



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**CARACTERIZACIÓN FENOLÓGICA DE OCHO CLONES DE
CACAO Y LA EVALUACIÓN DE SU CALIDAD
SENSORIAL**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**

PRESENTA

Q.F.B. DIANA LAURA RIVERA TORREZ

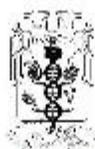
DIRECTOR

DR. PEDRO GARCIA ALAMILLA

CODIRECTOR

DRA. LAURA MERCEDES LAGUNES GÁLVEZ

VILLAHERMOSA TABASCO, ENERO 2022



DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS



JEFATURA DE POSGRADO

Villahermosa, Tabasco a 17 de diciembre de 2021

Of. No. 289/JP/2021

Asunto: Autorización de impresión de tesis

C. DIANA LAURA RIVERA TORREZ
EGRESADA DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
PRESENTE.

Por este conducto y de acuerdo con su solicitud de autorización de impresión de Tesis, informo a usted que en atención al dictamen de liberación de su comité sinodal y sobre la base del Artículo 26 del reglamento de Posgrado de esta Universidad, esta Dirección a mi cargo le autoriza la impresión de su trabajo recepcional bajo la modalidad de Tesis titulada: "Caracterización Fenológica de ocho Clones de Cacao y la Evaluación de su Calidad Sensorial".

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

ATENTAMENTE

Ph.D. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

c.c.p. Dr. Miguel Hernández Hernández- Jefe de Posgrado
RACG'MHH'aemh'

www.ujat.mx

CARTA DE SESIÓN DE DERECHOS

La que suscribe, **Diana Laura Rivera Torrez** del programa de estudios de posgrado de la Maestría en Ciencias Agroalimentarias, con número de matrícula 192C26004, adscrito a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, manifiesto ser autora intelectual y titular de los Derechos de Autor del presente Trabajo de Tesis denominada “**CARACTERIZACIÓN FENOLÓGICA DE OCHO CLONES DE CACAO Y LA EVALUACIÓN DE SU CALIDAD SENSORIAL**”, y autorizo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice el presente trabajo con fines Académicos y de Investigación ya sea de forma física o digital para su difusión y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la Ciudad de Villahermosa, Tabasco; a los 17 días del mes de enero del año 2022.

ATENTAMENTE



Q.F.B. Diana Laura Rivera Torrez

Matrícula: 192C26004

AGRADECIMIENTO

Al concejo nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero a través de la beca mensual con número: 882616.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por brindarme la oportunidad de estudiar en sus aulas, por las facilidades para la de este proyecto, en especial a la División Académica de Ciencias Agropecuarias y a la dirección de posgrado por su amable atención.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental (INIFAP) Huimanguillo, Tabasco, México, Por las facilidades proporcionadas en la recolección y el seguimiento en campo de los genotipos evaluados en esta investigación, bajo la dirección y liderazgo del Dr. Alfonso Azpeitia.

Al laboratorio de ingeniería de alimentos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias liderado por el Dr. Pedro García Alamilla y la Dra. Laura Lagunes Gálvez.

A los miembros de mi comité revisor, Dr. Cesar Márquez Quiroz, Dr. Rodolfo Osorio Osorio, Dr. Ulises López Noverola por sus valiosas aportaciones al desarrollo de este trabajo y el tiempo que dedicaron a mi formación académico.

A todos los que de alguna manera colaboraron y brindaron su apoyo en enseñarme algunas de las técnicas realizadas en este proyecto, gracias de antemano por su ayuda.

A Katia García, quien durante sus periodos de visita al laboratorio hizo muy ameno y divertido el día con sus pláticas, juegos y creaciones, de antemano muchas gracias amiguita.

Por último, quisiera agradecer de manera muy especial a mi director de Tesis el Dr. Pedro García Alamilla y mi codirectora la Dra. Laura Mercedes Lagunes Gálvez, el haberme aceptado como su estudiante, siempre recibí de Uds. Palabras sinceras, críticas constructivas y observaciones muy puntuales que, a lo largo de estos dos años, hicieron posible mi formación como investigadora, pero también como persona.

DEDICATORIAS

Al creador de la vida y autor de mi fortaleza que me ha abierto brechas, para realizar cada uno de mis sueños obteniendo siempre su respaldo; *DIOS todopoderoso*.

A mis padres: José Rivera y Zoila Torrez, por su apoyo incondicional, por enseñarme con amor los valores necesarios para integrarme a la sociedad y sembrar en mí el deseo de superación personal.

A mis hermanas: Emilia y Yessi, por todo el amor que he recibido, así como impregnarme de alegría cuando era necesario.

A mis abuelos por brindarme sus consejos, abrazos y dedicación.

A mis amigos y familiares que me han brindado su confianza y tiempo cada día que pasa.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	4
4. HIPÓTESIS	5
5. OBJETIVOS.....	5
5.1. Objetivo general	5
5.2. Objetivo específicos	5
6. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	6
6.1. Taxonomía y Morfología del cacao.....	6
6.2. Fenología reproductiva.....	7
6.3. Variación fenológica reproductiva en clones de cacao	8
6.4. Influencia genética en morfología de frutos del cacao.....	9
6.5. Importancia del cacao en México.....	10
6.6. Producción de cacao fino y de aroma en México y a nivel mundial.....	10
6.7. Precios del cacao en el mundo y en América Latina.....	11
6.8. Variedades del cacao	12
6.9. Aspectos de la calidad de cacao en granos	13
6.10. Características físicas y químicas en granos de cacao.....	14
6.11. Cualidades organolépticas del cacao	15
6.12. Composición química general	16
6.12.1. Polifenoles	16
6.12.2. Proteínas, lípidos, carbohidratos.....	16
6.13. Fermentación por adición de inóculos.....	17
6.14. Secado y tostado en granos de cacao.....	18
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
7.1. Área de estudio	19

7.2. Material vegetal	20
7.2.1. Selección y seguimiento del crecimiento de botones florales y frutos de cacao.	22
7.2.3. Selección y evaluación de mazorcas y granos.....	22
7.3. Condiciones experimentales del material vegetal	23
7.4. Análisis fisicoquímico	23
7.4.1. Determinación de humedad.....	23
7.4.2. pH de mucílago y cotiledón en granos frescos.....	23
7.4.3. Determinación de pH en cotiledón secos al sol y fermentados	23
7.4.4. Contenido de sólidos solubles	24
7.4.5. Determinación de acidez total	24
7.4.6. Determinación de extracto etéreo	24
7.4.7. Determinación del contenido fenólico total en extracto acuoso.....	24
7.4.8. Determinación del contenido de flavonoides	25
7.4.9. Índice de fermentación (índice de color).....	25
7.5. Análisis vibracional	25
7.6. Microfermentación por adición de inóculos.....	26
7.6.1. Materia prima	26
7.6.2. Adición de inóculos	26
7.7. Prueba de corte	27
7.8. Tostado	27
7.9. Licor de cacao.....	27
7.10. Evaluación sensorial	27
7.11. Análisis estadísticos.....	28
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
8.1. Desarrollo de los botones florales	31
8.2. Desarrollo de los frutos de cacao.....	35
8.3. Características morfológicas del fruto.....	41
8.4. Variables morfológicas cuantitativas en clones de cacao.....	43
8.5. Análisis fisicoquímicos	49
8.6. Prueba de corte	54
8.7. Caracterización por espectroscopia UV-Vis.....	57

8.8. Espectros infrarrojos.....	58
8.8.1. Interpretación de los espectros en cotiledón seco al sol.....	58
8.8.2. Interpretación de los espectros en la grasa de cacao	64
8.8.3. Interpretación de los espectros en cotiledón desgrasado (cocoa) al sol.	68
8.9. Análisis Sensorial de clones mexicanos	76
9. CONCLUSIONES.....	81
10. PERSPECTIVAS.....	82
11. REFERENCIAS	83
12. ANEXO	91
Anexo 1. Catalogo de clones mexicanos.....	91

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía del cacao	6
Cuadro 2. Fase fenológica reproductiva del cacao	8
Cuadro 3. Valores promedio de la fenología reproductiva de clones de cacao.....	9
Cuadro 4. Prueba de corte en granos de cacao	14
Cuadro 5. Composición proximal del porcentaje fisicoquímico en granos de cacao frescos.	15
Cuadro 6. Clones de cacao evaluados en el presente estudio	21
Cuadro 7. Variables cualitativas y cuantitativas de mazorcas maduras y granos de cacao.....	22
Cuadro 8. Media, desviación estándar, y coeficiente de variabilidad del diámetro y longitud del botón floral de ocho clones de cacao y el testigo Carmelo.	34
Cuadro 9. Media, desviación estándar, y coeficiente de variabilidad del diámetro y longitud del fruto de ocho clones de cacao y el testigo Carmelo.	38
Cuadro 10. Frecuencia de ocho variables cualitativas en frutos de clones de cacao.....	42
Cuadro 11. Promedio de variables morfológicas cuantitativas en frutos de cacao.	44
Cuadro 12. Correlación de variables morfológicas de clones de cacao y variedad Carmelo del jardín de germoplasma Inifap-Huimanguillo.....	45
Cuadro 13. Variables fisicoquímicas en cotiledones y en la pulpa fresca de ocho clones de cacao y el testigo Carmelo.....	49
Cuadro 14. Análisis fisicoquímicos en cotiledones secos al sol.....	52
Cuadro 15. Análisis fisicoquímicos en cotiledones fermentados.	53
Cuadro 17. Asignación de números de onda de los espectros de cotiledón fermentado y seco al sol obtenida de ocho clones y la variedad Carmelo.....	62
Cuadro 18. Asignación de números de onda de los espectros de grasa obtenida de ocho clones y la variedad Carmelo.....	66
Cuadro 19. Asignación de números de onda de los espectros de cocoa obtenida de ocho clones y la variedad Carmelo.....	72
Cuadro 20. Valores promedio de los descriptores sensoriales obtenidos para los licores de cacao de los clones.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen satelital de localización de las instalaciones del INIFAP-Campo experimental Huimanguillo y de las plantaciones de cacao (Fuente: Google Earth, 2021).....	19
Figura 2. Evolución del crecimiento fenológico del diámetro y longitud total del botón floral en ocho clones de cacao y la variedad testigo. Los valores promedios y la línea vertical indican \pm error estándar.	33
Figura 3. Evolución del crecimiento fenológico del diámetro y longitud total del fruto en ocho clones de cacao y la variedad testigo. Los valores promedios y la línea vertical indican \pm error estándar.....	37
Figura 4. Varianza acumulada (línea verde) e individual (azul) explicada por los componentes principales.....	47
Figura 5. Perfil de temperatura durante la microfermentación de clones mexicanos.....	54
Figura 6. Promedios del grado de fermentación en clones de cacao y variedad caramelo. Los valores promedios y la línea vertical indican \pm error estándar.	55
Figura 7. Barridos espectrales de Uv-Vis de 8 clones y variedad Carmelo antes (a) y después de la microfermentación dirigida (b).....	58
Figura 8. Espectros de FTIR con ATR de cotiledón seco al sol de 8 clones y la variedad Carmelo en la región 4000-400 cm^{-1}	60
Figura 9. a-b Espectro de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo: a) en la región 3800-2600 cm^{-1} , b) en la región 1800-400 cm^{-1}	60
Figura 10. Espectros de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo en la región 4000-400 cm^{-1}	65
Figura 11. Espectros de FTIR con ATR de cotiledón seco al sol de 8 clones y la variedad Carmelo en la región 4000-400 cm^{-1}	69
Figura 12. a-b. Espectro de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo: a) en la región 3800-2600 cm^{-1} , b) en la región 1800-400 cm^{-1}	70
Figura 13. Atributos sensoriales que caracterizan al licor de cacao obtenido por microfermentación de los clones mexicanos.....	79
Figura 14. Análisis de componentes principales (PCA) para las muestras de los clones (A): C1(Chak), C2(Canek), C3(Caehui), C4(Carmelo), C5(Chibolon), C6(Supremo), C7(Tabscoob) y C8 (K'in) y las carga de los descriptores (B).	80
Figura 15. Mapa de calor de los atributos sensoriales versus los clones mexicanos.....	80

RESUMEN

Las cruces y/o la generación de nuevos clones de *Theobroma cacao* L, tienen como finalidad proporcionar en los atributos sensoriales de calidad, producción y resistencia a enfermedades entre otras características definidas. El objetivo de la investigación fue evaluar la fenología reproductiva y calidad sensorial de ocho nuevos clones de cacao generados en el jardín de germoplasma del INIFAP Campo experimental Huimanguillo Tabasco *T. cacao* L., denominadas: Caehui, Canek, Chak, Chibolon, K'in, Olmea, Tabscoob, Supremo y un testigo denominado Carmelo. Con el fin de complementar el objetivo general se estableció la evaluación morfológica de frutos, fisicoquímica y espectroscópica por Uv-Vis y por infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) en granos microfermentados. Se evaluaron 19 descriptores morfológicos en frutos maduros, de acuerdo a la UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales *Theobroma cacao* L), (2011), así como su fenología floral (n=225). Los indicadores fisicoquímicos fueron: Humedad, pH, °Brix, acidez total, índice de fermentación (IF), contenido fenólico y flavonoides, barridos por Uv-Vis de 400 a 700 nm y análisis vibracional por FT-IR empleando una reflexión total atenuada (ATR). Se preparó un consorcio iniciador con *Saccharomyces cerevisiae* 120 (70 %), *Lactobacillus plantarum* 14 y *Lactobacillus fermentum* 16 (15%), *Acetobacter pasteurianus* 98 y *Acetobacter tropicalis* 61(15%), que se agregaron al inicio de la fermentación con punto final a las 120 h, con remoción cada 24 hrs para finalizar con la obtención de un licor de cacao para su evaluación sensorial por catadores especialistas. Se aplicó análisis de varianza y prueba de medias para variables fisicoquímicas, los espectros de FT-IR se normalizaron, aplicó la segunda derivada y el método de Savitsky Golay. Los resultados muestran valores del desarrollo de botones en un periodo de 35 días para ocho clones, Caehui presentó un periodo tardío de 42 días con crecimiento longitudinal y diámetro ecuatorial de 7.43 mm y 4.38 mm respectivamente. El diámetro final de los frutos estuvo comprendido entre el menor valor 38.5 mm correspondiente al clon Caehui y 101.2 mm en Tabscoob. Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en los indicadores fisicoquímicos entre todos los clones. Los °Brix oscilaron entre 15.00-17.06, pH entre 5.31-5.64 y acidez total menos de 3 ml (NaOH 0.1N) por gramo. El contenido fenólico y flavonoides totales en muestras sin fermentar oscilaron entre 25.83-82.29 mg GAE g⁻¹ y 10.43-18.50 mg EQ g⁻¹ para fermentadas fue de 25.47-194.60 mg GAE g⁻¹ y 1.03-6.27 mg EQ g⁻¹ respectivamente. El análisis por Uv-Vis definió bandas de absorción de antocianinas para todos los clones excepto la variedad Carmelo. Los cambios principales durante los tratamientos en la zona de la huella dactilar de intensidad media fueron 1418, 1269, 1214, 1198, 1062, 1035, 1016 y 688 cm⁻¹ que corresponde a fenoles, flavonoides, ésteres, cetonas, pirazinas, amidas, anillos de polisacáridos, proteínas y alcoholes secundarios. Se aplicó un Análisis de Componentes Principales (ACP) sobre las variables morfológicas que permitió establecer un 56.4 % de la variabilidad total a partir de los tres primeros componentes, destacando que la contribución principal es por el peso del fruto, diámetro del fruto, longitud del grano y diámetro o grosor del exocarpio. La microfermentación resultó ser una alternativa para evaluar el potencial de pequeños lotes, debido a que desarrollaron atributos sensoriales descriptivos y específicos de forma positiva. Los clones que destacan con potencial de características sensoriales corresponden a Caehui y Chibolon.

Palabras claves: *Biología floral; contenido fenólico; infrarrojo; clones; producción.*

ABSTRACT

From crosses and/or the generation of new clones of *Theobroma cacao* L., provide quality sensory attributes, beneficial production results, disease resistance and defined phenotypic characteristics. The objective of the research was evaluate the reproductive phenology of eight new cocoa clones generated in the germplasm garden of INIFAP Huimanguillo Tabasco experimental field *T. cacao* L., named: Caehui, Canek, Chak, Chibolon, K'in, Olmeca, Tabscoob, Supremo and a control called Carmelo. Nineteen morphological descriptors were evaluated in mature fruits, according to UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of *Theobroma cacao* L), (2011), as well as their floral phenology (n=225). The physicochemical indicators were: moisture, pH, °Brix, total acidity, fermentation index (FI), phenolic content and flavonoids, as well as a vibrational analysis with the aid of a Fourier transform infrared spectrophotometer (FT-IR) using an attenuated total reflection (ATR) with a resolution of 1 cm⁻¹ and 32 scan. A starter consortium was prepared with *Saccharomyces cerevisiae* 120 (70%), *Lactobacillus plantarum* 14 and *Lactobacillus fermentum* 16 (15%), *Acetobacter pasteurianus* 98 and *Acetobacter tropicalis* 61 (15%), which were added at the beginning of fermentation with an end point at 120 h, with stirring every 24 h to finish obtaining a cocoa liquor for sensory evaluation by specialized testers. Analysis of variance and test of means were applied for physicochemical variables, for the FT-IR spectra the data were analyzed in Origin 8.5.1 where they were normalized, the second derivative was applied, as well as the Savitsky Golay method. The results show values of bud development in a period of 35 days for eight clones, Caehui presented a late period of 42 days with longitudinal growth and equatorial diameter of 7.43 mm and 4.38 mm respectively. The final diameter of the fruits ranged from the lowest value of 38.5 mm corresponding to the Caehui clone to 101.2 mm in Tabscoob. In morphological variables, the Canek clone presented at least seven high values of the variables studied. Significant differences (p<0.05) were found in the physicochemical indicators among all clones. The °Brix ranged between 15.00-17.06, pH showed values between 5.31-5.64 and total acidity less than 3 ml (NaOH 0.1N) per gram. The phenolic content and total flavonoids in unfermented samples ranged from 25.83-82.29 mg GAE g⁻¹ and 10.43-18.50 mg EQ g⁻¹ for fermented was 25.47-194.60 mg GAE g⁻¹ and 1.03-6.27 mg EQ g⁻¹ respectively. The IF defined anthocyanin uptake bands for the clones, the main changes during the treatments in the fingerprint zone of medium intensity were 1418, 1269, 1214, 1198, 1062, 1035, 1016 and 688 cm⁻¹ corresponding to phenols, flavonoids, esters, ketones, pyrazines, amides, rings of polysaccharide rings, proteins and secondary alcohols. A principal Component Analysis (PCA) was applied on the morphological variables that allowed to establish 56.4% of the total variability from the first three components, highlighting that the main contribution is by the weight of the fruit, diameter of the fruit, length of the grain and diameter or thickness of the exocarp. Microfermentation turned out to be an alternative to evaluate the potential of small batches, because they developed descriptive and specific sensory attributes in a positive way. The clones that stand out with potential sensory characteristics were Caehui and Chibolon.

Key words: *Floral biology; phenolic content; infrared; clones; yield.*

1. INTRODUCCIÓN

Los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) son utilizados para la elaboración de diversos productos, entre los cuales destacan cocoa, manteca, licor y los chocolates. Existe un mercado muy amplio en el sector de los chocolates, donde el valor y la calidad sensorial del cacao son fundamentales. Se han observado diferencias cualitativas y cuantitativas en los indicadores físicos y composición química utilizadas como parámetros de calidad entre los que se puede mencionar el peso del grano, número de granos, contenido de proteína, azúcares, compuestos bioactivos (ácidos fenólicos y flavonoides), los cuales están relacionados con características del color, sabor, valor nutricional y funcional. Factores como la morfología, el ambiente, la genética de los mismos, técnicas de cultivo y los procesos poscosecha, influyen en la composición, debido a que se sintetizan agentes precursores del aroma y sabor típico del cacao (Carrillo et al., 2014). La morfología y el origen geográfico han sido parámetros determinantes en la descripción de los grupos genéticos de cacao, debido a esto, algunas investigaciones concuerdan que existen diferencias fenotípicas debido a la variabilidad genética en cacao. Las diferencias antes mencionadas se presentan en el desarrollo, producción y biología floral, por ello, la importancia de conocer los procesos biológicos y reproductivos en plantas de cacao (Anita-Sari & Susilo, 2015). La fenología reproductiva en cacao da inicio a partir de botones florales y culmina hasta la madurez de la mazorca y a partir de este punto donde se cosechan los granos se generan los índices de calidad de granos secos. Estos índices tienen relación con el grado de madurez del fruto y se ha demostrado que mazorcas inmaduras darán origen a granos con fermentación deficientes (Ortiz et al., 2009). A partir de la cosecha de los granos estos pueden ser fermentados o no, para seguir con el proceso de secado y estar listos para comercialización. La fermentación de cacao es un proceso endógeno complejo que induce cambios bioquímicos en los granos de cacao y permite el desarrollo de precursores de aroma, por lo que homogenizar este proceso mediante el uso de consorcios microbianos es una tendencia utilizada para mejores resultados de fermentación. Lo anterior, conlleva a una evaluación sensorial que permita comparar o generar información relevante sobre atributos destacables como función de consorcios iniciadores relacionados con la composición de origen o la genética.

Los estudios de investigación a través de los años, se han enfocado a evaluar el microbiota endógeno, caracterización física y química de los compuestos presentes en el cacao. Además de evaluar efectos de diferentes factores sobre la fermentación endógena, sin reportar en muchos casos el origen genético del material de estudio o estableciendo que la fuente son mezclas de forasteros y criollos. Las herramientas en los últimos años para evaluar los aspectos de química analítica se han refinado y se reportan trabajos actualmente de metabolómica a través de cromatografía de gases y líquidos acoplados con detectores de masas. Sin embargo, son pocos los estudios que consideran la trazabilidad del material genético desde la fenología hasta la evaluación sensorial, pasando por los diferentes eslabones de la cadena como la fermentación, el secado, el tostado y la elaboración del licor de cacao. Por lo que es necesario, evaluar con certeza desde el material de origen hasta el punto final de la cadena. Si se cuenta con herramientas de capacidad analítica es ideal, sin embargo, esto no siempre sucede, por lo que la caracterización de la fenología, la fisicoquímica y la evaluación sensorial son valiosas para establecer características sobresalientes en los cacaos. Dentro de las características fenológicas el seguimiento cinético es el estudio más utilizado hasta el punto de madurez en función del color. En cuanto a la cosecha de las mazorcas, la morfología cualitativa y cuantitativa del fruto es fundamental, debido a los indicadores pueden relacionarse no solamente a producción y rendimiento, sino a calidad de los granos procesados. En cuanto a las técnicas fisicoquímicas, diversas investigaciones se han enfocado a evaluar parámetros como acidez, pH, índice de fermentación, contenido fenólico y de flavonoides, entre otros, por su correlación con atributos sensoriales (Niemenak et al., 2006; Vázquez et al., 2016; Moreira et al., 2018; Avendaño et al., 2021; Yañez et al., 2021). Por otro lado, en función de encontrar la forma de diferenciar diferentes tipos de cacao se ha aplicado técnicas de caracterización como la espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) que demuestra ser una técnica viable para la predicción de parámetros de calidad incluyendo la composición química, así como los cambios vibracionales de los grupos funcionales. Por lo anterior, el objetivo general de este trabajo fue evaluar la fenología reproductiva de ocho clones de cacao más un clon testigo, su caracterización morfológica de los frutos, las variables fisicoquímicas y características sensoriales aplicando el uso de consorcios iniciadores durante la fermentación.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El mejoramiento genético se ha enfocado en muchas ocasiones a la tolerancia de enfermedades y no necesariamente a las características de calidad del fruto. Los centros de investigación en mejoramiento genético llevan a cabo estudios para mejorar las características de tolerancia y rendimiento en clones, sin embargo, por mucho tiempo se pasó por alto características distintivas de sabor y aroma exclusivos (en cuanto al origen y la calidad), con historia (que hable del productor y cómo se produce) y consistencia (que garantice la calidad, sabor y volumen) que definen un cacao de alta calidad. La calidad de los granos de cacao se debe en gran parte a la composición aromática siendo el genotipo un factor clave. Las investigaciones en esta área del conocimiento reportan variabilidad en la calidad sensorial de hasta 10 grupos genéticos (Portillo et al., 2009), debido al porcentaje de compuestos químicos de origen que impactan directamente en los atributos sensoriales del chocolate. Los compuestos volátiles son los responsables de generar el olor y aroma característico de cada producto, factores como la variedad genética, ambiente, técnicas de cultivo, procesos térmicos, bioquímicos y microbiológicos influyen en la síntesis de compuestos químicos en cotiledón. El cacao que ha sido objeto de diversos estudios, la mayoría encaminado al mejoramiento de las plantas. Una descripción de variables de medición relacionadas a la calidad, permite una matriz de información sobre la introducción de nuevos clones con características físicas y químicas sobresalientes (Engeseth & Pangan, 2018).

Existen procesos térmicos, bioquímicos y microbiológicos que se ven involucrados en las diferencias en el contenido de los compuestos volátiles y no volátiles, por lo que es necesario conocer desde el material de origen hasta la producción del licor o chocolate y la variabilidad de estos, con el fin de establecer criterios específicos de calidad (Sim et al., 2015).

Por lo anterior, la introducción de clones liberados de *T. cacao*, por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) campo experimental Huimanguillo, requieren de la caracterización desde la fenología, la morfología, la caracterización fisicoquímica en grano fermentado y seco, así como finalmente, la evaluación sensorial. Lo cual, permitirá establecer la trazabilidad de los clones hasta el punto final de la cadena y definir criterios dirigidos de calidad.

3. JUSTIFICACIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L) es un producto de origen mexicano que ha sido objeto de diversos estudios, la mayoría encaminado al mejoramiento de las plantas. El mejoramiento genético se ha enfocado en muchas ocasiones a la tolerancia de enfermedades y no necesariamente a las características de calidad del fruto. Hoy en día el INIFAP campo experimental Huimanguillo ha liberado ocho clones que presentan características agronómicas sobresalientes, sin embargo, aún quedan interrogantes por resolver debido a que muchas de las propiedades de cacao varían de acuerdo al tipo de cultivar, situación geográfica, tratamiento poscosecha, época de cosecha, composición química, entre otros.

De la literatura consultada, se ha podido comprobar que los estudios realizados referente a la fracción aromática se lleva a cabo en los procesos (fermentación, secado, tostado, temperado, etc.) asociadas a modelos relacionados a la morfología y la dinámica de crecimiento floral, así como la fracción de madurez apta de los clones seleccionados, con relación a su porcentaje de composición deseable, con potencial de calidad para los fines que se requiera. La evaluación clonal tiene la ventaja de que toda la variación genética permanece intacta (con excepción de la aparición de mutaciones) y se puede separar la varianza genética y la ambiental como componentes de la variación fenotípica.

Esta información será un apoyo para trabajos posteriores con lo cual se podría estandarizar los ciclos de producción reproductiva, madurez deseable de la mazorca con relación a su composición, un mejor tratamiento a sus procesos, y a su importancia genética, así como el aprovechamiento de dicho recurso bajo un enfoque sostenible y en beneficio de la sociedad.

4. HIPÓTESIS

La diferencia entre las principales variables físicas y químicas de los clones seleccionados contribuye al conocimiento de la dinámica del crecimiento del fruto, diferencias que se evidenciarán en las características fisicoquímicas de los granos de cacao.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el comportamiento fenológico reproductivo de ocho nuevos clones más un testigo, así como sus variables fisicoquímicas liberados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo experimental Huimanguillo, Tabasco.

5.2 Objetivos específicos

- Describir la dinámica de la biología floral y del desarrollo del fruto de clones de cacao hasta la madurez fisiológica.
- Caracterizar cualitativa y cuantitativamente la morfología de las mazorcas de los clones seleccionados.
- Determinar el contenido fisicoquímico, así como un análisis de caracterización por espectroscopia Infrarroja en granos de cacao.
- Evaluar los atributos sensoriales de los clones a partir de licor de cacao.

6. REVISIÓN DE LA LITERATURA

6.1. Taxonomía y Morfología del cacao

El cacao es una especie de la familia Malvacea (Argout et al., 2011). Categorías taxonómicas de *T. cacao* se muestran en el Cuadro 1. El cacao se originó como una especie de árbol en el bosque tropical lluvioso, cuyo origen se ubica en la cuenca amazónica superior debido a un estudio apoyado por hallazgos de una gran diversidad genética en cacaos provenientes de esa región, llevada a cabo mediante técnicas enzimáticas y de biología molecular (Bartley, 2005). El cacao es una especie diploide ($2n = 20$ cromosomas), de porte alto (8 – 20 m de altura) y de ciclo vegetativo perenne, crece y se desarrolla usualmente bajo sombra en los bosques tropicales húmedos de América del Sur.

Cuadro 1. Taxonomía del cacao

Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Familia:	Malvaceae
Subfamilia:	Byttnerioideae
Tribu:	Theobromeae
Género:	<i>Theobroma</i>
Especie:	<i>Theobroma cacao</i> L.

Fuente: Bartley, 2005.

