

55

Fecha de presentación: octubre, 2021

Fecha de aceptación: diciembre, 2021

Fecha de publicación: enero, 2022

DIVERSIDAD FISICOQUÍMICA

Y SENSORIAL DE 60 ÁRBOLES ELITE DE THEOBROMA CACAO L., DEL SUR DEL ECUADOR

PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY DIVERSITY OF 60 ELITE TREES OF THEOBROMA CACAO L., FROM SOUTHERN ECUADOR

José Nicasio Quevedo Guerrero¹

E-mail: jquevedo@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8974-5628>

Maribel Ramírez Villalobos²

E-mail: mramire@fa.luz.edu.ve

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5050-6454>

Elvis Alfonso Portillo²

E-mail: elvisalfonso@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3610-5915>

Rigoberto Miguel García Batista¹

E-mail: rmgarcia@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2403-0135>

Ivanna Gabriela Tuz Guncay¹

E-mail: ituz_est@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0085-3495>

¹ Universidad Técnica de Machala. Ecuador.

² Universidad del Zulia. Venezuela.

Cita sugerida (APA, séptima edición)

Quevedo Guerrero, J. N., Ramírez Villalobos, M., Alfonso Portillo, E., García Batista, R. M., & Tuz Guncay, I. G. (2022). Diversidad fisicoquímica y sensorial de 60 árboles elite de Theobroma cacao L., del sur del Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 14(1), 543-553.

RESUMEN

Theobroma cacao L. tiene una amplia diversidad fenotípica en Ecuador debido a la gran variabilidad de sus escenarios ecogeográficos en los que se cultiva, la provincia de El Oro esta entre las tres zonas que registran áreas de cultivo de cacao fino y de aroma. El objetivo de este trabajo fue caracterizar de forma fisicoquímica y sensorial 60 árboles representativos de cacao del sur de Ecuador. Para la caracterización se utilizaron 22 descriptores fisicoquímicos y sensoriales de tipo cuantitativos y cualitativos. El análisis de PCA mostró que los descriptores más discriminantes fueron: fermentación total (FET), Granos deficientes (GRD), granos vanos (GRV), fermentación buena (FEB), fermentación media (FEM), pH del grano fermentado y seco (pHG), acidez del licor (Acid), granos violetas (GRVi) y actividad antioxidante (ACO) que explican el 80% de la varianza total acumulada. En el análisis de agrupamiento se obtuvo un dendrograma que muestra diez grupos bien definidos. Los granos de cacao que poseen elevado porcentaje de grasa presentan baja actividad antioxidante y viceversa, entre los 60 cacaos analizados existen muestras con elevada actividad antioxidante.

Palabras clave: Fisicoquímicos, fermentación, humedad, violetas, vanos.

ABSTRACT

Theobroma cacao L. has a wide phenotypic diversity in Ecuador due to the great variability of its ecogeographic scenarios in which it is cultivated, the province of El Oro is among the three zones that register areas of cultivation of fine and aroma cacao. The objective of this work was to characterize in a physicochemical and sensory way 60 representative cacao trees from the south of Ecuador. For the characterization, 22 quantitative and qualitative physicochemical and sensory descriptors were used. The PCA analysis showed that the most discriminating descriptors were: total fermentation (FET), deficient grains (GRD), vain grains (GRV), good fermentation (FEB), medium fermentation (FEM), pH of the fermented and dry grain (pHG), acidity of the liquor (Acid), violet grains (GRVi) and antioxidant activity (ACO) that explain 80% of the total accumulated variance. In the cluster analysis, a dendrogram was obtained that shows ten well-defined groups. The cocoa beans that have a high percentage of fat present low antioxidant activity and vice versa, among the 60 cocoas analyzed there are samples with high antioxidant activity.

Keywords: Physicochemicals, fermentation, humidity, violets, vain.

INTRODUCCIÓN

Theobroma cacao L. tiene una amplia diversidad fenotípica en Ecuador debido a la gran variabilidad de sus escenarios ecogeográficos en los que se cultiva, la provincia de El Oro está entre las tres zonas que registran áreas de cultivo de cacao fino y de aroma, lo que justifica la importancia de estudios que permitan conocer la variabilidad de la calidad fisicoquímica y sensorial existente en esta zona (Quevedo, et al., 2020a). *T. cacao* L. es un cultivo de gran interés en muchos países del mundo, sus atributos sensoriales y nutricionales han sido demostrados por varios investigadores, sus propiedades potencialmente idóneas para la salud al fortalecer el sistema inmune son las más atractivas para los consumidores. La calidad fisicoquímica (aromas y sabores del chocolate) de los granos de cacao se garantizan con una óptima fermentación y un secado lento de forma natural (Graziani, et al., 2013), el secado artificial con aire caliente produce una gran pérdida de polifenoles (Hii, et al, 2012). Entre los parámetros que resultan determinantes de la calidad sensorial está el pH, donde el incremento de la acidez está vinculado a los ácidos acéticos y lácticos producidos durante la degradación de la pulpa por el accionar microbiano en la fermentación, al inicio de este proceso los cotiledones presentan un pH de 6.60, a partir de las 24 horas desciende lentamente a 6.30, a las 48, 72, 96 horas lo hace de manera acelerada hasta llegar aproximadamente a 4.75, luego vuelve a ascender durante los tiempos de secado hasta 5.40 aproximadamente. En cuanto al pH inicial de la testa se registra una media de 3.80 lo que facilita el crecimiento de determinados microorganismos que actúan en los primeros días de la fermentación, luego aumenta hasta llegar a 4.00 a las 72 horas de haber iniciado el proceso. Valores altos de pH se relacionan con la sobre fermentación, pero valores inferiores a 5 señalan una fermentación deficiente (Portillo, et al., 2011). El pH es un parámetro crucial en la calidad del cacao empleado en la fabricación de chocolates (Del Valle, et al., 2014).

