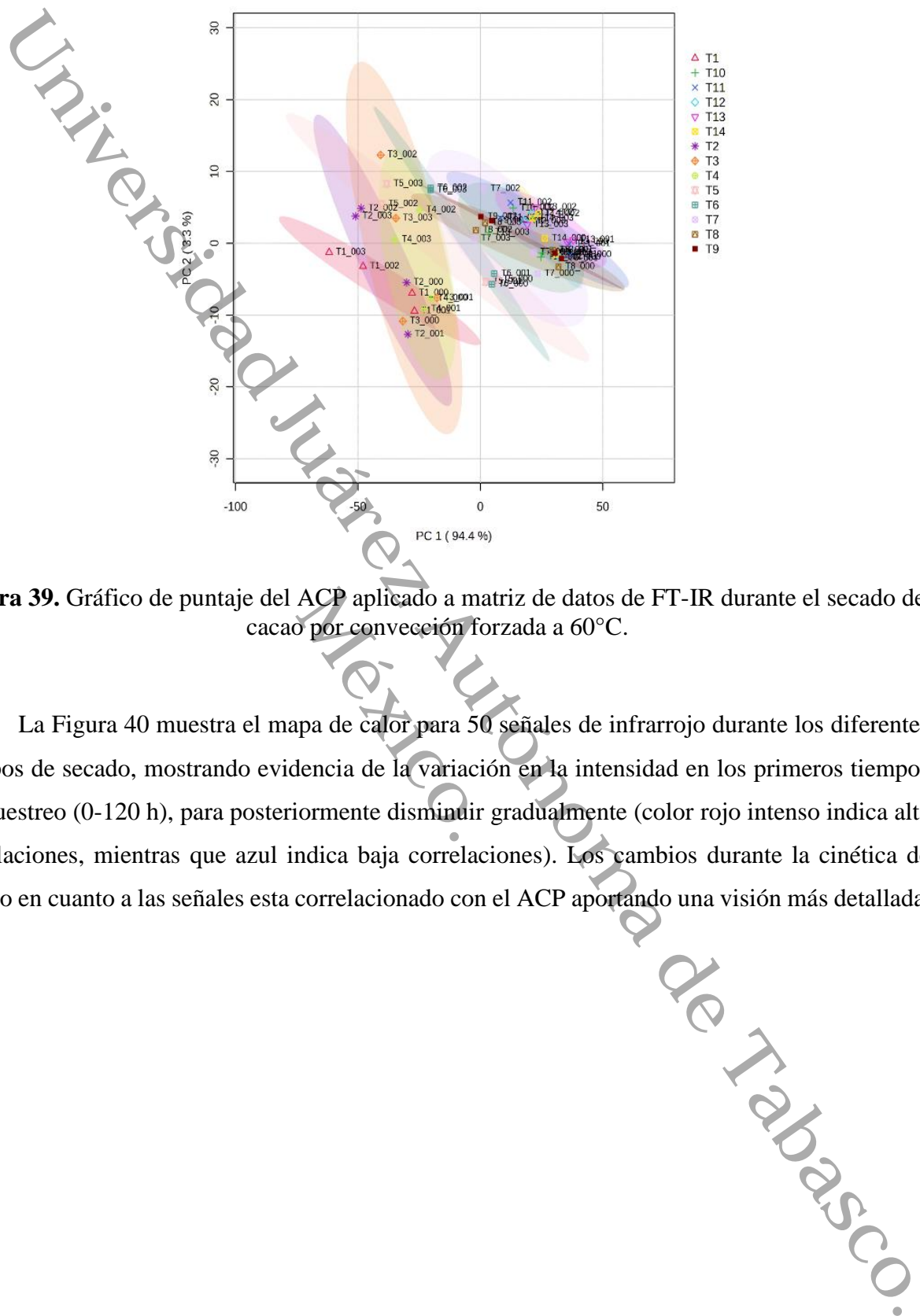


Figura 39. Gráfico de puntaje del ACP aplicado a matriz de datos de FT-IR durante el secado de cacao por convección forzada a 60°C.

La Figura 40 muestra el mapa de calor para 50 señales de infrarrojo durante los diferentes tiempos de secado, mostrando evidencia de la variación en la intensidad en los primeros tiempos de muestreo (0-120 h), para posteriormente disminuir gradualmente (color rojo intenso indica alta correlaciones, mientras que azul indica baja correlaciones). Los cambios durante la cinética de secado en cuanto a las señales esta correlacionado con el ACP aportando una visión más detallada.

