

CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE LICORES DE CACAO CUBANOS

Jorge A. Pino, Lumey LLera y Elda Roncal*

Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria, Carretera al Guatao, km 3 ½,

La Habana, C.P. 19 200, Cuba.

E-mail: jpino@iiaa.edu.cu

RESUMEN

Se evaluaron los componentes volátiles en licores de cacao de los principales clones cubanos: CCN-51, UF-221, UF 654, UF 667, UF 676, así como UF 650 y UF 677 (estos últimos por dos años). Los compuestos fueron aislados por microextracción en fase sólida del espacio de cabeza combinada con la cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se empleó una fibra de CW/DVB 65 μm en condiciones de operación optimizadas para cuantificar 100 compuestos volátiles. Los clones UF-677 y UF-221 tuvieron las mejores características en cuanto a la cantidad total y concentraciones individuales de los compuestos volátiles sensorialmente importantes.

Palabras clave: *Theobroma cacao*, cacao, licor, compuestos volátiles.

ABSTRACT

Characterization of volatile profile of Cuban cocoa liquors

Volatile components in liquors of cocoa of the main Cuban clones: CCN-51, UF-221, UF 654, UF 667, UF 676, as well as UF 650 and UF 677 (these last ones for two years) were evaluated. Compounds were isolated by head space-solid phase microextraction combined with the gas chromatography-mass spectrometry. A fiber of 65 μm CW/DVB was used in optimized operation conditions to quantify 100 volatile compounds. Clones UF-677 and UF-221 had better characteristics in the total quantity and individual concentrations of their volatile compounds sensorially important.

Key words: *Theobroma cacao*, cacao, liquor, volatile compounds.

INTRODUCCIÓN

Theobroma cacao L. es la especie conocida comúnmente como cacao, nativa de América del Sur, de la cuenca del río Orinoco y río Amazonas. Actualmente se extiende desde México a Brasil, en zonas tropicales y también en el oeste de África (1).

En los últimos años y especialmente en Europa, la demanda industrial de cacao se ha desplazado fundamentalmente hacia lotes de calidad aromática superior. Proporcionar un cacao con fuerte potencial aromático y que presenta características aromáticas especiales es por lo tanto, hoy en día, una oportunidad brindada a los países productores para diversificar o reorientar sus producciones para consolidar y asegurar nuevos mer-

**Jorge A. Pino Alea: Licenciado en Química (UH, 1975). Investigador Titular. Doctor en Ciencias Técnicas (CENIC, 1980) y Doctor en Ciencias (IFAL, 2011). Desarrolla su quehacer investigativo en el campo de la Química Analítica de Aromas de Alimentos y Aceites Esenciales.*

cados. La selección y la divulgación de semejantes cacaos, así como la puesta a punto de tecnologías adaptadas es uno de los pasos que permiten enfrentar esta nueva situación.

En la literatura no especializada existe en ocasiones confusión entre los términos cacao y chocolate. En el primer caso se refiere al grano o semilla y a sus productos derivados: cacao en polvo, manteca y extractos; mientras que el término chocolate incluye procesamientos adicionales como el conchado y la incorporación de aditivos como leche, azúcar y vainilla, entre otros, que le aportan una composición de volátiles diferente y por tanto, características sensoriales que lo diferencian del propio cacao. Si bien es conocido que la calidad aromática del chocolate está relacionada principalmente con el origen de los granos, con el tratamiento post-cosecha (fermentación y secado) y con el tostado, resulta que, hasta la fecha, no se conoce bien la influencia respectiva de cada uno de estos factores (2, 3). La composición del chocolate depende del genotipo del grano y es una consecuencia de diversos procesos (4, 5). La fermentación del cacao es crucial no solo en la formación de fracciones volátiles importantes (alcoholes, ésteres y ácidos grasos), sino también para el desarrollo de los precursores del aroma del cacao-chocolate (aminoácidos y azúcares reductores). El cacao es secado para minimizar la formación de hongos y reducir el nivel de acidez y astringencia de los granos por disminución de la cantidad total de polifenoles. A través de las reacciones de Maillard, el tostado del cacao convierte a los precursores del aroma y sabor formados durante la fermentación en dos grupos principales de compuestos volátiles: pirazinas y aldehídos (4). Finalmente, el conchado mejora el aroma, sabor y textura finales del chocolate (6).

