



Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela

Aroma formation of Criollo cocoa (*Theobroma cacao* L.) in function of the post-harvest treatment in Venezuela

Elvis PORTILLO ¹, María LABARCA¹, Lucia GRAZZIANI², Emile CROS³, Sophie ASSEMAT³, Fabrice DAVRIEUX³, Renaud BOULANGER³ y María MARCANO⁴

¹Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, ²Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay, estado Aragua, Venezuela, ³Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique (CIRAD), Cultivos Perennes, Montpellier–TA 80/16 34398 Cedex 5, Francia y

⁴Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias. Mérida, Estado Mérida, Venezuela.

E-mails: elvisportillo@hotmail.com y eportillo@luz.edu.ve  Autor para correspondencia

Recibido: 16/06/2008 Fin de primer arbitraje: 24/03/2009 Primera revisión recibida: 20/08/2009
Fin de segundo arbitraje: 07/09/2009 Segunda revisión recibida: 16/09/2009 Aceptado: 15/10/2009

RESUMEN

Para caracterizar los roles de la fermentación y del secado, se condujeron una serie de ensayos en el marco de un proyecto de Cooperación concerniente a la calidad aromática del cacao tipo Criollo. Los cacaos fueron fermentados 4 días en cajas de madera de 60 cm³. Las condiciones de fermentación comprendieron: 2 aguantes de mazorca (0 y 5 días), 3 remociones (a las 24 horas, a las 48 horas, y una remoción a las 24 horas y 72 horas), 3 épocas de cosecha, para un total de 18 ensayos y 90 muestras. Una muestra fue congelada a -80 °C, la segunda fue secada al sol. Los compuestos volátiles fueron extraídos por arrastre al vapor y analizado por cromatografía de gas acoplado a un espectrómetro de masas. Los resultados obtenidos mostraron que el tiempo de fermentación y la época de cosecha fueron los principales factores responsables de las diferencias en el contenido de compuestos volátiles. Se identificaron 92 compuestos volátiles en el cacao no secado, distribuidos en 13 familias químicas. De igual manera, 121 compuestos volátiles fueron identificados en el cacao seco y 119 en el cacao tostado. Estos compuestos pertenecen a 14 familias de compuestos químicos. Las tres familias más representativas cualitativamente fueron los ésteres, alcoholes y los ácidos. Este trabajo permitió tener una aproximación de los papeles respectivos de la fermentación y el secado sobre el aroma del cacao.

Palabras clave: Cacao Criollo, poscosecha, compuestos volátiles, química y desarrollo del aroma.

ABSTRACT

To characterize the fermentation roles and dried, a serial of essays were carried out as a part of a Cooperation Project relative to the aromatic quality of Criollo cocoa. Cocoas were fermented during 4 days in 60 cm³ wood boxes. Fermentation conditions were: 2 endurances ear (0 and 5 days), 3 removals (to 24 hours, to 48 hours, and a removal to 24 and 72 hours), 3 harvest times, for a total of 18 essays and 90 samples. One sample was frozen to -80 °C, the second one was dried to sun. The volatile compounds were extracted by using the steam dragging and alter analyzed through gas chromatography grouped with a mass spectrometer. Results obtained showed that fermentation time and the harvest time were the main factors responsible of differences in the content of volatile compounds. In the non dried cocoa, 92 volatile compounds were identified, distributed in 13 chemical families. In the dried cocoa, 121 volatile compounds were identified and 119 in the toasted cocoa. These compounds correspond to 14 families of chemical compounds. The three families more representative since the qualitative point of view were the esters, alcohols and acids. This research permitted to have an approximation of respective papers of fermentation and the dried on the cocoa aroma.

Key words: Criollo cocoa, post-harvest, volatile compounds, aroma chemical and development.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, cerca de 500 compuestos, distribuidos en 17 familias químicas distintas, han sido identificados en el cacao tostado. Varias síntesis bibliográficas concernientes a la caracterización de

los compuestos volátiles y de los compuestos del sabor y aroma han sido efectuadas por Van Straten (1983) y Flament (1991). Las pirazinas son los compuestos predominantes (el 20 % del número de compuestos identificado en el aroma), seguidos por

los ésteres (13 %), hidrocarburos (13 %) y los ácidos (11 %).

El aroma cacao y en particular del cacao tostado, ha sido objeto de numerosos trabajos, donde los más recientes se refieren en la puesta en evidencia del desarrollo de la fracción aromática en cacao Criollo, en función del tratamiento poscosecha. Los resultados obtenidos demostraron que el tostado permite la formación de compuestos en su gran mayoría del tipo de las pirazinas, reflejando un comportamiento cualitativamente y cuantitativamente importante (Ziegleder, 1983, 1990; Baigrie, 1994; Cros y Jeanjean, 1995). Así mismo algunos trabajos realizados sobre la caracterización del impacto de los compuestos volátiles sobre el aroma del cacao, reflejan la importancia de la fermentación y el secado en la expresión de los materiales en la calidad aromática (Cros y Jeanjean, 1998; Schnermann y Schieberle, 1997; Counet *et al.*, 2002). Un esquema general del desarrollo del aroma cacao propuesto por (Cros y Jeanjean, 1998) permitió poner en evidencia, en las almendras de cacao comercial de tipo Forastero y Trinitario, la presencia de un aroma constitutivo y de un aroma de origen poscosecha. Este último está constituido por compuestos de origen térmico, bioquímico y de origen microbiológico. Sin embargo, establecido a partir de cacaos secados, este esquema no permite distinguir los papeles respectivos de la fermentación y del secado.

Las diferencias de composición observadas entre variedades de cacao no pueden ser atribuidas únicamente al genotipo sino que también resultan de la influencia combinada entre la variedad y el tratamiento poscosecha (Cros, 1994). La dificultad de evaluar la influencia de la variedad sobre el aroma final proviene del hecho de que los cacaos no son beneficiados (fermentación, secado y tostado) en condiciones idénticas. Recientemente, la aplicación del mismo protocolo de preparación de los cacaos permitió poner en evidencia diferencias aromáticas notables entre la variedad Forastero, Trinitario y las variedades híbridas (Clapperton, 1993).

Jeanjean (1995) comparó la composición aromática de 10 clones e híbridos preparados en el mismo lugar (Costa de Marfil) según la técnica de micro fermentación en las mismas condiciones experimentales. Los resultados mostraron que la composición volátil y el perfil sensorial (degustación) presentaron diferencias muy importantes. Los contenidos en compuestos implicados en el desarrollo

del aroma térmico (aminoácidos libres, azúcares reductores y otros compuestos no volátiles) también fueron determinados en estos cacaos.