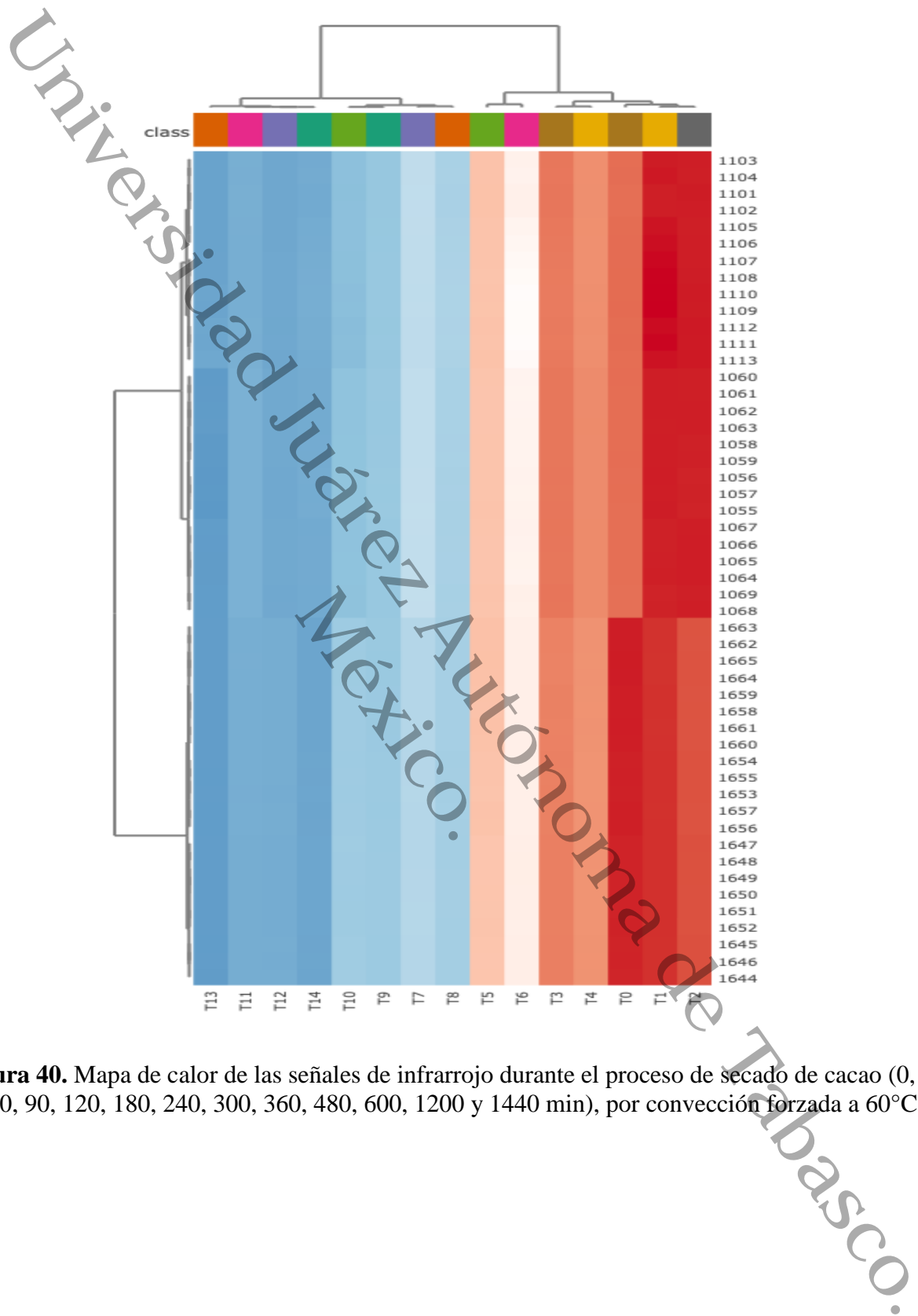


Figura 40. Mapa de calor de las señales de infrarrojo durante el proceso de secado de cacao (0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 480, 600, 1200 y 1440 min), por convección forzada a 60°C.

IX. CONCLUSIONES

Los compuestos fenólicos y flavonoides totales se ven afectados por el proceso de fermentación, sin embargo, la actividad antioxidante se mantiene a las condiciones evaluadas en el presente estudio.

La espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier aplicada durante los tiempos de fermentación y secado permitieron establecer cambios en el grupo funcional –OH atribuidos a compuestos fenólicos, mostrando a través del análisis de componentes principales la influencia de estos procesos.

X. RECOMENDACIONES

El estudio forma parte de un proyecto de investigación y los análisis requieren un nivel de interpretación y correlación estadística, se recomienda para la continuación del presente estudio involucrar metodologías estadísticas que permitan conocer la relación entre el contenido fenólico por tiempo de fermentado y secado del grano de cacao tipo criollo. La quimiometría es una herramienta poderosa que puede combinar matrices complejas y generar modelos predictivos, y los resultados presentados pueden ser utilizados para tal fin.

XI. REFERENCIAS

- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 840-857. DOI:10.1080/10408390701719272
- Aguilera-Ortíz, M., Reza-Vargas, M., Chew-Madinaveitia, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Ciencias Biológicas y de la Salud*, 13(2), 16-21. <https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnia/2011/vol13/no2/2.pdf>
- Alean, J., Chejne, F., Rojano, B. (2016). Degradation of polyphenols during the cocoa drying process. *Journal of Food Engineering*, 189, 99-105, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.026>.
- Alvarez-Villagomez, K. G., Ledesma-Escobar, C. A., Priego-Capote, F., Robles-Olvera, V. J. & García-Alamilla, P. (2022). Influence of the starter culture on the volatile profile of processed cocoa beans by gas chromatography–mass spectrometry in high resolution mode. *Food Bioscience*, 47. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101669>
- Ambrosía de Dioses. (2018). Conchado del cacao. [Imagen]. Ambrosía de Dioses. https://ambrosiadioses.blogspot.com/2018/10/como-se-hace-el-chocolate_22.html
- Arqueología Mexicana, (2016). <https://arqueologiamexicana.mx/mexico-antiguo/origen-domesticacion-y-uso-del-cacao>
- Avendaño-Arrazate, C. H., Villarreal-Fuentes, J. M., Campos-Rojas, E., Gallardo-Méndez, R. A., Mendoza-López, A., Aguirre-Medina, J. F., Sandoval-Esquivel, A., & Espinosa-Zaragoza, S. (2011). Diagnóstico del cacao en México. Texcoco, Estado de México. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Beckett, S. (2008). *The Science of Chocolate* (2nd ed.). RSC publishing. https://muhammadsubchi.files.wordpress.com/2010/04/beckett-the_science-of-chocolate.pdf
- Bolio-López, G. I., Valadez-González, A., Veleza, L., & Andreeva, A. (2011). Whiskers de celulosa a partir de residuos agroindustriales de banano: Obtención y caracterización. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(2), 291-299. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000200013&lng=es&tlng=es.
- Bordiga, M. L. (2015). Evaluation of the effect of processing on cocoa polyphenols: antiradical activity, anthocyanins and procyanidins profiling from raw beans to chocolate. *Food Science and Technology*, 840-848. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12760>
- Cacao México. (2012). Variedades de cacao. Cacao México. https://cacaomexico.org/?page_id=176
- Carrillo, L. C., Londoño-Londoño, J., & Gil, A. (2014). Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-