En nuestro país siempre ha primado la fermentación en cajas de madera, lo cual ha permitido obtener buenos resultados en la calidad, comparados con los resultados obtenidos con otros métodos de fermentación, conociéndose que los recipientes plásticos (baldes, gavetas, sacos) producen mayores porcentajes de granos de cacao violetas (Rivera, et al., 2012). Es importante señalar que el método y diseño del fermentador tienen relación directa con el porcentaje de fermentación buena, media y total, algunos autores reportan que existen marcadas diferencias en los porcentajes de fermentación buena entre el cajón cuadrado, el cajón fermentador rectangular y el rotor de madera (Quevedo, et al., 2020a). Según Ruiz, et al.,

(2015), señalan que el porcentaje de fermentación buena y la aparición de granos de cacao violetas luego de la fermentación son directamente condicionados por la época de cosecha, según sus resultados de investigación manifiesta que durante el período seco es mayor el porcentaje de fermentación buena y menor el número de granos de cacao violetas.

Algunos estudios previos evidencian que el porcentaje de testa tiene relación directa con el peso del grano de cacao, esta influye en la calidad del tostado debido a un alto porcentaje de pérdida de grasa que migra desde los cotiledones a la cáscara, lo que disminuye la calidad del licor al momento del refinado (Andrade et al., 2019). En otra investigación de análisis del contenido de grasa ejecutado en Colombia usando 12 accesiones de cacao se obtuvo valores comprendidos en un rango de 51.4 a 57.7 %, se reporta en los resultados de investigación que el escenario ecogeográfico y sus variables ambientales especialmente la temperatura y la humedad relativa perturban el contenido del grano de cacao, señalando la humedad ambiental como el factor de mayor influencia en el contenido de humedad del grano, valores de humedad en el grano mayores a 8 % causan el deterioro del grano propiciando la contaminación y proliferación de microorganismos sobre el mismo, principalmente la presencia de hongos que pueden resultar tóxicos y perjudiciales para la salud del consumidor. El contenido de humedad en el grano menor al 6 % perjudica la calidad, volviendo quebradizo el grano.

Investigaciones realizadas en otras regiones productoras de cacao han proporcionado datos en sus resultados que difieren significativamente con los valores promedios establecidos como normales o aceptables para ciertos genotipos, es así como han sido reportados materiales con mayores porcentajes de acidez, grasa, humedad y proteínas en cacaos criollos, y valores más altos de pH y taninos para los granos de cacaos del genotipo forastero (Ortiz, et al., 2009), encontró que se observan diferencias muy marcadas en los genotipos evaluados en granos de cacao comercial tomada en la región cacaotera venezolana de Chuao, específicamente en parámetros químicos tales como contenido de humedad, grasas y cenizas, evidenciando que el origen geográfico es determinante en la calidad de los frutos del cacao.

En Ecuador existe el genotipo conocido como cacao Nacional con características sensoriales de alta calidad que lo hacen único por su sutil sabor "arriba". Cabe indicar que estas características pueden verse anuladas por una deficiente fermentación, así también se conoce que con una adecuada fermentación presenta rangos bajos de granos de cacao pizarrosos (0-2 %); granos de cacao

violetas no > al 35 %; y granos de cacao con fermentación buena > al 75 % (Amores et al., 2009). Es importante señalar que al exceder la temperatura y existir deficiente remoción se producirá una sobre fermentación de la masa de granos. La clasificación de los granos con fines comerciales ha sido motivo de cientos de investigaciones de distintas técnicas analíticas, debido a que los granos con buena fermentación son la base para calidad de los productos en la industria chocolatera. La caracterización de los germoplasmas de cacao aporta el conocimiento general de los materiales existentes en cada zona y su comportamiento en condiciones de cultivo (Carvalho, et al., 2012).

Los cacaos considerados finos y de aroma se caracterizan por su alta calidad sensorial y son principalmente demandados por la industria chocolatera de alta gama (Avendaño, et al., 2021). A pesar de que los atributos sensoriales de este grupo genético son conocidos a nivel mundial, es relevante estudiar la diversidad fenotípica y genotípica existente de *Theobroma* spp., lo cual permitirá reconocerlos también por sus propiedades nutraceuticas tales como: actividad antioxidante, contenido de polifenoles, para propiciar un mejor precio de mercado internacional, debido a los beneficios que estas sustancias propician para la salud de los consumidores (Ramírez, et al., 2013).

Los productos derivados del cacao (polvo de cacao, pasta o licor de cacao, manteca y chocolates) presentan polifenoles con altos niveles de potenciales antioxidantes (Avendaño, et al., 2021), pudiéndose demostrar que presentan mayor actividad antioxidante que el té de *Camelia sinensis* L., y el vino tinto; en nuestro medio no existen estudios que señalen o permitan establecer diferencias entre los germoplasmas existentes de cacao que presenten características fisicoquímicas y sensoriales (Quevedo, et al., 2020a). Existe registro en otras regiones productoras de cacao los cacaos forasteros están siendo usado en mezcla con cacaos criollo en la preparación de chocolates en combinación con cacaos criollos, con el fin de aumentar su actividad antioxidante. Por lo anterior, se evaluó la actividad antioxidante de diferentes genotipos de cacao con el fin de identificar los materiales de mayor contenido de metabolitos secundarios relacionados con actividad antioxidante, diferenciando rasgos filogenéticos que coadyuven en corto plazo al mejoramiento genético de nuevos cultivares.

Kassambara & Mundt, (2016), manifiestan que en un estudio de caracterización de germoplasma vegetal para poder establecer cuáles son los atributos o descriptores más discriminantes que permitan conocer las accesiones más representativas de una población en estudio, se

debe realizar la evaluación preliminar asignando un número limitado de características registradas en estudios anteriores y que demuestren ser importantes para los fines del estudio, de ser factible, se debe usar descriptores estandarizados o de consenso con expertos acreditados en el tema. Estas características podrán ser evaluadas con los órganos de los sentidos, o a través de protocolos establecidos, pero no necesariamente ser expresadas en todos los ambientes. Un descriptor es una variable o atributo que se observa en un conjunto de elementos ejemplo: número de semillas, peso de cien semillas, etc.