La altura del árbol depende de factores ambientales que influyen en el crecimiento, un cultivo con alta luminosidad ocasiona que su tamaño se vea más reducido que con exceso de sombra (Dosert et al., 2012). Las partes morfológicas que caracterizan a un árbol de cacao son las raíces, tallo y ramas, la hoja, la inflorescencia, la flor, el fruto y la semilla. Debido a la importancia del fruto y semillas se describirá un poco sobre sus características.

El fruto: Es el resultado de la maduración del ovario de la flor fecundada. Dentro de su clasificación botánica el fruto de cacao es una drupa normalmente conocida como mazorca. Tanto el tamaño como la forma de los frutos varían ampliamente dependiendo de sus características genéticas, el medio ambiente donde crece y se desarrolla el árbol, así como el manejo en la plantación (De la Cruz et al., 2019).

La semilla: El fruto del cacao puede contener entre 20 a 60 semillas o almendras, cuyo tamaño y forma varían según el tipo genético, estas durante el proceso de poscosecha serán llamadas grano. La semilla de cacao es más bien un óvulo del interior del ovario de la flor fecundado y desarrollado, que luego de su desarrollo y maduración constituye la mazorca. En cacao tipo criollo las semillas tienen de 3 a 4 cm de largo, casi ovaladas, alargadas, de color blanco o rosado más bien violeta pálido. En el cacao Forastero, las semillas tienen de 2 a 3 cm de largo con formas aplanadas, redondeadas y de color violeta púrpura. El endosperma es sumamente reducido y toma la forma de una membrana conocida como testa, la cual es delgada y coriácea envuelta en su periferia por una pulpa ácida y azucarada que se llama mucílago (Avendaño et al., 2011).

6.2. Fenología reproductiva

Actualmente los estudios fenológicos han tomado una mayor importancia debido al proceso de cambios climatológicos, las emisiones, y el calentamiento global, del cual se ha observado que los procesos biológicos de supervivencia y éxito reproductivo en plantas, expresados en función de la fenología pueden mejorar la precisión de los modelos de predicción de la distribución futura de las especies (Márquez et al., 2010).

La población regional de cacao, a partir del fruto, se representa por los forasteros, criollos y trinitarios, mismos que presentan diferenciación en su desarrollo, producción, así como la biología floral que las constituye, esta presenta variaciones pequeñas en longitud y diámetro, en botón floral, así como el tiempo de mayor crecimiento. El cuadro 2 muestra las imágenes y características de la fase reproductiva del cacao.

Cuadro 2. Fase fenológica reproductiva del cacao

Botón floral	Floración	Fructificación	Madurez
			
<p>Los botones tienen cerca de un centímetro de tamaño. La flor inicia su proceso de apertura con el agrietamiento del botón floral en horas de la tarde durante el día.</p>	<p>La flor se abre de 20 a 25 días después de aparecer el diminuto botón floral, las flores permanecen abiertas por un corto tiempo.</p>	<p>El fruto crece, se anota la fase cuando el fruto alcanza 2 centímetros. El punto crítico es entre 15 días después del inicio (polinización) y los 2 meses de crecimiento del fruto.</p>	<p>Los frutos alcanzan su tamaño máximo y el color típico de la variedad. Deben pasar seis meses para que se convierta en una mazorca fisiológicamente madura.</p>

Imágenes y con información de Yzarra et al, 2011

6.3. Variación fenológica reproductiva en clones de cacao

El *T. cacao*, se reagrupa tres variedades genéticas que delimitan de manera respectiva sus características morfológicas y anatómicas: cacao criollo (*T. cacao* var. Criollo), forastero (*T. cacao* var. *Sphaerocarpum*) y *T. Cacao* var. trinitario.

La biología floral de los tres genotipos registra pequeñas variaciones en longitud y diámetro del botón floral, así como el tiempo de mayor crecimiento en materiales de cacao (López-Hernández et al., 2018).

Anita-Sari et al. (2015) destacan que la variación en la formación de flores, mazorcas y semillas se debe probablemente al factor genético de la planta y a las condiciones específicas del entorno, así mismo la alta variación genética se produjo en la madurez de la semilla y mazorcas, en el tamaño del grano y en el color de la mazorca. En el cuadro 3, se muestran •

estudios realizados a diferentes variedades de clones de cacao en fenología del botón floral y de la mazorca.

Cuadro 3. Valores promedio de la fenológica reproductiva de clones de cacao.

Clon	Genotipo	Lugar de estudio	LB (mm)	DB (mm)	DF/dda (mm)	LF/dda (mm)	MF/días	Autor- Año
Carmelo	Criollo	México, Chiapas	24.94	11.27	77.81	192.25	160	López-Hernández et al., 2018.
RIM-24,	Trinitario	México, Chiapas	29.57	13.66	82.15	234.40	140	López-Hernández et al., 2018.
CCN-51	Criollo	Perú	15.00	n/a	84	194	175	Castro-Muñoz et al., 2017.
ICS-6	n/a	Brasil	10.37	5.00	96	240	165	Ayllón-Marchán, 2000.

LB/ días: Longitud del botón floral; DB: Diámetro del botón floral; DF/dda: Diámetro del fruto con respecto días después de anthesis; LF/dda: Longitud del fruto con respecto días después de anthesis; MF/días: Maduración del fruto en días; mm: milímetros; n/a: no disponible.

6.4. Influencia genética en morfología de frutos del cacao

Algunas especies del cacao poseen importancia económica, las cuales tienen sus patrones de identificación, caracterización y evaluación. Para que estos protocolos se lleven a cabo se han realizado estudios de las características en el sentido de conocer la variabilidad de los caracteres dentro y entre plantas, después de estos se han seleccionado aquellas características cualitativas y cuantitativas que han resultado ser útiles para la descripción. Aunque existe poco conocimiento de información genética sobre la calidad del cacao, se estima que las características de sabor resultan de la interacción de numerosos genes (Teneda, 2016).

Enríquez, (1991) menciona que los órganos más importantes para la descripción morfológica son aquellos que están menos influenciados por el ambiente, los más importantes son: la flor y el fruto en importancia decreciente las hojas, tronco, ramas, raíces y los tejidos celulares.

Existen diferentes listas de descriptores morfológicos para la identificación y evaluación del germoplasma de cacao. Por ejemplo, el IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) que usa 65 descriptores, mientras Phillips y Enríquez (1988), propusieron una lista de 26 descriptores morfológicos y el Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) 24. Estos han sido empleados desde la década de los 40 para caracterizar el germoplasma de las colecciones en diferentes centros de investigación tales como el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), el International Cocoa Genebank Trinidad (ICGT), y el International Cocoa Germplasm Database (ICGD) entre otros.

El uso correcto de diversas aplicaciones biotecnológicas y agronómicas de estos datos generados, permiten llevar a cabo la explotación de dicho recurso bajo un enfoque sostenible y en beneficio de la sociedad, además de contribuir al conocimiento teórico-práctico de su naturaleza, al igual que un manejo integrado de las plagas de fitopatógenos que lo aquejan (Ricaño et al., 2018).

6.5. Importancia del cacao en México

El cacao es un cultivo con alta importancia cultural y económica, principalmente para la producción de chocolate. En México se cultivan 59,555 ha de *T. cacao*, con una producción de 28,473 toneladas y un rendimiento promedio de 486 kg ha⁻¹ (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2020); con un consumo per cápita anual de 0.5 kg. La producción nacional de cacao satisface únicamente el 41.2 % de la demanda interna lo que establece unas dependencias de importaciones provenientes de Ecuador, Costa de Marfil, República Dominicana, Colombia y Ghana. Las importaciones de cacao indican que en el periodo diciembre-marzo hay un mayor ingreso promedio de este producto al país, así como en el mes de julio. Se estima que para el 2030 el consumo aumentará de 65.15 a 77.86 millones de toneladas (Mt) y que la producción nacional se incrementará de 26.86 a 47.54 Mt (Planeación Agrícola Nacional 2017-2030).

6.6. Producción de cacao fino y de aroma en México y a nivel mundial

La International Cocoa Organización (ICCO) por sus siglas en inglés, define al cacao fino y de aroma como variedades latinoamericanas, sin embargo, la distinción de fino y de aroma involucra la parte del mercado de exportación debido a la demanda. Se reconocen 23 orígenes

de cacao fino de aroma (Ríos et al., 2017). El cacao fino de aroma es demandado sobre todo por chocolateros de Europa y EE UU, que buscan cacaos exclusivos (en cuanto al origen y la calidad), con historia (que hable del productor y cómo se produce) y consistencia (que garantice la calidad, sabor y volumen). No existe una definición única de ‘cacao fino de aroma’. Lo que ha llevado a la ICCO a crear un grupo de trabajo dentro del Comité para poder desarrollar de manera subjetiva criterios medibles para definirlo (Zurita, 2017).

Según datos de la ICCO, la producción mundial de cacao en grano fue de 4,652,000 toneladas en el período 2017-2018 y el 18% (836,000 ton) corresponde a América Latina, donde se encuentran cinco de los 10 principales productores de cacao a nivel mundial: Ecuador (286,600 ton), Brasil (204,200 ton), Perú (134,300 ton), República Dominicana (84,500 ton) y Colombia (55,000 ton). En total, la producción de estos cinco países suma 764,600 toneladas. Con excepción de Brasil y México, que importan casi en su totalidad para la industria chocolatera nacional, las exportaciones de cacao son muy representativas en la mayoría de los países de América Latina. En el 2017 se reportó una exportación de 1.032 Mt, además de generar \$ 866 (Miles de USD) en dichas exportaciones

Según datos de la ICCO 2016, países como Colombia, Bolivia y Costa Rica la variedad especial de cacao fino de aroma representa entre el 95% y el 100% de las exportaciones totales de cacao, mientras que para Ecuador, República Dominicana, Panamá y Perú representa del 50% al 75% de la exportación total de cacao en grano. Esto quiere decir que, en promedio, el 80% de las exportaciones de estos países corresponden a cacao fino de aroma, alrededor de 329,000 toneladas en 2018, cifra que representaría alrededor del 7% de la producción total mundial.

6.7. Precios del cacao en el mundo y en América Latina

El precio del cacao a nivel internacional se establece a partir de los precios diarios generados por las bolsas de futuro y opciones de Londres y Nueva York y dependen fundamentalmente de la relación entre la oferta global de cacao en términos del inventario disponible y la demanda generada por el consumo a través de la molienda internacional (Arvelo, 2017).

Durante los últimos 15 años los precios han mantenido su tendencia ascendente. En el año 2000 se registraron los menores precios históricos del cacao a nivel internacional (inferiores a

los 1 000 USD\$/TM), desde ese año los precios han repuntado hasta ubicarse en promedios superiores a los \$ 2 200 USD por tonelada para los últimos 5 años (Arvelo, 2017).

Aunque no mantienen un patrón definido se puede indicar que, durante los últimos 3 años, los cacaos con certificaciones y con denominación de origen requeridos para mercados europeos han logrado precios superiores al precio internacional en un rango del 4% al 20%; el cacao fino y de aroma ha alcanzado sobrepuestos superiores al 23% del precio internacional y se estiman precios premium en cacaos finos exclusivos superiores al 66% del precio internacional (Arvelo, 2017).

6.8. Variedades del cacao

De acuerdo a su forma *T. cacao*, se clasifica como: criollos, forasteros y trinitarios, sin embargo, esta clasificación no describe suficientemente la variabilidad de la especie (Dostert et al., 2012).

Criollo: Crecen bajo condiciones semi-silvestre y se distribuyen desde México hasta Colombia y Venezuela. Son árboles poco vigorosos, de lento crecimiento y más susceptibles a las enfermedades e insectos que los Forasteros, y se caracterizan por su alta diversidad morfológica. Estudios destacan que las características de los cotiledones de esta especie son de color violeta pálido y pigmentación blanca, estaminodios de color rojo pálido, así mismo las mazorcas tienen forma alargada con punta muy acentuada en el extremo inferior, marcados con diez surcos muy profundos o a veces en grupos alternos cinco, el pericarpio es rugoso y delgado, el mesocarpio poco lignificado. Siendo estas de color rojo o verde en estado inmaduro, tornándose amarillas y anaranjado rojizas cuando están maduras (Ríos et al., 2017).

El grupo genético Criollo, clasificado como subespecie cacao, y del cual se obtiene el cacao “fino” contribuye a la producción mundial con el 5% (Afoakwa et al., 2008).

Forastero: El árbol del tipo forastero por lo general es vigoroso, con ramificaciones lateralmente y en algunos casos su follaje decumbente. El fruto de los forasteros o amazónicos tiende a ser de apariencia amelonada, predominantemente liso con poca rugosidad y surcos poco profundos, cuya cáscara a menudo es bastante gruesa. El tamaño del grano es más pequeño que el de los tipos criollos y algunos de ellos producen la almendra más pequeña posible para el cacao (Dostert et al., 2012).

El color de la almendra es violeta oscuro, de mucílago ácido. El chocolate que proviene de este tipo de cacao, es de sabor amargo y aroma menos agradable y consistente. Dentro de este tipo de cacao, se clasifican los originarios del Amazonas que hoy se producen en Trinidad, Ecuador, África Occidental, Asia y Brasil; por lo que este grupo es el que domina el mercado mundial (Ríos et al., 2017).

Trinitario: Este es el resultado del cruzamiento sexual de dos árboles; usualmente dirigido por el hombre luego de un proceso de selección, tratando de generar determinadas características deseables. El cruzamiento en términos generales se hace entre clones, con condiciones opuestas a fin de mejorar aspectos de interés como la calidad, productividad, precocidad, respuesta a plagas y enfermedades (CIAT, 2019).

La hibridación se dió de manera espontánea, en la isla antillana de Trinidad donde el criollo que fue llevado en un principio se cruzó con el forastero, dando origen a un tipo intermedio que, si bien fue catalogado como forastero, su calidad resultó superior a la de éste.

6.9. Aspectos de la calidad de cacao en granos

La calidad se define por un conjunto de cualidades físicas, químicas e higiénicas, además de las percibidas por los sentidos (cualidades sensoriales): sabor y olor de los granos (Quintanilla, 2017). Los granos sufren una transformación debido a los procesos bioquímicos involucrados, durante la fermentación, secado y el tostado. En referencia a calidad de sabor y aroma está completamente ligado al origen de las almendras, tratamientos óptimos de post-cosecha (fermentado y secado), tostado y de acuerdo al aroma; es la suma de una fracción genética presente en la almendra, una fracción desarrollada durante la fermentación y secado y otra fracción formada en el proceso de tostado (Cros, 2000). El criterio del sabor incluye la intensidad del sabor a cacao o chocolate, junto con otras notas aromáticas secundarias, así como con la ausencia de sabores indeseados (CAOBISCO, 2015). La norma ISO 1114 para la prueba de corte dispone que se toma una muestra, de acuerdo con la norma y que se hace un corte longitudinal por la parte central, examinándose visualmente las dos mitades de cada grano a la luz diurna o bajo iluminación artificial equivalente (Cuadro 4) La ISO define nueve categorías de defectos: algunos son atribuibles a una fermentación inadecuada (granos pizarrosos y violetas/morados), mientras que otros son indicadores de niveles elevados de AGL, sabor

inadecuado y/u otros contaminantes (granos aglomerados, granos rotos, granos ahumados, granos mohosos, granos germinados, granos planos, granos dañados por insectos/infestados).

Cuadro 4. Prueba de corte en granos de cacao

<p>Grano parcialmente fermentado (Ligeramente violeta)</p>	
<p>Grano bien fermentado: (color café, rojizos olor agradable, grietas o surcos bien definidos)</p>	
<p>Grano sobre fermentado</p>	

Fuente: Aguilar, (2016).

6.10. Características físicas y químicas en granos de cacao

Algunos parámetros que se toman en consideración a las características físicas son proporción de granos defectuosos, tamaño de los granos y al grado de fermentación. Un grano de cacao debe pesar al menos 1 g. Los granos más pequeños tienen un mayor contenido de cáscara, y por lo tanto un grano descortezado de menor tamaño, que a su vez puede contener un menor porcentaje de grasa (Quintanilla, 2017). A continuación, se presentan unos datos aproximados con respecto a la composición física y química en granos (Cuadro 5). Al fermentar los granos, el color cambia a una tonalidad parda, que difiere entre los tipos de variedades (Lemus et al., 2002), el cual es producido por la hidrólisis de las antocianinas y la posterior oxidación de las agliconas resultantes a compuestos quinónicos, los cuales contribuyen al color pardo característico de un cacao fermentado (Álvarez et al., 2010).

En el secado el color varía, debido a la formación de los pigmentos marrones producidos por las reacciones de condensación proteína-quinona ocurridas después de la oxidación enzimática de los polifenoles, como en el caso de las leucocianidinas y la epicatequina. Las normas de clasificación del cacao para su comercialización o distribución se fundamentan principalmente en el grado de fermentación, secado uniforme de los granos, contenido de humedad que no exceda del 8% y no contener almendras con olores y sabores extraños y sin ninguna traza de adulteración (Reyes et al., 2000).

Cuadro 5. Composición proximal del porcentaje fisicoquímico en granos de cacaos frescos.

Composición (%)	Variedad		
	Criollo	Forastero	Trinitario
Humedad	30.36	30.87	30.86
Acidez Titulable	0.31	0.31	0.35
Taninos	0.68	0.80	0.72
Azúcares totales	2.02	2.24	2.90
Proteínas	7.05	7.07	7.62
Cenizas	3.67	3.59	3.63
Grasas	50.99	49.52	52.24

Fuente: Acosta et al, (2001).

6.11. Cualidades organolépticas del cacao

Es difícil definir propiedades de sabor y aroma del cacao en las etapas de producción y comercialización, desde la cosecha hasta la producción de chocolate, por lo cual, se requiere distinguir las características de aroma y sabor del cacao hasta la etapa previa de la producción de chocolate, como una herramienta de control de calidad.

Se ha encontrado que los aromas y sabores específicos del cacao, son generados por procesos enzimáticos que se producen durante la poscosecha de los granos, donde una sucesión de microorganismos contribuye con el desarrollo de los compuestos de aroma y sabor o sus precursores (Ramos et al., 2013; Afoakwa et al., 2008). Del mismo modo, una gran cantidad de estos compuestos se desarrollan gracias a las condiciones de pH y temperatura que se generan en el seno de la fermentación; posteriormente estos componentes son desarrollados durante el proceso de tostado que llevarían a un incremento en su concentración en esta etapa (Brunetto et al., 2009) y al mismo tiempo se detienen actividades enzimáticas importantes.

Los cacao finos que tienen sabores y aromas distintivos representan el 5 % de la producción mundial (Sánchez, 2017). Se utilizan en la elaboración de chocolates negros o chocolates tipo gourmet porque les confieren a los productos características de aroma y sabor especiales, existe una clasificación de los sabores los cuales lo representan de la siguiente manera; sabores básicos, específicos y adquiridos. A continuación, se presentan datos de algunos nombres químicos de sustancias aromáticas contenidas en el cacao (Cuadro 6).

Cuadro 6. Aromas relacionados a sustancias presentes en el grano de cacao fermentado y secado al sol.

Aromas	Sustancias
Chocolate	2- metilbutanal, 3-metibutanal, furaneol, 2-fenilatenol, trimetilpirazina, tetrametilpirazina, 2-etil-3,5-dimetilpirazina.
Flor de cacao	Ácido fenilacético, 2-feniletanol, tetrametilpirazina, ácido acético.
Nuez	2-carboxaldehído
Coco	Ácido dehidromevalónico (5,6-dihidro-4-metil-(2H)-piran-2-ona).
Naranja	Benzaldehído, enilacetaldehído, benzotiazol.

Fuente: Caballero et al. (2014)

6.12 Composición química general

6.12.1. Polifenoles

Los grupos de polifenoles más abundantes en cacao son metabolitos tipo flavonoides, especialmente tres grupos básicos con un núcleo común tipo flavan-3-ol: catequinas (37%), antocianinas (4%) y proantocianidinas (58%). La principal catequina es epicatequina que representa cerca del 30% del contenido de polifenoles del grano (Cádiz-Gurrea et al., 2014). Los polifenoles son producidos en el metabolismo secundario de las plantas y cumplen un papel importante en los procesos de maduración, mecanismos de defensa y caracterización sensorial de los productos alimenticios derivados de las plantas (Pal, 2013).

6.12.2. Proteínas, Lípidos, Carbohidratos

Los cotiledones contienen como proteínas de almacenamiento especies únicas de albúmina y globulina. La globulina se degrada durante la fermentación, lo que no sucede con la albúmina. La degradación de la proteína del cotiledón en péptidos y aminoácidos libres juegan un papel de importancia para la formación del sabor (Afoakwa et al., 2008).

La grasa de cacao contiene predominantemente triglicéridos de ácidos grasos consistentes de ácidos oleico 37.3%, esteárico 34.4%, y palmítico 26,2% (Salinas et al., 2012).

En granos frescos de cacao, el principal constituyente es la sacarosa, encontrándose en menor proporción azúcares reductores (fructosa y glucosa), además de trazas de pentitol, manitol, sorbosa e inositol. Los azúcares presentes están en función de los factores ambientales y genéticos de cada región (García, 2000). El contenido de azúcares en la pulpa favorece el desarrollo de levaduras durante la fermentación, las cuales promueven la fermentación alcohólica, con un consecuente aumento de la acidez, tal como lo señalan Nielsen et al. (2007).

6.13. Fermentación por adición de inóculos

La fermentación comienza cuando los azúcares simples son metabolizados por levaduras y bacterias lácticas bajo condiciones anaeróbicas, para producir etanol y ácido láctico respectivamente (Romero et al., 2011). Se ha mejorado la fermentación con la adición de inóculos, debido a la importancia de la aportación de cada uno de los microorganismos involucrados. Se sabe que cerca de 50 especies comunes de microorganismos durante la fermentación natural pueden ser sustituidas por una de microorganismos de cada grupo fisiológico. Al comienzo de la fermentación, las levaduras son los microorganismos que degradan los azúcares presentes en el mucílago del cacao para formación del alcohol en condiciones de anaerobiosis. En esta primera etapa de fermentación también se encuentran bacterias lácticas que pueden llegar a producir ácido láctico en mayor o en menor medida dependiendo de las condiciones de la fermentación. Posteriormente a la fase anaeróbica, el alcohol es transformado en ácido acético por bacterias aeróbicas, con abundante desprendimiento de calor, lo cual eleva la temperatura en la masa fermentante (Jespersen et al., 2005), donde el embrión muere bajo la acción conjunta de la penetración de los ácidos orgánicos, la reducción de la concentración de oxígeno y la alta temperatura (≤ 50 °C). Los ácidos, principalmente el acético, reducen el pH del cotiledón y provocan la ruptura de sus membranas celulares permitiendo el contacto entre sustancias almacenadas (proteínas, carbohidratos, polifenoles, triglicéridos etc.) (Biehl et al., 1985).

6.14. Secado y tostado en granos de cacao

El objetivo primordial del secado es que el cacao termine de desarrollar el sabor a chocolate que inició durante la fermentación. El secado puede realizarse en forma natural aprovechando el calor producido por rayos solares y requiere de 8 a 10 días según las condiciones climáticas además es un método simple, económico y que permite el manejo de pequeñas cantidades (Nogales et al., 2006).

Los precursores de aromas desarrollados durante la fermentación interactúan en el proceso de tostado para producir el deseado sabor a chocolate. El tostado es considerado como la operación tecnológica más importante en el procesamiento de los granos de cacao, donde los precursores de aroma desarrollados durante la fermentación se expresan. Por su parte Pinoargote et al. (2013) describen que optimizar las condiciones de tostado de cacao significa desenvolver al máximo el potencial aromático de las almendras. Zapata et al. (2015) menciona que, durante el tostado, se van produciendo compuestos derivados de las reacciones entre azúcares reductores y aminoácidos, conocidas comúnmente como las reacciones de Maillard o pardeamiento no enzimático, de estas reacciones se van generando intermediarios y pigmentos marrones (melanoidinas); los cuales contribuyen a la actividad antioxidante, sabor y color del grano tostado.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Área de estudio

Los estudios de fenología y colecta de muestras durante la investigación se llevaron a cabo en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Huimanguillo, Tabasco, en el área del jardín del germoplasma de cacao donde se encuentran situados los genotipos evaluados en esta investigación. Este campo experimental se localiza en el estado de Tabasco, México, en el km 1 de la carretera Huimanguillo-Cárdenas, sus coordenadas son 17°51'04.52" N y 93°23'46.96" O, a una elevación de 20 msnm (Fig. 1). Los árboles de cacao fueron plantados en dos hectáreas con una edad promedio de 20 años. La ubicación de la plantación cuenta con clima cálido húmedo, con suelos tipos Fluvisoles, con rangos de temperatura anual de 27-36°C y una precipitación pluvial de 2,832.8 mm reportada durante el periodo de la investigación (INEGI, 2018; Barrón et al., 2021).

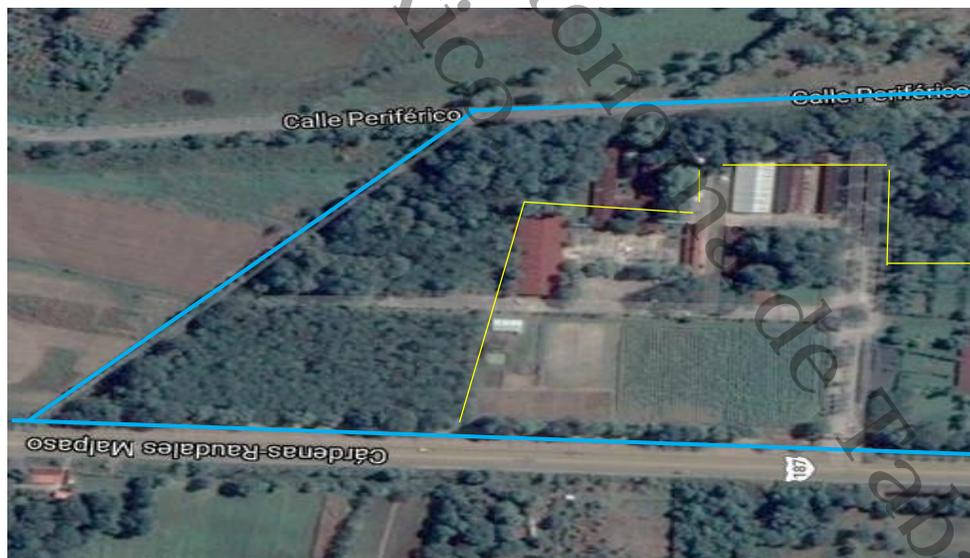


Figura 1. Imagen satelital de localización de las instalaciones del INIFAP-Campo experimental Huimanguillo y de las plantaciones de cacao (Fuente: Google Earth, 2021)

7.2. Material vegetal y lugar de estudio

Se evaluaron ocho clones de cacao establecidas por el Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) campo experimental Huimanguillo, Tabasco (Cuadro 7)

Los análisis morfológicos, fisicoquímicos, pruebas de fermentación dirigidas, así como caracterización por espectroscopia de Ultravioleta-Visible (Uv-vis), espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), y la preparación de licor de cacao, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Procesos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Cuadro 7. Clones de cacao evaluados en el presente estudio

Genotipo	Características				
	Índice de mazorca	No. de frutos /árbol	Árboles /ha	Potencial de producción kg/ha	% de resistencia a moniliasis en campo.
1. <i>UF613 X IMC67</i> - Costa rica X Perú- Nombre de línea genética: Caehui - Origen: Tabasco, México.	18.5	38	1,100	2,259.45	90
2. <i>RIM 75 X SPA 9</i> .- México X Colombia- Nombre de línea Genética: Canek - Origen: Tabasco, México.	19.37	42	1,111	2,408.98	80
3. <i>RIM 76A X EET 48</i> .-México X Ecuador- Nombre de línea Genética: Chak - Origen: Tabasco, México.	16.3	35	1,111	2,385.6	84
4. <i>UF 613 X Pound 7</i> - Costa Rica X Perú- Nombre de línea Genética: Chibolón -Origen: Tabasco, México.	16.3	26	1,100	1,755.0	75
5. <i>CC 226 X IMC 67</i> .- Costa Rica X Perú- Nombre de línea - Genética: K'in - Origen: Tabasco, México.	14.3	28	1,100	2,154.0	60
6. <i>RIM 76A X EET400</i> - México X Ecuador- Nombre de línea Genética: Olmeca - Origen: Tabasco, México	16	46	1,111	3,194	86
7. <i>Olmeca (RIM 76A X EET48) x PA169</i> - (México x Ecuador) Perú- Nombre de línea Genética: Tabscoob - Origen: Tabasco, México.	17.75	48	1,111	3,004.4	99
8. <i>UF 613 X IMC 67</i> - Costa rica X Perú- Nombre de línea genética: Supremo - Origen: Tabasco, México.	19.38	40	1,100	2,270.0	72
9. (Criollo) Carmelo	30	46	1,111	1,522.77	50

Fuente: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Huimanguillo Tabasco.

7.2.1. Selección y seguimiento del crecimiento de botones florales y frutos de cacao.

Para la investigación de carácter descriptivo sobre la biología floral se consideraron 5 árboles de cada variedad de las cuales se identificaron al azar 5 botones florales por planta sin considerar la posición en el árbol (n=225 botones florales entre los nueve genotipos representativos). La medición de la longitud del botón y diámetro del botón floral se realizó en un lapso de tiempo de 30-35 días desde que el botón floral nace hasta que ocurre la apertura del mismo con ayuda de un vernier digital (ISIZE, 0-150 mm, México). A partir de la formación del chilillo se evaluó cada 15 días la morfología del fruto hasta alcanzar la madurez fisiológica, de igual forma se realizó la medición de longitud del fruto y diámetro (Enríquez, 2004).