- growing areas in Colombia. *Food Research International*, 60, 273-280. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.019>.
- Castañeda-Pérez, E., Osorio-Revilla, G. I., Gallardo-Velázquez, T., & Proal-Nájera, J. B. (2013). Uso de FTIR-HATR y análisis multivariable para el seguimiento de la degradación de compuestos bioactivos durante el secado de pimiento rojo. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(2), 193-204. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382013000200002&lng=es&tlng=es.
- Castorena-García, J. H., Rojas-López, M., Delegado-Macuil, R., & Robles de la Torre, R. R. (2011). Análisis de Pulpa y Aceite de Aguacate con Espectroscopia Infrarroja. *Conciencia Tecnológica* (42), 5-10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=94421442002>
- Castro-Acosta, M. (2019). Polifenoles: compuestos bioactivos con efectos benéficos en la prevención de diabetes tipo 2. *RED CieN*, 1(3), 13-18. https://cmnutriologos.org/recursos/revista00_3.pdf
- Central Foods. (2021). Barra de chocolate al 70% cacao 40 gr. [Imagen]. Central Foods. <https://centralfoods.mx/es/product/barra-de-chocolate-70-cacao-40-gr/>
- Chasquibol-Silva, N., Arroyo-Benites, E., & Morales-Gomero, J. C. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial* (26), 175-199. <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337428492010.pdf>
- Chocolates Pérez. (2023). Tostado de cacao. [Imagen]. Chocolates Pérez. <https://chocolatesperez.com/curiosidades/fases-elaboracion-chocolate/>
- Cordero-Herrera, I., Martín, M. A., Bravo, L., Goya, L., & Ramos, S. (2013). Cocoa flavonoids improve insulin signalling and modulate glucose production via AKT and AMPK in HepG2 cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, (57), 974-985.
- Córdova-Lázaro, C. E., Jaramillo-Villanueva, J.L., Córdova-Ávalos, V., Carranza-Cerda, I., & Morales-Jiménez, J. (2018). Chocolate casero tradicional en la región de la Chontalpa Tabasco, México: Actores y saberes locales. *Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo regional*, 28(52), 1-27. <http://dx.doi.org/10.24836/es.v28i52.577>
- Delgado, J. D., Mandujano, J. I., Reategui, D., & Ordonez, E. S. (2018). Desarrollo de chocolate oscuro con nibs de cacao fermentado y no fermentado: Polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante y evaluación sensorial. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 543-550. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172018000400010&lng=pt&nrm=iso
- Delgado-Ospina J., Di Mattia, C.D., Paparella, A., Mastrocola, D., Martuscelli, M. & Chaves-López, C. (2020). Effect of Fermentation, Drying and Roasting on Biogenic Amines and Other Biocompounds in Colombian Criollo Cocoa Beans and Shells. *Foods*, 9(4), 520. DOI:10.3390/foods9040520
- Diana Taliun/Getty images. (2022). Cocoa butter. [Imagen]. Healthline. <https://www.healthline.com/nutrition/cocoa-butter>

- Domínguez-Pérez, L. A., Lagunes-Gálvez, L. M., Barajas-Fernández, J., Olán-Acosta, M.^a A., García-Alamilla, R., & García-Alamilla, P. (2019). Caracterización vibracional de grupos funcionales en granos de cacao durante el tostado usando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier. *Acta universitaria*, 29(e2172), 1-17. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2172>
- Domínguez-Pérez, L. A., Beltran-Barrientos, L. M., Torres-Llanez, M. J., González-Córdova, A. F., Hernández-Mendoza, A., García, H. S., & Vallejo-Cordoba, B. (2024). Dynamics of potential antihypertensive and antidiabetogenic activities during artisanal fermentation of three varieties of Mexican cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *International Journal Food Science Technology*, 59, 2751-2762. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17026>
- Ebuehi, O. A. T., Anams, C., Gbenle, O .D., & Ajagun-Ogunleye, M .O. (2019). Hydro-ethanol seed extract of *Theobroma cacao* exhibits antioxidant activities and potential anticancer property. *Journal of Food Biochemistry* (e12767), 1-10. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12767>
- Edem-Kongor, J., Hinneh, M., Van de Walle, D., Ohene-Afoakwa, E., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile, a review. *Food Research International*, 82, 44-52. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996916300163>
- El Salous, A., Angulo-González, A., & Solís-Flores, L. (2019). Aceleración de la fermentación del cacao mediante la acción de bacterias (*Acetobacter aceti*) y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). *Espirales revista multidisciplinaria de investigación científica*, 3(28). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=573263327001>
- Fundación de nuestra tierra [@fundatierra]. (2012). Aireación del cacao durante la fermentación. [Fotografía]. <https://x.com/fundatierra/status/832615650539532289/photo/2>
- García-Rincón, P. A., Núñez-Ramírez, J. M., & Bahamón-Monje, A. F. (2021). Physicochemical and sensory characteristics of fermented almonds of national cacao (*Theobroma cacao* L.) with addition of probiotics in the amazonic research center, Cimaz Macagual (Caquetá, Colombia). *Ingeniería y competitividad*, 23(2), 2-13. <https://www.redalyc.org/journal/2913/291368646013/html/>
- Goya, L., Kongor, J. E., & de Pascual-Teresa, S. (2022). From Cocoa to Chocolate: Effect of Processing on Flavanols and Methylxanthines and Their Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(14365), 1-28. <https://doi.org/10.3390/ijms232214365>
- Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertorelli, L., & Parra, P. (2003). Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua. *Agronomía Tropical*, 53(2), 133-144. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2003000200002#cuaf
- Guerrero-Legarreta, I., López-Hernández, E., & Armenta-López, R. E. (2006). Pigmentos. En S. Badui-Dergal, *Química de alimentos* (4ta ed., págs. 401-444). Pearson. <https://itscv.edu.ec/wp-content/uploads/2019/06/QUIMICA-DE-LOS-ALIMENTOS-4ta-Edicion.pdf>