Según Quevedo, et al. (2020b), indican que a la fecha actual los trabajos de caracterización en cacao se vienen realizando usando descriptores que han sido empleados desde hace tres décadas para caracterizar el germoplasma de las colecciones en diferentes centros de investigación entre ellos: el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), el Banco Internacional de Germoplasma de Cacao, International Cocoa Genebank Trinidad (ICGT, International Cocoa Genebank Trinidad) y la Base de Datos Internacional de Germoplasma de Cacao (ICGD, International Cocoa Germplasm Database). Los descriptores morfológicos se deben medir en los órganos vegetativos y reproductivos que están menos influenciados por el ambiente; los más importantes son; la flor y el fruto (Enríquez, 2010), basados en lo anterior se justifica la importancia de este trabajo que propone usar las variables fisicoquímicas y sensoriales como posibles descriptores para ser usados en estudios de caracterización de materiales prominentes de cacao con el fin de conservar las especies de cacao nacional fino y de aroma evitando la extinción de estas variedades en un tiempo prolongado. El objetivo de esta investigación fue analizar la diversidad fisicoquímica y sensorial existente en 60 árboles de cacao (*Theobroma cacao* L.) elite de la colección viva de la Universidad técnica de Machala, mediante el uso de descriptores parámetros finiquiticos y sensoriales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La caracterización fisicoquímica y sensorial de cacao (*Theobroma cacao* L.), se realizó en el periodo comprendido de 2020 a 2021, en los laboratorios de Química y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Ubicada en las coordenadas geográficas 3°15' 52.29" S, 79°57' 4.3" W, en el Cantón Machala, Provincia del Oro-Ecuador.

Se caracterizaron los granos por separado de mazorcas maduras y sanas provenientes de cada uno de los 60 árboles elite de cacao seleccionados previa caracterización morfoagronómica, a los cuales se les tomo 22

descriptores físicos, químicos y sensoriales considerados por The International Cocoa Organization (ICCO) organización intergubernamental establecida en 1973 bajo los auspicios de las Naciones Unidas y que opera en el marco de sucesivos Acuerdos Internacionales del Cacao. para calificar la calidad fisicoquímica y sensorial, los parámetros analizados se enumeran más adelante. La colección a la cual pertenecen los árboles cuyos granos han sido caracterizados está dentro del clima seco a semihúmedo, con un total pluviométrico anual entre 500 y 1000 mm recolectados de diciembre a mayo; la estación seca es muy marcada; y las temperaturas medias elevadas, superiores a 24°C.

Se cosecharon cinco frutos maduros y sanos siguiendo la escala de madurez para cacaos de tipo Nacional de cada uno de los 60 árboles en estudio. La quiebra se realizó con mazo de madera para extraer los granos e inmediatamente realizar la lectura de los grados Brix con un refractómetro (BOECO-103), se realizaron tres réplicas de las lecturas en los jugos de los mucílago frescos de cada muestra, se registraron los valores en las matrices de datos, luego se procedió a colocar las muestras de cada árbol en fundas de malla plástica con capacidad de 1000 g cada una, debidamente etiquetadas, luego fueron colocadas en el fermentadores cajones de madera de 60 x 60 x 60 cm (capacidad de 200 kg) de Laurel blanco (*Cordia alliodora* Ruiz & Pav. Oken), tapados con hojas de banano por tres días que es lo recomendado para cacaos de tipo Nacional, se le dieron ciclos de remoción manual a partir de las 48 horas, luego fueron sacadas del fermentador y puestas a secado natural lento y gradual en marquesinas bajo cubierta con plástico de invernadero calibre 8, por un lapso de 9 días o hasta alcanzar el 7% de humedad (Enríquez, 2010). Los granos fermentados y secos usados en este trabajo fueron sometidos a envejecimiento de 12 semanas con el fin de mejorar la estabilidad de los aromas y sabores, esto hace que las muestras sean más representativas en cualidades comerciales, y favorece la expresión óptima del verdadero potencial sensorial de los granos y el licor de cacao. Para la caracterización fisicoquímica y sensorial se usaron una lista de 22 variables/descriptores: siendo 9 de carácter físico, 5 de tipo químico y 8 de tipo sensorial, enumerados en la tabla 1. Para llegar a elegir estos criterios de evaluación se realizó una amplia búsqueda de información bibliográfica previa de donde se tomaron los más relevantes según los resultados expresados en los mismos.

Tabla 1. Descriptores utilizados para la caracterización de cacao.

	DESCRIPTORES QUÍMICOS, FÍSICOS, QUÍMICOS Y SENSORIALES	CODIGO
Físicos	D1. Humedad del grano fermentado y seco	HG
	D2. Fermentación buena (%)	FEB
	D3. Fermentación media (%)	FEM
	D4. Granos violetas (%)	GRVi
	D5. Granos vanos (%)	GRV
	D6. Fermentación total (%)	FET
	D7. Granos defectuosos (%)	GRD
	D8. Índice de grano (g)	IG
	D9. Índice de mazorca	IM
	D10. Grados Brix	GBx
	D11 pH del cotiledón fermentado y seco	pH
Químicos	D12. Contenido de grasa (%)	Gra
	D13. Fenoles totales	FEN
	D14. Actividad antioxidante	ACO
	D15. Sabor a cacao	Cac
	D16. Sabor floral	Flor
	D17. Sabor frutal	Fru
	D18. Sabor nuez	Nuz
Sensoriales	D19. Sabor caramelo	Car
	D20. Sabor amargo	Amg
	D21. Sabor ácido	Acid
	D22. Sabor astringente	Astg