Según Ziegleder (1990), el linalol es un compuesto clave que permite la clasificación de los cacaos en función de su origen. Las almendras de cacaos "finos" que provienen del Ecuador (sabor Arriba), de Trinidad y de Venezuela contienen más de linalol que los cacaos corrientes (Ghana, Costa de Marfil y Brasil). Este contenido de linalol, puede ser hasta ocho veces más elevado, contribuyendo con la calidad aromática de estos orígenes de cacaos y sería responsable de sus notas florales.

Según Gill *et al.*, (1985) el aroma de las almendras frescas del cacao es poco desarrollado, tanto cuantitativamente como cualitativamente. El estireno (68 %) y el dimetil formaldehído (8.5 %) son los compuestos principales de la almendra fresca, según los estudios de estos autores. Bajos contenidos de alcoholes, aldehídos y cetonas también han sido puestos en evidencia. Los trabajos de Jeanjean (1995) realizados sobre almendras de un cacao Sánchez (República Dominicana), clones e híbridos de orígenes diversos indicaron que la fracción volátil de los granos no fermentados y secados están mayoritariamente constituidos por los alcoholes (57 %) y ésteres (23 %), ningún contenido de estireno fue detectado.

Un desarrollo importante de esta fracción volátil se ha observado durante el tratamiento poscosecha. Esta fracción está esencialmente constituida por los alcoholes, ácidos, ésteres y aldehídos. Según el tipo de cacao, entre 15 y 30 compuestos nuevos han sido identificados (Jeanjean, 1995). La fracción volátil global de las almendras bien fermentadas y secas, es 10 veces superior y más importante que las almendras no fermentadas y secadas. Chanliou (1998) mostró que las fracciones volátiles de 16 cacaos comerciales de 5 orígenes geográficos diferentes estaban principalmente constituidas por los mismos compuestos que los caracterizados por Jeanjean (1995), estos compuestos fueron comunes para la mayoría de los 16 cacaos estudiados. El mesodiacetato de 2,3 butanodiol fue caracterizado únicamente en el cacao de Madagascar.

El tostado de los granos o de los nibs (granos tostados y molidos) es efectuado a temperaturas comprendidas entre 100 y 150 °C durante 20 a 40 minutos. Posteriormente de efectuado el tostado las

almendras son enfriadas por ventilación, para detener las reacciones térmicas y conservar su aroma. El tostado conduce a la disminución de la humedad de los granos desde 6 %-7 % a 2,5 %, a la eliminación parcial del ácido acético y el desarrollo de los compuestos aromáticos. Los precursores formados durante la fermentación y el secado son los que participan en la formación de este aroma térmico. Las principales reacciones químicas que se desarrollan durante el tostado son: las reacciones de Maillard, la caramelización de los azúcares, la degradación de las proteínas y la síntesis de compuestos azufrados (reacciones menores).

Son muchos los trabajos realizados para aislar y caracterizar los compuestos generados durante el tostado, sin embargo ningún compuesto responsable del sabor típico del cacao tostado ha sido determinado (Dimick y Hoskin, 1981).

Con el objetivo de caracterizar la influencia de las condiciones de fermentación sobre el desarrollo del aroma y la calidad del cacao Criollo Venezolano en función del tratamiento poscosecha, en especial el rol de la fermentación, secado y tostado, se condujeron una serie de experimentos concerniente a la calidad aromática del cacao de tipo Criollo. Así mismo se planteó mejorar el esquema general de formación del aroma de este cacao.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

En el estudio se utilizaron mazorcas de cacao Criollo Porcelana, de más del 70%, proveniente de la finca El Pedregal, en el sector Rio Frio, Estado Mérida, en el Sur del Lago de Maracaibo. Zona caracterizada por precipitaciones promedios de 1600 mm/año, temperatura de 26 °C y una humedad de relativa de 80 %. Los suelos se caracterizan por ser muy pedregosos y con pH de de 4 a 5. Los tiempos de cosecha estuvieron marcados por las épocas, diciembre 2000 a febrero 2001 y mayo-julio 2002.

Tratamiento poscosecha

Después de la cosecha (aproximadamente 1500 mazorcas/cajón), las almendras fueron fermentadas 4 días en cajones de madera cuadrados de 60 cm³. Las condiciones de fermentación comprendieron los siguientes factores de estudio: 2 aguantas de mazorcas (S0 y S5 días), donde S0

implica aguante cero y S5 aguante cinco días, 3 remociones de la masa de cacao (cada 24 horas, a las 48 horas y 24/72 horas), 3 épocas de cosecha, distribuidos en 18 ensayos, para un total de 90 muestras. La masa de fermentación fue cubierta con hojas de plátano y sacos yute. Así mismo el proceso se condujo en una sala cerrada, con paredes bloque y techos de zinc, con temperaturas promedios de 29 °C y humedad relativa de 82%. Las tomas de muestras se realizaron diariamente (2,8 kg aproximadamente) y efectuadas en 3 puntos del cajón situados entre 30 y 35 cm de la superficie, 2,4 kg de esta muestra fueron colocadas sobre el área de secado al sol (patios de madera), este cacao se denominó fermentado/seco. El secado se efectuó en patios de madera en capas delgadas, durante 6 días hasta que el contenido de humedad estuviese alrededor de 8 %. La otra parte, 400 g de muestras de cacao en baba fueron congelados con hielo seco en el lugar donde se condujeron los ensayos. Posteriormente se trasladaron al laboratorio y se almacenaron a - 80 °C. Luego fueron liofilizadas para poder realizar los análisis respectivos (cacao fresco o en baba). De las muestras de cacao fermentado/seco se seleccionaron 400 g que fueron tostados.

Preparación de las muestras

Los cacaos no secos (frescos o en baba) fueron conservados a - 80 °C, luego liofilizados y posteriormente descascarillados y molidos utilizando nitrógeno líquido.

Las almendras de cacao seco fueron descascarilladas manualmente y luego molidas en un molino de hélice. El polvo obtenido fue tamizado (<0,5 mm) y conservado a -18 °C.

Una parte de las almendras secas (400 g) fueron tostadas a 125 °C durante 25 minutos en una estufa. Estas almendras fueron molidas, tamizadas y analizadas inmediatamente.

Análisis de la fracción volátil (Cuantificación e identificación de los compuestos volátiles en el cacao fresco, seco y tostado).