7.2.3. Selección y evaluación de mazorcas y granos

De los clones seleccionados se caracterizaron mazorcas maduras por variedad, para evaluar variables cualitativas y cuantitativas, las cuales son tomadas del manual de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV, 2011).

Cuadro 8. Variables cualitativas y cuantitativas en mazorcas maduras y granos de cacao.

Variables Cualitativas	Variables Cuantitativas
1. Forma de la mazorca	1. Peso de la mazorca
2. Constricción basal	2. Número de semillas
3. Forma del ápice	3. Peso de las semillas
4. Superficie	4. Longitud de la mazorca
5. Profundidad de los surcos	5. Diámetro de la mazorca
6. Color de la mazorca	6. Grosor del exocarpio
7. Color de la pulpa	7. Longitud de la semilla
8. Forma en sección longitudinal de la semilla	8. Diámetro de la semilla
9. Color de la semilla.	9. Relación longitud/anchura de la semilla
	10. Grosor de la semilla

7.3. Condiciones experimentales del material vegetal

El material vegetal se dividió en dos secciones para su posterior tratamiento, para el primer análisis se tomaron mazorcas maduras, de las cuales los granos fueron extraídos y secos al sol para su posterior desgrasado, y realizar los análisis fisicoquímicos. Para la microfermentación se utilizaron granos en baba de mazorcas maduras.

7.4. Análisis fisicoquímico

7.4.1. Determinación de humedad

Se tomaron 10 g de muestra de granos secos al sol, los cuales fueron colocados en cápsulas a peso constante, posteriormente la muestra se colocó en un Horno (®FELISA, FE-291, México), a una temperatura de 105 °C, durante 24 horas. Los resultados se reportan como contenido de humedad en base seca (AOAC 2015, 934.01).

7.4.2. pH de mucílago y cotiledón en granos frescos.

Se seleccionaron aproximadamente 10 granos frescos para la determinación del pH en mucílago, los cuales se diluyeron en 100 ml de agua destilada en ebullición, se agitaron (Thermo scientific-Orbit Shaker, 2346, China) a 200 rpm durante 15 minutos, posteriormente la muestra se filtró y se realizó la medición con ayuda de un potenciómetro (Hanna Instruments, P201, Rumania).

Para la determinación de pH en cotiledón, se tomaron 10 g, los cuales se trituraron en una licuadora y posteriormente se diluyeron en 100 ml de agua destilada en ebullición, posteriormente durante 15 minutos se llevaron a agitación (Thermo scientific-Orbit Shaker, 2346, China), la muestra obtenida se filtró y se realizó la medición en un potenciómetro (Hanna Instruments, P201, Rumania). Todas las mediciones se expresan directamente de la lectura del potenciómetro previamente calibrado con buffer de 4.0 y 7.0.

7.4.3. Determinación de pH en cotiledón secos al sol y fermentados

Se tomaron aproximadamente 10 g de cotiledón seco, tamizados a un tamaño de partícula 0.42 mm (Montinox, No. 40, México), diluidos inmediatamente en 100 ml de H₂O destilada en ebullición y colocados en agitación (Thermo scientific-Orbit Shaker, 2346, China), durante 15

minutos, y se realiza la medición con un potenciómetro (Hanna Instruments, P201, Rumania). Todas las mediciones se expresan directamente de la lectura del potenciómetro previamente calibrado con las soluciones buffer de 4.0 y 7.0 (Senanayake et al., 1997).

7.4.4. Contenido de sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles (°Brix) del mucílago de los granos, se determinó con un refractómetro portátil (MILWAUKEE -MA871) con corrección directa de la lectura de los grados brix.

7.4.5. Determinación de acidez total

La acidez total se realizó de acuerdo con Pontillon (1998) con algunas modificaciones. Se tomaron 10 g de muestra del cotiledón seco pulverizado a un tamaño de partícula 0.42 mm y se aforó a 100 ml con agua destilada. Se agitaron (Thermo scientific- Orbit Shaker, 2346, China) a 200 rpm durante una hora y se realizó una titulación potenciométrica con NaOH al 0.1 N hasta que el pH alcanzó un valor de 8.3. Los resultados se expresan en ml de Hidróxido de Sodio (NaOH) gastados para neutralizar la acidez libre contenida en un gramo de cacao (ml de NaOH 0.1 N / g de cotiledón).

7.4.6. Determinación de extracto etéreo

Una muestra de 5 g de polvo de cacao seco, molido, y tamizado a tamaño de partícula 0.42 mm (Montinox, No. 40, México), se depositaron en un cartucho de papel filtro ®Whatman™ grado No.42 sellado, para posteriormente colocarlo dentro de un dedal de extracción de celulosa con espesor 33 mm x 80 mm. El dedal fue colocado dentro de una unidad de reflujo del sistema Soxhlet y se utilizó como solvente éter de petróleo. El proceso de extracción se realizó con un tiempo aproximado de 18 horas (AOAC 1990, 920.39).

7.4.7 Determinación del contenido fenólico total en extracto acuoso

Los fenoles se determinaron por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu's reportado por Singleton y Rossi (1965) modificado por Othman et al. (2007), para un extracto acuoso. Una muestra de 200 mg de cotiledón desgrasado a tamaño de partícula de 420 micrones, fueron extraídos con 2 ml de agua destilada a temperatura ambiente por 2 horas utilizando un agitador orbital a 200 rpm. La mezcla se centrifugó (HERMLE, Z236K, Alemania) a 1000 rpm durante

15 min. El sobrenadante (200 ml) se mezcló con 1.5 ml de Folin-Ciocalteu's, seguido de la adición de 1.5 ml de bicarbonato de sodio al 0.55 M. Después de 90 min, la absorbancia a 725 nm se leyó en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, UV-Vis Genesys 10S, China). La curva de calibración se realizó en un rango de 0 – 0.2 mg GAE g⁻¹ (equivalentes de ácido gálico).

7.4.8. Determinación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides fue determinado utilizando el método descrito por Zhishen et al. (1999) con ligeras modificaciones. En un tubo de ensayo, una alícuota de 0.20 mL del extracto fue mezclado con 0.80 mL de agua destilada y 0.15 mL de solución de nitrito de sodio al 5%. Después de 5 min, 0.15 mL de solución de cloruro de aluminio al 10 % fueron adicionados. A los 6 min, 2.0 mL de hidróxido de sodio al 4% fue adicionado a la mezcla. Inmediatamente, la solución fue completada hasta 5 mL con agua destilada. La absorbancia de la mezcla final fue determinada a 410 nm contra un blanco de la reacción en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, UV-Vis Genesys 10S, china). Se preparó una curva de calibración con Quercetina, a partir de una solución de trabajo de 100 µg/mL (0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0 mL). El contenido de flavonoides de los extractos fue expresado como mg equivalentes a Quercetina /g de muestra (mg EQ g⁻¹).

7.4.9. Índice de fermentación (índice de color)

El grado de fermentación se estimó en los granos secos al sol sin fermentar y microfermentados. Se pesó 500 mg de cotiledón seco desgrasado bajo el sistema Soxhlet por el método 920.39 de la AOAC (1990), para después solubilizar en un matraz cónico de 125 ml con 50 ml de MeOH - HCL (97:3 v/v). La mezcla se almacenó a 8 ± 2 ° C durante 16-18 horas. La mezcla se filtró en papel (Whatman No. 1) y se tomaron 4 ml de filtrado hasta completar 25 ml con MeOH - HCL (97: 3 v/v), se tomó lectura de absorbancia a 460 nm y 530 nm de esta solución en un espectrofotómetro Uv-Vis (Thermo Scientific, UV-Vis Genesys 10 S, China). El índice de fermentación se calculó como la relación de la absorbancia a 460 nm y 530 nm (FI = A460 nm / A530 nm).

7.5. Análisis vibracional

El análisis vibracional se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) (Perkin Elmer, Frontier, EUA), empleando una reflexión total atenuada (ATR) de diamante controlado con software para Windows©., en el intervalo de número

de onda de 400 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 1 cm^{-1} y 32 scan, por espectro se toman aproximadamente 1 g de muestra antes y después de la fermentación inducida por inóculos, se analizaron cotiledón seco al sol, muestra desgrasada, y la grasa de los ocho materiales a evaluar más el clon testigo. Con los espectros obtenidos se realizó un pretratamiento de corrección de línea base y de suavización en el software Spectrum del espectrofotómetro FT IR Perkin-Elmer (Perkin-Elmer). Los datos así generados se trataron posteriormente en Origin 8.5.1 donde se normalizaron, se aplicó la segunda derivada, así como método de Savitsky Golay.

7.6. Microfermentación por adición de inóculos

Los análisis de experimentación se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Procesos de la Universidad Juárez Autónoma De Tabasco en la División Académica de Ciencias Agropecuarias, ubicada en Carretera Villahermosa-Teapa Km 25, Ranchería La Huasteca 2da sección, 86298 Villahermosa, Tabasco México.

7.6.1 Materia prima

Los granos de cacao utilizados en este proyecto, fueron proporcionados y recolectados en el Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) campo experimental Huimanguillo Tabasco. Se obtuvieron 2 kg de semillas de cacao en baba, el proceso de manipulación de las muestras se realizó bajo condiciones de laboratorio.

7.6.2. Adición de inóculos

Se seleccionaron cepas de *S. cerevisiae* 120 (70%), *L. plantarum* 14, *L. fermentum* 16 (15%), *A. pasteurianus* 98 y *A. tropicalis* 61 (15%), aislados e identificados previamente en otro estudio. Se obtuvo pellet celular del crecimiento de las cepas mediante el uso de medios de cultivos: MRS (Man Rogosa Shape) para bacterias lácticas, YPD (Yeast Extract-Peptide-Dextrose) Levaduras, y CARR (Carr medium) para bacterias acéticas, posteriormente se incubó a 37 °C durante 24 horas en tubos de ensaye esterilizados. Los pellets celulares se obtuvieron por lavados con una solución de NaCl al 80% y se eliminó el exceso de medio de cultivo, así como el almacenamiento para cada una de las cepas.

Los granos con mucílago se microfermentaron por 120 horas (5 d) en cajas de térmicas (largo 23 cm x ancho 15 cm x alto 15 cm). Se realizó la medición de temperatura al inicio de la microfermentación y cada 24 horas con ayuda de un termómetro (® FLUKE -189 TRUE RMS MULTIMETER). La masa de cacao se removió cada 24 horas para oxigenarla y

homogeneizarla. Después de la fermentación, los granos se secaron por 96 horas (4 d) por exposición solar durante intervalos de tiempos según las horas luz, removiéndolo por periodos continuos cada hora durante los dos primeros días y cada cuatro hasta el final del proceso.

7.7. Prueba de corte

Para determinar si la fermentación se llevó a cabo durante el proceso antes mencionado, se realizó la “prueba de corte” utilizada a nivel mundial para evaluar el grado de fermentación del cacao. Esta prueba se basa en la observación del color interno del grano de cacao. Se aplicó la norma técnica internacional por sus siglas (NTP–ISO 11141), a granos secos. Incluye el uso de una guillotina, realizando un corte transversal, de granos que son escogidos al azar.

7.8. Tostado

Para el proceso de tostado se utilizó una estufa de circulación (VENTICELL-LSIK-B2V/VC111, U.S.A), los granos de cacao secos son sometidos a condiciones de temperatura-tiempo y contenido de humedad en granos de acuerdo a International Standards for the Assessment of Cocoa Quality and Flavour (ISCCQF) y Cocoa of Excellence (CoEx, 2019) por sus siglas en ingles.

7.9. Licor de cacao

Las muestras de granos de cacao tostados y descascarillados fueron sometidas a trituración en un molino RETCH-GM200® a 8000 rpm durante 30 s en varias etapas continuas hasta alcanzar una masa fluida, viscosa y homogénea, de color marrón oscuro brillante. El licor obtenido se utilizó para las pruebas de evaluación sensorial.

7.10. Evaluación sensorial

Las muestras de licor de cacao se identificaron con códigos numéricos diferentes, compuestos de tres dígitos, de manera que el origen de cada muestra fuera totalmente desconocida para los evaluadores. Las muestras identificadas se colocaron en baño seco a 40°C para calentar y diluir el licor. Las pruebas de evaluación sensorial se llevaron a cabo por un grupo de catadores entrenados, evaluando de acuerdo a la escala de calificación del Programa Cocoa of Excellence (CoEx) - Glosario de términos para la evaluación del sabor de granos de cacao en licor y chocolate. Al final de la sesión, los formularios de datos registrados por los evaluadores fueron recolectados y digitalizados creando una matriz electrónica.

7.11. Análisis estadísticos

La información se analizó determinando estadísticas descriptivas de todos los datos obtenidos para cada variable, realizando curvas de crecimiento con promedios de (n= 225) botones florales y frutos por variedad de cacao.

Se realizó estadística descriptiva para todos los parámetros morfológicos y atributos sensoriales evaluados en los clones. Además, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) en las variables cuantitativas morfológicas y atributos sensoriales, lo que permitió transformar los vectores originales en combinaciones lineales normalizadas no correlacionadas, así como explicar con los componentes principales de mayor porcentaje, la mayor variabilidad de las variables originales. Los análisis antes mencionados fueron llevados a cabo utilizando el paquete estadístico Metaboanalyst 5.0, e Infostat-Profesional, versión 1.1 (2020).

Las mediciones se realizaron por triplicado usando un diseño completamente al azar para las variables fisicoquímicas. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y comparación de medias ($P \leq 0.05$), por el método LSD de Fisher

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados, así como la discusión con referencias bibliográficas se presentan en función de los objetivos propuestos y por lo tanto divididos en cinco secciones: a) la primera que cubre los aspectos de la dinámica de crecimiento y desarrollo del fruto hasta la madurez, b) la caracterización morfológica de los clones, c) la evaluación fisicoquímica de los granos de cacao generados por microfermentación, d) los análisis espectroscópicos por ultravioleta-visible e infrarrojo por transformada de Fourier y, e) la evaluación sensorial del licor de cacao.

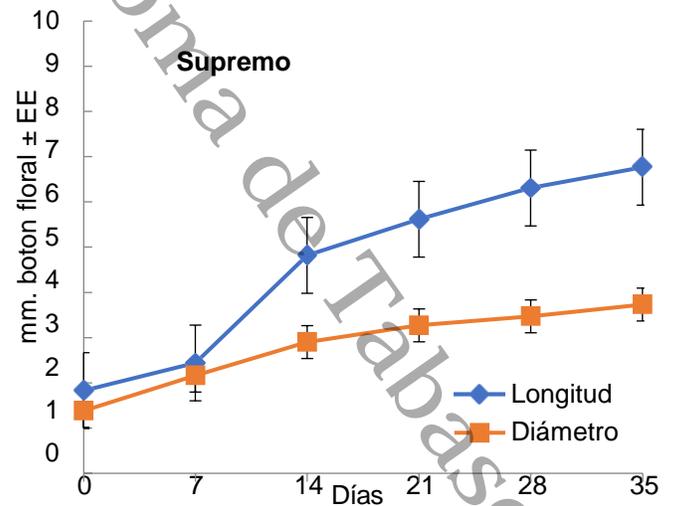
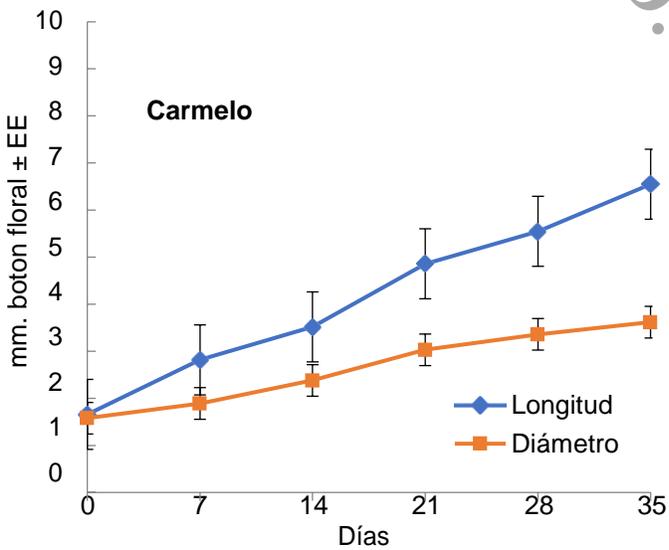
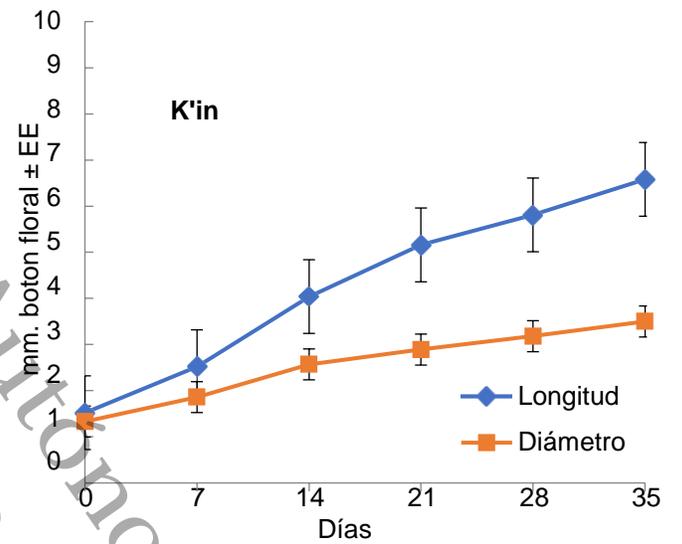
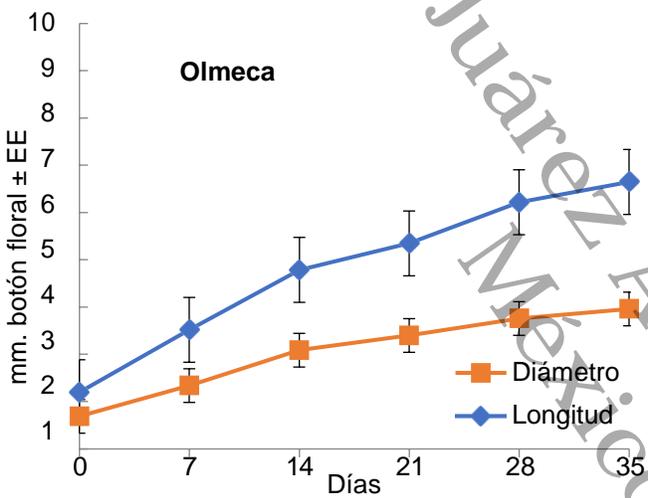
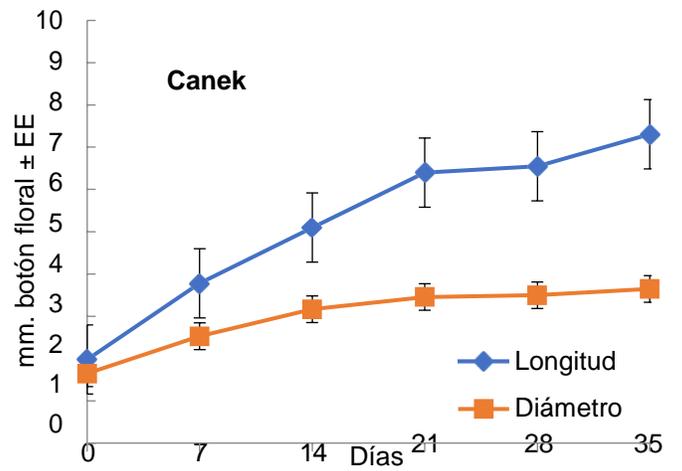
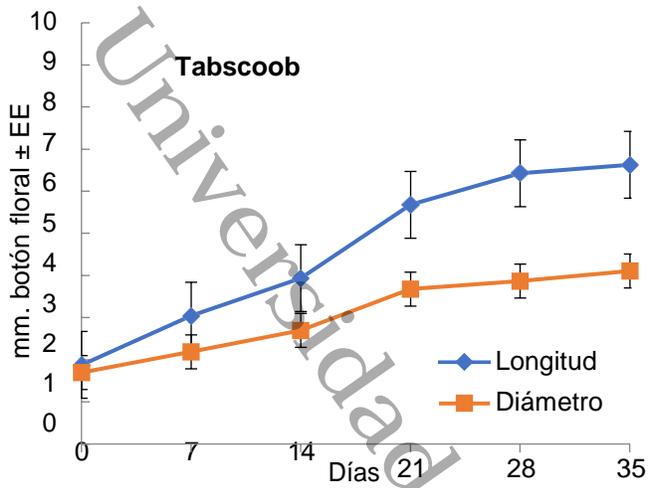
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

a) Dinámica de
crecimiento y
desarrollo del fruto

8.1. Desarrollo de los botones florales

Los resultados de la evolución en la tasa de crecimiento de botones para este estudio inician a partir de los 7 días después de la instalación (ddi) y se prolongan hasta los 30 a 35 días para siete clones y el testigo Carmelo, similar a lo reportado por López et al. (2018). Sin embargo, para el clon Caehui hubo un registro de 42 días, lo cual podría estar asociado a factores intrínsecos, genéticos y factores fisiológicos que desempeñan un papel importante en el comportamiento fenológico de la planta de cacao (fig. 2). Sin tomar en cuenta el pedúnculo como medida, la longitud inicial mínima fue para K'in con 1.52 ± 0.16 mm y el máximo fue para Olmeca con 2.20 ± 0.2 , y con registros finales de 6.6 ± 1.0 y 6.7 ± 0.2 mm respectivamente, en el cuadro 9, se presentan los valores de las medias, desviación estándar y coeficiente de variabilidad de los clones de cacao. Castro et al. (2017) reportan valor inicial de 4 ± 1 mm y finales de 15 ± 1 mm, datos aparentemente superiores a los reportados para nuestro estudio, sin embargo, ellos consideraron el pedúnculo dentro de la medición de los botones florales.

Con relación al diámetro de los botones florales K'in presento el mínimo 1.34 ± 0.16 mm y Tabscoob con el máximo diámetro inicial 1.7 ± 0.23 mm, mientras que para los valores finales (35 y 42 días) se observó el mínimo en Canek y K'in y, en cuanto al máximo fue el clon Chak con promedio de 4.2 ± 0.2 mm. En la fig. 2, no se observa un patrón sigmoidal como lo reporta López et al. (2018) en un estudio similar, sin embargo, se observa una conducta lineal de crecimiento a partir del día 7 hasta los 21 días, posteriormente hay un retroceso en el crecimiento a partir de los 28 días hasta su apertura. Se aprecia en la variable longitud que cuando ésta presenta las mayores tasas de crecimiento a través de la pendiente, el diámetro expresa un crecimiento relativamente bajo.



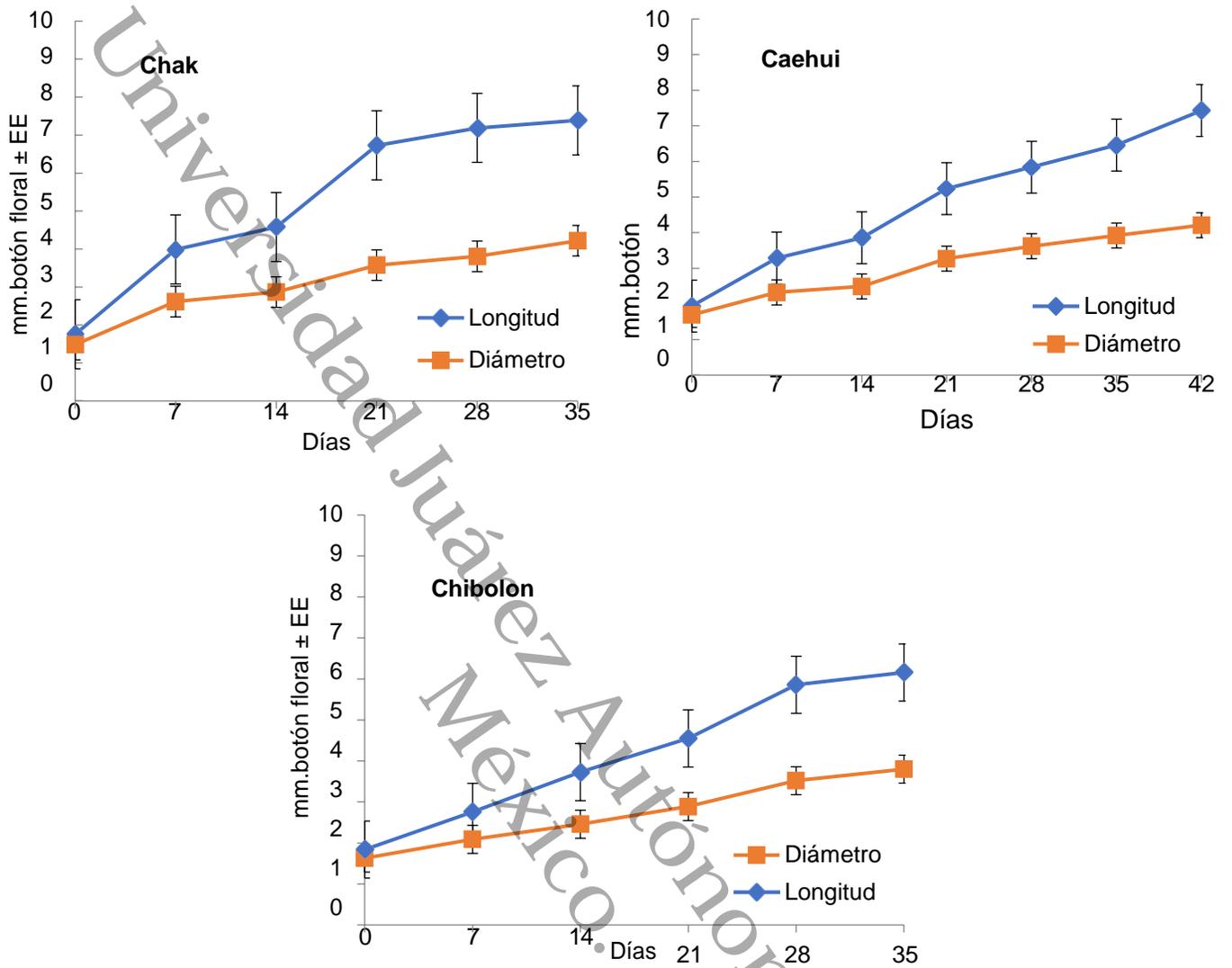


Figura 2. Evolución del crecimiento fenológico del diámetro y longitud total del botón floral en ocho clones de cacao y la variedad Carmelo. Los valores promedios y la línea vertical indican \pm error estándar (EE).

Cuadro 9. Media, desviación estándar, y coeficiente de variabilidad del diámetro y longitud del botón floral de ocho clones de cacao y el testigo caramelo.

CLON		0 días			7 días			14 días			21 días			28 días			35 días			42 días		
		\bar{x}	s	cv																		
Tabscoob	LB	1.88	0.2	0.11	3.05	0.40	0.13	3.94	0.22	0.05	5.68	0.14	0.02	6.43	0.16	0.02	6.60	0.02	0.03			
	DB	1.70	0.23	0.13	2.19	0.31	0.14	2.90	0.35	0.13	3.68	0.14	0.03	3.87	0.10	0.02	4.10	0.13	0.03			
Canek	LB	1.98	0.3	0.15	3.78	0.45	0.11	5.11	0.10	0.02	6.40	0.34	0.05	6.55	0.31	0.04	7.30	0.70	0.10			
	DB	1.65	0.2	0.13	2.53	0.22	0.08	3.17	0.05	0.01	3.46	0.15	0.04	3.65	0.53	0.09	3.50	0.20	0.06			
Carmelo	LB	1.66	0.13	0.08	2.82	0.20	0.07	3.52	0.32	0.09	4.86	0.30	0.06	5.55	0.19	0.03	6.60	0.10	0.02			
	DB	1.58	0.04	0.03	1.89	0.08	0.04	2.38	0.13	0.05	3.03	0.06	0.02	3.36	0.04	0.01	3.60	0.20	0.06			
K'in	LB	1.52	0.16	0.10	2.53	0.27	0.11	4.05	0.50	0.12	5.16	0.26	0.05	5.82	0.28	0.04	6.60	0.10	0.01			
	DB	1.34	0.16	0.12	1.86	0.13	0.07	2.57	0.33	0.13	2.89	0.15	0.05	3.18	0.17	0.05	3.50	0.20	0.05			
Supremo	LB	1.83	0.26	0.15	2.94	0.42	0.14	4.82	0.35	0.07	5.62	0.14	0.02	6.31	0.26	0.04	6.80	0.20	0.03			
	DB	1.38	0.18	0.14	2.16	0.33	0.15	2.90	0.25	0.08	3.30	0.15	0.04	3.48	0.12	0.03	3.70	0.20	0.04			
Caehui	LB	1.94	0.18	0.09	3.29	0.23	0.07	3.86	0.29	0.07	5.24	0.17	0.03	5.84	0.20	0.03	6.50	0.30	0.04	7.30	0.20	0.02
	DB	1.69	0.12	0.07	2.32	0.13	0.05	2.49	0.09	0.03	3.27	0.14	0.04	3.62	0.22	0.06	3.90	0.20	0.06	4.10	0.30	0.06
Chak	LB	1.76	0.18	0.10	3.99	0.32	0.08	4.58	0.35	0.07	6.73	0.47	0.07	7.19	0.49	0.06	7.40	0.00	0.00			
	DB	1.49	0.13	0.09	2.62	0.16	0.06	2.87	0.14	0.05	3.58	0.12	0.03	3.81	0.31	0.08	4.20	0.20	0.04			
Olmecca	LB	2.20	0.28	0.13	3.52	0.32	0.09	4.79	0.37	0.07	5.35	0.47	0.08	6.23	0.14	0.02	6.70	0.20	0.03			
	DB	1.69	0.12	0.08	2.34	0.09	0.03	3.09	0.27	0.08	3.40	0.28	0.08	3.77	0.12	0.03	4.00	0.10	0.04			
Chibolon	LB	1.84	0.18	0.10	2.76	0.28	0.10	3.73	0.21	0.05	4.55	0.30	0.06	5.86	0.21	0.03	6.20	0.10	0.02			
	DB	1.63	0.12	0.08	2.09	0.15	0.07	2.46	0.21	0.08	2.89	0.24	0.08	3.52	0.13	0.03	3.80	0.20	0.05			

LB: longitud del botón (mm); DB: diámetro del botón (mm); \bar{x} : media; s : desviación; cv: coeficiente de variación.