Hasta la fecha se han identificado en el cacao y chocolate más de 600 compuestos volátiles (2, 7, 8). Estos estudios se han realizado por diferentes técnicas de aislamiento y concentración (9-19). De ellas, la microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME) parece ser la más adecuada, pues es relativamente rápida, simple, no requiere disolventes y normalmente no causa cambios químicos (20).

En Cuba existe un programa de mejoramiento genético de las variedades de cacao. Si se tiene en cuenta la posibilidad de poder contar con criterios de la calidad

aromática de las semillas, esto podría apoyar la información agronómica para seleccionar los mejores candidatos a propagar en el país. El objetivo del presente trabajo fue determinar los componentes volátiles en licores de cacao obtenidos de los principales clones de cacao cubanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de cacao fueron recolectadas de los clones CCN-51, UF-221, UF-650 y UF-677 en el 2008 y de UF-650, UF-654, UF-667, UF-676 y UF-677 en el 2009, en la cosecha de primavera o larga perteneciente a los meses de abril-junio de cada año. Las semillas (5 kg) procedieron del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Café y Cacao, ubicada en la zona de Sabanilla, Baracoa, provincia Guantánamo. El beneficio se realizó en el centro Paso de Cuba. Las semillas (5 kg) fueron beneficiadas en la Estación Experimental de Cacao de Baracoa. El tiempo de fermentación fue de seis días y en igual cantidad de días se realizó el secado de forma natural. Para la torrefacción se empleó un tostador rotatorio para café y cacao, marca Pinarense (Brasil), el tiempo de tostado en todas las muestras fue de 25 min a 125 ± 10 °C. La molienda se efectuó en un equipo Robot Coupe (España) y posteriormente se pasó por un refinador marca Carle & Mountain (Italia) para obtener el licor de cacao. El licor de cacao fue envasado en frascos de vidrio, sellados y conservados en refrigeración (-12 °C) hasta su análisis. Se tuvo cuidado de que las condiciones de procesamiento para lograr el licor fueran similares para todas las muestras, de forma tal que los resultados fueran representativos de la variedad como tal.

Para el aislamiento de los compuestos volátiles por HS-SPME se utilizó un soporte manual para SPME y una fibra de Carbowax/divinilbenceno (CW/DVB 65 μ m) (Supelco, Bellefonte, EE.UU.). Se utilizó un procedimiento reportado recientemente para cacao (17). Según el procedimiento optimizado: 1 g de licor se colocó en un vial de 15 mL junto con 10 mL de solución saturada de cloruro de sodio P.A. El vial fue herméticamente cerrado con una membrana de silicona y la mezcla se mantuvo con agitación magnética (100 min^{-1}) durante 15 min a 60 °C. La extracción de los compuestos volátiles del espacio de cabeza se realizó durante 45 min a las mismas temperatura y velocidad de agitación. Las muestras se analizaron por triplicado.