- Guillén, M. C. & Cabo, N. (1999). Usefulness of the Frequency Data of the Fourier Transform Infrared Spectra To Evaluate the Degree of Oxidation of Edible Oils. *Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 709–719. DOI:10.1021/jf9808123
- Gültekin-Özgülven, M., Berktaş, I., & Özçelik, B. (2016). Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. *LWT-Food Science and Technology*. 72. 559-565, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.065>.
- Hernández-Vidal, N. E., López-Bautista, V., Morales-Morales, V., Méndez-Ordoñez, W. D., & Calderón-Osorio, E.S. (2018). Caracterización química de la Fibra de Coco (*Cocos nucifera* L.) de México utilizando Espectroscopía de Infrarrojo (FTIR). *Ingeniería y Región*, 20, 68-72. DOI:10.25054/22161325.1914
- Hue, C., Gunata, Z., Breyse, A., Dayvieux, F., Boulanger, R., & Sauvage, F. X. (2016). Impact of fermentation on nitrogenous compounds of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from various origins. *Food Chemistry*, 192, 958-964. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.115>
- López-Navarrete, M. C. (2018). El proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Agro Productividad*, 4(1), 20-24. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/572>
- Lozada-García, M., Soria-Arteche, O., & Jaramillo-Ortega, Y. (2013). Espectroscopía de infrarrojo, conceptos y problemas. México, D.F: Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.
- Macías-Rodríguez, L., Quero-Gutiérrez, E., & López-Mercedes, G. (2004). Caracterización de tres cultivares de fresa (*fragaria×ananassa* duch.) por espectroscopía de infrarrojo. *Agrociencia*, 38(5), 487-495. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238502>
- Manrique-Cortés, C. A., & Gutiérrez-Guzmán, N. (2018). Evaluación del proceso de clasificación de café (*Coffea arabica* L.) por el método de la espectroscopia infrarroja FTIR. *Ingeniería y Región*, 20(19), 12-17. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6973428.pdf>
- Mihai, R. A., Landazuri-Abarca, P. A., Tinizaray-Romero, B. A., Florescu, L.I., Catana, R., & Kosakyan, A. (2022). Abiotic Factors from Different Ecuadorian Regions and Their Contribution to Antioxidant, Metabolomic and Organoleptic Quality of *Theobroma cacao* L. Beans, Variety “Arriba Nacional”. *Plants*, 11(976), 1-20. <https://doi.org/10.3390/plants11070976>
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., Wallace da Silva e Mota J., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, S. J., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L). *Plos One*, 3(10), 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Mrduljaš, N., Krešić, G., & Bilušić, T. (2017). Polyphenols: Food Sources and Health Benefits. En M. Chávarri-Hueda, *Functional Food: Improve Health through Adequate Food* (págs. 23-40). Rijeka, Croatia: IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/66263>

- Nara-Batista, N., Pereira de Andrade, D., Lacerda-Ramos, C., Ribeiro-Dias, D., & Freitas-Schwan, R. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, 90, 313–319. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.028>
- Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Omokolo-Ndoumou, D., & Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis: An Official Publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems*, 19(6-7), 612-619. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.02.006>
- Nogales, J. (2021). Etapas de la fermentación del cacao: Formación de precursores de aroma y sabor [Fotografía]. *Poscosecha cacao*. <https://poscosechacacao.com/2021/02/etapas-de-la-fermentacion-del-cacao-formacion-de-precursores-de-aroma-y-sabor/>
- NORMA Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación, México*, 08 de abril de 2013
- Ogata, N., Gómez-Pompa, A., & Taube, K. A. (2009). The Domestication and Distribution of *Theobroma cacao* L. in the Neotropics. En C. McNeil, *Chocolate in Mesoamerica: A Cultural History of Cacao (Maya Studies)*. Florida Scholarship Online. <http://oxfordindex.oup.com/view/10.5744/florida/9780813029535.003.0003>
- Oboh, G., Ademosun, A. O., Ademiluyi, A. O., Omojokun, O. S., Nwanna, E. E. & Longe, K. O. (2014). In Vitro Studies on the Antioxidant Property and Inhibition of α -Amylase, α -Glucosidase, and Angiotensin I-Converting Enzyme by Polyphenol-Rich Extracts from Cocoa (*Theobroma cacao*) Bean. *Pathology research international*, 549287. <https://doi.org/10.1155/2014/549287>
- Onomo, P. E., Niemenak, N., Djogoue, P. F., Ondobo, M. L. Omokolo-Ndoumou, D. (2015). Heritability of polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity of Cameroonian cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *African Journal of Biotechnology*. 14(36), pp. 2672-2682. DOI: 10.5897/AJB2015.14715
- Ortiz de Bertorelli, L., Graziani de Fariñas, L., & Gervaise-Rovedas, L. (2009). Evaluación de varios factores sobre características químicas del grano de cacao en fermentación. *Agronomía Tropical*, 59(1), 73-79. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000100007
- Othman, A., Ismail, A., Abdul-Ghani, N. & Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*, 100(4), 1523–1530. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.021>
- Pontillon, J. (1998). *Cacao et chocolat: Production, utilisation, caractéristiques*. France, Paris: Science et Techniques Agroalimentaires-Technique et Documentation Lavoisier (FR).
- Pukalskas, A., Van Beek, T. A., Venskutonis, R. P., Linssen, J. P. H., Van Veldhuizen, A., & De Groot, A. E. (2002). Identification of Radical Scavengers in Sweet Grass (*Hierochloe odorata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 2914-2919. <https://doi.org/10.1021/jf011016r>