Extracción

Los compuestos volátiles del equivalente de 25 g de polvo de cacao seco fueron extraídos por arrastre al vapor. Se recogieron 100 mL de destilado en 50 mL de éter etílico. A la fase acuosa se le

agregaron 10 g de NaCl y posteriormente fue extraída la fracción neutra realizando 3 lavados con 50 mL de éter etílico. Esta fracción acuosa se alcalinizó (pH 9) con una solución de NaOH 0,1N y extraída la fracción básica nuevamente con tres lavados de 50 mL de éter etílico. Finalmente esta fase acuosa se acidificó con HCl 0,1N y se recuperó la fracción ácida realizando el mismo número de lavados con 50 mL de éter etílico

Todas las fases etéreas extraídas fueron reunidas, secadas con sulfato de sodio anhidrido, para ser finalmente filtradas. Luego se colocó en el rotaevaporador hasta obtener aproximadamente 5 mL. El extracto obtenido se llevó a un turboevaporador hasta lograr su concentración. La solución de estándar interno (1 mL de 1-butanol: 0,5g/L⁻¹) se añadió cuando el volumen fue de aproximadamente de 2 mL y luego se fue colocada nuevamente en el turboevaporador hasta alcanzar un volumen final de 0,5 mL. Posteriormente se transfirió a un vial y de allí se midió 1 µl para ser inyectado al cromatógrafo de gas.

Análisis de los compuestos volátiles

Los compuestos fueron analizados por cromatografía en fase gaseosa (CG) y por calibración interna, con un detector de ionización de flama: GC-FID. La identificación se realizó por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS). Se utilizó un cromatógrafo Gas HP modelo 6980, columna: DBWAX 60 m x 0,32 mm, 0,5 µm de espesor de la película de fase. Temperaturas: Horno: desde 35 °C hasta 180 °C-2 °C/min., Inyector: 250 °C, reporte de división (Split): 65,7 mL/min. Columna: gas vector helio: velocidad de flujo 1,2 mL/min. Volumen de inyección: 1 µl. Detector: espectrómetro de masa Agilent 5973N, modo IE, 70 eV, temperatura de la fuente 230 °C. Adquisición de espectros de m/z 40 a 350; 2,89 scans/s, las condiciones de operación del GC-MS fueron idénticas al detector de Ionización de flama (GC-FID).

Identificación de la fracción volátil

Los espectros masa obtenidos fueron comparados con los de la biblioteca Wiley mass spectral data y NST. Los contenidos de los compuestos volátiles fueron calculados por el método de calibración interna (1-butanol) expresada por la relación entre el área de pico del compuesto volátil/área de pico del estándar interno (valor sin

dimensión). Los índices de retención fueron calculados a partir de una solución de alcanos, debido a lo establecido internacionalmente, de tal manera que esto permitirá definir si en efecto los compuestos están dentro de los rangos establecidos. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$IR = 100 * [TR_X - TR_{alcano-1} / TR_{alcano+1} - TR_{alcano-1}]$$

Análisis estadísticos

El análisis de varianza se aplicó sobre los datos obtenidos. Los factores estudiados fueron: época de cosecha, aguante de la mazorca, remoción y el tiempo de fermentación. Se utilizó la prueba de comparación de medias Duncan para determinar las diferencias existentes entre los tratamientos. Todos los análisis fueron realizados con el software estadístico X-LSTAT versión 2006.

RESULTADOS

Identificación de los compuestos volátiles

Los resultados obtenidos muestran que un total de ciento cuarenta y siete (147) compuestos fueron identificados por acoplamiento GC/MS dentro de la fracción volátil de los cacaos no secos, secos y tostados. Una gran parte de estos compuestos han sido identificados en el laboratorio del CIRAD (Jeanjean, 1995; Chanliau, 1998). Se identificaron 92 compuestos volátiles para el cacao no seco, 121 para el cacao seco y 119 para el cacao tostado. Estos compuestos están distribuidos en 14 familias de compuestos químicos (Cuadro 1). Es difícil establecer comparaciones de estos resultados para este tipo de cacao, debido a que la mayoría de la literatura esta referida al cacao forastero y principalmente sobre cacao fermentado y tostado.

Para los tres tratamientos, las tres familias de compuestos más representativas cualitativamente fueron los ésteres, alcoholes y los ácidos. La familia de las pirazinas representa la mayor importancia en el cacao tostado (Cuadro 1). El etanol, el 3-etoxi-1-propanol, el ácido benzoico, el nonanoato de etil, y el decanoato de etil, han sido identificados únicamente en el cacao no seco. Nuevos compuestos son puestos en evidencia y otros desaparecen respectivamente después del secado y del tostado. La figura 1 muestra el perfil de un cromatograma realizado en este estudio, en el mismo se pueden apreciar los picos referentes a los compuestos volátiles determinados en

los granos de cacao tostados y el Cuadro 2 muestra los nombres de cada uno de los compuestos presentes en el perfil cromatográfico presentado en la Figura 1.

Cacao no fermentado: estudio de la variabilidad del material vegetal

Las almendras frescas se caracterizan por un fuerte contenido de ácido acético y etanol y por la presencia de fenoles, de trimetilpirazina, tetrametilpirazina y 5-metil-2-fenil-2-hexanal. La presencia de aldehídos proviene posiblemente de una reacción de aldocondensación enzimática entre el isovaleraldehído con el fenilacetaldehído (Ziegler, 1983; Mermet, 1989). Estos autores señalan que de manera general la fracción volátil de las almendras fermentadas y secadas está constituida globalmente por este tipo de compuesto y otros indican que pueden ser de origen microbiológico (Adamek *et al.*, 1992; Gill *et al.*, 1985; Maarse y Visscher 1989; Schwan 1996).

Cacao seco

Con respecto al cacao seco, el análisis de varianza para los factores estudiados permitió mostrar que existe un efecto significativo de la " fecha de cosecha " limitado a 3 familias de compuestos volátiles (ésteres, aldehídos y cetonas) para el cacao de aguante cero (S0): las muestras preparadas en mayo de 2002 presentaron contenidos más elevados que los cacaos preparados respectivamente en

Cuadro 1. Distribución de las familias de compuestos volátiles identificados en cacao criollo

| Familias | Cacao fresco | Cacao seco | Cacao tostado |
|---------------|--------------|------------|---------------|
| Aldehídos | 8 | 12 | 11 |
| Alcoholes | 15 | 13 | 13 |
| Ácidos | 14 | 14 | 12 |
| Cetonas | 9 | 13 | 13 |
| Esteres | 22 | 27 | 26 |
| Hidrocarburos | 3 | 7 | 3 |
| Pirazinas | 3 | 7 | 15 |
| Misceláneos | 3 | 5 | 3 |
| Pirroles | 1 | 4 | 4 |
| Furanos | 6 | 7 | 7 |
| Azufres | 1 | 1 | 2 |
| Terpenos | 3 | 4 | 3 |
| Fenoles | 4 | 6 | 6 |
| Oxazoles | 0 | 1 | 1 |
| Total | 92 | 121 | 119 |

diciembre de 2000 y junio de 2002. Sin embargo, no hubo ningún efecto de la época sobre los cacaos de cinco de días de aguante (S5).