Los análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas se hicieron en un equipo Hewlett-Packard 6890 con detector de masas selectivo HP-5973. La inyección fue en modo *splitless* por 2 min con el uso de un vaporizador (inlet) de 0,75 mm d.i. La temperatura del inyector fue 250 °C. La separación se hizo con una columna HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 m) (Supelco, Bellefonte, EE.UU.) con un programa de temperatura de 50 °C (2 min), rampa de 4 °C/min hasta 250 °C (20 min). El gas portador fue helio con un flujo de 1 mL/min. El detector operó en modo ionización electrónica (70 eV) a 230 °C y la detección se realizó en modo de barrido entre 35 y 400 u. La identificación se efectuó por comparación de espectros de masas con las bases de datos Wiley, NIST, NBS y Adams, así como la propia Flavorlib para compuestos volátiles (en total 579 000 registros). Además se compararon con espectros de masas de sustancias patrones y la identidad se confirmó con la ayuda de índices de retención cromatográficos de patrones y publicados (21). Los resultados cuantitativos se calcularon por normalización interna a partir de la integración electrónica de las áreas de la corriente iónica total. Los porcentajes de área se compararon por análisis de varianza de clasificación simple y en los casos que las diferencias fueron significativas ($p \leq 0,05$), se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan. Para los porcentajes, los datos se transformaron por la función $2 \arcsen p$ (donde p es la proporción del porcentaje), mientras que para el área total se usó el logaritmo natural.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el estudio de los componentes volátiles del licor de cacao se mantuvo el uso de la fibra de CW/DVB propuesta originalmente para el análisis de pirazinas en cacao (17). Esto se hizo teniendo en cuenta las propiedades químicas de los analitos y de otros tipos de fibras: la fibra de CW/DVB posee una fase polar, que es de esperar que posea una alta afinidad hacia sustancias polares como las pirazinas (grupo de compuestos mayoritarios y sensorialmente importantes en este producto), cuando se compara con otras fibras como PA (moderadamente polar) o PDMS (apolar) (20).

La Tabla 1 refleja que en total, se identificaron 100 compuestos volátiles en las muestras evaluadas, agrupados en 23 ésteres, 22 compuestos nitrogenados (11 pirazinas, 4 piranonas y otros 8 de distinta naturaleza),

12 aldehídos, 11 ácidos, 9 cetonas, 9 alcoholes, 6 compuestos furánicos, 3 terpenos, 2 lactonas, 2 compuestos azufrados y 1 hidrocarburo. Todos ellos han sido reportados como constituyentes del cacao y sus derivados (11).

Teniendo en cuenta que en la técnica analítica utilizada, el área es una medida indirecta de la cantidad de sustancias detectadas, es posible hacer un primer análisis con relación a la cantidad total de compuestos volátiles de cada muestra a partir del área total de los picos cromatográficos. Los clones UF-677 y UF-221 tuvieron un contenido de volátiles significativamente ($p \leq 0,05$) mayor que el resto de los clones y estos no se diferenciaron entre sí. Esto no implica necesariamente que ambos clones sean mejores, pues este mayor contenido puede ser por la presencia de componentes indeseables o de concentraciones altas de algunos de ellos que causen un desbalance en el perfil del aroma final.

Desde el punto de vista cuantitativo, aparece como mayoritario el 2-feniletanol (18,91 a 41,76 %), seguido en menor proporción del ácido acético, fenilacetaldehído, acetato de 2-feniletanol y ácido (E)-cinámico. Estos compuestos tienen su origen en los tratamientos de fermentación y secado (22).

Existen diferencias significativas para varios de los componentes identificados en las muestras, pero la discusión se centrará en los que son organolépticamente importantes, pues son los que fundamentalmente inciden en el aroma y sabor de las muestras de cacao. De los componentes de impacto reportados en el cacao y chocolate (2, 3, 6, 11, 16, 18, 19, 23, 24), en el presente trabajo se detectaron el ácido acético, 3-metilbutanal, 2-metilbutanal, ácido isopentanoico, ácido 2-metilbutanoico, trisulfuro de dimetilo, trimetilpirazina, pirrol-2-carboxaldehído, fenilacetaldehído, furaneol, tetrametilpirazina, 2-etil-3,5-dimetilpirazina, 2-feniletanol, massoi lactona, lactona del ácido dehidromevalónico y ácido fenilacético.