- Quiñones, M. M. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es.
- Ramírez-Guillermo, M. Á., Lagunes-Espinoza, L. C., Ortiz-García, C. F., Gutiérrez, O. A. y de la Rosa-Santamaría, R. (2018). Variación morfológica de frutos y semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) de plantaciones en Tabasco, México. *Rev. Fitotec. Mex.*, 41(2), 117-125.
- Ramos-Escudero, F., Casimiro-Gonzales, S., Fernández-Prior, A., Cancino-Chávez, K., Gómez-Mendoza, J., Fuente-Carmelino, L., & Muñoz, A. M. (2021). Colour, fatty acids, bioactive compounds, and total antioxidant capacity in commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *LWT*. 147. 111629. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111629>.
- Razola-Díaz, M. D. C., Aznar-Ramos, M. J., Verardo, V., Melgar-Locatelli, S., Castilla-Ortega, E., & Rodríguez-Pérez, C. (2023). Exploring the Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Different Cocoa Powders. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 12(3), 716. <https://doi.org/10.3390/antiox12030716>
- Rincón-Robayo, M. (2023). El cacao forastero. [Fotografía]. Museo del chocolate Colombia. <https://museodelchocolate.com.co/el-cacao-forastero/>
- Rincón-Robayo, M. (2023). El cacao trinitario. [Fotografía]. Museo del chocolate Colombia. <https://museodelchocolate.com.co/14661-2/>
- Rojas-Rojas, K., Hernández-Aguirre, C., & Mencía-Guevara, A. (2021). Transformaciones bioquímicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) durante un proceso de fermentación controlada. *Agronomía Costarricense*, 45(1), 53-65. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242021000100053&lng=en&tlng=es
- Saltini, R., Akkerman, R., & Frosch, S. (2013). Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control*, 29, 167-187. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.054>
- Sánchez-Aldana, D., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. *CyTA Journal of Food*, 13(1), 17-25. DOI:10.1080/19476337.2014.904929
- Senanayake, M., Jansz, E. R., & Buckle, K. A. (1997). Effect of Different Mixing Intervals on the Fermentation of Cocoa Beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 42-48. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199705\)74:1<42::AID-JSFA768>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199705)74:1<42::AID-JSFA768>3.0.CO;2-U)
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2013). Trópico húmedo: exotismo y valor. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/siap/tropico-humedo-exotismo-y-valor>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2023). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Nube SIAP. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 945-948. <https://doi.org/10.1021/jf00018a005>
- Shodehinde, S. A., Odubango, V. O., Oladunjoye, B. M., Oladimeji, V. A., Olubode, S. O., Akinnusi, P. A., & Oboh, G. (2021). Effect of fermentation on the antioxidant potential and bioactive compounds of cocoa (*Theobroma cacao*) spp. *Journal of Medicinal Herbs*, 12(4), 55-61. <https://sanad.iau.ir/journal/jhd/Article/689107?jid=689107>
- Socaciu, C., Fetea-Florinela, F., Ranga, F., Bunea, A., Dulf, F., Socaci, S., & Pintea, A. (2020). Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) Coupled with Chemometrics, to Control the Botanical Authenticity and Quality of Cold-Pressed Functional Oils Commercialized in Romania. *Applied Science*, 10, 8695, 1-15. <https://doi.org/10.3390/app10238695>
- Soho A Studio. (2019). Cocoa powder. [Imagen]. Adobe stock. https://stock.adobe.com/mx/search?k=%22cocoa+powder&asset_id=182995770
- Soler-Barrera, G., Losada-Losada, J. D., & Vargas-Hernández, C. (2013). Caracterización vibracional por espectroscopia Raman del grano de Café tipo comercial. *Scientia et Technica*, 18(1), 275-279. <https://www.redalyc.org/pdf/849/84927487040.pdf>
- Tadeo-Sánchez, J. M., & Tolentino-Martínez, J. M. (2020). El cacao Grijalva de Tabasco: Dinámicas socio territoriales en torno a su producción Tabasco. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 30(56), 2-25. <https://doi.org/10.24836/es.v30i56.1002>
- The International Cocoa Organization. (2020). Growing cocoa. ICCO. <https://www.icco.org/growing-cocoa/>
- The International Cocoa Organization. (2024). Production of cocoa beans. ICCO. https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production_QBCS-L-No.-1.pdf
- Urbańska, B., Kowalska, H., Szulc, K., Ziarno, M., Pochitskaya, I., & Kowalska J. (2021). Comparison of the Effects of Conching Parameters on the Contents of Three Dominant Flavan3-ols, Rheological Properties and Sensory Quality in Chocolate Milk Mass Based on Liquor from Unroasted Cocoa Beans. *Molecules*, 26(9). DOI:10.3390/molecules26092502
- Valenzuela, B. (2007). El chocolate, un placer saludable. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(3), 0. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46934302>
- Valley of tea. (2022). Nibs de cacao. [Imagen]. Valley of tea. <https://www.valleyoftea.com/es-es/products/cacaonibs>
- Vargas-Muñoz, D. P., & Kurozawa, L. E. (2020). Influence of combined hydrolyzed collagen and maltodextrin as carrier agents in spray drying of cocona pulp. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.25419>
- Vela, E. (2012). El cacao. Un fruto asombroso. (Editorial Raíces, Ed.) *Arqueología mexicana*, págs. 1-100.