En todos los casos, no hubo efecto " aguante de la mazorca".

El mismo estudio estadístico conducido únicamente a partir de los contenidos en ácido acético (compuesto importante de la fracción volátil), indica que existe un efecto " fecha de cosecha " para el cacao S5 (los contenidos ácido acético) de la muestra S5 de mayo de 2001 fueron más elevados que las de muestra S5 preparados en febrero de 2001 y mayo de 2002) pero que no hubo efecto de la "fecha o época" para los cacaos S0. Así mismo tampoco hubo efecto del aguante de la mazorca.

Cuadro 2. Compuestos volátiles presentes en el perfil cromatográfico

| Nº | compuestos | Tr (min) | IR |
|-----|--|----------|------|
| 1 | 2-metilbutanal | 4,955 | 875 |
| 2 | 3-metilbutanal | 5,465 | 909 |
| 3 | 2,3-butanodiona | 6,853 | 981 |
| 4 | acetato de 2-metilpropil | 7,930 | 1009 |
| 5 | 2-acetil-furano | 8,523 | 1024 |
| 10 | acetato de 2-pentil | 10,119 | 1066 |
| 13 | acetato de 3-metil-butil | 12,350 | 1117 |
| 14 | 2-pentanol | 12,785 | 1126 |
| 16 | 2-heptanona | 15,576 | 1179 |
| 19 | 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico) | 17,743 | 1217 |
| 25 | acetato de 2-heptil | 20,629 | 1264 |
| 27 | 3-hidroxi-2-butanona | 21,798 | 1283 |
| 30 | 2,5-dimetil-pirazina | 24,127 | 1320 |
| 31 | 2-heptanol | 24,785 | 1330 |
| 32 | 2,6-dimetil-pirazina | 25,386 | 1339 |
| 34 | 3-hidroxi-2-pentanona | 25,387 | 1339 |
| 36 | 2,3-dimetil-pirazina | 26,585 | 1358 |
| 41 | nonanal | 28,859 | 1393 |
| 43 | 2,3,5-trimetilpirazina | 29,692 | 1406 |
| 44 | ácido acético | 33,162 | 1460 |
| 46 | 2-etil-3,5-dimetil-pirazina | 33,555 | 1466 |
| 48 | 2,3,5,6-tetrametil-pirazina (TMP) | 34,183 | 1476 |
| 49 | 2-metil-6-vinil-pirazina | 34,810 | 1486 |
| 55 | benzaldehído | 36,517 | 1512 |
| 57 | 2-nonanol | 37,537 | 1529 |
| 59 | linalol | 38,981 | 1552 |
| 60 | ácido 2-metilpropanoico | 39,782 | 1565 |
| 68 | γ -butirilactona | 42,802 | 1615 |
| 69 | ácido butanoico | 43,551 | 1627 |
| 70 | feniletanal | 43,909 | 1633 |
| 73 | alcohol furfurílico | 42,158 | 1604 |
| 75 | 2-metil-mercaptometil-2-butanal | 46,617 | 1678 |
| 79 | ácido pentanoico | 50,110 | 1739 |
| 81 | fenilacetato de etil | 52,563 | 1781 |
| 84 | ácido 4-metil-pentanoico | 53,708 | 1802 |
| 85 | acetato de 2-feniletil | 53,405 | 1796 |
| 87 | 2-hidroxi-3-metil-2-ciclopentano-1-ona | 55,008 | 1825 |
| 90 | ácido hexanoico | 56,186 | 1847 |
| 91 | alcohol benzílico | 58,024 | 1880 |
| 94 | 2-fenil-2-butanal | 61,316 | 1942 |
| 96 | benzotiazol | 60,925 | 1935 |
| 97 | 2-metoxi-4-metilfenol | 61,734 | 1950 |
| 99 | 2-acetil pirrol | 62,723 | 1969 |
| 101 | fenol | 64,491 | 2002 |
| 102 | tetradecanoato de metil | 64,723 | 2007 |
| 104 | 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona | 66,066 | 2034 |
| 108 | 5-metil-2-fenil-2-hexanal | 67,724 | 2067 |
| 110 | cinemate de etil | 70,564 | 2125 |
| 113 | 3-acetil-2,4-dimetil-pirrol | 72,380 | 2162 |
| 115 | ácido nonanoico | 73,001 | 2174 |
| 116 | 2-metoxi-4-vinil-fenol | 73,820 | 2191 |
| 118 | 2-heptadecanona | 75,848 | 2227 |
| 119 | hexadecanoato de etil | 77,318 | 2253 |
| 122 | ácido decanoico | 78,534 | 2274 |

Efecto del tratamiento poscosecha

Con la finalidad de evaluar los efectos de "fecha" sobre la evolución de la fracción volátil en función de la fermentación y el secado, se estudio primero este efecto sobre los cacaos preparados en mayo de 2002, luego sobre las otras series de muestras. Según los resultados obtenidos la evolución de la fracción volátil es comparable, es por ello que se presentan los resultados de la media del conjunto de los 18 ensayos.

Efecto de la fermentación

Ningún compuesto nuevo es puesto en evidencia durante la fermentación. Solo los contenidos de compuestos presentes en las almendras frescas varían en función del tiempo de tratamiento. Los contenidos de alcoholes y ácidos pasan por un máximo, respectivamente el 1^{er} día y el 3^{er} día de fermentación y posteriormente disminuyen. Los contenidos en aldehídos aumentan regularmente durante el proceso de fermentación. Los ésteres registran un ligero incremento a las 24 horas, posteriormente presenta un comportamiento estable para finalmente disminuir al final del proceso. El contenido de cetonas permanece estable durante los tres primeros días de fermentación y disminuye al final de la misma (Figura 2). En relación a los compuestos menores la (Figura 3) muestra el

comportamiento de los mismos. El contenido de pirroles y compuestos azufrados muestran que en el primer caso permanecen estables y en el segundo experimento un ligero incremento a partir del tercer día de fermentación. Los fenoles y furanos aumentan ligeramente los dos primeros días, luego alcanzan los máximos contenidos entre el tercer y cuarto día. Finalmente las pirazinas y los terpenos presentaron un incremento durante la fermentación.