8.2. Desarrollo en frutos de cacao

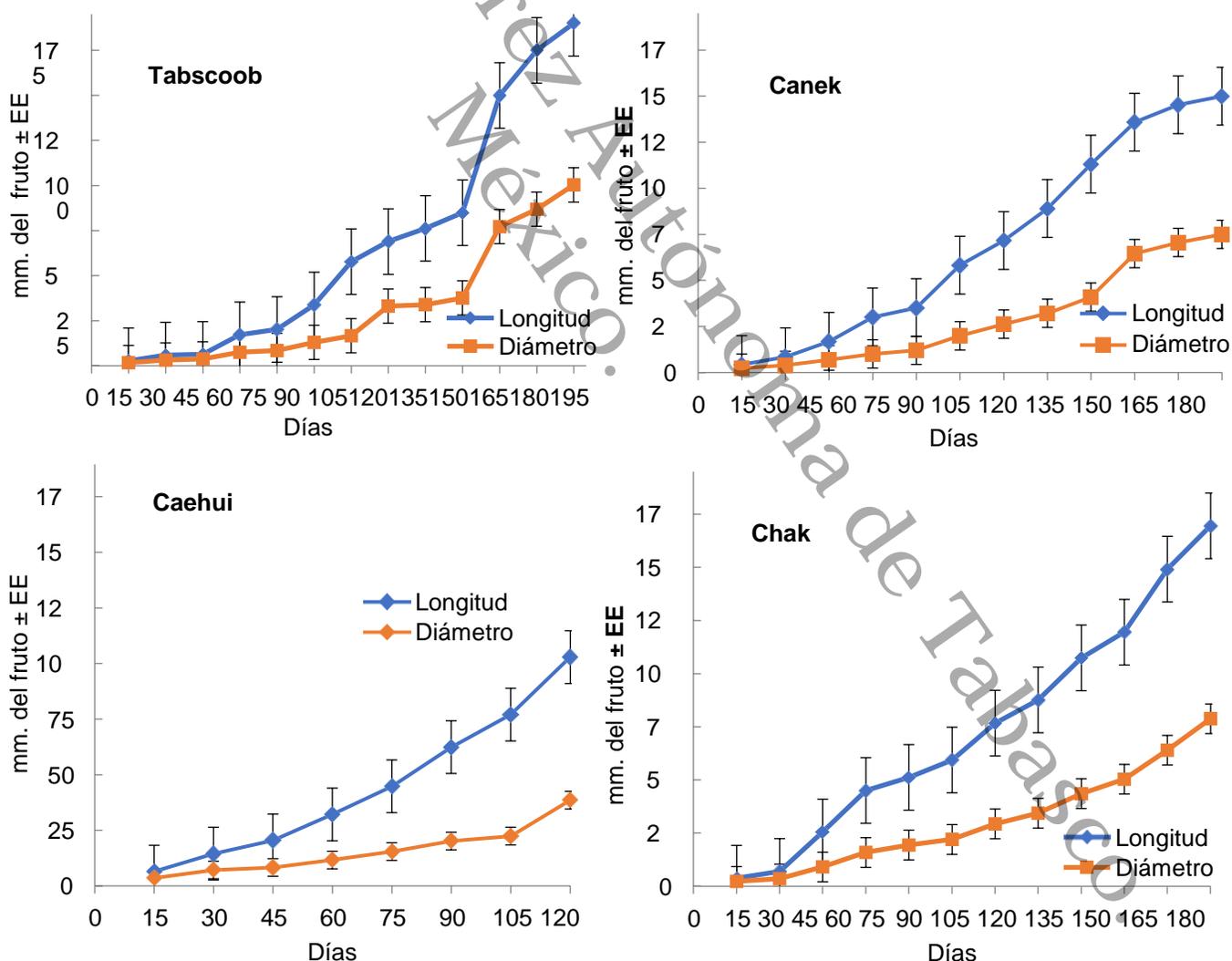
El desarrollo de los frutos inicia de manera lineal, se consideró la unidad de medida para longitud y diámetro del fruto a partir de que este alcanzó el punto crítico de 15 días después del inicio (polinización). En la fig. 3, se observa el comportamiento de la velocidad del crecimiento destacando un punto de inflexión a partir del día 90, lo que representó el cambio de tendencia lineal hacia un incremento no lineal. Los cambios observados en función del punto de inflexión están relacionados a las fases de crecimiento y de maduración, como ha reportado y validado López et al. (2018) con cacaos criollos, forasteros y trinitarios mexicanos. López et al. (2018) reportaron que el crecimiento en frutos de cacao sigue un patrón tipo sigmoide en las variables longitud y diámetro, lo cual fue evidente en la mayoría de los clones evaluados en el presente estudio, con excepción de Caehui y Chak. Este tipo de comportamiento tipo sigmoide puede ser evaluado con ecuaciones de predicción para contrastar de forma eficiente y no solamente de forma visual. En la etapa de los 165 días, el crecimiento es de manera gradual hasta llegar a un punto durante la última fase sin cambios aparentes, lo que está asociado con la maduración del fruto para terminar con su cosecha.

Los distintos procesos fisiológicos que se llevan a cabo durante el proceso de crecimiento han sido reportados por López et al. (2018) y Enríquez (1985) detallando que existen tres fases: a) La primera de ellas implica el desarrollo del ovario, división celular y expansión celular, b) la segunda, la velocidad de crecimiento es rápido y el desarrollo está en función del desarrollo de los óvulos, reportando que se alcanza hasta el 80 % del crecimiento en esta fase, c) la tercera fase el crecimiento se ralentiza, puesto que se detiene la división y los procesos de elongación celular, lo que ocasiona el cambio de color en los frutos.

En el cuadro 10 se presentan los estadísticos descriptiva de los ocho clones de cacao y el testigo Carmelo. Los resultados permiten establecer que los clones Canek, Tabscoob, Carmelo, Chak y Olmeca alcanzaron longitudes iniciales dentro de los 15 días del registro en un intervalo aproximadamente 2 a 6 mm, sin embargo, los clones K'in y Chibolon registran valores entre 5 a 6 mm. Las mayores longitudes de frutos para los primeros días destacan Supremo y Caehui con 6.24 mm y 6.47 mm respectivamente. Los frutos con máximo de longitud al término del ciclo fenológico reproductivo fueron Olmeca con 220 mm en un periodo de 165 días y K'in de 252 mm en 195 días. Los clones que registran los mínimos valores en longitud

fue Caehui con 103 mm en un periodo corto de 120 días. De las mediciones obtenidas con respecto al diámetro, Tabscoob y Olmeca presentaron el mínimo con valores de 1.83 y 1.95 mm respectivamente, durante el primer día de registro. El diámetro final de los frutos estuvo comprendido entre los 38.5 mm correspondiente al clon Caehui y 101.2 mm en Tabscoob, destacándose algunas diferencias en los clones debido a la forma de la mazorca que adquiere cada fruto.

La maduración del fruto es afectado por las condiciones edafoclimáticas como ha reportado Avendaño et al. (2018), Avendaño et al. (2011) y Enríquez (1985) indicando que los frutos generalmente maduran entre los 140 y 175 días en los meses de calor, mientras en los meses fríos entre 167 y 205 días. Durante el presente estudio Caehui maduró en 120 días siendo el clon con el menor tiempo, mientras que los demás clones estuvieron entre 135 y 195 días.



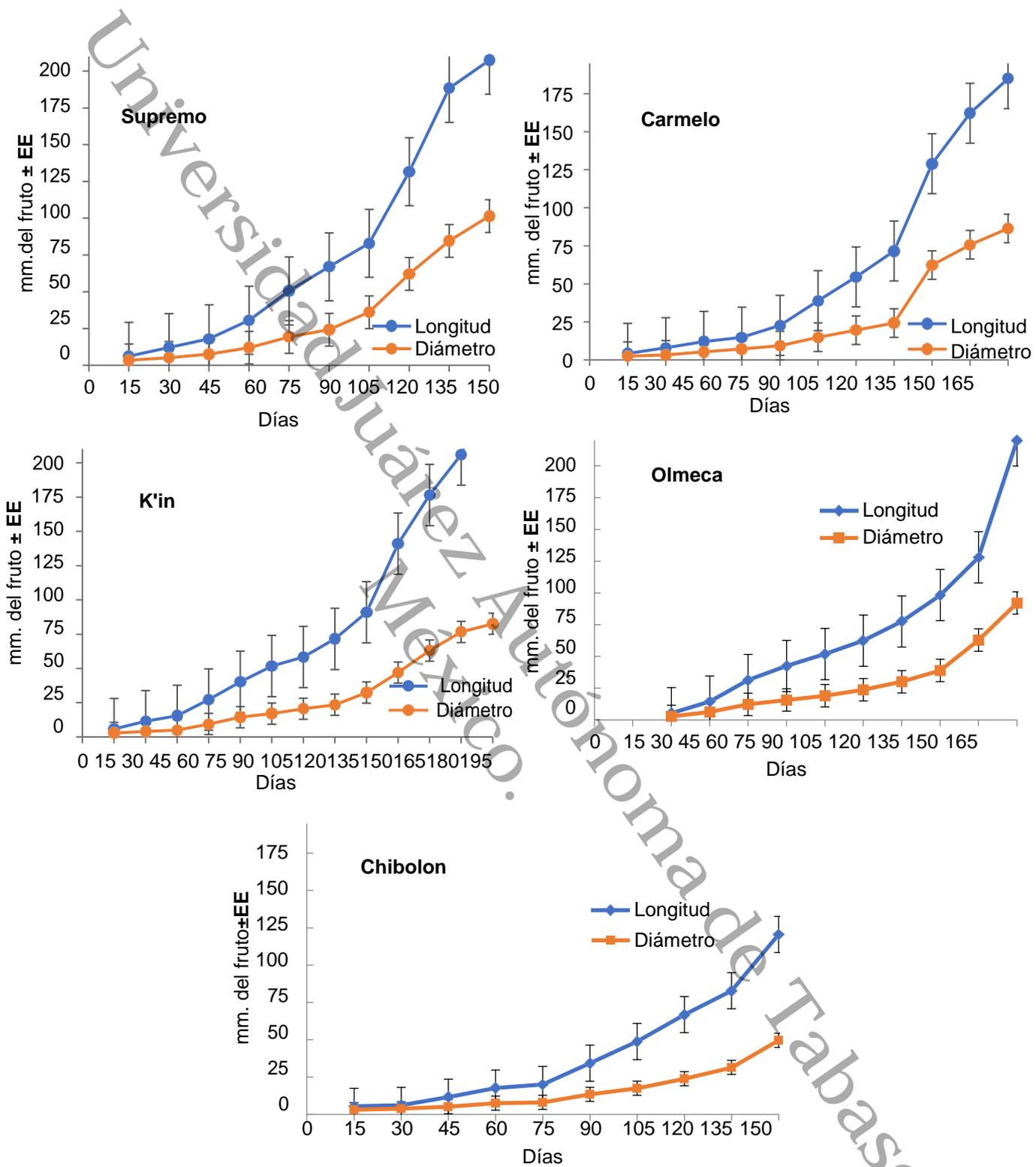


Figura 3. Evolución del crecimiento fenológico del diámetro y longitud total del fruto en ocho clones de cacao y la variedad testigo. Los valores promedios y la línea vertical indican \pm error estándar (EE).

Cuadro 10. Media, desviación estándar, y coeficiente de variabilidad del diámetro y longitud del fruto de ocho clones de cacao y el testigo Carmelo.

CLON		15 días			30 días			45 días			60 días			75 días			90 días			105 días		
		\bar{x}	s	cv																		
Tabascoob	LF	2.82	0.7	0.20	6.01	1.20	0.18	6.38	0.90	0.13	17.2	2.10	0.12	20.2	8.90	0.44	33.8	7.61	0.22	57.7	24.4	0.42
	DF	1.83	0.44	0.20	3.3	0.50	0.16	3.90	0.30	0.08	7.51	0.70	0.08	8.57	3.19	0.37	13.0	3.55	0.27	16.7	3.53	0.21
Canek	LF	4.34	0.91	0.20	8.5	3.40	0.39	17.0	11.0	0.65	30.1	29.0	0.95	35.2	28.7	0.81	58.6	0.65	0.01	72.1	0.74	0.01
	DF	2.37	0.51	0.20	3.9	1.10	0.27	6.90	4.40	0.63	10.1	8.20	0.80	12.1	7.88	0.65	20.0	0.14	0.01	25.8	0.61	0.23
Carmelo	LF	4.31	1.37	0.30	8.00	1.80	0.22	12.0	2.50	0.21	15.0	3.20	0.21	22.7	1.88	0.08	39.1	3.05	0.08	54.6	7.77	0.14
	DF	2.53	0.69	0.30	3.40	0.50	0.15	5.40	0.50	0.09	7.17	2.00	0.27	9.45	0.60	0.06	15.8	1.86	0.12	19.6	3.36	0.17
K'in	LF	5.81	1.32	0.20	12.0	2.30	0.20	15.0	3.40	0.22	27.3	4.40	0.16	40.2	5.07	0.12	51.7	2.20	0.04	58.3	1.67	0.03
	DF	2.94	0.26	0.10	4.00	0.70	0.18	5.00	1.00	0.20	9.4	2.00	0.21	14.5	4.35	0.30	17.0	1.06	0.06	20.5	2.71	0.13
Supremo	LF	6.24	1.52	0.20	12.0	2.20	0.18	18.0	2.00	0.11	30.7	4.00	0.13	50.6	5.3	0.10	67.0	4.33	0.06	83.0	2.00	0.02
	DF	3.45	1.01	0.30	5.10	0.90	0.17	7.60	1.30	0.17	12.0	0.95	0.07	19.3	1.76	0.09	24.3	4.51	0.19	36.1	3.2	0.09
Caehui	LF	6.47	0.13	0.00	15.0	5.20	0.36	20.0	4.70	0.23	32.1	6.90	0.21	44.8	9.08	0.20	62.4	6.29	0.10	77.0	7.06	0.09
	DF	3.59	0.36	0.10	7.20	2.80	0.38	8.40	1.50	0.18	11.7	1.80	0.14	15.5	1.99	0.12	22.2	0.47	0.02	20.2	10.9	0.54
Chak	LF	3.75	0.75	0.20	6.90	1.50	0.21	25.0	7.70	0.30	44.9	5.30	0.11	51.1	8.13	0.15	59.3	12.5	0.21	76.6	15.1	0.20
	DF	2.26	0.23	0.10	3.40	0.40	0.12	9.10	2.70	0.30	15.8	1.10	0.07	19.4	3.46	0.17	22.0	4.93	0.22	29.3	4.66	0.16
Olmeca	LF	3.06	0.01	0.00	5.20	0.20	0.05	15.0	7.20	0.50	31.4	17.0	0.53	42.5	18.7	0.43	51.9	16.9	0.33	62.4	19.1	0.31
	DF	1.95	0.07	0.00	2.60	0.30	0.11	6.20	2.20	0.36	12.3	5.30	0.42	15.8	6.33	0.40	19.1	6.22	0.33	23.8	7.21	0.30
Chibolon	LF	5.45	1.49	0.30	6.10	0.70	0.11	12.0	4.50	0.39	17.6	5.10	0.29	20.1	2.47	0.12	34.3	12.3	0.36	48.8	3.74	0.08
	DF	3.21	0.69	0.20	3.80	0.00	0.01	5.20	1.50	0.29	7.52	2.10	0.27	8.06	0.64	0.08	13.4	4.01	0.30	17.5	0.91	0.05

CLON		120 días			135 días			150 días			165 días			180 días			195 días		
		\bar{x}	<i>s</i>	cv															
Tabscoob	LF	69.0	36.3	0.50	76.0	54.0	0.71	85.0	33.0	0.39	156	8.50	0.03	176	0.70	0.00	190	0.70	0.00
	DF	33.2	23.2	0.70	34.0	28.0	0.81	38.0	8.00	0.21	76.3	1.30	0.01	87.0	0.02	0.00	101	1.14	0.01
Canek	LF	89.5	0.68	0.01	113	0.80	0.01	136	0.10	0.0	145	0.50	0.00	151	0.71	0.00			
	DF	31.6	0.74	0.00	41.0	0.02	0.00	64.0	0.80	0.01	70.8	0.30	70.8	75.5	0.71	0.00			
Carmelo	LF	71.7	2.89	0.00	129	13.0	0.10	162	8.20	0.05	185	7.10	0.03						
	DF	24.3	2.08	0.10	62.0	2.50	0.04	76.0	0.80	0.01	86.5	9.20	0.10						
K'in	LF	71.6	1.11	0.00	91.0	8.60	0.10	141	12.0	0.09	176	2.10	0.01	206	12.9	0.06	252	3.54	0.01
	DF	23.5	3.96	0.20	32.0	7.80	0.24	47.0	6.90	0.15	63.0	4.20	0.06	76.6	9.63	0.12	82.5	10.6	0.13
Supremo	LF	132	22.2	0.20	188	7.60	0.04	208	3.50	0.02									
	DF	62.3	25.5	0.40	85.0	8.10	0.10	102	4.90	0.05									
Caehui	LF	103	3.74	0.00															
	DF	38.6	5.98	0.20															
Chak	LF	87.6	19.8	0.20	107	36.0	0.34	119	37.0	0.31	149	37.0	0.24	170	27.6	0.16			
	DF	34.3	6.28	0.20	44.0	12.0	0.29	50.0	13.0	0.26	63.9	16.0	0.24	78.8	5.30	0.06			
Olmeca	LF	77.5	17.6	0.20	98.0	18.0	0.18	128	7.30	0.06	220	0.70	0.00						
	DF	30.0	7.84	0.30	39.0	9.60	0.25	63.0	6.30	0.10	91.5	0.70	0.00						
Chibolon	LF	66.9	5.89	0.10	83.0	12.0	0.15	121	12.0	0.10									
	DF	23.9	1.71	0.10	32.0	3.50	0.11	50.0	2.30	0.05									

LB: longitud del fruto (mm); DB: diámetro del fruto (mm); \bar{x} : media; *s*: desviación; cv: coeficiente de variación

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

b) Caracterización morfológica de los clones

8.3. Características morfológicas del fruto

En el cuadro 11 se muestran los resultados de los porcentajes de características morfológicas que predominan en los ocho clones promisorios evaluados y el testigo Carmelo. La forma de la mazorca más común fue la elíptica con un 44.4%, mientras que la forma del ápice agudo y obtuso mostraron valores de 44.4%. Los datos obtenidos de constricción basal mostraron que hubo un predominio del 55.5% para ausente, seguido del estado débil y moderado con 22.22%. Por otro lado, la superficie de la mazorca predominante fue lisa o ligeramente rugosa con un porcentaje global de 77.7%. La profundidad de los surcos fue poco profunda y el grosor del exocarpio medio dominó en los clones evaluados, mientras que el color de la pulpa dominante fue la crema claro. Las características del grosor del exocarpio sugieren la presencia de hibridación por poblaciones del complejo trinitario, una característica de la heterogeneidad en las características de los frutos (Braudeau, 1970).

En cuanto al color de los cotiledones fueron el violeta y púrpura los dominantes (33.33%), sin embargo, hubo la presencia de blancos, cremas y rosa/violeta (11.11%). El color ha sido un rasgo distintivo para diferenciar los cultivares, destacando que los cotiledones blancos están asociados a los cacaos criollos (Ramos-Ospino et al., 2020). Además del color del cotiledón, la forma en sección longitudinal de la semilla es también importante como rasgo característico, siendo dominante la forma oval (44.44%).

El color de fruto fue variado sobresaliendo con un 44.4% el amarillo/verdoso. En un estudio realizado sobre caracterización morfológica en frutos de cacao criollos, híbridos, y material internacional de referencia en el estado de Tabasco realizado por Ramírez et al. (2018) se encontró una amplia variación, observándose la heterogeneidad entre plantaciones debido a las cruas entre criollos de México con forasteros. Estas características nos permiten conocer cuales predominan y/o sobresalen entre variedades o cruas asociadas con potencial fenotípica de calidad.

Cuadro 11. Frecuencia de ocho variables cualitativas en frutos de clones de cacao.

Variables	Estado	% global
1) Forma de la mazorca	1 = oval	11.11
	2 = circular	0
	3 = elíptica	44.44
	4 = oblonga	33.33
	5= oboval	11.11
2) Constricción basal	1 = ausente	55.55
	2 = débil	22.22
	3 = moderado	22.22
	4 = fuerte	0
3) Forma del ápice	1 = entallado	11.11
	2 = agudo	44.44
	3 = obtuso	44.44
	4 = redondeado	0
4) Superficie de la mazorca	1 = lisa o ligeramente rugosa	77.77
	2 = moderadamente rugosa	22.22
	3= muy rugosa	0
5) Profundidad de los surcos	1= ausente o muy poco profunda	33.33
	2 = poco profundo	66.66
	3 = media	0
	4 = profunda	0
6) Grosor del exocarpio	1 = delgado	22.22
	2 = medio	66.66
	3 = grueso	11.11
7) Color de la pulpa	1 = blanco	11.11
	2 = crema claro	66.66
	3 = crema oscura	22.22
8) Forma en sección longitudinal de la semilla	1 = oblonga	33.33
	2 = elíptica	11.11
	3 = oval	44.44
9) Color del cotiledón	1=blanco	11.11
	2=crema	11.11
	3=rosa/violeta.	11.11
	4=violeta	33.33
	5=púrpura	33.33
10) Color del fruto	1= amarillo	22.22
	2= amarillo/verdoso	44.44
	3=amarillo/Naranja	22.22
	4=naranja/púrpura	11.11

8.4. Variables morfológicas cuantitativas en clones de cacao

Con base a este estudio en el cuadro 12 se presentan los valores obtenidos de variables morfológicas cuantitativas ligadas a la productividad que exhiben los clones antes mencionados. Al respecto los clones Olmeca, K'in, Caehui, Canek y Supremo presentaron un mayor número de granos que oscilan en promedios de ≥ 40 respectivamente, el menor promedio para esta variable correspondió al clon Chak y el testigo Carmelo con promedio de 37 en número de granos por mazorcas. El peso de granos por mazorca en K'in presentó un promedio de 108 g, además, mostró un índice de peso menor con respecto a las otras variedades con un 1.09 g, como un diámetro y longitud de los mismos de 19.83 y 10.99 mm respectivamente. En esta investigación no se encontró relación entre el peso del fruto y el número de semillas por fruto, sin embargo, si el peso de semillas por fruto tiende a incrementarse aumenta el peso del fruto. Los resultados mostraron que el grosor del exocarpio no es factor que influyera con el mayor o menor peso de granos en los clones. La caracterización con respecto a índices a producción de granos por mazorca resulta importante para determinar la productividad de los clones de cacao (Vera et al., 2014).

Podemos observar que el clon Chak presentó al menos siete valores ubicados entre los más altos en las variables morfológicas evaluadas: peso del fruto, grosor del exocarpio, longitud y diámetro del grano, espesor e índice de grano seco, peso de granos secos. Es importante tener en cuenta estos parámetros en los granos debido a que algunos criterios de calidad más importantes exigidos por las empresas procesadoras son el tamaño promedio del grano con valor deseable ≥ 1 g/grano seco (Lares et al., 2013). En su estudio, Ramos-Ospino et al. (2020) evaluaron características cualitativas y cuantitativas en 11 cultivares, coincidiendo algunos indicadores con los utilizados en el presente estudio. El diámetro del fruto que reportan estos autores fue de 55.0 mm a 200.1 mm, mientras que en nuestro estudio fue de 77 mm a 89.11 mm, por lo que los máximos de estos cultivares superan a los clones evaluados. Sin embargo, la longitud del grano fue similar a lo reportado en nuestro estudio, con excepción de dos cultivares que presentaron valores por arriba de los 29.7 mm con lo que superaron en el valor máximo a los clones del INIFAP.

Cuadro 12. Promedio de variables morfológicas cuantitativas en frutos de cacao.

	DF (mm)	LF (mm)	PF (g)	NG	Peso de granos frescos por mazorca (g)	GE (mm)	LG (mm)	DG (mm)	EG (mm)	Índice de peso de granos secos (g)	Peso de 100 granos secos (g)
CLONES											
Caehui	88.49±6.16 ^c	178.10±23.12 ^c	605.23±123.5 ^{bc}	41±6.41 ^a	141.08±28.25 ^b	13.25±2.10 ^b	22.31±1.77 ^{bc}	12.50±1.40 ^c	8.52±0.86 ^b	1.42±0.21 ^d	131.1±0.22 ^b
Chak	88.05±12.19 ^c	195±19.38 ^d	701.04±151.83 ^c	37±5.40 ^a	192.90±37.92 ^c	15.55±2.72 ^c	25.04±2.19 ^e	15.05±1.34 ^f	9.27±1.41 ^c	1.94±0.25 ^e	203.3±0.25 ^e
Olmeca	89.11±12.61 ^b	158.25±21.98 ^a	550.88±198.99 ^b	42±7.61 ^b	144.18±44.78 ^b	14.99±2.85 ^c	25.05±1.74 ^e	14.28±0.85 ^e	8.60±1.27 ^b	1.37±0.29 ^{cd}	130.07±0.29 ^b
Chibolon	85.54±12.45 ^{bc}	170.34±14.21 ^b	575.0±131.50 ^b	41±7.45 ^{ab}	146.25±34.86 ^b	14.28±3.08 ^{bc}	24.93±1.74 ^{de}	13.29±0.94 ^d	7.58±1.06 ^a	1.31±0.24 ^{bc}	128.4±0.24 ^{ab}
Canek	88.22±6.74 ^c	196±17.93 ^d	631.61±195 ^{bc}	37±7.06 ^a	200.5±129.65 ^c	14.12±2.93 ^{bc}	24.36±1.71 ^d	14.05±0.94 ^e	8.34±1.41 ^b	1.78±0.34 ^e	181.9±0.33 ^d
Tabascoob	81.12±7.19 ^{ab}	151.80±14.31 ^a	403.63±110.7 ^a	40±5.65 ^{ab}	130.40±33.90 ^{ab}	11.15±2.13 ^a	23.19±3.03 ^c	12.87±0.75 ^{cd}	7.16±1.36 ^a	1.16±0.19 ^a	128.4±0.17 ^{ab}
K'in	77.09±6.78 ^a	166.46±20.07 ^{bc}	429±140.12 ^a	42±8.76 ^b	108.27±37.87 ^a	11.58±2.07 ^a	19.83±1.29 ^a	10.99±0.66 ^a	8.35±0.99 ^b	1.09±0.37 ^a	122±0.37 ^a
Supremo	90.00±8.18 ^c	146.42±18.31 ^a	555.0±215.5 ^b	40±7.95 ^{ab}	109.31±31.34 ^a	14.34±3.07 ^{bc}	23.06±1.52 ^c	11.60±0.81 ^b	7.50±0.87 ^a	1.27±0.18 ^{bc}	121.8±0.17 ^a
Carmelo	82.28±10.29 ^{ab}	165.83±37.86 ^{bc}	551.1±140.9 ^b	37±5.17 ^a	138±21.22 ^{ab}	14.58±3.04 ^{bc}	21.85±2.09 ^b	13.17±0.91 ^d	9.19±1.18 ^c	1.31±0.23 ^{bc}	140.68±0.23 ^c

DF: diámetro del fruto; LF: longitud del fruto; NG: número de granos; GE: grosor del exocarpio; LG: longitud del grano; DG: diámetro del grano; EG: espesor del grano. Los datos representan (promedio ± desviación estándar).

Cuadro 2 Correlación de variables morfológicas de clones de cacao y variedad Carmelo del jardín de germoplasma INIFAP-Huimanguillo.