Luego de cumplido el tiempo de secado se procedió a medir la humedad de los granos, se utilizó el medidor de humedad digital SAMAP-O-TEST modelo H40, programa 29 del equipo calibrado para granos de cacao fermentados y secos, las lecturas se realizaron a una temperatura ambiente de 20°C, esto se logró en el interior del laboratorio con aire acondicionado, se toma al azar 100 gramos de cada muestra y se colocan en la cámara de medición del equipo y al instante se lee el respectivo porcentaje de humedad en el visor digital, se hicieron tres lecturas (repeticiones por muestra) apegados a la NTE INEN-ISO 2291 (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2021a), Granos de cacao. Determinación del contenido de humedad (Método de rutina). El equipo SAMAP para medir el contenido de humedad en granos y cereales ha demostrado

ser eficiente en varios estudios. Para determinar los porcentajes de fermentación buena, fermentación media, granos violetas, granos vanos, granos defectuosos, fermentación total, se utilizaron 100 granos de cada una de las muestras de los 60 árboles, se realizó las pruebas de corte siguiendo las Normas Técnicas Ecuatorianas NTE INEN-ISO 1114 (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2021b). Prueba de corte (IDT), NTE INEN 176 (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2021c). Requisitos y la NTE INEN-ISO 2292, Granos de cacao. Muestreo. El índice de grano e índice de mazorca se obtuvieron aplicando la fórmula propuesta por Vera, et al., (2014).

El porcentaje de grasa se realizó siguiendo los protocolos de AOAC 1991, para esto se usó 3 g de muestra procesada de cada árbol con tres repeticiones por muestra, usando el extractor de Soxhlet. El contenido de antioxidante se cuantificó según el método descrito por Ordoñez, et al. (2019); se usó una solución metanólica del radical difenil 1-picrilhidrazil (DPPH) 1mM (40 mg de DPPH en 100 mL de metanol absoluto), diluida con metanol hasta llegar a la absorbancia próxima a 0,800 nm. La lectura de la absorbancia de las muestras se realizó a 515 nm y se utilizó metanol absoluto como blanco, directamente en la cubeta y sin tiempo de incubación, 50 µL del estándar antioxidante con 950 µL de DPPH. La actividad antioxidante se calculó a través de la ecuación: % DPPH reducido = $((A_0 - A_m) / A_0) \cdot 100$, donde: A_0 es la absorbancia inicial de la solución DPPH a 515 nm y A_m la absorbancia de la muestra. Los fenoles solubles totales se determinaron mediante el método de Folin-Ciocalteu modificado por Kraujalyte, adaptando la curva de calibración con ácido fenólico a proporción 1:10 (V:V) método modificado por Zhapan, et al. (2021). Se usó ácido gálico como solución madre de 1 mg·mL⁻¹ para la elaboración de la curva de calibración que permitió calcular la cantidad de fenoles solubles totales presentes en las muestras; se utilizaron tres soluciones de ácido gálico en metanol al 80% a razón de: 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 y 0,2 mg·mL⁻¹ de ácido gálico. De las soluciones anteriores, se tomó una alícuota de 100 µL, por triplicado, a la cual se le añadieron 1000 µL del reactivo Folin Ciocalteu diluido 10 veces. Transcurridos 4 min de incubación en oscuridad, se le agregaron 1000 µL de Na₂CO₃ al 7% y 400 µL de agua destilada y se volvieron a incubar por 90 min en oscuridad para después hacer las lecturas espectrofotométricas. La curva de calibración permitió obtener la ecuación para el cálculo del contenido de fenoles solubles totales.

Se pesaron 200 gramos de los granos fermentados y secos de las 60 muestras, se tostaron por separado, teniendo en cuenta la uniformidad térmica del flujo de aire a través de la cavidad del horno tostador CocoaT Jr Roaster

PI – Cocotown de bandeja estática de malla de acero inoxidable, los granos se colocaron en la bandeja en una capa de un solo grano de espesor. Todas las muestras se tostaron con el mismo peso a temperaturas de 115°C a 120°C durante 25 minutos teniendo en cuenta el tamaño de grano y su contenido de humedad anteriormente establecidos con el fin de maximizar el potencial aromático de cada tipo de grano de cada muestra. La combinación usada de temperatura y tiempo fue tomada de CAOBISCO/ECA/FCC (2015), recomendada para cacaos de tipo criollo y trinitarios respectivamente. La rotura y el descascarillado se realizó 20 minutos después de enfriarse los granos tostados, con el fin de evitar la absorción de olores y sabores indeseados desde el entorno.

Para evitar la contaminación los granos tostados y fríos se colocaron en bolsas ziploc, expulsando la mayor cantidad de aire posible, y utilizando un rodillo se procedió a quebrar suavemente los granos. Seguido se pasaron por la sopladora para separar la cascarilla de los nibs, los granos descortezados se colocaron en bolsas con auto cierre de calidad alimentaria para luego seguir con los procesos antes de cumplirse las 36 horas después del tostado, para evitar su deterioro se conservaron a 10°C en la nevera. La fabricación del chocolate para la evaluación de los atributos sensoriales se realizó utilizando la receta de la iniciativa Heirloom Cacao Preservation (Receta 1) tomada de CAOBISCO/ECA/FCC (2015), para lo cual se usó la refinadora de laboratorio Melanger ECGC-12SLTA – Cocotown, cada muestra se refino a 55°C para evitar la pérdida del potencial aromático intrínseco de los granos. La cata de las muestras se ejecutó según la normativa propuesta por Cocoa Research Centre Sensory Training Guide (Seguine & Sukha, 2015).

Los análisis estadísticos ANOVA de un factor, análisis de componentes principales y de clúster jerárquico se realizaron con los datos recolectados en la caracterización fisicoquímica y sensorial ordenados en una matriz de Excel, que contiene la información de las 60 accesiones de cacao y las medias de 5 repeticiones para los 22 descriptores/variables. El procesamiento de la información se realizó con el software IBM SPSS Statistics 20.

