

INFLUENCIA DEL TIEMPO DE FERMENTACION Y EL TOSTADO SOBRE EL  
DESARROLLO DE COMPUESTOS AROMATICOS ASOCIADOS AL SABOR A  
CHOCOLATE EN ALMENDRAS DE CACAO DE LA VARIEDAD NACIONAL

Freddy Amores, Juan Jiménez y Geover Peña

Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP. Programa de Cacao y Café.  
Apartado: 24, Km. 5 vía Quevedo-El Empalme, Quevedo, Ecuador

RESUMEN

Las almendras de cacao son la materia prima de una industria mundial que se basa en el sabor aroma a chocolate que se desarrolla en almendras de cacao bien fermentado, seco y tostado. Este atributo sensorial es el principal ingrediente de una amplia gama de productos de consumo masivo y especialidades. El aroma a chocolate es el resultado de la acción sensorial de cerca de 500 compuestos volátiles. Aunque algunos de ellos ya están presentes en las almendras frescas, la mayoría se forman durante los procesos-secado y tostado. La fermentación insuficiente y en el peor de los casos la ausencia de fermentación, influyen negativamente sobre la calidad sensorial del cacao, limitando seriamente la expresión de los diferentes compuestos que forman la fase aromática. La investigación que se describe a continuación produjo resultados que confirman las aseveraciones anteriores. Durante el 2003 se condujeron ejercicios de fermentación de muestras de cacao colectadas del clon comercial de cacao Nacional EET-95 y de la finca La Gloria en la zona de Chone, una zona cacaotera tradicional en el Ecuador. La fermentación se realizó en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP siguiendo el método de cajones. Aplicando la técnica de microfermentaciones se produjeron muestras con 0, 1, 2, 3, 4 y 5 días de fermentación. Parte de las muestras con porcentajes crecientes de almendras fermentadas y secas fueron molidas. Duplicados de dichas muestras fueron tostadas primero y molidas después. Posteriormente 50 gramos de muestras molidas ya sean tostadas o sin tostar, se enviaron a un laboratorio del Departamento de Industrias Primarias en Queensland, Australia, para la determinación de 45 compuestos aromáticos por el método del cromatógrafo de gases asociado a un espectrofotómetro de masas (GC-MS). Los datos recibidos de los compuestos volátiles determinados se sometieron a técnicas de análisis multivariado para su interpretación. En las almendras sin tostar la variabilidad explicada en los dos primeros componentes principales alcanzó el 87% y en las almendras tostadas el 76%. La distribución de las almendras en plano definido permitió observar claramente la falta de desarrollo aromático en las muestras con 0, 1 y 2 días de fermentación. El nivel de desarrollo de la dimensión aromática permitió así mismo una buena discriminación entre los cacaos mal fermentados y aquellos con mejor fermentación. El análisis de agrupamiento de Ward confirmó plenamente los resultados obtenidos a través de la técnica de componentes principales, tanto en muestras tostadas como sin tostar. Los tratamientos con 0, 1 y 2 días de fermentación forman un grupo aparte de los tratamientos con 3, 4 y 5 días de fermentación. Los tratamientos con 4 y 5 días de fermentación, mostraron el mayor potencial para desarrollar la fase aromática de la variedad Nacional. Se puede concluir que el contenido de los compuestos que forman parte de la dimensión volátil del cacao en el proceso del sabor-aroma a chocolate, varía en forma importante con el tiempo de fermentación. Dicha variación permite la clara discriminación entre cacaos bien y mal fermentados.

## INTRODUCCION

El cacao es la materia prima base de una agroindustria mundial con un valor de más de cien mil millones de dólares y que tiene su fundamento en el sabor-aroma a chocolate, desarrollado en almendras de cacao bien fermentado, seco y sujeto a torrefacción. Este atributo sensorial es el ingrediente principal para una amplia gama de productos de consumo masivo, especialidades y gourmet.