En líneas generales, los compuestos volátiles presentes en las almendras de cacao criollo y perteneciente a cada una de estas familias, contribuyen con el mejoramiento de la calidad

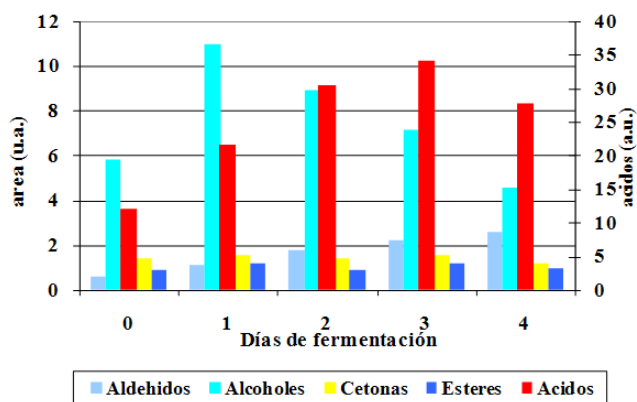


Figura 2. Evolución de las familias de compuestos volátiles principales durante la fermentación en cacao fresco.

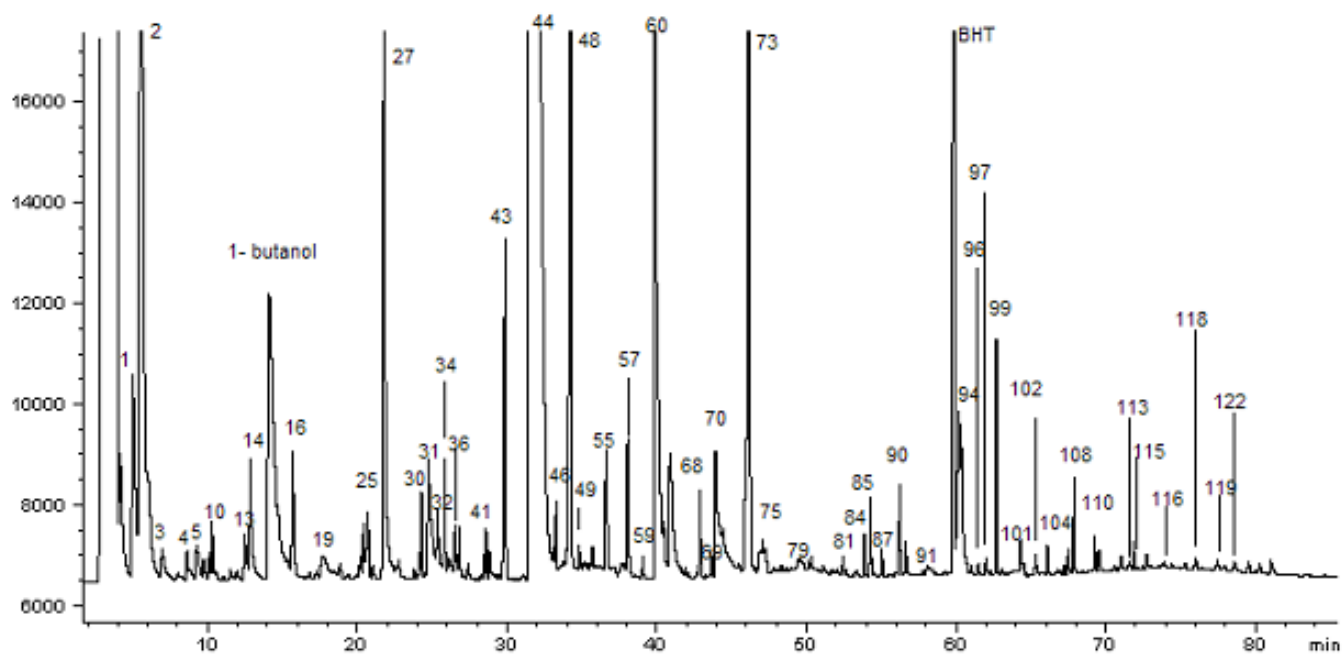


Figura 1. Perfil cromatográfico de un extracto aromático de cacao de tipo Criollo fermentado 4 días y tostado (125 °C, 25 min).

aromática del cacao, siendo la fermentación el proceso clave para lograr esta calidad.

Estos datos constituyen los primeros resultados que reflejan la influencia de la fermentación sobre el desarrollo de la fracción aromática del cacao.

Efecto del secado

El efecto del secado simplemente se evalúa por la diferencia de los contenidos de los compuestos volátiles después y antes de tratamiento. Esta operación conduce a la puesta en evidencia de 38 compuestos nuevos y a la desaparición de 10 compuestos inicialmente presentes. Estos nuevos compuestos pueden ser de origen bioquímico (ésteres, aldehídos y cetonas) o térmico (aldehídos, pirazinas, pirroles y fenoles).

El secado conduce a una fuerte disminución en el contenido de alcoholes y ácidos (Figura 4). Así mismo las familias de los aldehídos, cetonas, ésteres,

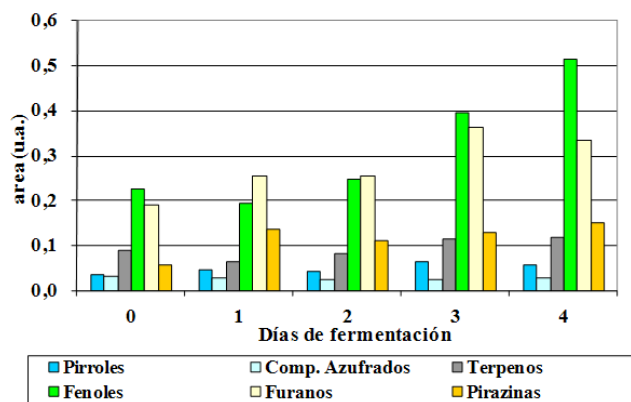


Figura 3. Evolución de las familias de compuestos volátiles menores durante la fermentación en cacao fresco.