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de los datos en los estadísticos descriptivos (Tabla 2) se observó que existe una desviación típica baja para la mayoría de los descriptores analizados indicando que los árboles de cacao tienden a estar agrupados, excepto por la actividad antioxidante (ACO) que muestra la desviación típica más alta (61.03) de los descriptores analizados. Al observar los valores de significancia arrojados por el ANOVA (Tabla 2) para cada uno de los 22

descriptores analizados, podemos notar que existe significancia a ($p \leq 0.05$) para 17 de ellos, lo que nos da la seguridad que en los análisis de componentes principales estos descriptores tendrán un alto poder discriminante. Es de señalar que las medias de los descriptores físicos coinciden con los hallados por Chévez (2015), pero los valores mínimos y máximos no, esto nos indica que existen accesiones que difieren de las estudiadas por este autor en sus 30 árboles élite.

Para el descriptor índice de grano (IG) que es uno de los más importantes al momento de la comercialización, los valores mínimos encontrados concuerdan con los reportados por Vera, et al. (2014), y por los reportados también por Andrade et al., (2019) para cacaos de tipo Nacional de Ecuador, genotipo único conocido por su alta calidad en aromas y sabores. Los valores obtenidos para el descriptor Fermentación buena (FEB) el valor mínimo de 86 y el máximo de 96 % respectivamente indican que todas las muestras analizadas en este estudio en referencia a la tabla de clasificación de calidad del grano de cacao de la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 176 (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2021c) se encuentran dentro del grado 1 donde la media para este parámetro debe ser > 75 %, lo que también según la normativa anterior se conoce como ASS (Arriba Superior Selecto), este hallazgo coincide con lo reportado por Ruiz, et al. (2015); y Andrade et al., (2019), todos estos trabajos realizados con cacaos ecuatorianos de tipo Nacional.

En relación a los descriptores químicos los resultados obtenidos para % de contenido de grasa reportados por CAOBISCO/ECA/FCC (2015), son de 44,77 a 50,87 respectivamente, mientras que nuestro estudio señala valores de 30,19 a 60,71 % cuyo valor mínimo se asemeja al (26.3 %) reportado por Ramírez, et al., (2013), en investigaciones realizadas con materiales de cacao de tipo Nacional de Ecuador. Teniendo en cuenta que el contenido de grasa en el grano es muy importante para la industria del chocolate, cabe señalar que los valores encontrados distan de los reportados por otros investigadores para cacaos de Venezuela México y Perú respectivamente (Ramírez, et al., 2013).

La actividad antioxidante sin duda alguna presenta una gran desviación típica en sus valores mínimo y máximo, expresando una acentuada diversidad en el contenido de moléculas antioxidantes en las muestras estudiadas y los valores de contenido de grasas están directamente correlacionadas, es decir mientras mayor es el contenido de grasa en la muestra, menor será la actividad antioxidante de la muestra y viceversa, esto coincide con el estudio realizado por Ramírez, et al. (2013), con materiales de cacao en México.

Cabe señalar que dentro de los materiales estudiados existen accesiones con elevada actividad antioxidante que permitirían obtener grandes ventajas competitivas en el mercado por su calidad funcional-nutracéutico para la salud de los consumidores, y también poseen un potencial para la industria farmacéutica y cosmética.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos y resultado del análisis de varianza de los 22 descriptores analizados.

	Descriptores	Código	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	F	Sig.
Físicos	D1. Humedad del grano fermentado y seco	HG	60	5	10,1	6,45	1,36	1,58	0,44
	D2. Fermentación buena (%)	FEB	60	86	96	89,5	2,22	3,60	0,01
	D3. Fermentación media (%)	FEM	60	1	12	8,22	2,53	0,95	0,00
	D4. Granos violetas (%)	GRVi	60	0	4	1,02	1,14	17,20	0,28
	D5. Granos vanos (%)	GRV	60	0	7	1,27	1,71	11,13	0,00
	D6. Fermentación total (%)	FET	60	93	100	97,72	1,95	2,51	0,00
	D7. Granos defectuosos (%)	GRD	60	0	7	2,28	1,95	1,01	0,00
	D8. Índice de grano (g)	IG	60	0,92	5,66	1,93	0,88	5,17	0,00
	D9. Índice de mazorca	IM	60	6,31	45,07	18,36	9,4	2,88	0,00

Químicos	D10. Grados Brix	GBx	60	13,67	21,34	17,72	1,88	4,36	0,03
	D11 pH del cotiledón fermentado y seco	pH	60	4,7	5,88	5,58	0,31	1,12	0,00
	D12. Contenido de grasa (%)	Gra	60	30,19	60,71	48,7	7,73	6,58	0,00
	D13. Fenoles totales	FEN	60	0,79	14,46	4,79	2,72	1,27	0,00
	D14. Actividad antioxidante	ACO	60	3,57	275,16	82,16	61,03	14,83	0,00
	D15. Sabor a cacao	Cac	60	4	6	5,21	0,76	19,23	0,00
	D16. Sabor floral	Flor	60	0,5	2,5	1,16	0,69	19,23	0,00
Sensoriales	D17. Sabor frutal	Fru	60	2	5	3,44	0,68	4,89	0,16
	D18. Sabor nuez	Nuz	60	0,5	3	1,26	0,67	3,39	0,36
	D19. Sabor caramelo	Car	60	0	3,5	2,13	1,1	5,46	0,00
	D20. Sabor amargo	Amg	60	0,5	2,5	1,56	0,52	7,87	0,48
	D21. Sabor ácido	Acid	60	0	2	0,16	0,36	7,20	0,00
	D22. Sabor astringente	Astg	60	0	2	0,13	0,33	3,82	0,00

En el análisis de componentes principales (PCA), se determinó que la acumulación del 80 % de la varianza se obtuvo con 9 componentes y que los descriptores fermentación total (FET), granos deficientes (GRD), granos vanos (GRV), fermentación buena (FEB), fermentación media (FEM), pH del grano (pHG), acidez del licor de cacao (Acid), granos violetas (GRVi), y actividad antioxidante (ACO) fueron los más discriminantes pues obtuvieron los valores más altos en las comunalidades arrojadas por el PCA (Tabla 3).