La percepción del sabor-aroma a chocolate es el resultado de la acción sensorial de más de 500 compuestos volátiles distribuidos en 17 familias bioquímicas; cerca del 20% de estos compuestos pertenecen al grupo de las pirazinas vinculado fuertemente a esta percepción sensorial (Bonvehí, 2005). Algunos de los compuestos que participan en la fracción volátil responsable del aroma a cacao ya están presentes en las almendras frescas; sin embargo, la mayoría se desarrollan durante los procesos de fermentación-secado y torrefacción.

La fermentación insuficiente y en el peor de los casos la ausencia de fermentación, influyen negativamente sobre la calidad sensorial del cacao (Jeanjean, 1995), al limitar en gran medida el desarrollo del sabor-aroma a chocolate durante el proceso de torrefacción. Además, tal limitación favorece la expresión de niveles más intensos de astringencia y amargor en el perfil sensorial, características que son indeseables para la industria al tiempo que eliminan una importante porción del valor del cacao en el mercado.

Sin una fermentación adecuada de las almendras, se limita en forma importante el desarrollo de los compuestos aromáticos que surgen en esta etapa y que conjuntamente con otros que emergen durante el tostado, contribuyen a la formación del sabor-aroma a chocolate. Al contrario, las almendras bien fermentadas permiten el desarrollo de estos compuestos y la formación de precursores (azúcares reductores, aminoácidos y otros) que participan en la reacción de Maillard para la generación de nuevos compuestos volátiles durante la torrefacción (Cros; Chanliau; and Jeanjean, 1999; Ziegler, 1991).

La torrefacción agrega nuevos compuestos volátiles a la fracción aromática, aumenta el contenido de algunos que ya estaban disponibles y disminuye el nivel de otros (Cros et al, 1999., Maga; Sizer, 1973). Sin los precursores necesarios y en cantidades adecuadas como resultado de una buena fermentación del cacao, la torrefacción no puede cumplir a cabalidad su función para culminar el desarrollo aromático. Esta circunstancia limita el impacto que la fracción volátil ejerce en la percepción sensorial conocida como sabor a chocolate, atributo básico para la industria y para quienes disfrutan del placer de consumirlo.

La producción proveniente de la variedad de cacao Nacional mayoritariamente cultivada en el Ecuador sufre de problemas de calidad, principalmente por los bajos niveles de fermentación que limitan la formación de precursores del sabor. La presente investigación se realizó con el fin de conocer su comportamiento en relación al tiempo de fermentación y desarrollo de un grupo de compuestos volátiles que estimulan la percepción sensorial relacionada con el sabor a chocolate.

## MATERIALES Y METODOS

Durante el 2003 se condujo en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP un ejercicio de fermentación con muestras de almendras de cacao provenientes del clon de cacao Nacional EET-95 disponible en el mismo sitio. En el mismo periodo se condujo otro ejercicio de fermentación con muestras de una huerta sembrada con cacao Nacional hace mas de 50 años y perteneciente a la finca “La Gloria” del cantón Chone, importante zona productora de cacao.

La fermentación se realizó siguiendo el método de cajones y aplicando la técnica de microfermentaciones. Esta consiste en colocar pequeñas cantidades de almendras (hasta dos kilogramos) en bolsas de polietileno tejidas en forma de red que luego se insertan en el interior de una masa fresca de cacao que hace de matriz para la fermentación. Las bolsas se van retirando según el tiempo de fermentación convenido para cada una de ellas. La masa matriz estuvo constituida por 150 kilogramos de almendras frescas provenientes de una huerta de unos 40 años de edad y cercana a la Estación Pichilingue; los árboles de la huerta corresponden a la población usualmente conocida como complejo “Nacional x Trinitario”.

Al final del proceso se produjeron muestras fermentadas y secas con 0, 1, 2, 3, 4 y 5 días de fermentación. Posteriormente las muestras fueron secadas al sol por una semana. De cada muestra seca se pesaron 100 gramos de almendras que después se descascarillaron y molieron. Enseguida se pesaron otros 100 gramos y las almendras se sometieron a torrefacción a una temperatura de 121 °C durante 18 minutos; posteriormente también se descascarillaron y molieron. Finalmente, 50 gramos de muestra molida provenientes de almendras sin tostar y tostadas y correspondiente a cada uno de los tiempos de fermentación estudiados, se enviaron a un laboratorio del Departamento de Industrias Primarias en Queensland, Australia, para la determinación de 45 compuestos volátiles que participan de la fracción aromática del cacao. Las determinaciones se realizaron mediante la técnica de cromatografía de gases asociada a un espectrofotómetro de masas (GC-MS) y fueron reportadas como unidades de área.