	NG	LG/DG	LF/DF	EG (mm)	LG (mm)	DG (mm)	PG (g)	DF (mm)	GE (mm)	PGM (g)	LF (mm)	PF (g)
NG	1											
LG/DG	-0.0370	1										
LF/DF	-0.0616	-0.2430**	1									
EG (mm)	-0.1009	-0.0720	0.0277	1								
LG (mm)	-0.1274	0.3586**	-0.0868	0.0188	1							
DG (mm)	-0.0908	-0.4690**	0.1204	0.0548	0.6502**	1						
PG (g)	-0.0746	-0.1731*	0.1924**	0.1196	0.3081*	0.4437**	1					
DF (mm)	0.0645	-0.0129	-0.4216**	0.0306	0.1839*	0.1846*	0.1382*	1				
GE (mm)	-0.0629	-0.1464*	-0.0558	0.0641	0.1732**	0.2854**	0.2061*	0.5083**	1			
PG (g)	0.1331	-0.2856**	0.1825*	0.0943	0.1620*	0.3853**	0.3592**	0.2847**	0.2809**	1		
LF (mm)	-0.0463	-0.2639**	0.6108**	0.0829	0.0267	0.2388**	0.3197**	0.4056**	0.3065**	0.4213**	1	
PF (g)	0.0605	-0.1276	0.2137*	0.0606	0.1829*	0.2901**	0.3364**	0.5029**	0.5246**	0.3787**	0.5798**	1

NG: número de granos en fruto; LG/DG: relación longitud-diámetro del grano; LF/DF: longitud-diámetro del fruto; EG: espesor del grano; LG: longitud del grano; DG: diámetro del grano; PG: peso promedio del grano; DF: diámetro del fruto; GE: grosor del exocarpio; PGM: Peso de granos por mazorca; LF: longitud del fruto; PF: peso del fruto. * (p<0.05), ** (p<0.001)

El análisis de correlación de las variables morfológicas en frutos de cacao se muestra en el cuadro 13, mismo que muestra correlaciones positivas y negativas con carácter significativo ($p < 0.05$ y $p < 0.001$). El peso del fruto (PF) mostró una correlación positiva significativa ($p < 0.05$ y $p < 0.001$) con la mayoría de las variables morfológicas con excepción del número de granos, relación longitud-diámetro del grano y espesor del grano. Uno de los aspectos más importantes que se encontró es la relación positiva altamente significativa ($p < 0.001$) entre el peso del fruto y el peso del grano. A su vez, el peso del grano (PG) mostró que solamente dos variables no fueron significativas (NG y EG) y las demás mostraron una correlación positiva ($p < 0.05$ y $p < 0.001$), con excepción de la relación LG/DG que fue negativa. En un estudio realizado por Vázquez y García, (2005) en un Banco de germoplasma de cacao con 20 genotipos de cacao de distinto origen genético encontraron que el coeficiente de correlación entre el peso de mazorca y el número de semillas resultó no significativo; mientras que la correlación entre el peso de mazorca con el peso fresco de semilla fue positivo y altamente significativo, lo cual coincide con nuestros resultados.

El análisis de componentes principales (fig. 4) encontró que los tres primeros Componentes Principales (CP) agrupan el 56.8% de las variaciones totales entre los clones de cacao y la variedad Carmelo. El análisis del primer componente principal (CP1) describe el 28.8% de la variación total, mientras que el segundo componente principal (CP2) describe el 15.1% y el tercer componente principal (CP3) contribuye con el 12.5%.

La figura 4 b y c presentan la distribución de los ocho clones y Carmelo mostrando el peso de los dos componentes principales obtenido de las desviaciones normalizadas. De acuerdo con estos resultados LG, DF, DG y PF son las variables que más contribuyen de forma positiva a la descripción de los primeros componentes. Por otro lado, LG/DG, LG y DF son las variables con un peso más elevado, mientras que LF se encuentra en el lado opuesto.

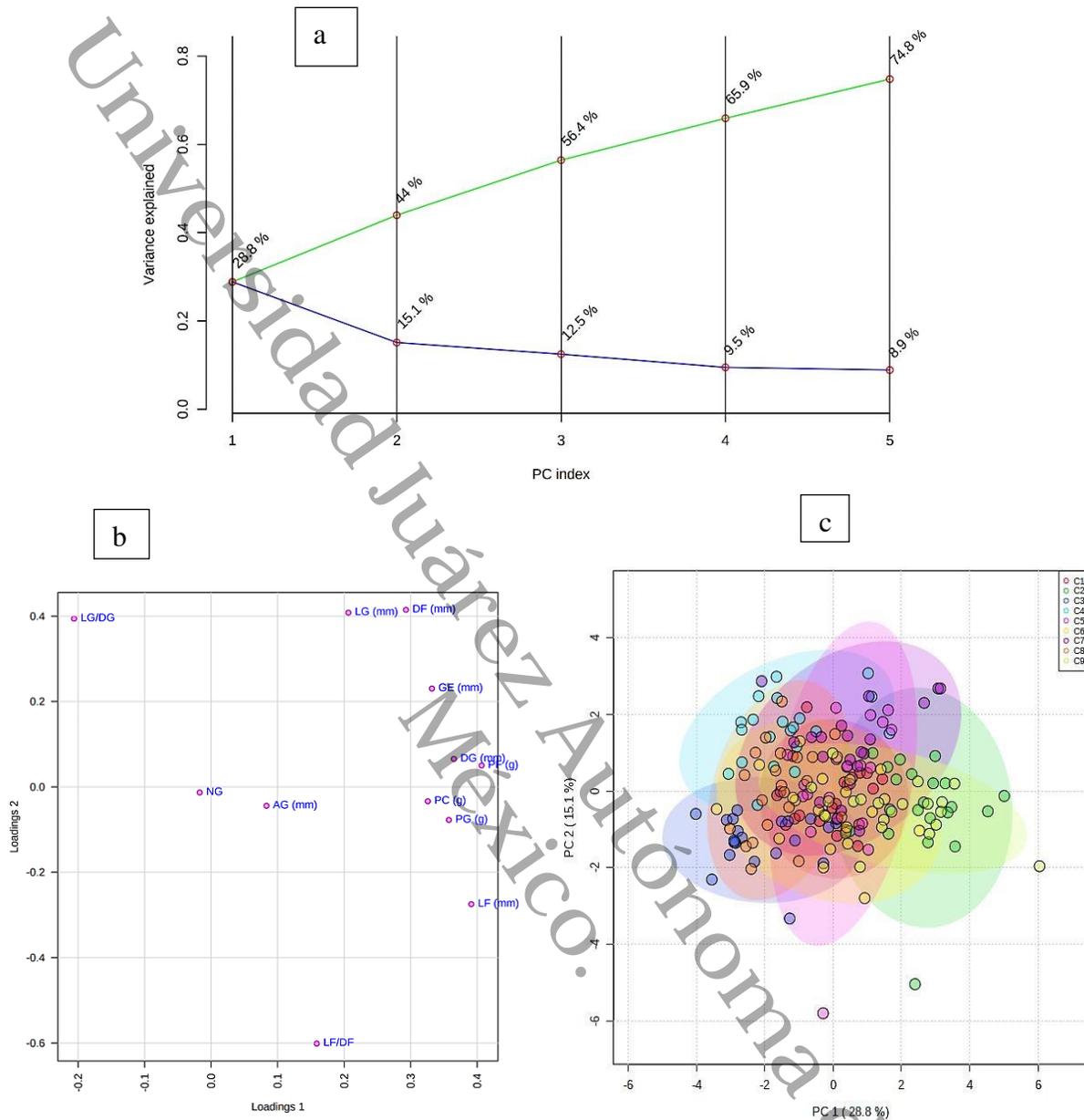


Figura 4. Varianza acumulada (línea verde) e individual (azul) explicada por los componentes principales (a), Cargas (b) y puntuaciones (c) del análisis de componentes principales de los clones evaluados con respecto a las variables morfológicas cuantitativas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

c) Evaluación
fisicoquímica de los
granos de cacao
microfermentados

8.5. Análisis Físicoquímicos

En el Cuadro 14 se presentan el pH y grados Brix de los granos de cacao de clones mexicanos recién cosechados. Los clones presentaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) para el pH del cotiledón fresco siendo el clon K'in quién registró un valor máximo de 6.62 ± 0.083 , mientras que el clon Tabscoob presentó un valor mínimo de 5.77 ± 0.55 , estos valores están dentro de los intervalos reportados por algunas investigaciones las cuales mencionan valores de 6.48 ± 0.09 en granos frescos (Lares et al., 2013). En otro estudio, Loureiro et al. (2017) reportaron valores en pH de 5.61 a 6.64 en clones de *T. cacao*. En el caso del pH del mucílago el clon K'in presentó el valor máximo con 4.57 ± 0.06 y el mínimo fue el testigo Carmelo con 3.50 ± 0.12 , estos valores favorecen inicialmente el desarrollo de las levaduras y posteriormente, los cambios en pH serán un factor importante para el desarrollo de bacterias lácticas y acéticas durante la fermentación. El contenido de sólidos solubles en el mucílago promueve el crecimiento principalmente de levaduras durante la fermentación, en el presente estudio los clones Chak y Chibolon presentaron valores de 17° Brix, en tanto que K'in obtuvo 12.97° Brix siendo el valor mínimo. Estudios reportados por Graziani et al. (2003) determinaron en cacao criollo, forastero y trinitario sólidos solubles totales entre 13 a 15° Brix, valores similares a los de esta investigación.

Cuadro 3. Variables físicoquímicas en cotiledones y en la pulpa fresca de ocho clones de cacao y el testigo Carmelo.

CLONES	pH		°Brix
	Mucílago	Cotiledón fresco	
Supremo	3.96 ± 0.13^c	6.36 ± 0.08^{bc}	16.41 ± 1.22^{bc}
Caehui	3.66 ± 0.16^{ab}	6.53 ± 0.05^{bc}	16.99 ± 1.65^c
Carmelo	3.50 ± 0.12^a	6.49 ± 0.05^{bc}	16.71 ± 1.03^c
K'in	4.57 ± 0.06^d	6.62 ± 0.08^c	12.97 ± 1.93^a
Olmecca	3.84 ± 0.17^{bc}	6.55 ± 0.10^{bc}	16.04 ± 1.20^{bc}
Chibolon	3.66 ± 0.03^{ab}	6.34 ± 0.21^{bc}	17.00 ± 2.00^c
Canek	3.62 ± 0.04^{ab}	6.19 ± 0.15^b	16.88 ± 0.26^c
Tabascoob	3.83 ± 0.04^{bc}	5.77 ± 0.55^a	15.00 ± 0.59^b
Chak	3.54 ± 0.13^a	6.35 ± 0.06^{bc}	17.06 ± 1.14^c

Los datos representan (promedio \pm desviación estándar) del experimento ($n = 3$) medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Los resultados de las pruebas fisicoquímicas realizadas a los cotiledones de clones en muestras secas al sol se reportan en el Cuadro 15. De acuerdo con el análisis de varianza no se obtuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$) para la variable humedad y pH del cotiledón, mostrando intervalos de 5.16-6.69 para la primera variable y de 6.12-6.49 para la segunda. Por el contrario, cuando el cotiledón fue sometido al proceso de fermentación (ver Cuadro 16) estos dos parámetros disminuyeron reportándose para pH cotiledón 4.55–5.69 y humedad de 5.06-6.00 con diferencias significativas ($p < 0.05$). En un estudio realizado por Ortiz et al. (2009) de granos de cacao criollos y forasteros encontraron pH 5.98 y después del proceso fermentativo obtuvieron 4.55. Algunos autores señalan que pH bajos (≤ 4.5) en los cotiledones disminuyen el potencial aromático en el cacao, en tanto que valores alrededor de 5,0–5,5 conducen a un incremento del potencial (Portillo, 2007).

Para el índice de fermentación (IF) realizados antes del proceso de microfermentación se encontraron valores inferiores a ≤ 1 , como se indica en el Cuadro 15, posteriormente cuando se realizó el proceso fermentativo se obtuvieron intervalos de 1.01 a 2.00. De acuerdo a los reportes de investigación, el índice de fermentación debe de ser ≥ 1 para indicar que la fermentación del cacao fue suficiente (Misnawi et al., 2003). En el caso del clon Supremo este índice mostró valores de 0.86 ± 0.01 , que indica falta de fermentación y durante la prueba de corte (Figura 6) se observó una correlación con el porcentaje de granos parcialmente fermentados.

Al igual que los parámetros descritos anteriormente, la acidez es un criterio de calidad importante para las industrias chocolateras, además de proporcionarnos un acercamiento en los cambios de transformación que sufren los granos durante los tratamientos poscosecha. Los valores de acidez obtenidos en esta investigación para muestras sin fermentar oscilan entre 0.41-0.59 ml NaOH (0.1N) g^{-1} , posterior al proceso de fermentación estos valores aumentan encontrándose en rangos de 1.17 ± 0.21 para Caehui y en mayor medida Carmelo con 2.09 ± 0.13 , esto debido a que los ácidos que se producen por los organismos inducidos del consorcio de cepas, son difundidos hacia los cotiledones, lo cual ocasiona un ascenso de la acidez y una consecuente disminución del pH tal cómo se ilustra en los cuadros 15 y 16. En otros estudios, García et al. (2021) determinaron la acidez en cotiledones fermentados por adición de inóculos obteniendo rangos de 0.43-0.49, valores por debajo de lo obtenido en esta investigación, mientras que Neira et al. (2020) reportó niveles porcentuales de 0.82-1.01%, resultados que

pueden variar en función de los sólidos solubles totales iniciales, además de los perfiles de microbiota, además de las técnicas de medición del contenido de acidez.

Con respecto al contenido de polifenoles totales de los ocho clones evaluados K'in presentó el valor mínimo de 27.61 ± 1.48 mg GAE, por el contrario, Chak reportó el contenido máximo con 82.29 ± 8.05 mg GAE en cotiledones secos. En el caso del testigo Carmelo se obtuvieron 50.89 ± 2.63 mg GAE. Algunos autores como Brčanović et al. (2013) reportaron valores de 3.82 a 36.87 mg GAE g⁻¹, mientras que Avendaño et al. (2021) determinaron en genotipos de cuatro especies de *Theobroma* intervalos de 3.37 a 42.05 mg GAE g⁻¹ con resultados similares a los obtenidos en este trabajo. En el cuadro 14 estos valores para algunos clones observan diferencias en este contexto, el valor mínimo se obtiene en Chibolon con 25.48 ± 3.92 mg GAE y el máximo fue en el testigo con 194.61 ± 5.80 mg GAE. En un estudio realizado por Tello-Alonso et al. (2020) obtuvieron intervalos de 101.223 ± 0.002 mg GAE/100 b.s en variedad Carmelo. La disminución en el contenido fenólico se debe principalmente por difusión de las células de almacenamiento promovida durante el tiempo de fermentación. Igualmente se evidenciaron diferencias estadísticamente ($p < 0,05$) en flavonoides, valor máximo se encontró en el clon Canek 18.50 ± 1.43 y el mínimo en K'in 10.43 ± 1.51 mg EQ g⁻¹ de granos no fermentados. Valores reportados por Avendaño et al. (2021) destacan de 1.61 a 42.18 mg EQ g⁻¹, valores similares a los de esta investigación. Los resultados evidenciaron variabilidad en los resultados de muestras fermentadas debido a que estas tienden a disminuir a lo largo del tiempo de fermentación, en este caso Chibolon presentó el mínimo valor con 1.03 ± 0.11 mg EQ g⁻¹ y el máximo en el testigo con aproximadamente 6.27 ± 0.09 mg EQ g⁻¹. Melo et al. (2020) señalaron una reducción de flavonoides cuando es sometido al proceso de fermentación; es necesario mencionar que, para ambas variables, fenoles y flavonoides, no se observa correlación entre los valores.

Cuadro 4. Análisis fisicoquímicos en cotiledones secos al sol.

Muestras de cotiledón seco al sol							
Clones	H	IF	pH Cotiledón seco al sol	G	Acidez Total	Polifenoles Totales mg GAE g ⁻¹	Flavonoides mg EQ g ⁻¹
Supremo	6.10 ± 0.83 ^a	0.43 ± 0.04 ^{ab}	6.26 ± 0.07 ^a	51.21 ± 0.08 ^{ab}	0.51 ± 0.08 ^{ab}	33.50 ± 0.46 ^{ab}	11.79 ± 0.75 ^{ab}
Caehui	6.64 ± 0.80 ^a	0.39 ± 0.06 ^{ab}	6.29 ± 0.11 ^a	54.93 ± 0.63 ^c	0.59 ± 0.04 ^b	62.59 ± 8.79 ^c	15.76 ± 1.62 ^d
Carmelo	5.67 ± 0.96 ^a	0.531 ± 0.07 ^{ab}	6.37 ± 0.12 ^a	54.32 ± 1.49 ^{bc}	0.54 ± 0.11 ^{ab}	50.89 ± 2.63 ^c	13.70 ± 1.49 ^c
K`in	6.62 ± 0.51 ^a	0.46 ± 0.05 ^{ab}	6.35 ± 0.04 ^a	50.07 ± 0.66 ^a	0.46 ± 0.04 ^{ab}	27.61 ± 1.48 ^a	10.43 ± 1.51 ^a
Olmecca	5.51 ± 2.63 ^a	0.35 ± 0.04 ^a	6.12 ± 0.07 ^a	52.75 ± 2.52 ^{abc}	0.41 ± 0.053 ^a	25.83 ± 3.38 ^a	13.70 ± 1.90 ^{bc}
Chibolon	5.16 ± 1.15 ^a	0.41 ± 0.04 ^{ab}	6.22 ± 0.21 ^a	50.59 ± 1.46 ^a	0.46 ± 0.04 ^{ab}	37.24 ± 2.33 ^b	11.13 ± 0.68 ^a
Canek	5.86 ± 0.76 ^a	0.41 ± 0.07 ^{ab}	6.30 ± 0.14 ^a	54.69 ± 2.43 ^{bc}	0.56 ± 0.14 ^{ab}	55.26 ± 2.98 ^c	18.50 ± 1.43 ^f
Tabascoob	6.69 ± 2.87 ^a	0.35 ± 0.04 ^a	6.29 ± 0.45 ^a	53.24 ± 3.53 ^{abc}	0.52 ± 0.14 ^{ab}	37.07 ± 2.17 ^b	11.19 ± 1.64 ^a
Chak	6.57 ± 0.97 ^a	0.39 ± 0.06 ^{ab}	6.49 ± 0.21 ^a	52.86 ± 0.99 ^{abc}	0.51 ± 0.09 ^{ab}	82.29 ± 8.05 ^d	17.85 ± 1.06 ^e

H: humedad; IF: índice de fermentación; G: grasa. Los datos representan (promedio ± desviación estándar) del experimento (n = 3) medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<0.05).

Cuadro 5. Análisis fisicoquímicos en cotiledones obtenidos por microfermentación.

Muestras de cotiledón microfermentado							
Clones	IF	pH Cotiledón	H	G	Acidez Total	Polifenoles Totales mg GAE g ⁻¹	Flavonoides mg EQ g ⁻¹
Supremo	0.86 ± 0.01 ^a	5.12 ± 0.07 ^b	5.06 ± 0.05 ^a	46.92 ± 1.60 ^a	1.47 ± 0.07 ^c	30.59 ± 7.24 ^{ab}	1.39 ± 0.05 ^a
Caehui	1.01 ± 0.03 ^{ab}	5.48 ± 0.20 ^{cd}	5.10 ± 0.10 ^a	50.11 ± 7.81 ^a	1.17 ± 0.21 ^a	35.47 ± 4.86 ^{ab}	2.98 ± 0.10 ^b
Carmelo	2.00 ± 0.06 ^e	4.55 ± 0.06 ^a	5.43 ± 0.02 ^b	50.20 ± 2.52 ^a	2.09 ± 0.13 ^d	194.61 ± 5.80 ^f	6.27 ± 0.09 ^e
K`in	1.01 ± 0.03 ^{ab}	5.69 ± 0.14 ^d	6.00 ± 0.34 ^c	48.65 ± 1.35 ^a	1.23 ± 0.07 ^{ab}	50.45 ± 7.08 ^c	5.21 ± 1.17 ^d
Olmeca	1.16 ± 0.03 ^{bc}	5.31 ± 0.14 ^{bc}	5.36 ± 0.15 ^{ab}	51.65 ± 0.94 ^a	1.28 ± 0.03 ^{abc}	38.38 ± 5.29 ^b	2.83 ± 0.08 ^b
Chibolon	1.27 ± 0.30 ^c	5.32 ± 0.03 ^{bc}	5.46 ± 0.05 ^b	49.15 ± 6.38 ^a	1.30 ± 0.07 ^{abc}	25.48 ± 3.92 ^a	1.03 ± 0.11 ^a
Canek	1.47 ± 0.02 ^d	5.34 ± 0.06 ^{bc}	5.56 ± 0.05 ^b	52.52 ± 1.48 ^a	1.43 ± 0.18 ^{bc}	92.95 ± 5.29 ^d	4.35 ± 0.20 ^c
Tabascoob	1.18 ± 0.03 ^{bc}	5.33 ± 0.12 ^{bc}	5.90 ± 0.26 ^c	50.50 ± 6.69 ^a	1.36 ± 0.09 ^{abc}	106.6 ± 5.54 ^e	3.36 ± 0.10 ^b
Chak	1.23 ± 0.05 ^c	5.64 ± 0.23 ^d	5.93 ± 0.05 ^c	52.38 ± 0.75 ^a	1.33 ± 0.17 ^{abc}	101.1 ± 5.80 ^{de}	5.00 ± 0.04 ^{cd}

IF: índice de fermentación; G: grasa; H: humedad; Los datos representan (promedio ± desviación estándar) del experimento (n = 3) medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<0.05).

Durante el proceso de microfermentación se registró las temperaturas (Figura 5) iniciando con intervalos de 29 a 33°C, esta variable incrementó durante el proceso a partir de las 24 horas con oscilaciones menores. A partir de las 48 hasta las 72 horas se alcanzó una temperatura de 40 a 43 °C, posteriormente en el último día de fermentación la temperatura experimentó un descenso hasta 35°C para K'in y con mayor temperatura fue el clon Canek con 42°C. Durante esta fase final, la mayoría de las poblaciones microbianas decrecen su actividad y pueden aparecer poblaciones de hongos que afectan la calidad del cacao, por lo que los granos fermentados se proceden a secar para frenar la actividad microbiana.

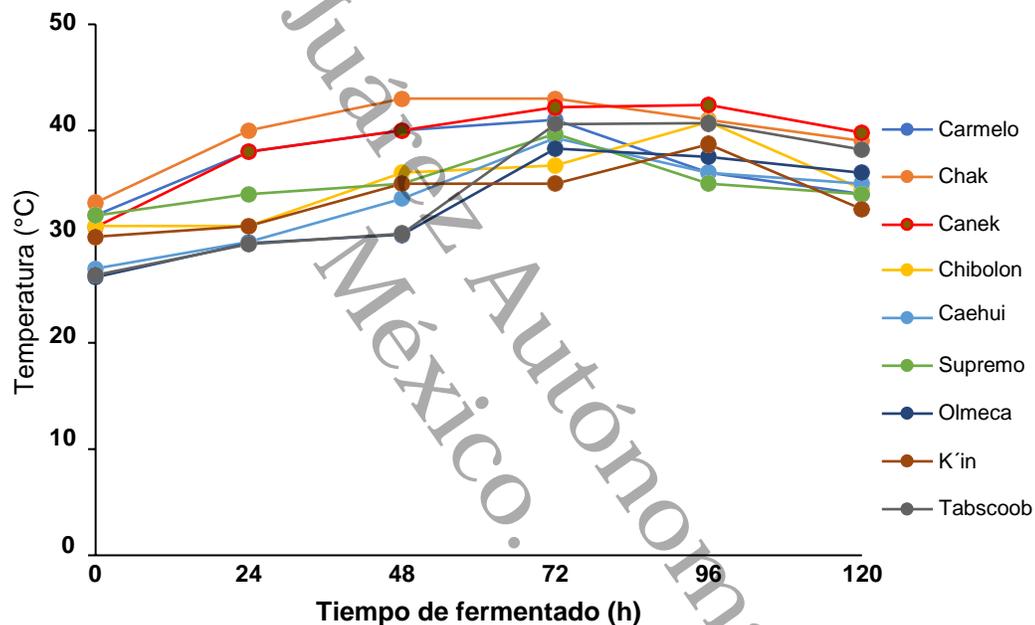


Figura 5. Perfil de temperatura durante la microfermentación de clones mexicanos.

8.6. Prueba de corte

El ensayo físico de la prueba de corte (Figura 6) se observó un alto número de granos parcialmente fermentados para todos los clones, siendo Caehui con un 83% el mayor índice y en menor proporción Carmelo con 39%. Los resultados de granos bien fermentados fueron los que presentaron el menor porcentaje, en este contexto Carmelo registró 29% como valor máximo y Supremo con porcentaje de 1.5% fue el mínimo. No se encontró granos pizarrosos o presencia de hongos. Estos resultados son función del volumen involucrado en la microfermentación y se espera que influyan en la evaluación sensorial, sin embargo, el potencial

aromático puede ser expresado, debido a que la prueba de corte es un indicador que muestra solamente el cambio de coloración que está asociado a reacciones de oxidación. La evaluación sensorial mostró el potencial como se analizará en la sección 8.9.

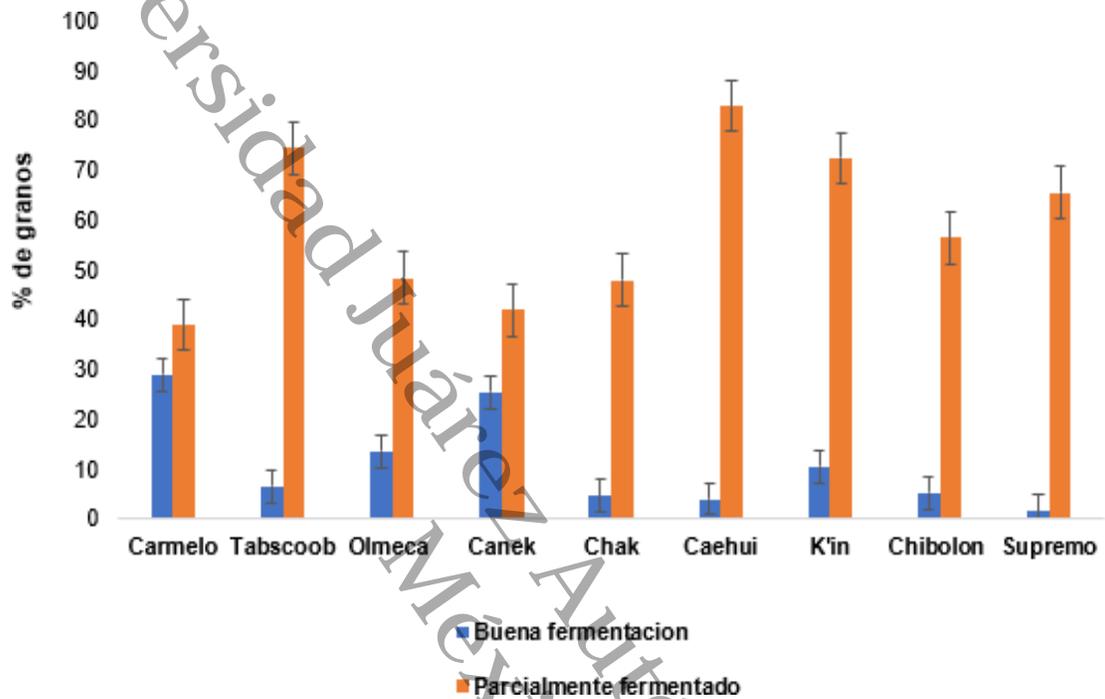


Figura 6. Promedios del grado de fermentación en clones de cacao y variedad Carmelo. Los valores promedios y la línea vertical indican \pm error estándar.

d) Análisis por
espectroscopia de
ultravioleta-visible e
infrarrojo por
transformada de
Fourier

8.7. Caracterización por espectroscopia UV-Vis

La caracterización por espectroscopia de Uv-Vis se realizó a los extractos de los ocho clones de cacao y Carmelo para detectar la longitud de onda máxima (λ_{max}) de antocianinas. Las antocianinas han ganado mucho interés por su valor nutricional y actividad biológica (Teng et al., 2020). Este tipo de compuestos tienen una región de absorción bien definida por dos bandas separadas en la región visible entre 465 y 550 nm, por lo que se puede utilizar para diferenciar entre los materiales estudiados en la presente investigación (Harbone et al., 1995). En la Fig. 7. a-b, se presentan los barridos espectrales obtenidos en la región 300-700 nm antes y después de la microfermentación de granos de cacao de los clones mexicanos. El barrido espectral mostró dos regiones donde se identifican señales de absorción, la primera en el intervalo de 360-460 nm y la segunda en un pico máximo promedio en 532 (± 1) nm. Las señales donde la absorbancia mostró λ_{max} corresponden a cianidinas y se presentó en todos los clones con excepción de la variedad Carmelo. La falta de absorción a los 532 nm para Carmelo está asociada a la ausencia de antocianinas en este material como ha sido reportado por Wollgast y Anklam (2000). Las señales detectadas como un hombro 360 a 460 nm pueden estar asociadas a antocianidina - pelargonidina. La señal a 533 nm es asignada a una cianidina 3-glucósido y la literatura reportada que las cianidinas presentes en el cacao son Cianidina 3-a-L arabinosa y cianidina 3-b-D-galactosa (Wollgast y Anklam, 2000; Longo y Vasapollo, 2006). Como reporta Longo y Vasapollo (2006) la relación de absorbancias a 440 nm (para nuestro caso puede ser la absorbancia asociada a 460 nm) y la λ_{max} 520 nm (532 para nuestro caso) son indicadores de sustituciones glicosídicas en la posición C-3, siempre y cuando se presenten casi al doble que las de las antocianinas con sustituciones glicosídicas en posición 5 o ambas 3 y 5.