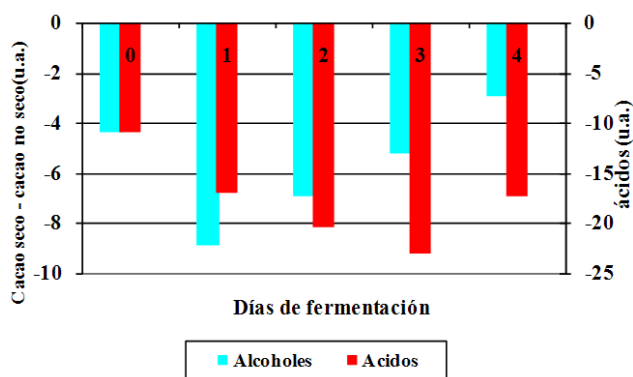


Figura 4. Efecto del secado sobre el contenido de alcoholes y ácidos en función del tiempo de fermentación.

pirazinas, pirroles y compuestos azufrados aumentan durante el secado (Figuras 5 y 6). Los fenoles disminuyen a partir del tercer y cuarto día (Figura 6). El papel del secado en el desarrollo y composición de compuestos volátiles no ha sido estudiado a profundidad. Solo se ha establecido que el caso de las pirazinas son compuestos de origen térmico y que durante el secado los mismos tienden a incrementarse (Chanliu, 1998). Con respecto al resto de los compuestos de cada una de las familias está claramente estudiado que muchos de ellos tienen importancia en las características aromáticas del cacao y por ende se relacionan con la calidad sensorial del chocolate. Tal es el caso del linalol perteneciente a la familia de los terpenos que se asocia al sabor floral del chocolate. En el caso de los aldehídos y ésteres se relacionan con el sabor afrutado y floral. Es por ello que cada uno de ellos tiene un papel fundamental en el desarrollo del aroma (Portillo *et al.*, 2006).

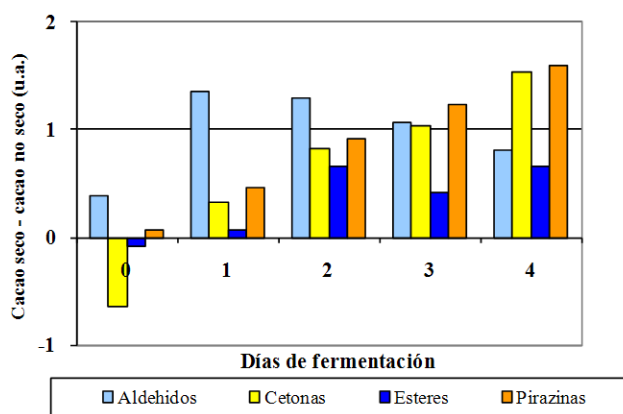


Figura 5. Efecto del secado sobre el contenido de compuestos volátiles en función del tiempo de fermentación.

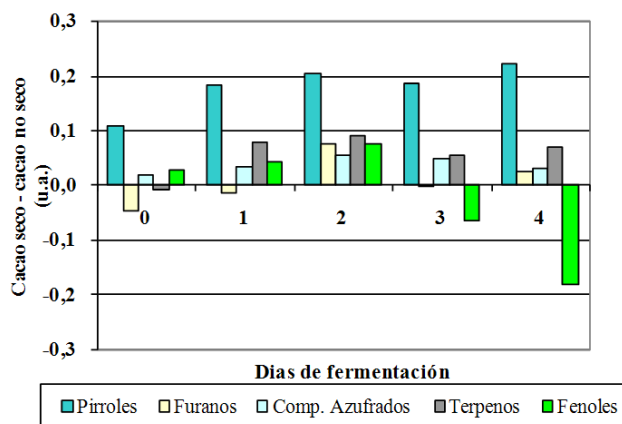


Figura 6. Efecto del secado sobre el contenido de compuestos volátiles menores función del tiempo de fermentación.

El estudio de la evolución de la fracción volátil del cacao seco para tipo Forastero y Trinitario condujo a suponer que los nuevos compuestos observados en función al tiempo de fermentación, podía provenir de reacciones (térmicas) bioquímicas y químicas así como de la migración en el cotiledón de compuestos de origen microbiológico (Chanliou, 1998). En función de esto es posible señalar que para el cacao forastero, es muy probable que durante la fermentación existan modificaciones de origen bioquímico en los contenidos de estos compuestos y no en su composición.

Efecto del tostado

Esta operación conduce prácticamente a la disminución de los contenidos de todas las familias de compuestos volátiles, a excepción de las pirazinas y furanos cuyos contenidos aumentan cerca del 50 % y 40 % respectivamente a partir del primer día de fermentación

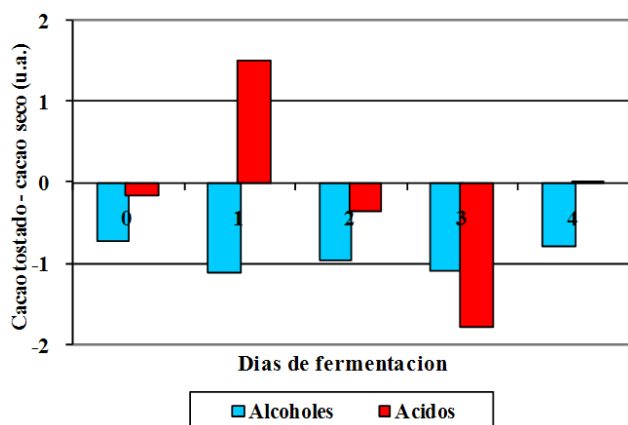


Figura 7. Efecto del tostado sobre el contenido de alcoholes y ácidos en función del tiempo de fermentación.

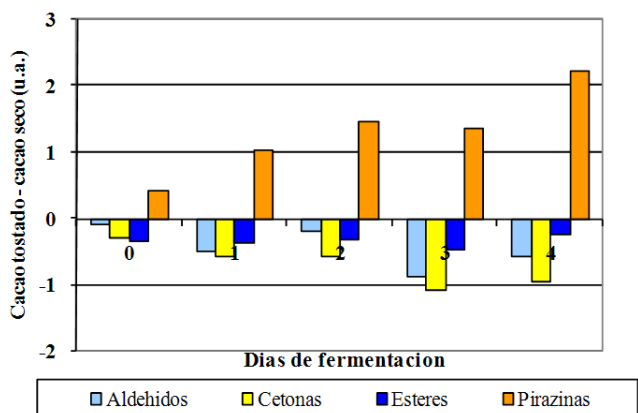


Figura 8. Efecto del tostado sobre el contenido de compuestos volátiles en función del tiempo de fermentación.

Los contenidos de alcoholes disminuyen durante el proceso de secado mientras que los ácidos se incrementan ligeramente a las 24 h y al final de la fermentación (Figura 7). Los contenidos de pirazinas y furanos se incrementan durante la fermentación (Figuras 8 y 9). Estos resultados coinciden con algunas investigaciones que muestran un incremento en los niveles de pirazinas en función de la temperatura (Brunetto, *et al.*, 2009). Un gran número de compuestos nuevos son puestos en evidencia después de tratamiento, principalmente las familias de la pirazinas (nueve compuestos de esta familia), así mismo otro grupo de compuestos desaparecen, de las familias cetonas (tres compuestos) y cuatro hidrocarburos.