Los datos así producidos se procesaron mediante la aplicación de técnicas de análisis multivariado para su descripción e interpretación. Las técnicas aplicadas fueron el Análisis de Componentes Principales (ACP) y el Análisis de agrupamiento jerárquico (método de Ward). Los productos de ambos análisis se complementaron para mostrar la capacidad de la dimensión volátil responsable del aroma de cacao como factor discriminatorio para separar muestras de almendras con distintos niveles de fermentación.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La varianza explicada y acumulada por los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2) para las muestras de almendras sin tostar y tostadas alcanzaron el 84% y 81% para el clon EET-95 y el 90% y 61% para la finca La Gloria, respectivamente. La Figura 1 muestra claramente la falta de desarrollo aromático para las almendras sin fermentación y aquellas que recibieron poco tiempo de fermentación. La falta de desarrollo de la fracción volátil debido a la insuficiente fermentación, también se refleja en las muestras tostadas. De manera general estas últimas mostraron la misma distribución de los compuestos volátiles y tiempos de fermentación que las muestras sin tostar tal como se puede observar en la Figura 2. En cualquiera de los casos el CP1 separó claramente el efecto de la buena y mala fermentación mediante la distribución en

el plano definido (por los dos componentes principales) de los compuestos volátiles que participaron en el análisis. Las muestras con mayores tiempos de fermentación estuvieron estrechamente asociadas con la fracción volátil desarrollada, lo que se puede deducir por su cercanía a los vectores que representan a los compuestos participantes en el ACP.

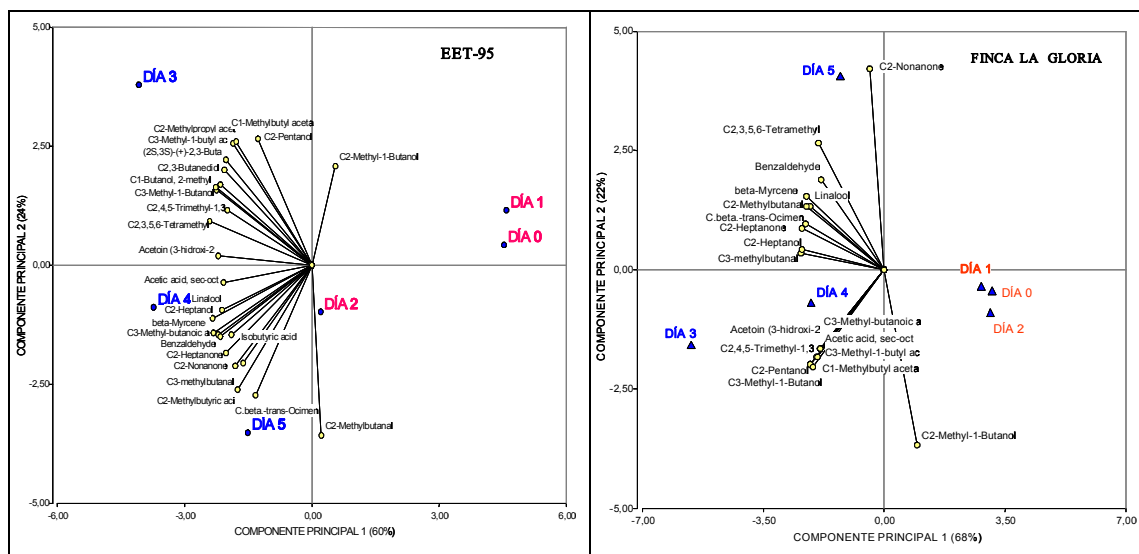


Figura 1. Distribución de los compuestos volátiles determinados en muestras de cacao Nacional sometidas a diferentes tiempos de fermentación y sin tostar, sobre el primero y segundo componente principal. Izquierda: clon EET-95; Derecha: Finca La Gloria.