Identificar los descriptores más discriminantes, nos permite realizar una presentación gráfica de la diversidad existente entre los árboles estudiados, además nos permitirá ahorrar tiempo y recursos en futuros trabajos de caracterización. De los 9 descriptores más informativos 6 corresponden a los de tipo físico tomados en los granos fermentados y secos, y los 3 restantes pertenecen a los químicos, estos resultados coinciden con los hallazgos citados por Andrade et al., (2019), donde se utilizan los mismos descriptores para estudiar la variabilidad de árboles de cacao de alta calidad sensorial de Ecuador y Perú; otros estudios realizados en 30 árboles élites de cacao de tipo Nacional en Ecuador realizado por Chévez (2015), en cuanto a la actividad antioxidante los resultados coinciden con los planteados por Quiñones, et al. (2013), quién reporta que la actividad antioxidante es muy variable en los granos de cacao según la genética y origen de las muestras y que puede ser un excelente descriptor para estudios de diversidad de la especie.

Tabla 3. Estimaciones de la varianza (valores propios), las variaciones acumuladas y los coeficientes de ponderación (auto vectores) de los 9 componentes principales para 22 caracteres fisicoquímicos y sensoriales evaluados en las 60 accesiones de cacao.

Componente	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9
Total	3,855	3,030	2,184	1,901	1,772	1,652	1,213	1,102	1,075
% de la varianza	17,524	13,773	9,926	8,640	8,056	7,509	5,512	5,010	4,886
% acumulado	17,524	31,297	41,223	49,863	57,919	65,427	70,939	75,950	80,836
Descriptor	Autovalores								
HG	0,306	0,273	-0,237	0,190	-0,074	-0,172	0,490	0,034	0,504
FEB	0,150	0,001	0,384	0,239	-0,725	-0,395	0,041	0,106	-0,173
FEM	0,580	-0,238	-0,286	-0,210	0,530	0,345	-0,001	-0,161	0,075
GRVi	-0,443	0,071	-0,261	-0,178	0,027	0,538	0,243	0,469	-0,096

GRV	-0,756	0,303	0,098	0,119	0,141	-0,357	-0,215	-0,214	0,178
FET	0,921	-0,307	0,067	0,000	-0,139	-0,002	0,046	-0,087	-0,099
GRD	-0,921	0,307	-0,067	0,000	0,139	0,002	-0,046	0,087	0,099
IG	-0,009	-0,547	0,090	-0,368	0,191	-0,301	0,008	0,264	0,182
IM	-0,241	0,558	-0,180	0,384	-0,031	0,153	0,317	-0,354	0,017
GBx	-0,257	-0,069	0,414	-0,249	-0,040	0,006	-0,281	0,330	0,114
pH	0,510	0,508	-0,288	0,028	-0,262	0,040	-0,379	0,224	0,245
Gra	0,064	-0,157	-0,482	0,372	0,383	-0,291	-0,287	0,082	0,009
FEN	0,303	0,420	0,602	-0,075	0,251	0,290	-0,120	-0,067	0,145
ACO	0,349	0,504	0,576	0,083	0,323	0,103	-0,083	-0,061	0,171
Cac	0,099	0,142	0,142	-0,653	-0,132	-0,161	0,365	-0,148	0,112
Flor	0,090	0,557	0,347	-0,286	0,202	-0,176	-0,015	0,088	-0,113
Fru	0,196	0,382	-0,217	-0,202	0,304	-0,305	-0,040	0,017	-0,552
Nuz	-0,240	0,113	-0,047	-0,284	-0,394	0,493	-0,226	-0,361	-0,263
Car	0,124	0,554	-0,006	0,085	0,089	0,033	0,352	0,436	-0,271
Amg	-0,061	-0,369	0,330	0,471	-0,083	0,483	-0,004	0,196	0,093
Acid	-0,431	-0,582	0,384	-0,057	0,255	-0,078	0,345	-0,159	-0,068
Astg	0,125	-0,116	0,379	0,599	0,305	-0,036	0,076	0,022	-0,287

La figura 1 muestra los resultados del análisis de componentes principales en espacio rotado, donde el primer componente principal explica el 17,524 % de la varianza total explicada, correlacionando principalmente las variables con distribución positiva (Tabla 3) como humedad del grano (HG), fermentación buena (FEB) y fermentación media (FEM) señalando a estos descriptores de tipo físico como los más discriminantes en este estudio, pudiéndose deber esto al correcto manejo del beneficio de los granos que se realizaron siguiendo las normativas propuestas por CAOBISCO/ECA/FCC (2015) para la fermentación, secado y envejecimiento de las muestras antes de realizar los análisis mediante las pruebas de corte (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2021b), y coincidiendo con lo reportados por otros autores (Graziani, et al., 2013; Quevedo, et al., 2020). Los tres primeros componentes explican 41,22 % de la varianza, siendo los descriptores responsables HG, FEB, FEM, GRV_i, GRV, FET, GRD todos de tipo físico, evidenciando una baja variabilidad entre las accesiones analizadas, explicándose esto si tenemos en cuenta que los árboles de donde provienen los granos analizados están formando parte de la colección de cacaos UTMACH implementada en 1979 y que pretendía conservar los materiales de cacao de tipo Nacional, ya que muchos de los caracteres aquí analizados coinciden con los reportados en estudios previos hechos a materiales pertenecientes a este grupo genético (Ruiz, et al., 2015; Chévez 2015; Andrade et al., 2019; Quevedo, et al., 2020b).