Esquema general de desarrollo del aroma del cacao Criollo

La comparación de las fracciones volátiles de los cacaos no secados (fresco), secados y tostados permite precisar la influencia de los tratamientos poscosecha y del tostado sobre el desarrollo de los compuestos volátiles en el cacao tipo Criollo de Venezuela (cuadro 1). Tomando en cuenta el esquema general ya propuesto por Cros y Jeanjean (1998), los compuestos de la fracción volátil del cacao pueden ser clasificados como constitutivos (C), formados durante la fermentación (F) y secado (S) y los formados en función del tostado (T).

Los compuestos constitutivos pueden ser clasificados en:

C1: compuestos presentes en las almendras frescas donde los contenidos permanecen estables o disminuyen durante la fermentación.

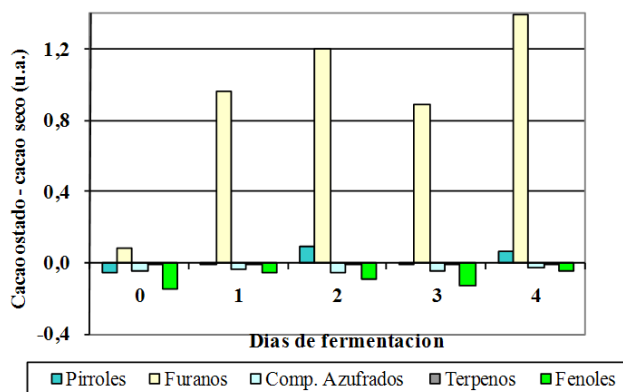


Figura 9. Efecto del tostado sobre el contenido de compuestos volátiles menores en función del tiempo de fermentación.

C2 : compuestos presentes en las almendras frescas donde los contenidos aumentan durante la fermentación.

Para el caso del cacao tipo Criollo, no aparecen nuevos compuestos a excepción del 2-fenil-2-butanal el cual se formó al cuarto día de fermentación, para los cacaos cosechados en mayo de 2002. A diferencia de ello ningún otro compuesto nuevo fue identificado. Es probable que durante el tratamiento poscosecha, los contenidos de compuestos volátiles inicialmente presentes se incrementen debido a las reacciones bioquímicas ocurridas dentro del cotiledón.

El secado conduce a la formación de numerosos compuestos (S).

El aroma del cacao comercial está constituido por:



El aroma del cacao Criollo, está constituido por compuestos cuyos orígenes son bioquímicos o térmicos. Es importante continuar los trabajos sobre el estudio del aroma en el cacao fresco o en baba, tomando en cuenta el tiempo de fermentación para los tipos de cacao Forasteros y Trinitarios, con el fin de aclarar la formación de compuestos volátiles de origen microbiológicos.

Es por ello que no podemos por el momento eliminar la posibilidad de que una parte del aroma poscosecha sea de origen fermentario (F), o posiblemente de origen microbiológico.

Así el aroma poscosecha se escribe de modo general:



Es lógico de suponer que los compuestos de Maillard son formados durante el secado. Después del tratamiento postcosecha, se puede clasificar la fracción volátil del cacao seco en 2 grupos:

PR1: compuestos formados por vía bioquímica (y fermentaria ?)

PR2: compuestos formados por vía térmica.

Es muy difícil de clasificar los compuestos en uno de estos dos grupos. En efecto, los numerosos

compuestos pueden formarse por las tres vías (bioquímicas, microbiológicas y térmicas). Es el caso por ejemplo de los aldehídos similares a los obtenidos por degradación de Strecker.

El contenido de una parte del aroma poscosecha aumenta durante el tostado, la operación durante la cual se forman los nuevos compuestos (T). Es lógico de suponer que los contenidos de aldehídos aumentarían en función del tratamiento. En realidad, todos los contenidos de compuestos de las familias prácticamente disminuyen, incluyendo el 5-metil-2-fenil-2-hexanal. Solamente el 2-fenil-2-butanal, experimenta un ligero incremento. Estos compuestos pues son formados y utilizados muy probablemente inmediatamente como fuentes de función carbonilo en las reacciones de degradaciones térmicas (Chianliau, 1998).

Los resultados obtenidos a partir de las 90 muestras permiten precisar el esquema general del desarrollo del aroma (Figura 10).

CONCLUSIONES

1. El estudio de la fracción aromática permitió identificar 147 compuestos volátiles en la fracción volátil del cacao no seco (fresco), seco y tostado. Noventa y dos (92) han sido identificados en las almendras frescas (no fermentadas, no secadas), 121 compuestos volátiles en el cacao secado y 118 en el cacao tostado, estos compuestos pertenecen a 14 familias de compuestos químicos. Las tres familias de compuestos más representativas cualitativamente a las 3 etapas de tratamiento fueron los ésteres, los alcoholes y los ácidos.
2. La determinación de los contenidos en compuestos volátiles, en función del tiempo de fermentación, en los cacaos no secados, secados y tostados permitió no sólo identificar las fracciones aromáticas en todas las fases del tratamiento, sino que se pudo poner en evidencia el efecto de los tratamientos evaluados.
3. El estudio permitió definir el esquema general de desarrollo del aroma en el cacao Criollo, destacando que para este tipo de cacao, es necesario definir aun más el papel de la fermentación en la formación del aroma. Así mismo el secado y tostado representan un factor importante en el desarrollo de esta fracción aromática.