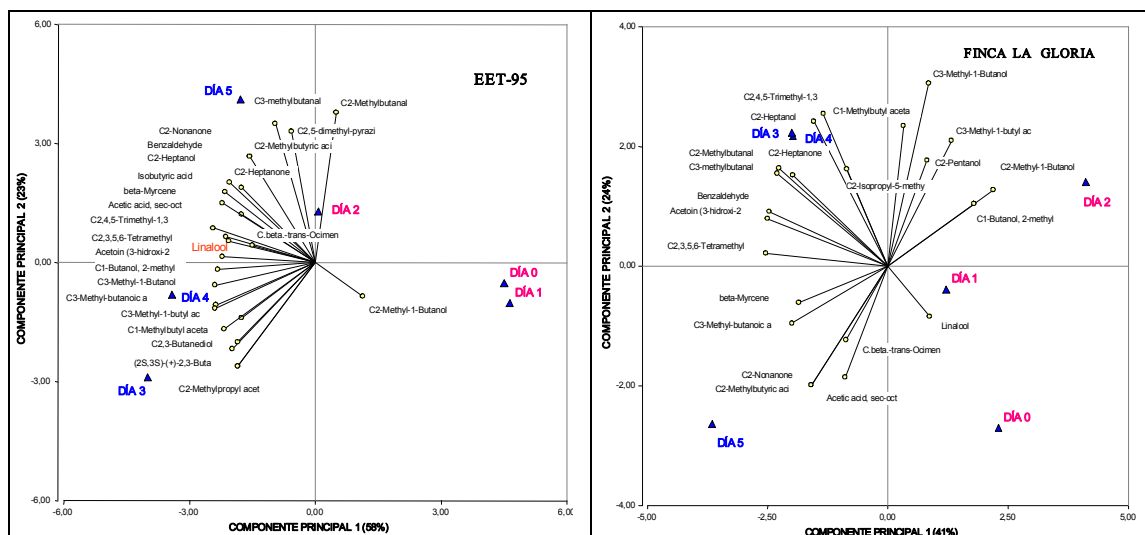


Figura 2. Distribución de los compuestos volátiles determinados en muestras de cacao Nacional sometidas a diferentes tiempos de fermentación y tostadas, sobre el primero y segundo componente principal. Izquierda: clon EET-95; Derecha: Finca La Gloria.

Los compuestos volátiles en las muestras sin tostar del clon EET-95 y que más aportaron a la varianza en el CP1 son: 2, 3, 5, 6 Tetramethypyrazine; 2-Heptanol; y el Beta-myrcene. Para la finca La Gloria las variables que mas aportaron al mismo componente son: 3-Methyl butanal; 2-Heptanol; y Beta-trans-ocimene. En el mismo orden y con relación a las muestras tostadas, los compuestos aromáticos que mas aportaron a la

varianza en el CP1 son: Acetoin (3 hidrox-2-butanone); 3-Methyl-1-butanol; 1-Butanol, 2-Methyl-acetate; y Beta-myrcene (clon EET-95) y 2, 3, 5, 6-Tetramethylpyrazine; Acetoin (3-hidoxi-2-butanone); y Benzaldehyde (Finca La Gloria).

Las variables 2-Methylbutanal; Beta-trans-ocimene; 2-Methylbutyric acid y 1-Methylbutyl acetate, hicieron la mayor contribución a la varianza en el CP2 para las muestras sin tostar del clon EET-95. Para la finca La Gloria la mayor contribución provino de los compuestos 2-Nonanone y 2-Methyl-1-butanol. Para las muestras tostadas y en el mismo orden las contribuciones mas importantes a este componente provinieron de los compuestos 2-Methylbutanal; 3-Methylbutanal; 2,5 dimethylpyrazine (clon EET-95) y 2-Methyl-1-butanol; 2, 4, 5-Trimethyl-1,3-dioxolane; y 2-Heptanol (finca La Gloria).