- Velásquez-Reyes, D., & Lugo, E. (2022). Fermentaciones artesanales de cacao mexicano. CIATEJ. <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Fermentaciones-artesanales-de-cacao-mexicano/291>
- Veselá, A., Barros, A. S., Synytsya, A., Delgadillo, I., Čopíková, J., Coimbra, M. A. (2006). Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat, nitrogen, and moisture of cocoa powder. *Analytica Chimica Acta*, 601(1), 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.08.039>
- Wessel, M., & Foluke Quist-Wessel, P. M. (2015). Cocoa production in West Africa, a review and analysis of recent developments. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 74-75, 1-7. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1573521415000160#!>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00102-2)

Quárez Autónoma de Tabasco.
México.

ANEXO

Acervo fotográfico



Figura 41. Quebrado de mazorcas.



Figura 42. Cacao en cajas de fermentación.



Figura 43. Toma de muestra del inicio de la fermentación.



Figura 44. Preparación de la muestra para medición física.



Figura 45. Titulación en muestras de cacao fresco.



Figura 46. Muestras de medición de acidez.



Figura 47. Desgrasado de cacao fresco liofilizado, por método Soxhlet.



Figura 48. Preparación de la muestra para medición de fenoles.



Figura 49. Muestras de la medición de fenoles.



Figura 50. Muestras de la medición de flavonoides.

Abreviaturas

ABTS: Radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico

ACP: Análisis de Componentes Principales

ATR: Reflectancia Total Atenuada

DPPH: Radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

FRAP: Poder Antioxidante Reductor del Hierro.