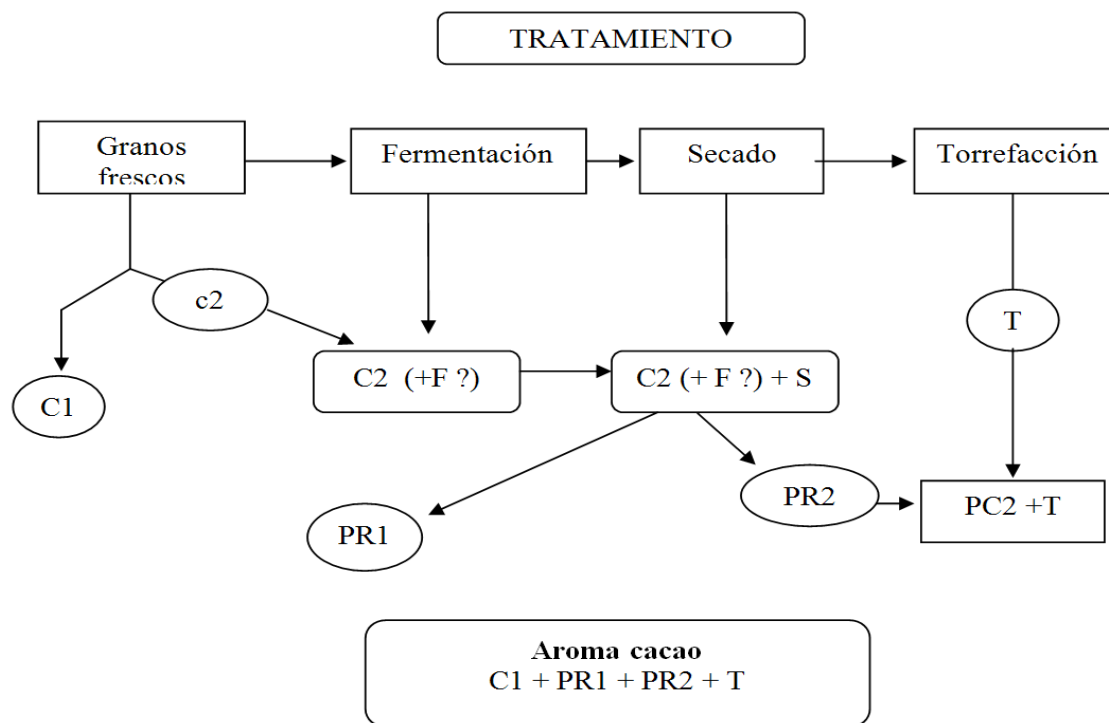


Figura 10. Esquema de formación del aroma del cacao criollo.

- C1: Compuestos constitutivos y donde los contenidos no aumentan o permanecen estables durante la fermentación.
 C2: Compuestos constitutivos y donde los contenidos aumentan durante la fermentación hasta la concentración C2
 F: Compuestos de origen microbiológico (ausente en el cacao Criollo) y queda por demostrar su existencia
 S: Compuestos formados durante el secado
 PR1: Compuestos de origen químico o bioquímico (y microbiológicos ?)
 PR2: Compuestos de origen térmico.
 T: Compuestos formados durante la torrefacción

RECOMENDACIONES

Es necesario continuar las investigaciones sobre el desarrollo del aroma del cacao criollo, considerando los factores evaluados en este trabajo. Principalmente los referidos a la época de cosecha y tiempo de fermentación. Es por ello que en líneas generales podemos decir que para el cacao criollo del Sur del Lago de Maracaibo, las mejores condiciones de manejo poscosecha para lograr una buena calidad aromática, debe estar referida a una fermentación de tres días y remociones cada 24 horas.

LITERATURA CITADA

- Adamek P.; B. Bergstorm, T. Borjesson and U. Stolmann. 1992. Determination of volatile compounds for the detection of moulds in: Modern methods in food mycology. Ed. R. A. Sansom and J. I. Pitt. Elsevier (Amsterdam), pp. 327-336.
- Brunetto, M.; Y. Cayama, L. Gutierrez, S. Clavijo, Y. Méndez, M. Gallignani, A. Zambrano, A. Gómez and G. Ramos. 2009. Headspace gas chromatography mass spectrometry determination of alkylpyrazines in cocoa liquor samples. Food Chemistry 112: 253-257.
- Baigrie B. D. 1994. Cocoa flavour. *In*: Understanding natural flavours. Ed. J. R. Piggott and A. Paterson. Blackie Academic & Professional, Glasgow 1994, pp. 268-282.
- Chanliau, S. 1998. Marqueurs de la qualité aromatique du cacao – influence de l'origine. Renforcement de l'arôme d'origine thermique. Thèse de Doctorat, UMII (Montpellier). 199 p.
- Clapperton J. 1993. Genetic variation in cocoa flavour. 11ème Conf. Inter. Rech. Cacaoyère. Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

- Cros E. 1994. Facteurs du développement de l'arôme cacao. Séminaire ADRIA : « Arôme protéines et dérivés ». Paris.
- Cros E. et N. Jeanjean. 1995. Qualité du cacao. Influence de la fermentation et du séchage. *Plantation Recherche Développement* 2 (3): 21-27.
- Cros E. et N. Jeanjean. 1998. Formation de l'arôme cacao. Cacao et chocolat. Production, utilisation, caractéristiques. J. Pontillon. Paris. Ed. Tec & Doc: 188-206.
- Counet C. ; D. Callemien, C. Ouwerx and S. Collin. 2002. Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching. *J Agric Food Chem* 50 (8): 2385-2391.
- Dimick P. S. and J. M.. 1981. Chemico-physical aspects of chocolate processing. A review. *Can. Inst. Food Sci. Technol.* 14 (4): 269-282.
- Flament, I. 1991. Coffee, cocoa and tea. *In: Volatile compounds in foods and beverages.* Ed: H. Maarse. Marcel Decker Inc. New York, USA. Pp. 617-669.
- Gill M.; A. J. MacLeod and M. Moreau. 1985. Aroma components of cocoa beans proceedings of the 4th Weurman flavor research symposium. Dourdan (France). *In: Development in Food Science* (1985), Ed. J. Adda. Elsevier, Amsterdam. 10:261-266.
- Jeanjean N. 1995. Influence du génotype, de la fermentation et de la torréfaction sur le développement de l'arôme. Rôle des précurseurs d'arôme. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II. Francia. 200 p.
- Maarse H. and C. A. Visscher. 1989. Volatile compounds in food. Volumes I, II and III. Netherlands: Grafische Industrie kreon. Zeist.
- Mermet G. 1989. Cacao: influence des paramètres de torréfaction sur la consommation des précurseurs d'arôme et la formation de quelques composés volatils. Thèse de Doctorat. Université Montpellier II. 146 p.
- Portillo, E.; L. Graziani, E. Betancourt y E. Cros. 2006. Efecto de algunos factores poscosecha sobre la calidad sensorial del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 23: 51-59.
- Schnermann P. and P. Schieberle. 1997. Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analyses. *J. Agric. Food Chem.* 45 (3): 867-872.
- Schwan R. F. 1996. Microbiology of food fermentation: a study to improve quality. 12th Cocoa Res. Conf., Salvador, Bahia (Brazil), pp. 939-951.
- Van Straten S. 1983. Cocoa. *In: Volatile components in food*, 5th ed. Division for Nutrition and Food Research, TNO, Zeist, 71.1-71.6.
- Ziegleder G. 1983. Neue Erkenntnisse über Kakaoaromabildung und Veredehung und ihre umsetzung: Technologische verfahren. *Lebensmittelchem. Gerichtliche. Chem.* 37: 63-69.
- Ziegleder G. 1990. Linalol contents as characteristics of some flavor grade cocoas. *Z Lebensm. Unters. Forsch.* 191: 306-309.
- Ziegleder G. 1991. Composition of flavor extracts of raw and roasted cocoas. *Z Lebensm. Unters. Forsch.* 192: 521-525.