Tabasco fue el clon donde se presentó el máximo pico de absorbancia a 532 nm, de donde se puede inferir que en este clon se encuentra la mayor concentración de cianidinas, mientras que K'in mostró los menores niveles de absorbancia.

En la microfermentación de las muestras de clones existe una disminución general de los compuestos fenólicos, entre ellos el grupo de las antocianinas. En la Fig. 7-b, se apreció que el pico a 532 nm desapareció como consecuencia del proceso fermentativo. La estabilidad de las antocianinas ha sido reportada a ser sensible a la temperatura, la acidez, el grado de oxidación y la interacción con otras moléculas complejas, características que se modifican en el cotiledón

como consecuencia de los días de fermentación, la difusión de metabolitos del mucílago, así como por las reacciones exotérmicas y de la actividad enzimática.

La desaparición de las cianidinas es un indicador de calidad durante la fermentación, que en conjunto con otros fisicoquímicos se deben agrupar con fines de generar protocolos adecuados para maximizar los atributos de calidad.

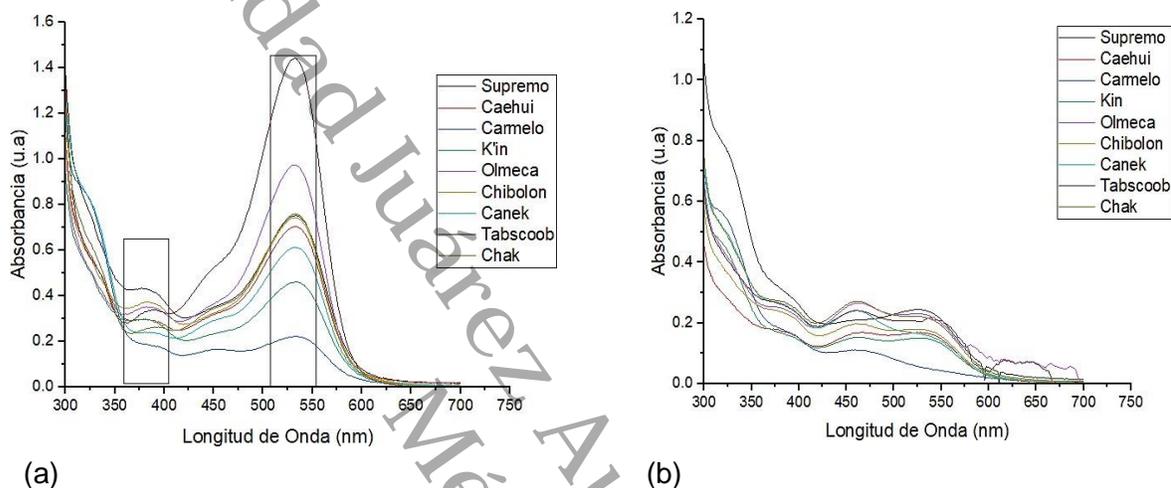


Figura 7. Barridos espectrales de Uv-Vis de 8 clones y variedad Carmelo antes (a) y después de la microfermentación dirigida (b)

8.8. Espectros infrarrojos

8.8.1 Interpretación de los espectros en cotiledón seco al sol de ocho clones y Carmelo

La Fig. 8. muestra los espectros del cotiledón seco al sol para los ocho clones de cacao y Carmelo. En general para todas las muestras se identificaron entre 34 y 36 señales de frecuencias (Cuadro 17). Fig. 9. a-b muestran los espectros de cotiledón seco al sol los clones y Carmelo en regiones específicas con las asignaciones de frecuencias de las bandas.

El cotiledón del cacao, es una fase compleja multifásica que está constituida de forma proximal por la grasa del cacao, proteínas, carbohidratos, fibra, minerales y humedad. El cotiledón está formado por diferentes compuestos químicos que se pueden agrupar en distintas clases químicas como los compuestos volátiles que incluyen: ácidos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos grasos y pirazinas principalmente, así también los no volátiles como:

alcaloides, aminoácidos, flavonoides, ácidos fenólicos, azúcares, ácidos carboxílicos (Palladares et al., 2016). Por lo anterior, existen muchas señales que se sobrepondrán dificultando la interpretación, muestra de ello se observa en las Fig. 8 y 9 Comparando la Fig. 8. con respecto a la Fig.10 se pueden observar señales asociadas al contenido de grasa expuestas en el anterior apartado y nuevas señales asociadas de los distintos componentes del cotiledón seco al sol. Señales en el intervalo de 2957 a 2849 cm^{-1} son asignadas a modos vibraciones de extensión simétricos y asimétricos de grupos metil y metilenos que están presentes en grupos de lípidos, ácidos grasos, alcoholes, aminas, compuestos fenólicos y compuestos aromáticos (Hu et al., 2016; Ng et al., 2014). En la Fig. 9-a del cotiledón seco al sol, se puede observar las mismas señales encontradas en grasa, con diferencia en la intensidad.

La Fig. 9-b muestra las señales encontradas de mayor a mediana intensidad en la región de 1800 a 400 cm^{-1} y puede verse claramente las diferencias con respecto a la Fig. 10 -b. La señal a 1744 cm^{-1} y 1162 cm^{-1} identificada en grasa y asociada a ésteres se encontró desplazada a 1732 cm^{-1} y 1177 cm^{-1} . Una banda ancha a 1641 cm^{-1} se puede observar en el espectro natural, y cuando se aplicó la segunda derivada se ubican varias señales entre 1631 cm^{-1} y 1662 cm^{-1} (Cuadro 15).

Estas señales no se encuentran en la grasa (Fig. 10-b), corresponden a grupos de Amida I, Cetonas y Flavonoides (Hu et al., 2016; Liu et al., 2012). Otras señales de intensidad mediana detectadas en el cotiledón seco al sol que son diferentes a las encontradas en la grasa fueron 1418, 1269, 1214, 1198, 1062, 1035, 1016 y 688 cm^{-1} que corresponde a fenoles, flavonoides, ésteres, cetonas, pirazinas, anillos de polisacáridos, proteínas y alcoholes secundarios (Liu et al., 2012; Movasaghi et al., 2008).

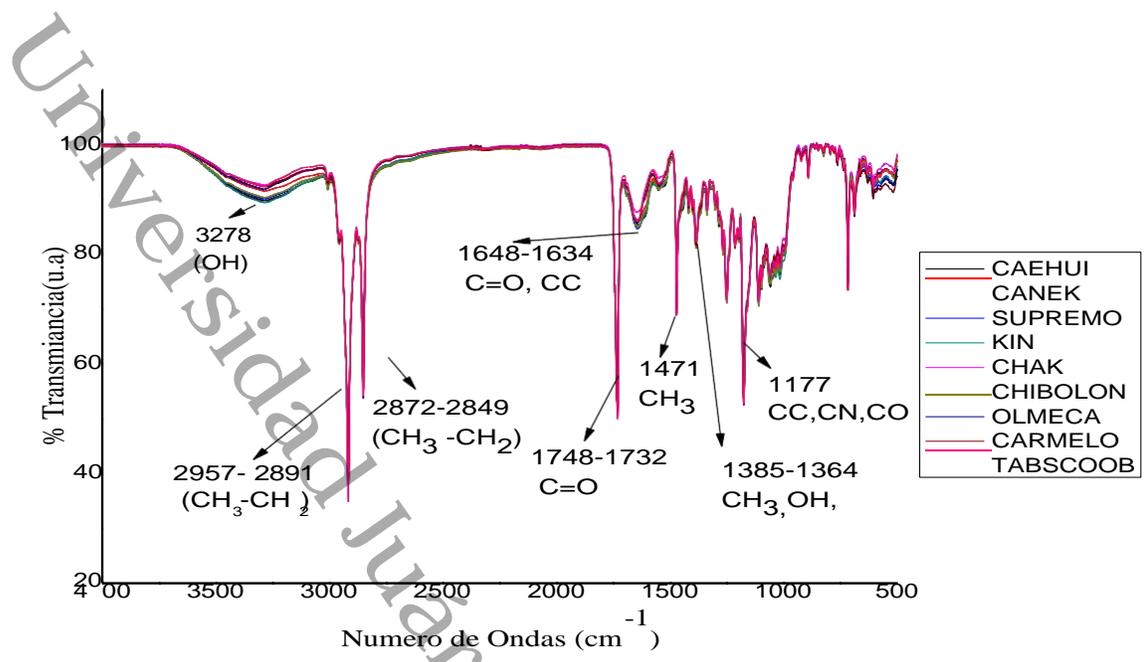


Figura 8. Espectros de FTIR con ATR de cotiledón seco al sol de 8 clones y la variedad Carmelo en la región 4000-400 cm^{-1} .

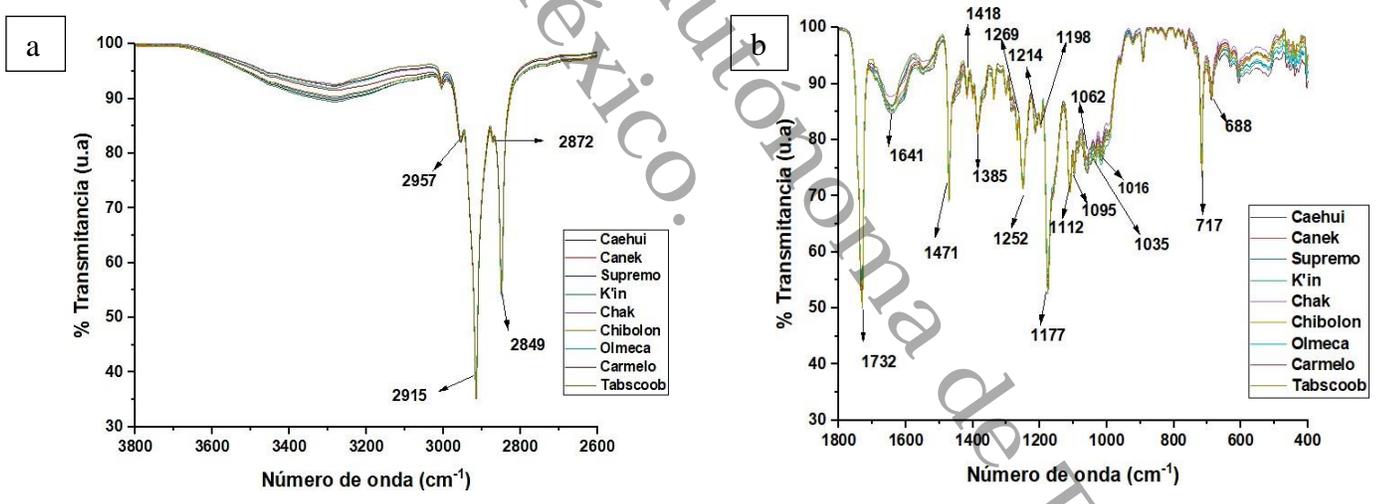


Figura 9. a-b Espectro de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo: a) en la región 3800-2600 cm^{-1} , b) en la región 1800-400 cm^{-1} .

De los espectros evaluados, Chak y Olmeca fueron los que mostraron mayor diferencia en cuanto al menor número de señales encontradas en el presente trabajo. Chak mostró ausencia de bandas entre 1662-1631 cm^{-1} , mientras que los demás clones y la variedad Carmelo

reportaron señales en ese intervalo. Por otro lado, Olmeca se diferenció principalmente por la ausencia de tres señales a 1095 cm^{-1} , 1062 cm^{-1} y 1035 cm^{-1} de mediana intensidad, las cuales estuvieron presentes en todos los demás clones y Carmelo.

Caehui mostró señales a 1453 cm^{-1} y 1418 cm^{-1} que no fueron ubicadas en los otros clones, mientras que Supremo, K'in y Chibolon mostraron una señal a 1662 cm^{-1} que no fue encontrada en los demás materiales. El clon K'in presentó una señal a 1418 cm^{-1} y 1364 cm^{-1} que también no se observó en los demás clones. De igual manera, Carmelo, Canek y Tabscoob presentaron señales que diferencian un material de otro. Sin embargo, las señales antes mencionadas son débiles en todos los casos por lo que se tiene que tomar con precaución estas diferencias.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Cuadro 6. Asignación de números de onda de los espectros de cotiledón fermentado y seco al sol obtenida de ocho clones y la variedad Carmelo.

Frecuencia									Modo vibracional	Atribución principal	Intensidad
CAEHUI	CARMELO	CANEK	SUPREMO	K'IN	CHAK	CHIBOLON	OLMECA	TABSCOOB			
2957	2957	2957	2957	2957	2957	2957	2957	2957	$\nu_{As}(CH_3)$		M
2933	2933	2933	2933	2933	2933	2933	2933	2933	$\nu_{As}(CH_2)$		D
2915	2915	2915	2915	2915	2915	2915	2915	2915	$\nu_{As}(CH_2)$	Lípidos/Ácidos grasos/otros	I
2891	2891	2891	2891	2891	2891	2891	2891	2891		s compuestos	D
2872	2872	2872	2872	2872	2872	2872	2873	2872	$\nu_s(CH_3)$		D
2849	2849	2849	2849	2849	2849	2849	2849	2849	$\nu_s(CH_2)$		I
1748	1748	1748	1748	1748	1748	1748	1748	1748	$\nu(C=O)$	Ésteres, ácidos, lípidos, aldehídos, cetonas	D
1732	1732	1732	1732	1732	1732	1732	1732	1732	$\nu(C=O)$	Amida I, ésteres alifáticos y aldehídos saturados aromáticos	I
-	-	-	1662	1662	-	1662	-	-	$\nu(C=O), \nu(C=C)$	Cetonas conjugadas, cis	D
1658	1658	1658	1658	1658	-	1658	1658	-	$\nu(C=O)+\omega(N-H)$	Amida I	D
1646	1646	1646	1646	1647	-	1646	1646	1646	$\nu(C=O), \nu(CC)$	Flavonoides, Amida I	D
1642	1640	1642	1641	1641	-	1642	-	-	$\nu(CC)$		M
1630	1634	1631	1633	1632	-	1631	1634	1634	$\nu(CC)$		D
1471	1471	1471	1471	1471	1471	1471	1471	1471	$\rho_{As}(CH_3)$	Lípidos	I
1453	-	-	-	-	-	-	-	-	$\rho_s(C-H)$		D
1418	-	-	-	1418	-	-	-	-	$\rho_s(CH_3), \nu(CC)$		D

1385 1385 1385 1385 1385 1385 1385 1385 1385 $\rho_s(\text{CH}_3), \rho(\text{OH})$ Fenol M

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

-	-	-	-	1364	-	-	-	-	$\delta(\text{CH}_2)$, $\nu(\text{CC})$		D
1285	1285	1284	1285	1284	1284	1284	-	-	$\nu(\text{C-O})$	Ácidos	D
1270	1269	1269	1269	1269	1269	1269	1269	1269	$\rho_s(\text{CH}_3)$, $\nu_s(\text{COO-})$	carboxílicos Flavonoides	M
1252	1252	1252	1252	1252	1252	1251	1252	1252	$\nu(\text{C-O})$, $\nu(\text{C-N})$	Amida III, Fenol	I
1236	1237	1237	1237	1237	1237	1237	1237	1237	$\text{PO}_{2,AS}$	Amida III	D
1213	1214	1214	1214	1214	1214	1214	1214	1214	$\nu(\text{C=O})$	Cetonas alifáticas	M
1198	1198	1198	1198	1198	1198	1198	1198	1198	$\nu_{AS}(\text{OC=C})$	Ésteres, pirazinas	M
1177	1177	1177	1177	1177	1177	1177	1177	1177	$\nu(\text{CC})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{CO})$	Proteínas, cetonas	I
1155	1155	1155	1155	1155	1155	1154	1155	1155	$\nu_{AS}(\text{CO})$, $\rho(\text{CH}_2)$		D
1148	1148	1148	1148	1148	1148	1148	1148	1148	$\nu(\text{C-O-C})$	anillos (Carbohidratos)	D
1112	1112	1112	1112	1112	1112	1112	1112	1112	$\nu(\text{CO})$, $\nu(\text{CC})$	anillos (Polisacáridos- celulosa)	M
1096	1096	1096	1096	1096	1096	1096	-	1095	$\nu_s(\text{CO})$	Éster	M
1084	1084	1084	1083	1083	1084	1084	1083	1083	$\text{PO}_{2,s}$	Amida III	D
1062	1062	1062	1062	1062	1062	1062	-	1062	$\nu(\text{C-OH})$, $\delta(\text{C-O-C})$	Proteínas, anillos	M
1035	1035	1035	1035	1035	1035	1035	-	1035	$\nu(\text{CC})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{CCO})$, $\nu(\text{CO})$	(polisacáridos), Polisacáridos- celulosa	M
1016	1016	1016	1017	1017	1016	1017	1016	1016	$\nu(\text{CC})$, $\nu(\text{CN})$,	Alcoholes secundarios, anillos	
991	992	992	992	992	992	993	992	992	$\nu(\text{CO})$	(polisacáridos)	M
717	717	717	717	717	717	717	717	717	$\nu(\text{C-OH})$	Glucosa	D
-	688	-	-	-	-	-	688	-	$\rho_s(\text{CH}_2)_n$	Cadena lineal de n > 4	I

8.8.2. Interpretación de los espectros en la grasa de cacao de ocho clones y Carmelo

La Fig. 10 muestra los espectros de la grasa de cacao para los ocho clones de cacao y Carmelo. En general para todas las muestras se identificaron entre 17 y 18 señales de frecuencias (Cuadro 18). La figura 10 a-b muestran los espectros de los clones y Carmelo en regiones específicas con las asignaciones de frecuencias de las bandas.

Sin considerar la intensidad, 5 clones presentaron el mismo número y señales (Caehui, Canek, Supremo, Chak y Tabscoob), mientras que los otros clones mostraron diferencias entre 1365 cm^{-1} a 1195 cm^{-1} y Carmelo únicamente a 1062 cm^{-1} . Estas diferencias pueden ser atribuidas a diferencias en composición.

Las asignaciones de las frecuencias coinciden en su gran mayoría con lo reportado en la literatura (Guillén y Cabo, 1998). La grasa del cacao es denominada comúnmente manteca, y es el mayor componente en el grano del cacao. La manteca es una grasa polimórfica con seis estados cristalinos y representa una fase continua que sirve como una matriz dispersante para las partículas sólidas del cacao y para los demás ingredientes que se adicionan durante la formulación del chocolate. Los tipos de ácidos grasos y su distribución posicional de moléculas de triacilglicerol determinan las propiedades físicas y las características generales para su uso en la industria.

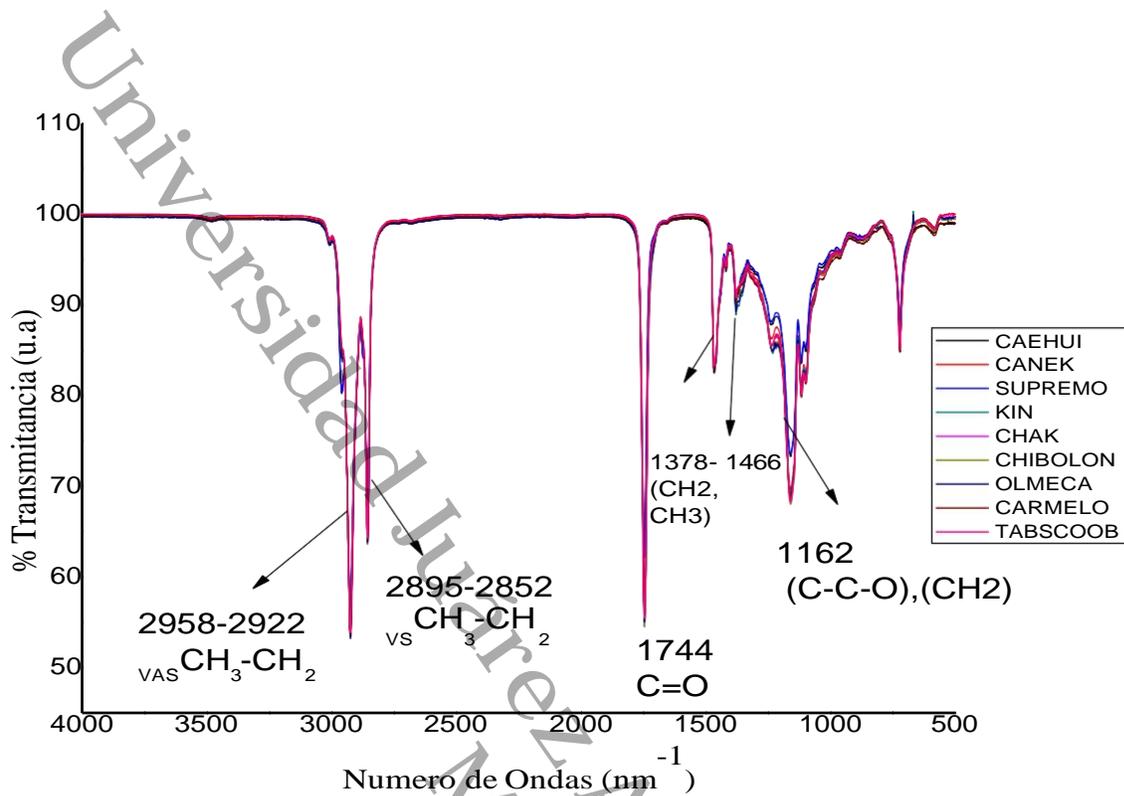


Figura 10. Espectros de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo en la región 4000-400 cm⁻¹.

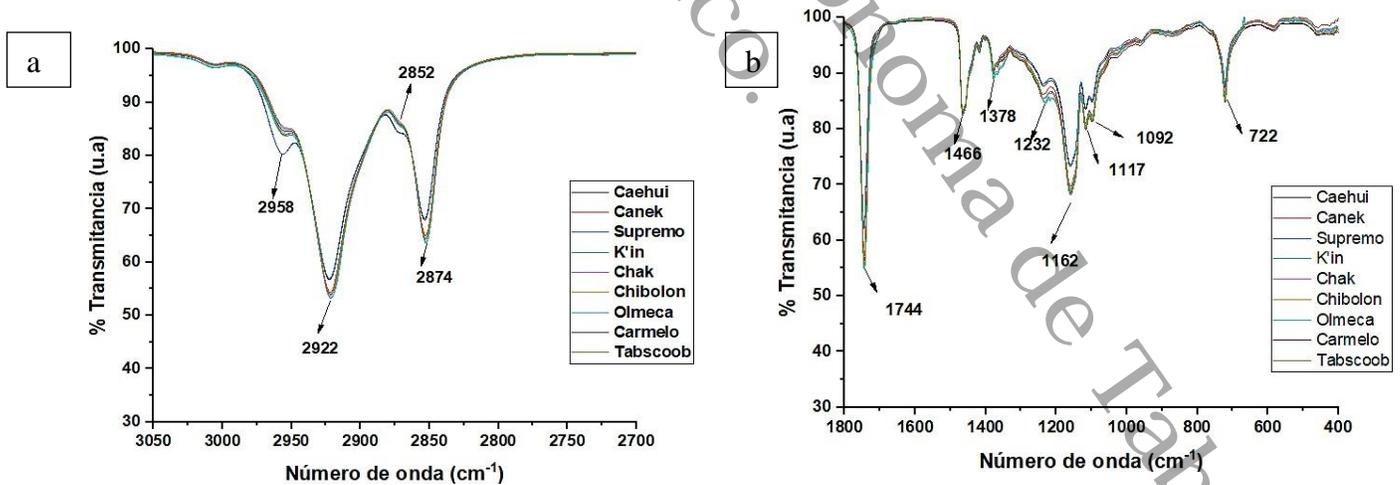


Figura 11. Espectro de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo: a) en la región 3100-2700 cm⁻¹, b) en la región 1800-400 cm⁻¹.

Cuadro 78. Asignación de números de onda de los espectros de grasa obtenida de ocho clones y la variedad Carmelo

Frecuencia									Modo vibracional	Atribución principal	Intensidad
CAEHUI	CARMELO	CANEK	SUPREMO	K'IN	CHAK	CHIBOLON	OLMECA	TABSCOOB			
2958	2958	2958	2958	2958	2958	2958	2958	2958	$\nu_{AS}(CH_3)$	Lípido s	M
2922	2922	2922	2923	2922	2922	2922	2921	2922	$\nu_{AS}(CH_2)$		I
2896	2895	2896	2896	2896	2895	2895	2895	2895			M
2874	2874	2874	2874	2874	2874	2874	2874	2874	$\nu_S(CH_3)$		M
2853	2852	2852	2853	2852	2852	2852	2852	2852	$\nu_S(CH_2)$		I
1746	1744	1744	1746	1744	1744	1744	1744	1744	$\nu(C=O)$	Éstere s	I
1466	1466	1466	1466	1466	1466	1466	1466	1466	$\rho(CH_2, CH_3)$	Lípido s	M
1380	1379	1379	1380	1379	1378	1378	1379	1378	$\rho_S(CH_3)$	Lípido s	M
-	-	-	-	1365	-	-	1365	-	$\rho_S(C-H)$		D
1262	1261	1262	1262	1262	1262	1262	1257	1262	$\nu(C-C-O)$		D
1241	1241	1241	1241	-	1240	-	-	1240	$\nu(C-O), \rho(CH_2)$	Polifosfatos, fosfolípidos	D
-	-	-	-	1232	-	1233	1232	-	$\nu(P=O)$		D
1215	1214	1213	1214	1215	1215	1215	1215	1214	$\nu(CO), \rho(CH_2)$		D
-	-	-	-	1203	-	1205	1202	-	$\nu(CO)$		D
1196	1195	1194	1195	-	1196	-	-	1194	$\nu(CO)$		D
1163	1162	1162	1163	1162	1162	1162	1162	1162	$\nu(C-C-O), \rho(CH_2)$		I
1143	1143	1143	1143	1143	1143	1143	1143	1143	$\nu(O-C-C)$		I
1117	1117	1117	1117	1117	1117	1117	1117	1117	$\nu(CO)$		D
1096	1096	1096	1096	1096	1096	1096	1096	1096	$\nu(CO)$		D

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
 México.

-	1062	-	-	-	-	-	-	-	n(CC), n(=COC), r(CO) rs(CH ₂) _n	Cadena lineal de n > 4	D
722	722	722	722	722	722	722	721	722			M

Las bandas iniciales que se identificaron para todos los espectros de estudio aparecen en el intervalo de 2958 cm^{-1} a 2852 cm^{-1} , las cuales son vibraciones bien documentadas y asignadas a extensiones asimétricas y simétricas de grupos metilos y metilenos asociados con intensidades fuertes y medianas respectivamente. A continuación, se encontró una señal intensa a $1744\text{-}1746\text{ cm}^{-1}$ para todos los espectros, la cual corresponde al grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$). Este tipo de grupo funcional aparece en distintos compuestos como cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos y sus derivados. Para la señal antes mencionada corresponde a un éster (Guillén y Cabo, 1998). Los ésteres son derivados de ácido carboxílicos, en su estructura se identifica un $\text{C}=\text{O}$ y uno simple $\text{C}-\text{O}$. Una forma de identificarlos, es la presencia de tres bandas intensas alrededor de 1700 , 1200 y 1100 cm^{-1} (Lozada et al., 2013), que para nuestras muestras de estudio se presentan a 1744 , 1162 y 1143 cm^{-1} .

La señal a 1466 cm^{-1} es asignada a flexión de grupos CH_2 y CH_3 y a 1378 cm^{-1} se asigna una flexión simétrica de metilos (Guillén y Cabo, 1999). Una señal a 1365 cm^{-1} se encontró únicamente para dos clones (Olmeca y K'in) con una intensidad débil. A $1240\text{-}1\text{ cm}^{-1}$ es una banda débil encontrada para cinco clones y Carmelo, pero no detectada para K'in, Chibolon y Tabscoob. Esta última señal está asociada a vibraciones de extensión de $\text{C}-\text{O}$ y flexión de grupos CH_2 , pero también se ha asignado a vibraciones de extensión de fosfatos de membranas de fosfolípidos (Movasagui et al., 2008).

Las señales entre 1232 cm^{-1} y 1162 cm^{-1} fueron asignadas a vibraciones de extensión de $\text{C}-\text{O}$ y flexión de grupos CH_2 y de acuerdo con Guillén y Cabo (1999) estas frecuencias están relacionadas con grupos acilo saturados. En este intervalo de frecuencias se encontraron diferencias entre los clones, las señales a 1232 cm^{-1} y $1202\text{-}5\text{ cm}^{-1}$ solo para K'in, Chibolon y Olmeca, mientras que la señal a $1194\text{-}6\text{ cm}^{-1}$ no fue detectada en estos mismos clones. Las señales a 1143 cm^{-1} , 1096 cm^{-1} y 1118 cm^{-1} se asignaron a vibraciones de extensión de $\text{C}-\text{O}$, cambios en esta última señal han sido asociados a la extinción de insaturaciones.

A 1062 cm^{-1} se ubica una señal solo encontrada en Carmelo, la cual es una señal débil tipo hombro. Finalmente, una señal aproximadamente a los 722 cm^{-1} la cual ha sido asociada a la sobreposición de vibraciones de balanceo de grupos de CH_2 y vibraciones de extensión fuera del plano de olefinas disustituidas en cis, además que también indica una cadena lineal con 4 o más grupos de CH_2 .