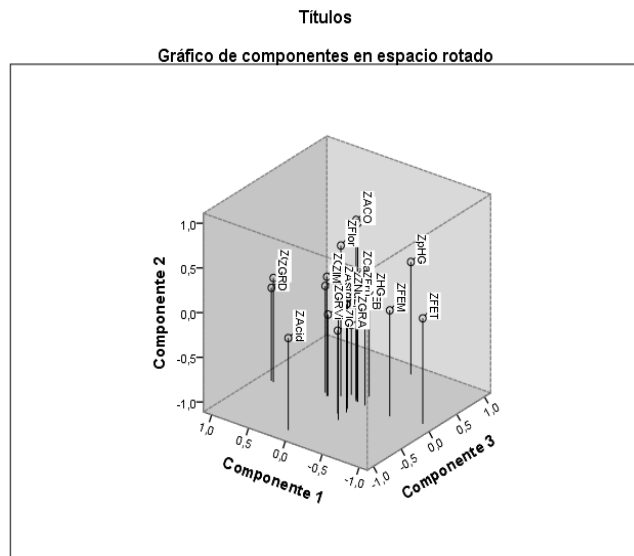


Figura 1. Componente en espacio rotado mostrando como se agrupan los descriptores sobre cada componente, indicando que existe poder de discriminación en función de las direcciones de sus vectores sobre los 3 componentes principales.

El análisis de conglomerados jerárquicos por medio del método de Ward dio como resultado 10 grupos bien definidos, esto demuestra la diversidad fisicoquímica y sensorial contenida en estas 60 accesiones de cacao pertenecientes a la colección de cacaos de la UTMACH, los 9 descriptores de tipo físico (FET, GRD, GRV, FEB, FEM, GRVi) y los 3 de tipo químico (pHG, Acid y ACO) han permitido acumular el 80 % de la varianza que ha llevado a este dendrograma de agrupamiento usando la distancia euclídea (Figura 2), evidenciando que los procesos de beneficio tales como la fermentación, secado lento y envejecimiento de los granos antes de realizar las pruebas de corte y determinar la calidad fisicoquímica de los granos es clave para lograr excelentes resultados con todos los materiales de tipo Trinitario y de tipo Nacional, ya que todas las muestras usadas en este trabajo alcanzaron la clasificación más alta en calidad grado 1 con la denominación Arriba Superior Summer Plantación Selecta según la Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 176 (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2021c).

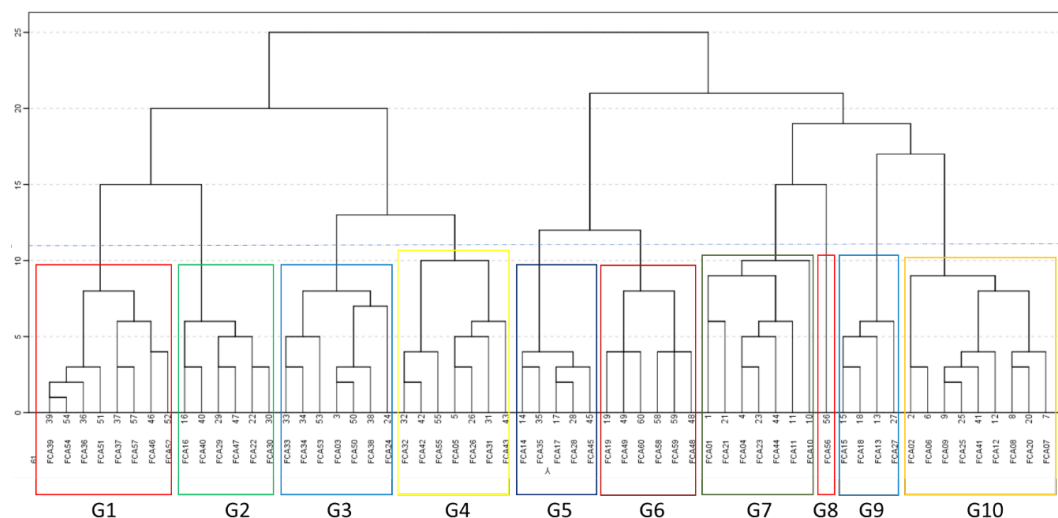


Figura 2. Dendrograma que utiliza una vinculación de Ward, combinación de conglomerados de distancias euclídeas que muestra 10 grupos bien definidos

Los 10 conglomerados que se formaron en el dendrograma están definidos por la similitud de los 9 caracteres fisicoquímicos más discriminantes, quedando constituidos así: G1 que agrupa a las accesiones FCA36, FCA37, FCA39, FCA46, FCA51, FCA52, FCA54 y FCA57; el G2 formado por FCA16, FCA22, FCA29, FCA30, FCA40 y FCA47; el G3 agrupa a FCA03, FCA24, FCA33, FCA34, FCA38, FCA50 y FCA53; el G4 contiene a FCA05, FCA26, FCA31, FCA32, FCA42, FCA43 y FCA55; el G5 formado por FCA14, FCA17, FCA28, FCA35 y FCA45; el G6 constituido por FCA19, FCA48, FCA49, FCA58, FCA59 y FCA60; el G7 con FCA01, FCA04, FCA10, FCA11, FCA21, FCA23 y FCA44; el G8 formado solo por la accesión FCA56; el G9 integrado por FCA13, FCA15, FCA18 y FCA27; y finalmente el G10 integrado por FCA02, FCA06, FCA07, FCA08, FCA09, FCA12, FCA20, FCA25 y FCA41 siendo este último el más numeroso con 10 accesiones. Estos grupos permitirán escoger los materiales más idóneos para futuros programas de fitomejoramiento.

CONCLUSIONES

De los 22 descriptores usados 9 agrupan el 80% de la varianza total explicada, lo que indica que existe diversidad fisicoquímica y sensorial en la población de cacaos UTMACH.