FT IR: Espectroscopia de Infrarrojo medio por Transformada de Fourier

ICCO: International Cocoa Organization

PC1: Primer componente principal

PC2: Segundo componente

PLSDA: Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales

SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP

TAC: Capacidad antioxidante total

TFC: Contenido de Flavonoides Totales

TNF α : Factor de Necrosis Tumoral alfa

TPC: Contenido Fenólico Total

ET: Equivalente de Trolox

EQ: Equivalente de Quercetina

EAG: Equivalente de Ácido Gálico

DOF: Diario Oficial de la Federación

NAOH: Hidróxido de Sodio

mM: Mili Molar

CAMBIOS VIBRACIONALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS EN CACAO DURANTE LA FERMENTACIÓN Y EL SECADO

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	gacetajuchiman.ujat.mx Internet	227 palabras — 1%
2	hdl.handle.net Internet	72 palabras — < 1%

ACTIVADO

ACTIVADO

ACTIVADO

ACTIVADO

DESACTIVADO

U.J.A.T. TABASCO



DIVISION ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
JEFATURA DE ESTUDIOS TERMINALES

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de la tesis	Cambios vibracionales y compuestos bioactivos en cacao durante la fermentación y el secado.
Autoras de la tesis	Blanca Estela González Rodríguez Leslie Rubí Montiel Tadeo
ORCID	Leslie: https://orcid.org/0009-0003-0661-7714 Blanca: https://orcid.org/0009-0008-7693-7197
Resumen de la tesis	<p>Un estudio particular sobre fermentación tradicional y secado de cacao tipo criollo se llevó a cabo para caracterizar el comportamiento fisicoquímico (pH y acidez total), contenido fenólico y de flavonoides totales, así como la capacidad antioxidante por los ensayos DPPH y ABTS. El estudio presenta énfasis en el análisis vibracional por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) aplicado a polvos de cotiledón de cacao fino de aroma. Los resultados mostrados sobre pH y acidez fueron inversamente proporcional durante la fermentación con valores finales aproximados de 4.6 y 0.66 mL de NaOH/g. El contenido fenólico total (TPC) encontrado en el extracto acuoso se mantuvo con valores promedios de 7 mg EAG/100 g muestra liofilizada durante todo el proceso de fermentación. Sin embargo, el extracto hidroetanólico mostró valores de TPC de 60 mg EAG/100 g muestra liofilizada, durante el inicio de la fermentación, observándose un decremento a partir de las 48 h. El contenido de flavonoides totales (TFC) mostraron un incremento durante el proceso de fermentación a partir de las 72 h con valores en este punto 24 mg EQ/100 g de muestra liofilizada. La capacidad antioxidante evaluada por DPPH mostró un ligero incremento durante la fermentación con valores de 465 mM ET/g de muestra liofilizada, de igual manera el ensayo ABTS presentó un aumento en la capacidad antioxidante a las 72 h, exhibiendo valores de 64 mM ET/g de muestra liofilizada. El Análisis de Componentes Principales (ACP) aplicado a la matriz de datos de señales de vibración del FT-IR de fermentación mostró que los dos componentes principales describen el 88.9% de la variancia total. Tres grupos fueron definidos que consideran las 48 h, 72 h y 96-168 h por el ACP, mientras que el Análisis Discriminante por</p>

	<p>Mínimos Cuadrados Parciales (PLSDA) mostró mejor discriminación. El mapa de calor y el análisis de agrupamiento definieron los cambios y la formación de grupos. Los números de onda que pueden explicar la agrupación son 1646-1638 cm⁻¹, 1385-1250 cm⁻¹, y 2849, 2915, 1732, 1471, 1175, 1176 y 717 cm⁻¹. Por otro lado, el ACP aplicado a la matriz de datos de señales de vibración por FT IR del secado mostró cambios en señales en dos grupos a 3285 cm⁻¹ y 1800-400 cm⁻¹ que confirman las variaciones asociadas a los compuestos fenólicos como punto de inflexión a los 300 min.</p>
Palabras claves	<p>Cacao, Análisis de componentes principales, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier, contenido fenólico, fermentación, secado.</p>
Referencias citadas	<p>Saltini, R., Akkerman, R., & Frosch, S. (2013). Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. <i>Food Control</i>, 29, 167-187. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.054</p> <p>Delgado, J. D., Mandujano, J. I., Reategui, D., & Ordonez, E. S. (2018). Desarrollo de chocolate oscuro con nibs de cacao fermentado y no fermentado: Polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante y evaluación sensorial. <i>Scientia Agropecuaria</i>, 9(4), 543-550. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172018000400010&lng=pt&nrm=iso</p> <p>Domínguez-Pérez, L. A., Lagunes-Gálvez, L. M., Barajas-Fernández, J., Olán-Acosta, M.^a A., García-Alamilla, R., & García-Alamilla, P. (2019). Caracterización vibracional de grupos funcionales en granos de cacao durante el tostado usando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier. <i>Acta universitaria</i>, 29(e2172), 1-17. https://doi.org/10.15174/au.2019.2172</p>