Tabla 1. Compuestos volátiles identificados en los licores de cacao de clones cubanos (en porcentaje de área del cromatograma)

Compuesto	CCN-51	UF-221	UF-650A	UF-650B	UF-654	UF-667	UF-676	UF-677A	UF-677B
2-metilpropanal	0,31 b	0,09 c	0,35 a	0,37 a	0,25 b	0,28 b	0,29 b	0,32 ab	0,32 ab
ácido acético	4,10 e	5,22 d	14,88 a	14,53 a	12,91 b	12,97 b	12,79 b	9,11 c	9,11 c
2-butanona	0,01 b	1,52 a	t	0,05 b	0,01 b	0,02 b	0,04 b	t	0,04 b
3-metilbutanal	1,67 b	2,35 a	1,61 b	0,81 e	1,04 d	1,32 c	1,43 c	0,82 e	1,50 bc
2-metilbutanal	0,69 d	1,23 a	1,00 a	0,85 ab	0,69 d	0,77 c	0,79 c	0,99 a	1,15 a
3-metilbutanol	0,22 c	0,34 c	0,58 a	0,56 a	0,42 b	0,55 a	0,48 ab	0,53 a	0,47 ab
2-metilbutanol	0,24 c	0,17 c	0,41 b	0,46 b	0,64 a	0,73 a	0,64	0,78 a	0,68 a
disulfuro de dimetilo	0,13 c	0,11 c	0,35 a	0,35 a	0,16 c	0,28 ab	0,33 a	0,15 c	0,15 c
ácido 2-metilpropanoico	0,38 d	0,57 c	0,67 b	0,67 b	0,49 c	0,69 b	0,59 c	1,87 a	1,65a
2,3-butanodiol	1,11 b	0,84 c	1,66 a	1,66 a	1,52 a	1,45 a	0,89 c	1,09 b	1,06 b
2-metilpirazina	0,07 a	0,07 a	0,04 a	0,04 a	0,05 a	0,03 a	0,04 a	t	0,08 a
2-furfural	t	t	0,02	0,02	t	t	t	t	t
ácido isopentanoico	0,94 a	0,57 c	t	0,32 e	0,44 d	0,79 b	0,61 c	t	0,78 b
acetato de isopentilo	0,27 e	0,76 d	1,31 c	2,43 a	2,27 b	2,35 ab	2,39 a	3,16 a	2,97 a
acetato de 2-metilbutilo	t	0,96	1,11	0,02	t	0,02	0,01	t	t
ácido 2-metilbutanoico	0,21 d	0,86 c	0,51c	0,83 c	0,43 c	1,86 a	1,61 b	1,85 a	1,86 a
2-heptanol	0,17 ab	t	0,22 a	0,25 a	0,17 ab	0,23 a	0,19 ab	0,34 a	0,28 a
2,3-dimetilpirazina	0,10 c	1,09 a	0,10 c	0,12 c	0,08 c	0,17 b	0,19 b	0,18 b	0,21 b
γ-butirolactona	0,40 a	0,26 b	0,28 b	0,25 b	0,20 c	0,20 c	0,10 d	0,17 c	0,19 c
2(5H)-furanona	0,08 a	0,09 a	t	0,08 a	0,06 a	0,07 a	0,07 a	t	0,05 a
2-hidroxi-2-ciclopenten-1-ona	0,20	t	t	t	0,20	0,11	0,02	t	t
benzaldehído	4,56 a	2,02 c	1,88 d	1,93 cd	2,36 b	1,82 d	2,01c	1,84 d	1,80 d
trisulfuro de dimetilo	0,38 c	0,45 b	0,67 a	0,37 c	0,35 c	0,45 b	0,42 b	0,42 b	0,52 b
benzonitrilo	0,33 a	0,17 b	0,11 b	0,15 b	0,31 a	0,17 b	0,17 b	0,17 b	0,17 b

Tabla 1 (cont.)