Los descriptores más discriminantes fueron fermentación total (FET), granos deficientes (GRD), granos vanos (GRV), fermentación buena (FEB), fermentación media (FEM), pH del grano fermentado y seco (pH/G), acidez del licor (Acid), granos violetas (GRVi) y actividad antioxidante (ACO) todos de tipo fisicoquímico, y podrían señalarse como los más importantes para ser utilizados en la caracterización de germoplasma con fines de identificar materiales de alta calidad.

Los granos de cacao que poseen elevado porcentaje de grasa presentan baja actividad antioxidante y viceversa, entre los 60 cacaos analizados existen muestras con elevada actividad antioxidante.

El análisis de conglomerados con los 9 descriptores más discriminantes clasifica las accesiones en 10 grupos que muestran una diversidad intraespecífica interesante, desde el punto de vista de la calidad fisicoquímica y sensorial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amores, F., Palacios, A., Jiménez, J., & Zhang, D. (2009). Entorno ambiental, genética, atributos de calidad y singularización del cacao en el nororiente de la provincia de Esmeraldas. Estación Experimental Tropical Pichilingue.

Avendaño Arrazate, C.H., Campos Rojas, E., López Palestina, C.U., Martínez Bolaños, M., Caballero Pérez, J.F., Báez Alonso, M., Ariza Flores, R., & Cadena Iñiguez, J. (2021). Actividad antioxidante en genotipos de *Theobroma* spp. (Malvaceae) en México. *Revista de Biología Tropical*, 69(2), 507-523.

Carvalho Santos, R., Pires, J. L., & Correa, R. X. (2012). Morphological characterization of leaf, flower, fruit and seed traits among Brazilian *Theobroma* L. species. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 59(3), 327-345.

Chávez Vera, H. D. (2015). Caracterización fisicoquímica y sensorial de treinta materiales élitos de cacao (*Theobroma cacao* L.). (Tesis de licenciatura. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Enríquez, G. (2010). Cacao orgánico guía para productores ecuatorianos. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4571/1/iniapeetpm54.pdf>

Graziani, L., Ortiz, L., Alvarez, N., & Trujillo, A. (2013). Fermentación del Cacao en dos diseños de cajas de madera. *Agronomía Tropical*, 53(2), 175-188.

Hii, A., A. Law, S., & Suzannah. (2012). Drying kinetics of the individual layer of cocoa beans during heat pump drying. *Rev. Journal of Food Engineering*, 108(1), 276-282.

Kassambara, A., & Mundt F. (2017). Package factoextra <https://cran.microsoft.com/snapshot/2016-07-17/web/packages/factoextra/factoextra.pdf>

Ordoñez Castillo, F. M., Bernal Pita Da Veig, M. de los Ángeles, Vidal Gonzalez, N. P., & Moreno Herrera, A. (2020). Efectos antioxidantes de *Moringa oleifera* LAM en vitroplantas de banano clon Williams enraizadas en sistemas de inmersión temporal RITA. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(3), 57-63.

Ortiz, L., Graziani, L., & Rovedas, G. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía Tropical*, 59(2), 119-27.

Portillo, E., Labarca, M., Grazziani, L., Cros, E., Assemat, S., Davrieux, F., & Boulager, R. (2013). Influencia de la condiciones del tratamiento poscosecha sobre la temperatura y acidez en granos de cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.). *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad Del Zulia*, 28(1).

- Quevedo Guerreo J. N., Jácome Vásquez J. E., Tuz Guncay I. G., García Batista R. M., & Luna Romero Á. E., (2020 b). "Análisis de diversidad fenotípica de 37 accesiones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) En la zona sur del Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(3), 102-108.
- Quevedo Guerrero, J. N., Ramírez Villalobos, M., Zhiminaicela Cabrera, J., Noles León, M. J., Quezada Hidalgo, C., & Aguilar Flores, S. (2020a). Diversidad morfoagronómica: caracterización de 650 árboles de *Theobroma cacao* L. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(6), 14-21.
- Quiñones Gálvez, J., Trujillo Sánchez, R., Capdesuñer Ruiz, Y., Quirós Molina, Y., & Hernández de la Torre, M. (2013). Potencial de actividad antioxidante de extractos fenólicos de *Theobroma cacao* L.(cacao). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(2), 201-215.
- Ramírez, M.B., Cely, V.H., & Ramírez, S.I. (2013). Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas-México. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 15(1), 27-40.
- Rivera, R., Mecías, F., Guzmán, A., Peña, M., Medina, H., Casanova, L., Barrera, A., & Nivelá, P. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología*, 5(1), 7-12.
- Ruiz, M., Mera, O., Prado, A., & Cedeño, W. (2015). Influencia de la época de cosecha en la calidad del licor de cacao tipo nacional. *ESPAMCIENCIA*, 5(2), 73-85.
- Seguine, E., & Sukha, D. (2015). Flavour wheel with main categories and subcategories for both liquor and chocolates. *Cocoa Research Centre Sensory Training Guide*
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2021a). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN-ISO 2291, Granos de cacao. Determinación del contenido de humedad (Método de rutina). INEN. <http://apps.normalizacion.gob.ec/download/index.php/buscar>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2021b). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN-ISO 1114:2013 Granos de cacao. Prueba de corte (IDT). INEN. <http://apps.normalizacion.gob.ec/download/index.php/buscar>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2021c). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176 sexta revisión 02-2021 Granos de cacao. INEN. <http://apps.normalizacion.gob.ec/download/index.php/buscar>
- Vera Chang, J. F., Vallejo Torres, C., Párraga Morán, D. E., Macías Véliz, J., Ramos Remache, R., & Morales Rodríguez, W. (2014). Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 7(2), 21-34.
- Zhapan Revilla, M., Lima Morales, K., Bernal Pita Da Veiga, M. A., & Moreno Herrera, A. (2021). Potencial antioxidante de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.) para sistemas productivos de banano. *Revista Científica Agroecosistemas*, 9(1), 35-40.