Los dendogramas producidos por la aplicación del método jerárquico de Ward para el análisis de los datos de los compuestos volátiles reportados, se muestran en las Figuras 3 y 4. Ambos confirman vigorosamente los resultados producidos por el ACP al producirse dos grupos de muestras claramente diferenciadas entre las que recibieron más tiempo de fermentación y aquellas con poca o ninguna fermentación. El primer grupo reúne a las muestras con 3, 4 y 5 días de fermentación mientras que el segundo grupo contiene a las muestras con 0, 1 y 2 días de fermentación; las muestras del clon EET 95 sin tostar se apartan pero sólo ligeramente del patrón observado.

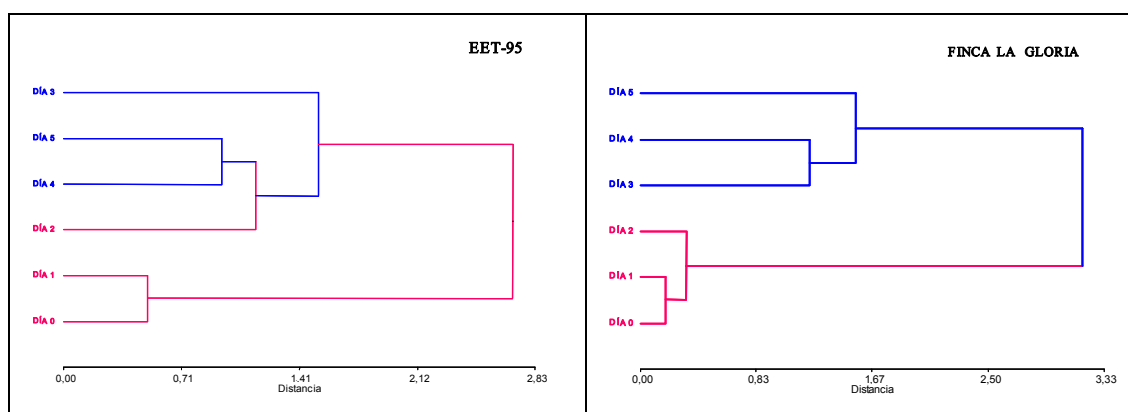


Figura 3. Dendograma de muestras de cacao sometidas a diferentes tiempos de fermentación y sin tostar, construido a partir de un grupo de compuestos volátiles. Izquierda: clon EET-95; Derecha: Finca La Gloria.

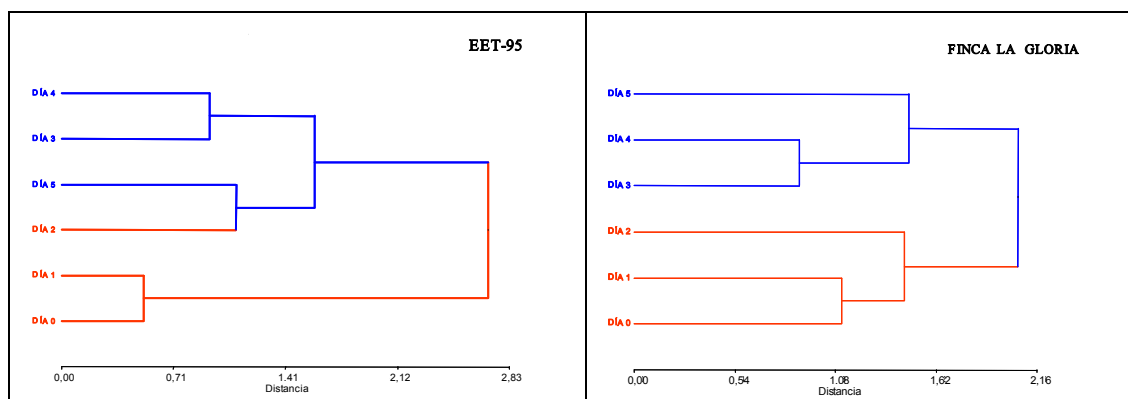


Figura 4. Dendograma de muestras de cacao sometidas a diferentes tiempos de fermentación y tostadas, construido a partir de un grupo de compuestos volátiles. Izquierda: clon EET-95; Derecha: Finca La Gloria.