8.8.3. Interpretación de los espectros en cotiledón desgrasado (cocoa) al sol de ocho clones y Carmelo.

La Fig. 12. muestra los espectros del cotiledón desgrasado para los ocho clones de cacao y Carmelo. El cotiledón desgrasado es comúnmente conocido como cocoa y a partir de este momento se le denominará así. La cocoa mostró muchas señales identificándose más de 100 en algunos clones. Una banda muy fuerte se puede apreciar entre $3279-3283\text{ cm}^{-1}$, (Fig. 12) para todos los clones y Carmelo, la cual no fue identificada para grasa o para cotiledón seco al sol, además, cuando se aplicó la segunda derivada en todas las muestras se encontraron muchas señales en el intervalo $3450-2824\text{ cm}^{-1}$ (Fig. 13-b). Lo anterior, confirma la cantidad de compuestos presentes en las muestras y que las señales son comunes a muchos grupos funcionales que corresponden a la región de vibración de extensión X-H que identifica una variedad de grupos funcionales como los alcoholes, aminas, lípidos, fenoles y compuestos hetero-aromáticos como piridinas, pirazinas, pirroles, furanos y tiofenos (Silverstein, Xebster, & Kiemle, 2005). Estas señales fueron ocultas en las muestras de cotiledón seco al sol por la presencia de la intensidad de las señales de grasa. La identificación de muchas señales en esta región se debe a la aplicación de la segunda derivada, debido a que se disminuye la relación señal/ruido y aumenta la complejidad del espectro.

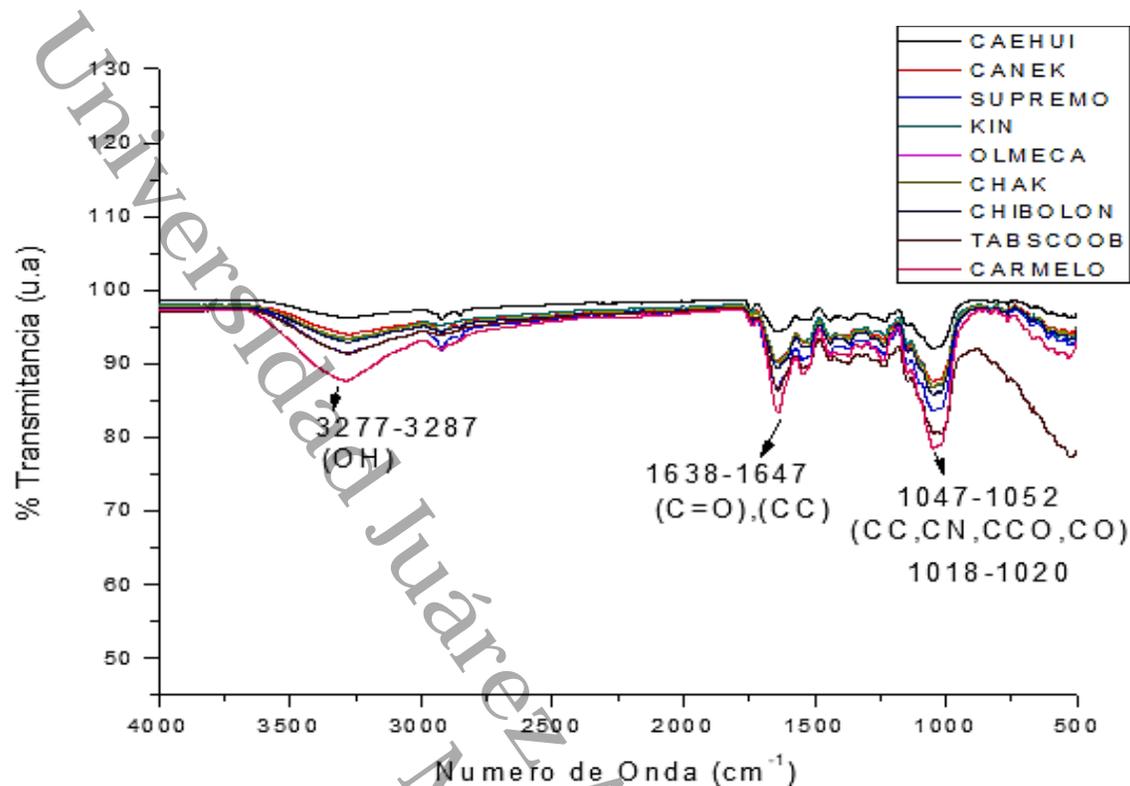


Figura 12. Espectros de FTIR con ATR de cotiledón seco al sol de 8 clones y la variedad Carmelo en la región 4000-400 cm^{-1} .

La Fig. 13-a muestra tres señales seleccionadas en la región 3800-2600 cm^{-1} , como aquellas representativas que se observan claramente en el espectro original, las cuales no fueron detectadas en las muestras de grasas o cotiledón seco al sol como se comentó previamente. La Fig. 13-b muestra la imagen del espectro en el intervalo de la región dactilar encontrándose al igual que en el cotiledón seco una diversidad de picos, sin embargo, en esta muestra se observa menor definición y menor intensidad en las señales, y la segunda derivada permitió identificar muchas señales ocultas o sobrepuestas o tipo hombro (Cuadro 19). La señal intensa a 1732 cm^{-1} y 1744 cm^{-1} ambas asociadas a vibraciones de extensión CO encontradas en grasa y cotiledón seco al sol desapareció en las muestras de cocoa, lo que confirma que es una señal asociada principalmente a los lípidos de cacao. Otra señal reportada en cotiledón seco al sol y grasa a 1177 cm^{-1} de forma intensa y débil respectivamente no fue encontrada en la cocoa, la cual también está asociada al contenido de grasa y se confirma que tanto 1732 cm^{-1} y 1177 cm^{-1} son señales que aparecen juntas

definiendo la presencia del grupo funcional Éster. La señal a 1641 cm^{-1} solo está presente en cotiledón seco al sol, sin embargo, en cocoa sería la señal a 1636 cm^{-1} y como se reportó previamente y se confirma, esta señal asociada a vibraciones de extensión $\text{C}=\text{O}$ de grupos Amida I, además de posiblemente de Cetonas y flavonoides. Alrededor de esta última señal en $1663\text{-}1636\text{ cm}^{-1}$ también se pueden asignar señales a las principales metilxantinas asociadas al cacao (Teobromina y Cafeína). Una señal intensa a 717 cm^{-1} y 722 cm^{-1} presente en cotiledón seco y grasa respectivamente, asociada a señales de cadena lineal (> 4) de CH_2 no fue detectada en las muestras de cocoa, por lo que esta asignación nuevamente esta asociada a lípidos presentes en el cacao. Lo anterior, permite establecer que las señales encontradas están relacionadas a grupos funcionales de aromáticos o con anillos principalmente.

Señales entre $1467\text{-}1469\text{ cm}^{-1}$ son asociadas a flexión de metileno, mientras que entre 1399 cm^{-1} y 1382 cm^{-1} son asignadas a modos de flexión simétricos de tijereo y balanceo de grupos metil de las proteínas (Movaságui et al., 2008).

Carmelo es el material con mayor número de señales con respecto a la de los clones evaluados en el estudio, no presentándose señales replicadas entre 2957 , 2922 y 2853 cm^{-1} dentro de la región X-H, solamente a 3279 cm^{-1} . Por otro lado, hay 14 señales consecutivas en el intervalo de 939 a 699 cm^{-1} que prácticamente no están presente en ningún clon (Cuadro 19) asociadas a señales de flexión de CH_2 , de flexión fuera del plano $-\text{C}-\text{H}$ y fuera del plano $-\text{HC}=\text{CH}-$.

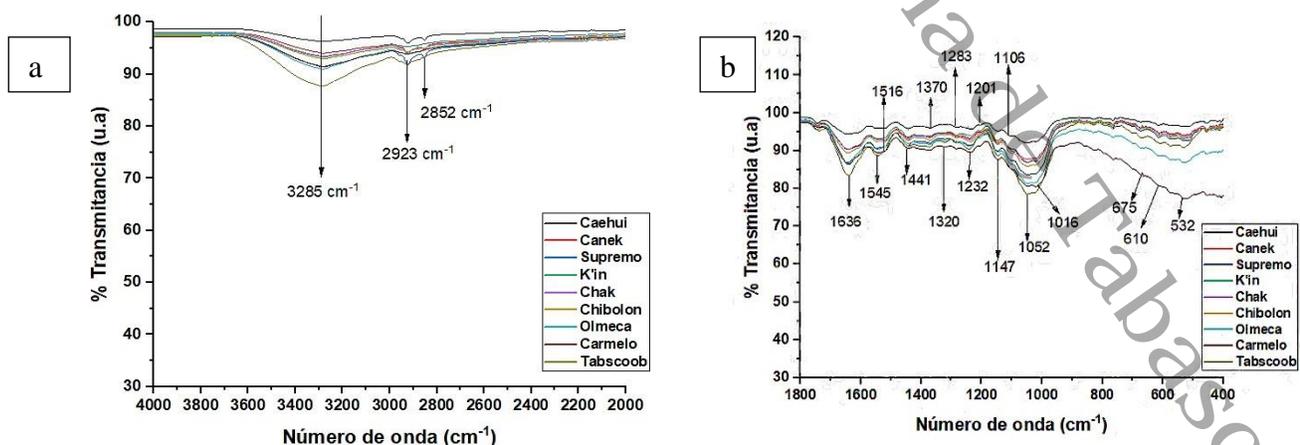


Figura 13 a-b. Espectro de FTIR con ATR de 8 clones y la variedad Carmelo: a) en la región $3800\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$, b) en la región $1800\text{-}400\text{ cm}^{-1}$.

De los espectros evaluados, Chak y Olmeca fueron los que mostraron mayor diferencia en cuanto al menor número de señales encontradas en el presente trabajo. Chak mostró ausencia de bandas entre $1662\text{-}1631\text{ cm}^{-1}$, mientras que los demás clones y la variedad Carmelo reportaron señales en ese intervalo. Por otro lado, Olmeca se diferenció principalmente por la ausencia de tres señales a 1095 cm^{-1} , 1062 cm^{-1} y 1035 cm^{-1} de mediana intensidad, las cuales estuvieron presentes en todos los demás clones y Carmelo.

Caehui mostró señales a 1453 cm^{-1} y 1418 cm^{-1} que no fueron ubicadas en los otros clones, mientras que Supremo, K'in y Chibolon mostraron una señal a 1662 cm^{-1} que no fue encontrada en los demás materiales. El clon K'in obtuvo una señal a 1418 cm^{-1} y 1364 cm^{-1} que no se observaron en los demás clones. De igual manera, Carmelo, Canek y Tabscoob presentaron señales que diferencian un material de otro. Sin embargo, las señales antes mencionadas son débiles en todos los casos, por lo que se tienen que tomar con precaución estas diferencias.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Cuadro 89. Asignación de números de onda de los espectros de cocoa obtenida de ocho clones y la variedad Carmelo

Frecuencia									Modo vibracional	Atribución principal	Intensidad
CAEHUI	CARMELO	CANEK	SUPREMO	K'IN	CHAK	CHIBOLON	OLMECA	TABSCOOB			
3279	3282	3285	3280	3282	3279	3280	3281	3283	$\rho\alpha$ (CH ₂)	Alcohol, Fenol, Flavonoides, Aminas, Aldehídos, Cetonas	I
				2970		2970					D
2957		2959	2958	2957	2958	2957	2959	2960	$n_{AS}(CH_3)$		D
2922		2923	2923	2923	2923	2923	2924	2924	$n_{AS}(CH_2)$		M
2853		2852	2853	2852	2853	2853			$n_S(CH_2)$		M
1744									$n(C=O)$		
									$n(C-N), r(N-H),$	Lípidos, Amida I,	
1695		1696	1694	1695	1697	1695	1694	1694	$n(C=O)$	Teobromina	D
					1689					Teobromina	D
	1683			1681	1681	1680	1681	1681	C=O	deformación de guanina	D
1669	1655	1679	1669	1671	1673	1672	1656	1672	$n(C=C)$	ácidos grasos	D
	1649	1650	1649	1650	1653	1650		1656	$n(C=O), r_d(H-N)$	Amida I, Teobromina y	D
	1639	1641	1641	1639	1641	1641				Cafeína	D
1633	1636						1636	1635			I
1600	1602	1601	1599	1602	1601	1601	1601	1600	C=N		D
1582		1581				1580	1579		$n(C-C)$	Anillo (fenilo)	D
1580									$n(C-C)$		D
	1576	1576	1575	1572	1574	1575	1575	1574	C=N		D
1569	1574	1572	1569			1569	1571		C=N		D
									$n(C-N), n(C-N-H),$		
1552	1553	1553	1552	1554	1555	1553	1552	1553	$n(C=O)$	Amida II	D
				1545		1548	1547	1545	$d(N-H), n(C-N)$	Amida II	M
1530		1531	1534	1536	1532	1532			$n(C=N),$	Amida II	D
									$n(C-C)$		

1516	1516	1515	1516	1517	1516	1516	1516	1516		Amida II	D
1503	1496		1497	1494	1496	1496	1496	1497	C=C, d(C-H)	deformación	D
1499			1490						C=C, d(C-H)		D
1497		1496							C=C, d(C-H)		D
1467	1469	1467	1467	1469	1468	1468	1468	1468	d(CH ₂)		D
1450	1452			1451		1450	1452	1452	r _d (CH ₂)		D
1443	1441	1441	1443	1442	1441	1442	1441	1441	r _d (CH ₂)		M
1412	1414	1413	1412	1414	1414	1413	1413	1413	n(C-N), d(N-H)		D
								1407			D
								1404			D
1396	1399		1395	1397	1399	1398		1402	r _s (CH ₃)	Proteínas	D
		1392			1393						D
	1385			1382	1384		1385				D
1370	1369	1369	1369	1368	1369	1369	1370	1370	n _s (CN)		M
1354	1352		1355	1350		1352		1354	r _a (OH)		D
		1347	1346								D
1333	1337				1335						D
1320	1321	1321	1321	1321	1319	1320	1320	1320		Amida III	M
1285	1285	1285	1286	1286	1285	1286	1284	1283		Amida III	D
			1270	1264					n(PO ₂)		D
		1237	1238	1247					n(PO ₂)		D
1229	1231		1228	1231	1232	1231	1231	1232	n(PO ₂)	Amida III	M
1202	1202	1200	1201	1202	1201	1202	1201		n(C-O)		D
1185											D
1157			1154	1150				1157	n _{AS} (CO), r(CH ₂)		D
1145	1148	1146	1147		1146	1147	1148	1147	n(C-O-C)		M
1109	1106	1104	1106	1106	1104	1106	1107	1107	n(CO), n(CC)	Anillo (polisacáridos, pectina)	D
1074	1076	1074	1075	1076	1073	1074	1076	1076	PO _{2,s}		D
1061		1060		1061					n(C-OH), d(C-O-C)		D
1044	1051	1049	1050	1051	1051	1051	1052	1052			I
1016	1017	1016	1017	1018	1016	1017	1017	1016	n(CC), n(CN), n(CO)		D
992	992	991	992	992	991	992	992	991	n(C-OH)		D

972	972	973	972	972	970	972	972	969	(OCH ₃), r(- HC=CH-)	Polisacáridos, pectina	D
	939						942				D
	922								r(-HC=CH-)		D
	896								fuera del plano		D
	887										D
	862										D
	843								(=CH ₂)		D
	829										D
	797										D
	783					782			r(-C-H)		D
	765					765			fuera del plano		D
	747					747					D
	728					727			r _a (CH ₂)		D
	713					715			r _a (CH ₂)		D
	699					699					D
	676			676		676		675			D
	660			660		661					D
	646					646			r _a (OH)		D
	638			640		640		640	fuera del plano		D
					628	633		637			D
					612	614		634			D
616	616	613	615	614	612	614	617	618			D
				610			610	610			M
		598		598	596			598			D

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

e) Evaluación sensorial del licor de cacao

8.9. Análisis Sensorial de clones mexicanos

Los resultados de la evaluación de los descriptores sensoriales de los nueve licores de clones de cacao se muestran en el Cuadro 20, mientras que la Fig. 15 muestra los resultados analizados mediante análisis de componentes principales (ACP), mientras que la Fig. 16 muestra un diagrama de calor. Adicionalmente la Fig. 14 muestra los atributos agrupados en un gráfico radial para examinar el comportamiento de los descriptores. Los resultados mostraron que los valores más altos se encontraron en cacao, acidez, amargor, astringencia y tostado. Estos atributos con excepción del tostado dependen de la composición química de origen y del proceso de poscosecha. Durante la fermentación y el secado se degradan los compuestos fenólicos y hay disminución de las metilxantinas, compuestos que contribuyen a la astringencia y amargura. La acidez es una de las principales características de los cacaos fermentados, formada por la actividad microbiana en el mucílago y por difusión penetra al interior del cotiledón provocando condiciones que permiten el desarrollo de los precursores de aroma. Los resultados de la evaluación para la variedad Carmelo mostraron notas ácidas características altas que se perciben de entrada, frutas rojas, cítricos y tropicales, con baja intensidad de cacao, frutas secas, baja intensidad de especias y nuez. Al final notas de panela. La calificación de calidad global para la variedad fue de ocho. Tres clones evaluados presentaron este valor, destacando Chibolon y Caehui con puntuaciones de 8.3 y 8.2 respectivamente. Las notas que destacan de Tabscoob son notas herbales, florales y frutas secas, con características complejas; Chibolon mostró un balance en los atributos básicos, notas de frutas amarillas, así como notas de especias y nuez, con notas finales de caramelo, finalmente Caehui mostró un balance sumamente complejo, presentó sabor inicial a panela, frutal intenso, floral y herbal suave, con notas de nuez.

La presencia de notas a especias ha sido reportada por Ovando et al. (2015) en cacaos del estado de Chiapas en México. En nuestros estudios las especias fueron detectadas en todas las muestras de licor con excepción del clon Olmeca. La nota más alta de especias fue para Chibolon y Caehui con un valor de 3.0 y 3.3, respectivamente, lo que indicó un atributo que caracteriza la muestras claramente. De acuerdo con Serra-Bonvehí (2005) y Ovando et al. (2015) este atributo está asociada a compuestos de naturaleza fenólica y se ha encontrado una correlación entre amargura y especias, por lo que más adelante se confirmó este hecho con el ACP.

Chak presentó una nota floral alta de 4.5, lo cual puede estar asociado a una baja fermentación. Lo anterior en función a que se detectó por los panelistas amargura y astringencia persistentes y que resaltan, notas herbales y terrosas, madera, especias y nuez en baja intensidad. Las características florales son notas complejas, que se encuentran compuestas por notas de pasto, vegetal verde, hierba, ó terrosos, hongos, musgos, ó flores como jazmín, rosa, lirio, entre otros.

El caramelo es un atributo que se presenta en criollos y que identifica aromas a caramelo, azúcar morena y panela. Caehui fue el único clon donde se detectó esta nota con un valor de 3.0 por lo que es un atributo que caracteriza y diferencia la muestra con respecto a otras. Las notas a frutas frescas es uno de los atributos más ampliamente encontrados en el cacao que corresponden a frutos rojos, cítricos, tropicales, bayas, frutas de los bosques, entre otros. En Carmelo se encontró el valor más alto (5.2) destacando notas de frutos rojas, cítricos y frutas tropicales. Chibolon con características a frutas amarillas como calabaza cocida, mientras que Caehui notas a frutos rojos y tropicales. La nota a nuez corresponde a la parte interna de las nueces y de la piel de avellanas, macadamia, nuez de nogal, marrón, entre otros. Este atributo fue detectado como característico en las muestras de Tabscoob, Canek, Chibolon y Caehui.

El tostado fue el atributo con el valor más alto (Cuadro 20) en dos muestras (K'in y Olmeca), que puede ser asociado al tamaño promedio del grano (partículas más pequeñas se sobretuestan), debido a que las condiciones de tostado de los granos fueron ajustadas en función del tamaño y humedad del grano. Un sobretostado ocasiona que los atributos complementarios se enmascaren. Sin embargo, K'in presentó sabores asociados a defectos, por lo que durante la microfermentación se debieron presentar producción de metabolitos indeseables, además este clon fue el único que no presentó atributos frutales y florales.

La Fig. 14 muestra el perfil de cada muestra de licor. En los clones Olmeca y K'in claramente se observa las notas más elevadas de tostado, así como también que K'in fue la única que reportó sabores atípicos, lo anterior indicó que, durante la microfermentación de las muestras, los microorganismos no contribuyeron con características indeseables y que el proceso permitió adecuadamente el desarrollo de perfiles sensoriales deseables. También se observó el perfil de Caehui destacando con notas bajas de acidez, amargor y astringencia, y un perfil más complejo en las demás notas, compartiendo similitudes con Chibolon.

Cuadro 20. Valores promedio de los descriptores sensoriales obtenidos para los licores de cacao de los clones del INIFAP-Huimanguillo.

Atributo	Carmelo	Supremo	Chak	Tabascoob	Canek	Chibolon	K'in	Olmecca	Caehui
Cacao	4.0	6.0	5.0	4.0	4.0	5.0	3.7	6.0	4.7
Acidez	6.0	2.0	2.0	3.0	3.0	2.0	3.0	3.0	3.3
Amargor	4.0	4.0	5.0	4.0	4.0	2.3	4.0	2.0	3.7
Astringencia	3.0	5.0	4.0	5.0	5.0	3.3	4.3	2.0	3.3
Fruta fresca	5.2	2.0	3.8	3.6	3.6	3.6	0.0	2.0	4.8
Fruta marrón	2.0	3.5	3.8	2.0	2.0	2.8	0.0	2.0	1.7
Floral	3.6	3.0	4.5	3.8	3.8	2.3	0.0	3.0	3.3
Madera	2.0	2.0	2.0	1.9	1.9	2.0	0.0	0.0	1.8
Especia	1.0	2.2	2.8	0.9	0.9	3.0	1.0	0.0	1.7
Nuez	1.0	2.0	1.0	3.0	3.0	2.8	2.0	0.0	3.0
Caramelo	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	3.0
Sabores atípicos	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	0.0	0.0
Tostado	5.0	4.7	5.0	4.7	4.7	4.7	6.0	7.0	5.7
Calidad global	8	7	8	8	7	8.3	4	5.8	8.2

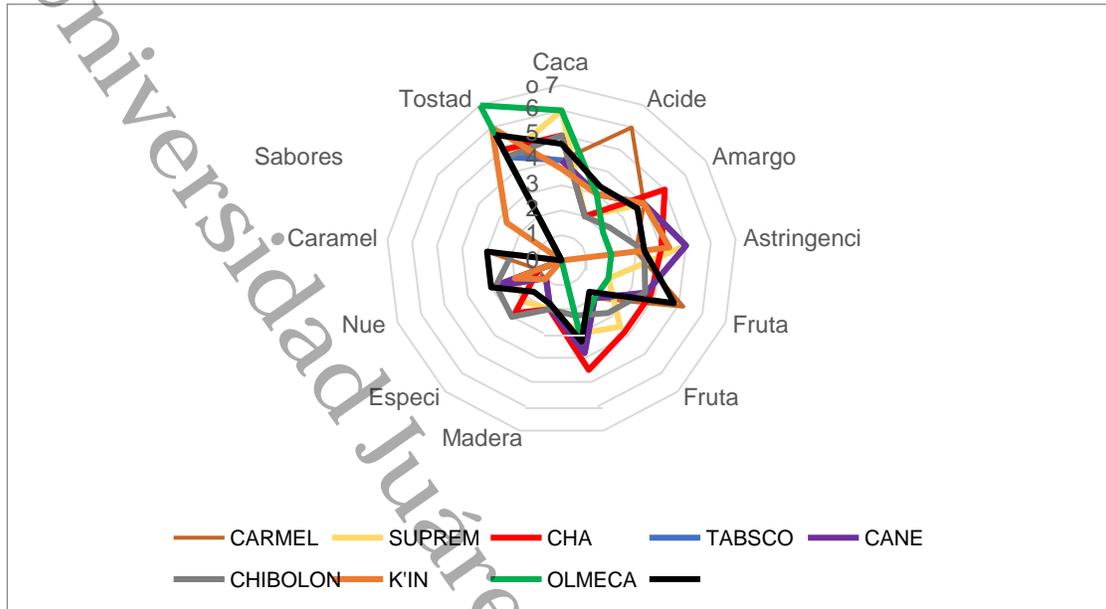


Figura 14. Atributos sensoriales que caracterizan al licor de cacao obtenido por microfermentación de los clones mexicanos.

El ACP fue aplicado para observar los cambios globales en la evaluación sensorial de los licores. Los resultados mostraron que los dos primeros componentes explicaron aproximadamente el 56.6 % de la variabilidad total (Figura 15). Diferencias claras se observan con los clones C9 (Olmecca) y C8 (K'in) con el resto de los clones, lo que confirmó las diferencias encontradas en los resultados de las evaluaciones sensoriales. En la Figura AB se observa una correlación en amargor y nuez, así también con la astringencia y especias. Estos resultados concuerdan con lo reportado en otros estudios que demuestran correlación entre amargura y astringencia (Stark et al., 2006). Otra correlación que se observó fue entre cacao y acidez, así como fruta fresca, floral y caramelo.

La Figura 16 muestra un mapa de calor que permite complementar la información del Cuadro 18 con el objetivo de diferenciar la intensidad de los atributos. Como se observó, los sabores atípicos solo se presentaron en la muestra C8 (K'in), mientras que la mayor intensidad en frutas marrón fue detectada en C1 (Chak) y C6 (Supremo), así también se observó como la acidez en la muestra C4 (Carmelo) fue el valor más alto.

Los resultados de los análisis de evaluación sensorial fueron aplicados a muestras de licor de cacao colectadas en la misma época, por lo que la contribución de aspectos ambiental

no es un factor a considerar dentro de las respuestas de evaluación. Por otro lado, los criterios de poscosecha, tostado y molienda se aplicaron bajo las mismas condiciones a todas las muestras, por lo que las diferencias que explican la diferenciación es atribuido a la composición de origen de los clones.

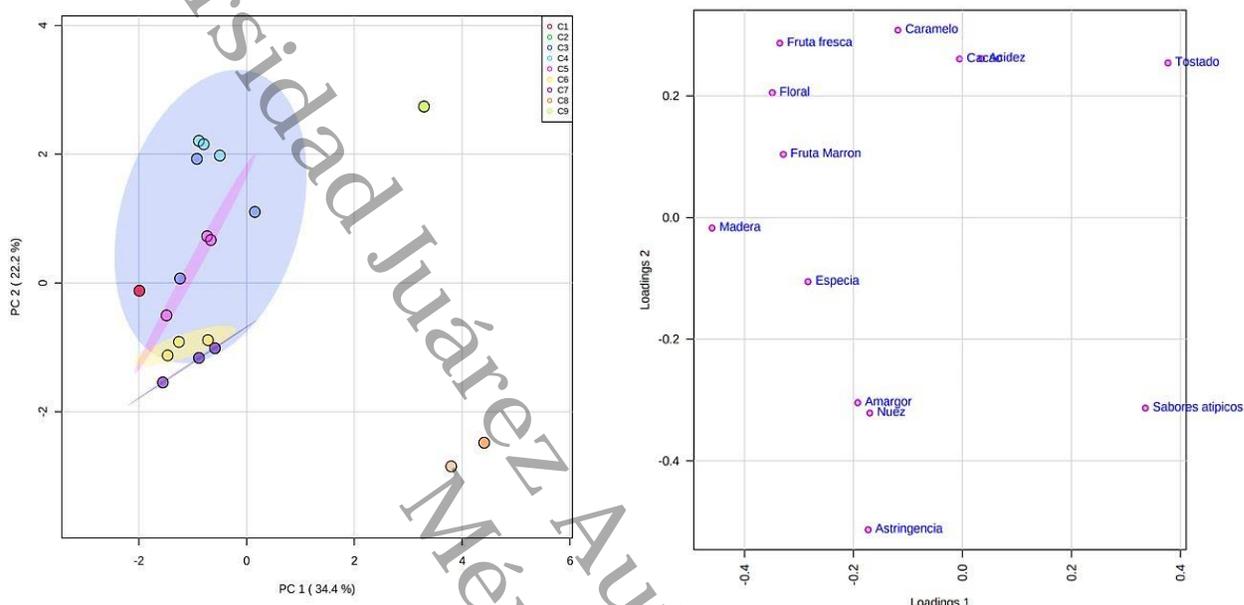


Figura 15. Análisis de componentes principales (PCA) para las muestras de los clones (A): C1(Chak), C2(Canek), C3(Caehui), C4(Carmelo), C5(Chibolon), C6(Supremo), C7(Tabscoob) y C8(K'in) y la carga de los descriptores (B).