Finalmente, el tiempo de fermentación del cacao no solo influyó sobre la presencia o ausencia de los compuestos volátiles, sino que también fue un factor determinante en su concentración, al menos para algunos de los compuestos que participaron en el análisis. Las Figuras 5 y 6 ilustran esta afirmación para la Finca La Gloria; aunque no se muestra el gráfico el mismo comportamiento se detectó para los compuestos originados en el clon EET 95. Compuestos como el 3-Methylbutanal; 2-Methyl butanal; y 2-Heptanol se incrementaron en forma pronunciada a medida que aumentó el tiempo de fermentación. La torrefacción estimuló aun más su contenido, pero se mantuvieron las diferencias causadas inicialmente por los diferentes tiempos de fermentación. La presencia de ácido Methyl butírico en muestras con cinco días de fermentación y tostadas llama la atención sobre el riesgo de sobrefermentación.

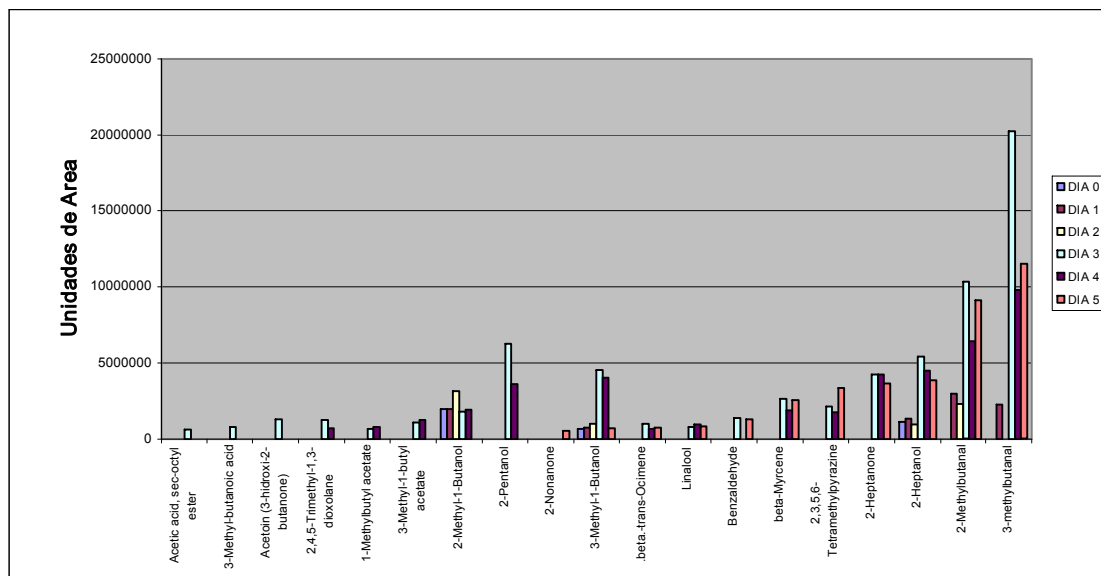


Figura 5. Comportamiento de un grupo de compuestos volátiles en muestras de cacao sin tostar provenientes de la finca La Gloria y que fueron sometidas a diferentes tiempos de fermentación.