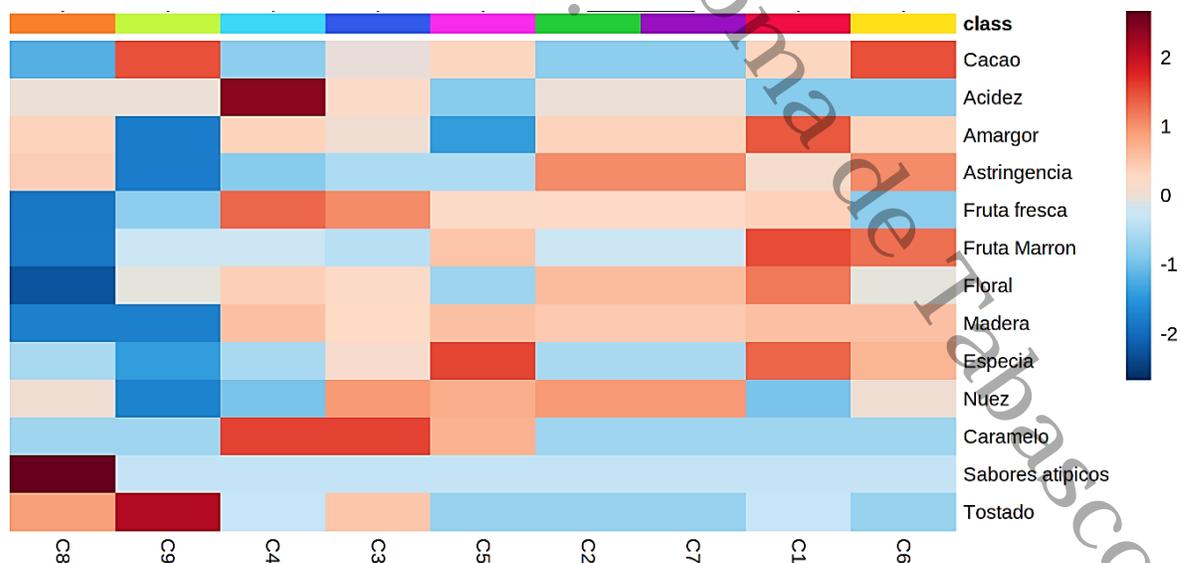


Figura 16. Mapa de calor de los atributos sensoriales versus los clones mexicanos.

9. CONCLUSIONES

- Las diferencias en las mediciones (longitud y diámetro) de los botones florares son atribuibles a la distinta constitución genética de los clones, sin embargo, conocer los tiempos de apertura de estos, nos permite tener una referencia exacta en niveles de producción.
- Las colectas y seguimiento de las plantaciones de clones establecidas presentan variación morfológica para todas las características del fruto, por lo que es observable la heterogeneidad de los clones evaluados por presentar valores por arriba de lo reportado en otras investigaciones referente al peso total de semillas por fruto y número de semillas relacionados con estándares de productividad.
- Los tres primeros componentes principales (CP) en el análisis morfológico describieron el 56.4 % de la variación total. Los parámetros que más contribuyen a la variabilidad observada fueron el peso del fruto, diámetro del fruto, longitud del grano y diámetro o grosor del exocarpio.
- De acuerdo a la huella de región dactilar de los datos por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) que incluye posiciones, intensidad y forma de los picos de absorción, se pueden establecer diferencias en los ocho clones para identificar y diferenciar. Lo anterior, confirma la cantidad de compuestos presentes en las muestras y que las señales son comunes a muchos grupos funcionales.
- Se propuso una microfermentación con un inóculo definido (levadura, bacteria láctica y acética) para evaluar el potencial de atributos sensoriales, lo que permitió establecer el perfil sensorial de los clones evaluados destacando Chibolon y Caehui con la mayor calificación global. Estas características sensoriales también fueron señaladas por indicadores fisicoquímicos.
- La microfermentación dirigida es una alternativa para conocer el potencial de pequeños lotes (clones o híbridos) de cacao con el fin de explorar las características fisicoquímicas y sensoriales.

10. PERSPECTIVAS

Los datos recabados hasta ahora permiten establecer la trazabilidad de materiales registrados por el INIFAP desde la fenología hasta la elaboración de licor de cacao pasando por las diferentes etapas de poscosecha y procesamiento. Sin embargo, se generan una gran cantidad de aspectos a considerar como la respuesta de estos clones a procesos de fermentación a escala comercial, estudios puntuales a nivel de metagenómica, metabolómica, proteómica que pueden detonar el posicionamiento de estos a nivel internacional. Por otro lado, las variables medidas en el presente estudio son aquellas que se pueden transferir hacia productores y procesadores de cacao a nivel de centros de acopio y son una herramienta para definir aspectos de normas mexicanas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

12. REFERENCIAS

- Acosta, R., Ortiz De Bertorelli, L., Graziani De Fariñas, L., Parra, P., & Trujillo De Leal. (2001). Estudio de algunas características físicas y químicas de la grasa de los cotiledones de tres tipos de cacao de la localidad de Cumboto. *Agronomía Tropical*, 51(1), 119–131.
- Adjalo, M. K., Oduro, W., & Banful, B. K. (2012). Floral phenology of upper Amazon cocoa trees: Implications for reproduction and productivity of cocoa. *ISRN Agronomy*, 1–8. <https://doi.org/10.5402/2012/461674>
- 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. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>
- Aguilar, Héctor. (2016). Evaluación de la Calidad del Grano de Cacao. Primera Edición; La Lima, Honduras, Cortés: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, p.29.
- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., & Sánchez, P. (2010). Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *Revista Científica UDO Agrícola*, 10(1), 76–87.
- Anita-Sari, I., & Susilo, A. W. (2015). Phenology of Flowering and Pod Maturity on Some Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Clones. *Pelita Perkebunan*, 31(2), 73–80.
- AOAC, 1990. Arlington, VA. In: Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Methods 932.06, 925.09, 985.29, 923.03.
- AOAC, 2015. Arlington, VA. In: Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Methods 932.06
- Argout, X., Salse, J., Aury, J.M., Guiltinan, M. J., Droc, G., Gouzy, J., Allegre, M., Chaparro, C., Legavre, T., Maximova, S. N., Abrouk, M., Murat, F., Fouet, O., Poulain, J., Ruiz, M., Roguet, Y., Rodier-Goud, M., Barbosa-Neto, J. F., Sabot, F., Lanaud, C. (2011). The genome of *Theobroma cacao*. *Nature Genetics*, 43(2), 101–108. <https://doi.org/10.1038/ng.736>
- Íñiguez, J. C., Avendaño Arrazate, C. H., Campos Rojas, E., López Palestina, C. U., Martínez Bolaños, M., Caballero Pérez, J. F., Báez Alonso, M., & Ariza Flores, R. (2021). Actividad antioxidante en genotipos de *Theobroma* spp. (Malvaceae) en México. *Revista de Biología Tropical*, 69(2). <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i2.41626>
- 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. *Universidad Autónoma Chapingo*. 1ª edición. p.76.

- Ayllón, M., & Rosario, S. (2000). Estudio fenológico del botón floral y de la mazorca en siete clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tingo María, Repositorio institucional, Facultad de agronomía, (Tesis) departamento Académico de Ciencias Agrarias. 36–91.
- Barrón-García, Y. P., Azpeitia-Morales, A., López-Andrade, P. A., & Mirafuentes-Hernández, F. (2014). Metodología adaptada para la formación de híbridos F1 de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tabasco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(5), 765–777.
- Bartley, B. G. D. (2005). The genetic diversity of cacao and its utilization. *United Kingdom. scientific Research an Academic Publisher. ISBN, 9780851996196.* <https://doi.org/10.1079/9780851996.0000>
- Biehl, B., Brunner, E., Passern, D., Quesnel, V. C., & Adomako, D. (1985). Acidification, proteolysis and flavour potential in fermenting cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(7), 583–598. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740360710>
- Braudeau, J. (1970). *El cacao. Colección Agricultura Tropical. Primera Edición. Editorial Blume. Barcelona (España).* 185–234.
- Brunetto, M. del R., Cayama, Y. D., Gutiérrez, L., Roa, S. C., Méndez, Y. C., Gallignani, M., Zambrano, A., Gómez, Á., & Ramos, G. (2009). Headspace gas chromatography–mass spectrometry determination of alkylpyrazines in cocoa liquor samples. *Food Chemistry*, 112(1), 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.082>
- 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 (Ottawa, Ont.)*, 60, 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.019>
- CAOBISCO/ECA/FCC Cocoa Beans: Chocolate and Cocoa Industry Quality Requirements. (End, M.J. and Dand, R., Editors) September (2015).
- Caballero Pérez, J.F., Avendaño Arrazate, C.H. (2014). Manual para el beneficiado del cacao. Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Centro de investigación regional pacifico sur. Campo experimental Rosario Izapa, Tapachula, Chiapas, México. 1ª edición.
- Cádiz-Gurrea, M., J. Lozano, M. Contreras, L. Legeai, S. Fernández y A. Segura. (2014). Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities. *Journal of Functional Foods*, 10: 485–498. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.016>.
- Castro -Muñoz, C, P., Panduro –Tenazoa, N, M., Velazco -Castro, E.V., & Iturraran- Pinto, E, S. (2017). Evaluación de la fenología reproductiva y dinámica de producción del cacao (*Theobroma cacao* L.) clon CCN – 51. *Big Bang Faustiniiano*, 6(1), 38 – 42.
- CIAT: International center for tropical agriculture; Análisis de la cadena productiva del cacao en Colombia (2019). p. 9-10.

- Chuanguang Q., Yang L., & Weining N. (2010). Analysis and characterisation of antocianinas in mulberry fruit. *Czech Journal of Food Science*, 28(2), 117–126.
- Cros E. & Jeanjean. N., (1995). Qualité du cacao. Influence de la fermentation et du séchage. *Plantation Recherche Développement*, 2(3), 21-27.
- Díaz-López, A. A., Velásquez Salazar, R., & Chirinos, M. (2009). Efecto del tamaño del botón floral sobre la inducción de embriones somáticos en cacao. *Agronomía Tropical*, 59(4), 481–489.
- Dostert, N., Roque, J., Cano, A., La Torre, M., & Weigend, M. (2012). Hoja botánica: Cacao, Investigación. *Lima-Perú*. Doi: 10.13140/ RG.2.2.31228.44165.
- Da, V., Vilela, F., Santos, C., & Lima, N. (2018). Volatile compounds and protein profiles analyses of fermented cocoa beans and chocolates from different hybrids cultivated in Brazil. *Food Research International*, 109, 196–203.
- Enriquez G. (2004). Cacao orgánico. Guía para productores ecuatorianos. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones agropecuarias. 2ª edición. Quito, Ecuador. INIAP. (Manual no. 54). p.360. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4571>
- Enríquez, G. (1991). Descripción y evaluación de los recursos genéticos. Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales. Castillo, R. Estrella, J. Tapia, C. Editorial Porvenir. Quito EC. 116 – 160.
- Engeseth, N. J., & Ac Pangan, M. E. (2018). Current context on chocolate flavor development- a review. *Current Opinion in Food Science*, 21, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.07.002>
- García, Alamilla, P. (2000). Caracterización microbiana, bioquímica y cinética del proceso de fermentación tradicional durante el beneficio de cacao (Tesis). Instituto Tecnológico de Villahermosa, ITVH y en la Beneficiadora No: 1 de Jalpa de Méndez, Tabasco.
- García Rincón PA., Núñez Ramírez JM., Bahamón-Monje AF, (2021). Características fisicoquímicas y sensoriales de almendras fermentadas de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) con adición de probióticos en el centro de investigaciones amazónicas, Cimaz Macagual (Caquetá, Colombia). *ingeniería y competitividad*, 23(2) [.https://doi.org/10.25100/iyc.v23i2.10885](https://doi.org/10.25100/iyc.v23i2.10885).
- Graziani De Farinas, 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, 133–144.
- Hue, C., Gunata, Z., Breyse, A., Davrieux, 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>

- ICCO (2018). International Cocoa Organization. Producción de cacao por grano Volumen XL No 3. Obtenido del International Cocoa Organization CCI. <http://www.icco.org/about-cocoa/growing>.
- INIAP, Boletín Técnico 135: Entorno Ambiental, Genética, Atributos de Calidad y Singularización del Cacao en el Nor Oriente de la Provincia de Esmeraldas, Quevedo-Ecuador. (2009).
- Instituto de Nacional de Estadística y Geografía. (2018). Anuario de estadísticas por entidad federativa México: INEGI.
- Jespersen, L., Nielsen, D. S., Honholt, S., & Jakobsen, M. (2005). Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. *FEMS Yeast Research*, 5(4–5), 441–453. <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.11.002>
- Longo, L., & Vasapollo, G. (2006). Extraction and identificación of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry*, 94(2), 226–231.
- Lares, A. M., Pérez, S. E., Álvarez, F. C., Perozo, G. J., & Khori, S. (2013). Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio. *Agronomía Tropical*, 63(1–2), 37–47.
- Lemus, M., Graziani De, F., Ortiz De, B., & Trujillo, L. (2002). Efecto del mezclado de cacaos tipos criollo y forastero de la localidad de Cumboto sobre algunas características físicas de los granos durante la fermentación. *Agronomía Tropical*, 52(1), 45–58.
- León, J. (2000). Botánica de los Cultivos Tropicales. Agroamérica; 3 edición. Costa Rica, San José, IICA. 678 pg.
- Lima, L. J. R., Almeida, M. H., Nout, M. J. R., & Zwietering, M. H. (2011). *Theobroma cacao* L., “The food of the Gods”: quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of fermentation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(8), 731–761. <https://doi.org/10.1080/10408391003799913>
- López-Hernández, J. G., López-Hernández, L. E., Avendaño-Arrazate, C. H., Aguirre-Medina, J. F., Espinosa-Zaragoza, S., Moreno-Martínez, J. L., Mendoza-López, A., & Suárez-Venero, G. M. (2018). Biología floral de cacao (*Theobroma cacao* L.); criollo, trinitario y forastero en México. *Agro Productividad*, 11(9), 129–135.
- Luna, F., Crouzillat, D., Cirou, L., & Bucheli, P. (2002). Chemical composition and flavor of ecuadorian cocoa liquor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3527–3532. <https://doi.org/10.1021/jf0116597>
- Márquez, R. J., Alba, L. J., Mendizábal, H. L., Ramírez, G. E., & Cruz, J. H. (2010). La fenología reproductiva y el manejo de los recursos forestales Foresta Veracruzana. *Recursos Genéticos Forestales Xalapa*, 12(2), 35–38.

- Melo, T. S., Pires, T. C., Engelmann, J. V. P., Monteiro, A. L. O., Maciel, L. F., & Bispo, E. da S. (2021). Evaluation of the content of bioactive compounds in cocoa beans during the fermentation process. *Journal of Food Science and Technology*, 58(5), 1947–1957. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04706-w>
- Misnawi, J., & Ariza, B. (2011). Use of gas chromatography-olfactometry in combination with solid phase micro extraction for cocoa liquor aroma analysis. *International Food Research Journal*, 18, 829–835.
- Moreira, Álava. L.M., (2016). Efecto tiempo-temperatura de tostado del cacao fino de aroma en sus características fisicoquímicas y organolépticas. ESPAM, Tesis. <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/556>.
- Muñoz, C. P., Tenazoa, N. M., Castro, E. V., & Pinto, E. S. (2017). Evaluación de la fenología reproductiva y dinámica de producción del cacao (*Theobroma cacao* L.) clon CCN - 51. *Big Bang Faustiniiano*. 6, 38–42.
- Neira Mosquera, J. A., Revilla Escobar, K. Y., Aldas Morejon, J. P., & Sánchez Llaguno, S. N. (2020). Métodos de fermentación del cacao nacional (*Theobroma cacao*) y su influencia en las características físico-químicas, contenido de cadmio y perfiles sensoriales. *Alternativas*, 21(3), 42–48. <https://doi.org/10.23878/alternativas.v21i3.339>
- 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>
- Nielsen, D. S., Teniola, O. D., Ban Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T. S., & Holzappel, W. H. (2007). The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 168–186.
- Nogales, J., Graziani De, F., & Ortiz De, B. (2006). Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera¹. *Agronomía Tropical*. 56, 5–20.
- Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Cacao, productos y derivados Cacao. II Chocolate. III Derivados. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial.
- Normas técnicas internacionales, ISO/1114: (1977). COCOA BEANS-CUT TEST.
- Norma Oficial Mexicana NOM-F-129-S-1979, Cacao en grano lavado, secado y no fermentado. (Esta Norma cancela a la NOM-F-129-1966).

- Ortiz, B. L., Graziani de F, L., Rovedas, G, L. Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. (2009). *Agronomía Tropical*. 59 (2).
- 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>
- Pal, D., & Verma, P. (2013). Flavonoids: a powerful and abundant source of antioxidants. *International Journal, Pharmacy Pharmaceutical Sci*, 5(3), 95–98.
- Peralta-Jiménez, L., & Cañizares-Macías, M. P. (2013). Ultrasound-assisted method for extraction of theobromine and caffeine from cacao seeds and chocolate products. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3522–3529. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-1014-3>
- Phillips, W., Enríquez, G. A., & Turrialba, C. (1988). Programa de mejoramiento de cultivos tropicales. In *Series Técnicas, Boletín Técnico*. p. 18–60.
- Preciado A., De la Cruz P. M., Moyano R. M. P., Ramos T. I. C., Remicio G. J. M. (2019). Diseño del proceso productivo de licor de cacao en Chulucanas. Universidad de Piura. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Industrial y de Sistemas.; <https://hdl.handle.net/11042/3794>.
- Pridmore, R. D., Crouzillat, D., Walker, C., Foley, S., Zink, R., Zwahlen, M. C., Brüssow, H., Pétiard, V., & Mollet, B. (2000). Genomics, molecular genetics and the food industry. *Journal of Biotechnology*, 78(3), 251–258. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(00\)00202-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(00)00202-9)
- Pontillon, J. (1998). Production, Utilization, Caractéristiques. Science et Techniques Agroalimentaires - Technique et Documentation Lavoisier (FR), Paris, France. p.638.
- Portillo, E., Graziani De Farinas, L., & Betancourt, E. (2007). Chemical analysis of Criollo Porcelana Cocoa (*Theobroma cacao* L.) in the South of Maracaibo Lake. *Revista Facultad de Agronomía. (LUZ)*, 24, 522–546
- Portillo, E. M., Labarca, L., Grazziani, E., Cros, S. E., Assemat, F. R., & Davrieux, M. (2009). Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2), 458
- Quintanilla, G. (2017). Análisis Físico de los Granos de Cacao. Cacao de Calidad. La Federación Nacional de Cacaoteros (Fedecacao) Guía para el cultivo de cacao.
- Ramos, G., González, N., & Zambrano, A. (2013). Olores y sabores de cacaos (*Theobroma cacao* L.) venezolanos obtenidos usando un panel de catación entrenado. *Revista Científica UDO Agrícola*, 114(1), 114–127.
- Ramos Ospino, A., Gómez Alvaréz, M., Machado-Sierra, E., & Aranguren, Y. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of cocoa isolates (*Theobroma cacao* L.)

- from Dibulla, Guajira. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1–17. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1557
- Reyes, H. y C. L. De Reyes, (2000). El cacao en Venezuela. Moderna Tecnología para su cultivo. Editorial: Chocolates El Rey, Caracas, Venezuela. p.270.
- Ricaño-Rodríguez, J., Ramos-Prado, J. M., Cocolletzi-Vásquez, &., & Hipólito-Romero, E. (2018). El estudio genómico del cacao (*Theobroma cacao* L.); breve recopilación de sus bases conceptuales. *Theobroma Cacao* L.); *Breve Recopilación de Sus Bases Conceptuales*. *Agroproductividad*, 11, 29–35.
- Ríos F, Ruiz A, Lecaro J, Rehpani C. (2017). Estrategias país para la oferta de cacaos especiales Políticas e iniciativas privadas exitosas en el Perú, Ecuador, Colombia y República Dominicana. Fundación Swiss contact Colombia. Bogotá D. C. p.140.
- Romero, C., & Zambrano, A. (2011). Análisis de azúcares en pulpa de cacao por colorimetría y electroforesis capilar. *Revista Científica UDO. Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4).
- Restrepo, G., Leiva Rojas, J. P., & Pisco, E. I. (2017). Phenology of cocoa tree in a tropical moist forest. *Científica, Jaboticabal*, 240–252
- Sánchez, Campuzano, V. (2007). Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L), para la selección de árboles con perfiles de sabor de interés comercial universidad técnica estatal de Quevedo facultad de ciencias agrarias escuela de ingeniería agronómica. p. 93. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3446>.
- Salinas, N., & Bolivar, W. (2012). Ácidos grasos en chocolates venezolanos y sus análogos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 25(1), 25-33.
- Sari, I. A., & Susilo, A. W. (2015). Phenology of Flowering and Pod Maturity on Some Cocoa Clones (*Theobroma Cacao* L). *Pelita Perkebunan*, 31(2), 73–80.
- 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(1), 42–48. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(199705\)74:1<42:aid-jsfa768>3.3.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199705)74:1<42:aid-jsfa768>3.3.co;2-1)
- Serra, B. (2005). Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *European Food Research and Technology*, 221, 19–29.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagent. *American Journal Enology. Viticulture*, 16, 144–158.
- Solórzano Chávez, E., Amores Puyutaxi, F., Barragan, J., Nicklin, C., & Miranda, S. (2015). *Comparación sensorial del cacao (Theobroma cacao L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador Ciencia y Tecnología*. 8, 37–47.

- Sotelo, A., & Alvarez, R. G. (1991). Chemical composition of wild *Theobroma* species and their comparison to the cacao bean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(11), 1940–1943. <https://doi.org/10.1021/jf00011a009>
- Sim, S. Y. J., Ng, J. W., Ng, W. K., Forde, C. G., & Henry, C. J. (2016). Plant polyphenols to enhance the nutritional and sensory properties of chocolates. *Food Chemistry*, 200, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.092>
- Teneda, Llerena, W. F., (2016). Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51. *Universidad internacional de Andalucía*.
- UPOV (2011). Unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales *T. cacao*
- Vásquez, H., & García, L. (2005). Correlation and path coefficients analysis on pod and seeds of cocoa (*Theobroma cacao* L). In *Proceeding of 4th Malaysian International Cocoa Conference: Sustainable Cocoa Economy through Increase in Productivity, Efficiency and Quality* (pp. 410–417).
- Vázquez, O., Ovando, A., Medina, I., Anaya, L., Ancona, D., & Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Órgano Oficial de La Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 66(3).
- Yañez, O., Osorio, M. I., Areche, C., Vasquez-Espinal, A., Bravo, J., Sandoval-Aldana, A., Pérez-Donoso, J. M., González-Nilo, E., Matos, M. J., Osorio, E., García-Beltrán, O., & Tiznado, W. (2021). *Theobroma cacao* L. compounds: Theoretical study and molecular modeling as inhibitors of main SARS-CoV-2 protease. *Biomedecine & Pharmacotherapie [Biomedicine & Pharmacotherapy]*, 140(111764), 111764.
- Yzarra, T., López, J. W., & Ríos, M. F. (2011). Manual de observaciones Fenológicas. *Dirección General de Agrometeorología (SENAMHI)*. Perú.
- Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A., & Alberto Rojano, B. (2015). Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7497–7507. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47>
- 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)
- Zurita, M., (2017, March 24). *Perspectivas globales de la ICCO. Cacao: La demanda crece, la oferta en déficit y los precios en alza*. *Redagráfica Perú*. <https://www.redagricola.com/pe/perspectivas-globales-la-icco-cacao-la-demanda-crece-la-oferta-deficit-los-precios-alza/>.

13. ANEXO

Anexo 1. Catálogo de clones mexicanos

CAEHUI

MAZORCA

Constricción basal: Moderado
Forma del ápice: Agudo
Forma del fruto: Oblonga
Color del fruto: Naranja/púrpura
Diámetro del fruto en (mm): 89.49
Largo del fruto en (mm): 178.10
Peso del fruto en (g): 605
Superficie: poco rugosa
Profundidad entre los lomos: poco profunda
Grosor del exocarpio (mm): 13.25

SEMILLAS

Número de semillas: 41
Largo de la semilla: 22.31
Diámetro de la semilla: 12.50
Espesor de la semilla: 8.52
Color de la pulpa: crema claro
Forma de la semilla: oval
Índice de peso de semillas: 1.42



CHAK

MAZORCA

Constricción basal: débil
Forma del ápice: agudo
Forma del fruto: oboval
Color del fruto: amarillo-verdoso
Diámetro del fruto en (mm): 88.05
Largo del fruto en (mm): 195
Peso del fruto en (g): 701.04
Superficie: mod. rugosa
Profundidad entre los lomos: poco profundo
Grosor del exocarpio (mm): 15.5

SEMILLAS

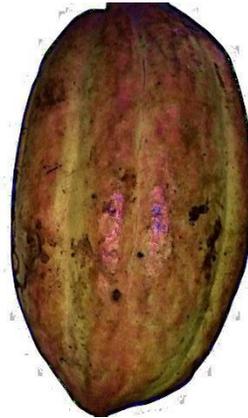
Número de semillas: 37
Largo de la semilla: 25.04
Diámetro de la semilla: 15.05
Espesor de la semilla: 9.27
Color de la pulpa: crema claro
Forma de la semilla: oval
Índice de peso de semillas : 1.94



OLMECA

MAZORCA

Constricción basal: ausente
Forma del ápice: obtuso
Forma del fruto: oval
Color del fruto: amarillo verdoso
Diámetro del fruto en (mm): 89.11
Largo del fruto en (mm): 158.25
Peso del fruto en (g): 550.88
Superficie: lisa
Profundidad entre los lomos: ausente
Grosor del exocarpio (mm): 14.99



SEMILLAS

Número de semillas: 42
Largo de la semilla: 22.05
Diámetro de la semilla: 14.28
Espesor de la semilla: 8.60
Color de la pulpa: crema claro
Forma de la semilla: oblonga
Índice de peso de semillas: 1.37

CHIBOLÓN

MAZORCA

Constricción basal: ausente
Forma del ápice: obtuso
Forma del fruto: elíptica
Color del fruto: amarillo/naranja
Diámetro del fruto en (mm): 85.54
Largo del fruto en (mm): 174.34
Peso del fruto en (g): 575.05
Superficie: lisa
Profundidad entre los lomos: ausente
Grosor del exocarpio (mm): 14.28



SEMILLAS

Número de semillas: 41
Largo de la semilla: 24.93
Diámetro de la semilla: 13.29
Espesor de la semilla: 7.58
Color de la pulpa: crema claro
Forma de la semilla: oblonga
Índice de peso de semillas: 1.31

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

CANEK

MAZORCA

Constricción basal: débil
Forma del ápice: agudo
Forma del fruto: elíptica
Color del fruto: amarillo/verdoso
Diámetro del fruto en (mm): 88.22
Largo del fruto en (mm): 196
Peso del fruto en (g): 631.61
Superficie: lisa
Profundidad entre los lomos: poco profundo
Grosor del exocarpio (mm): 14.12



SEMILLAS

Número de semillas: 37
Largo de la semilla: 24.36
Diámetro de la semilla: 14.05
Espesor de la semilla: 8.34
Color de la pulpa: crema claro
Forma de la semilla: elíptica
Índice de peso de semillas: 1.78

TABSCOOB

MAZORCA

Constricción basal: ausente
Forma del ápice: obtuso
Forma del fruto: oblonga
Color del fruto: amarillo/naranja
Diámetro del fruto en (mm): 81.12
Largo del fruto en (mm): 151.80
Peso del fruto en (g): 403.63
Superficie: lisa
Profundidad entre los lomos: ausente
Grosor del exocarpio (mm): 11.15



SEMILLAS

Número de semillas: 40
Largo de la semilla: 23.19
Diámetro de la semilla: 12.87
Espesor de la semilla: 7.16
Color de la pulpa: blanca
Forma de la semilla: oval
Índice de peso de semillas (g): 1.16

Univ. Juárez Autónoma de Tabasco.

K'IN

MAZORCA

Constricción basal: moderado
Forma del ápice: entallado
Forma del fruto: elíptica
Color del fruto: amarillo
Diámetro del fruto en (mm): 77.09
Largo del fruto en (mm): 166.46
Peso del fruto en (g): 429
Superficie: ligeramente rugoso
Profundidad entre los lomos: poco profunda
Grosor del exocarpio (mm): 11.58

SEMILLAS

Número de semillas: 40
Largo de la semilla: 19.83
Diámetro de la semilla: 10.99
Espesor de la semilla: 8.35
Color de la pulpa: crema oscuro
Forma de la semilla: oval
Índice peso de semillas (g): 1.09



SUPREMO

MAZORCA

Constricción basal: ausente
Forma del ápice: obtuso
Forma del fruto: oblonga
Color del fruto: amarillo/verdoso
Diámetro del fruto en (mm): 90
Largo del fruto en (mm): 146.42
Peso del fruto en (g): 555.06
Superficie: lisa
Profundidad entre los lomos: poco profundo
Grosor del exocarpio (mm): 14.34

SEMILLAS

Número de semillas: 40
Largo de la semilla: 23.06
Diámetro de la semilla: 11.60
Espesor de la semilla: 7.50
Color de la pulpa: crema oscuro
Forma de la semilla: elíptica
Índice de peso de semilla (g): 1.27



CARMELO

MAZORCA

Constricción basal: ausente
Forma del ápice: agudo
Forma del fruto: elíptica
Color del fruto: amarillo
Diámetro del fruto en (mm): 82.28
Largo del fruto en (mm): 165.83
Peso del fruto en (g): 551.16
Superficie: moderadamente rugosa
Profundidad entre los lomos: poco profundo
Grosor del exocarpio (mm): 14.58

SEMILLAS

Número de semillas: 37
Largo de la semilla: 21.85
Diámetro de la semilla: 13.17
Espesor de la semilla: 9.19
Color de la pulpa: crema claro
Forma de la semilla: oblonga
Índice de peso de semilla (g): 1.31