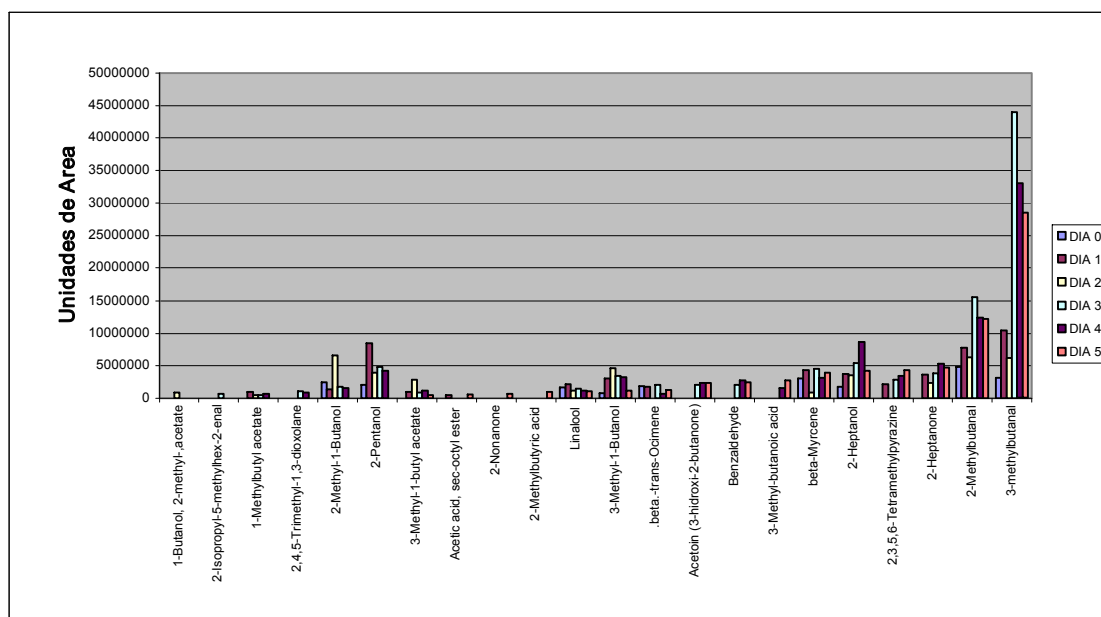


Figura 6. Comportamiento de un grupo de compuestos volátiles en muestras de cacao tostadas provenientes de la finca La Gloria y que fueron sometidas a diferentes tiempos de fermentación.

## CONCLUSIONES

El desarrollo de la fracción volátil asociada al sabor-aroma a chocolate, varió con el tiempo de fermentación al que fue sometido el cacao Nacional. La ausencia de fermentación o un nivel insuficiente, limitaron de manera importante el desarrollo de la fase aromática en las almendras. Las diferencias producidas por la fermentación en el desarrollo de fracción volátil, permitieron claramente la discriminación de las muestras según el tiempo de fermentación. Dichas diferencias se mantuvieron y para algunos compuestos se acentuaron después del tostado de las almendras. El incremento de los contenidos de la mayoría de los compuestos con la torrefacción, confirmó la importancia de someter el cacao al tiempo adecuado de fermentación para maximizar la expresión de la fracción volátil y por tanto la percepción del aroma a cacao. Las muestras con 4 y 5 días de fermentación mostraron el mayor potencial para la evolución de la dimensión aromática. Se concluye que para que se produzca la mayor contribución al desarrollo aromático del cacao Nacional, al tiempo que se minimiza el riesgo de sobre fermentación, el cacao Nacional debe fermentarse por cuatro días tomando debida consideración de otros factores como el volumen y frecuencia de remoción de la masa.

## RECONOCIMIENTO

La presente pieza de investigación recibió financiamiento del Fondo Común de los Productos Básicos y se realizó en el marco del Proyecto CFC/ICCO/INIAP “Determinación de los parámetros físicos, químicos y organolépticos para diferenciar el cacao fino del ordinario”

## REFERENCIAS

- Cros, E., Chanliau, S., Jeanjean, N. (1999). Postharvest processing: a key step in cocoa. In *Confectionary Science II. Proceedings of an international Symposium*. Ziegler, G.R., Ed., Pennsylvania State University: State College, PA, pp 80-95.
- Bonvehi, J. S. (2005). Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *Eur Food Res Technol.* 221: 19-29.
- Jeanjean, J. (1995). Influence du génotype de la fermentation et de la torréfaction sur le développement de l'arôme de cacao. Rôle des précurseurs d'arôme de cacao. Thèse de doctorat, Université Montpellier.
- Mega, J. A., Sizer, C. E. (1973). Pyrazines in food. *J. Agric. Food Chem.* 21, 22-30.
- Ziegleder, G. (1991). Composition of flavor extracts of raw and roasted cocoas. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1991. 192, 521-525.