Compuesto	CCN-51	UF-221	UF-650A	UF-650B	UF-654	UF-667	UF-676	UF-677A	UF-677B
2,3-octanodiona	0,07 a	t	0,02 a	0,02 a	0,07 a	0,04 a	0,03 a	t	0,03 a
2-etil-6-metilpirazina	0,27 b	0,44 a	0,17 c	0,27 b	0,27 b	0,33 ab	0,25 b	0,38 a	0,44 a
trimetilpirazina	0,63 c	1,45 a	0,48 d	0,48 d	0,43 d	1,03 b	0,39 d	1,04 b	1,09 b
isopentanoato de isobutilo	t	t	t	0,02	t	t	t	t	t
2-metil-6-vinilpirazina	0,08 d	0,41 b	0,12 c	0,12 c	0,08 d	0,15 c	0,14 c	0,60 a	0,56 a
limoneno	0,63	0,63	t	0,02	0,03	0,02	t	t	t
pirrol-2-carboxaldehído	t	t	t	t	t	0,01	t	t	0,04
2-formilpirrol	0,74 a	0,20 c	t	0,11 c	0,34 b	0,12 c	0,16 c	t	0,03 d
alcohol bencílico	0,39a	0,27 b	0,44 a	0,44 a	0,39 a	0,36 a	0,37 a	t	0,17 c
cicloteno	t	t	t	t	0,01	0,01	t	0,08	0,03
2,6-dimetil-4-heptanol	0,03	t	t	t	0,02	0,02	0,02	t	t
fenilacetaldehído	2,92 b	4,05 a	3,00 b	3,00 b	2,98 b	3,63 a	2,89 b	3,66 a	3,62 a
2-acetilpirrol	0,63 d	1,81 a	1,02 c	1,24 b	1,17 b	1,21 b	1,27 b	1,25 b	1,21 b
furaneol	t	1,25 a	t	0,48 c	0,45 c	0,39 c	0,41 c	0,80 b	0,78 b
acetofenona	0,52 b	0,39 d	0,64 a	0,64 a	0,52 b	0,66 a	0,69 a	0,62 a	0,62 a
1-octanol	0,19 b	t	0,23 b	0,23 b	0,19 b	0,22 b	0,28 a	t	0,10 c
tetrametilpirazina	1,02 b	1,49 a	0,96 b	0,92 b	0,92 b	1,09 b	0,85 b	1,06 b	1,08 b
2-etil-3,5-dimetilpirazina	0,01 d	0,96 a	0,62 b	0,52 c	0,41 c	0,50 c	0,44 c	0,52 c	0,72 b
óxido de <i>cis</i> -linalol (furanóide)	0,11	t	t	0,03	0,11	0,12	0,15	t	t
2-nonanona	0,30 d	1,61 a	0,62 b	0,65 b	0,60 b	0,67 b	0,43 c	0,57 c	0,42 c
linalol	0,05 c	0,20 b	0,35 a	0,38 a	0,35 a	0,37 a	0,32 a	0,44 a	0,39 a
nonanal	0,44 a	0,29 c	0,35 b	0,32 b	0,44 a	0,35 b	0,49 a	0,13 d	0,11 d
2-isopropil-5-metilhex-2-enal	0,03 d	0,45 a	0,19 c	0,39 b	0,33 b	0,37 b	0,39 b	0,46 a	0,36 b
maltol	t	t	t	t	t	0,02	0,01	t	t

Tabla 1 (cont.)

Compuesto	CCN-51	UF-221	UF-650A	UF-650B	UF-654	UF-667	UF-676	UF-677A	UF-677B
2-feniletanol	41,76 a	18,91 b	20,81 b	20,81 b	20,76 b	19,99 b	20,09 b	21,38 b	21,67 b
soferona	t	0,31	t	t	t	0,01	0,02	t	t
fenilacetónitrilo	0,23	0,21	t	t	0,23	0,25	0,24	t	t
massoi lactona	1,88 d	6,54 a	1,82 d	1,82 d	1,88 d	1,77 d	1,85 d	3,39 b	2,35 c
2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	0,37 c	0,45 c	1,32 a	1,32 a	0,97 b	0,98 b	1,01 b	0,82 b	0,92 b
5,6-dihidro-4-metil-(2H)-piran-2-ona	t	t	t	t	t	t	t	t	0,08
benzoato de etilo	0,48 b	0,53 b	0,77 a	0,77 a	0,48 b	0,48 b	0,59 b	0,57 b	0,53 b
2-fenilacetato de metilo	0,35 bc	0,51 a	0,34 bc	0,34 bc	0,38 b	0,44 b	0,41 b	0,39 b	0,39 b
ácido octanoico	1,21 d	3,02 a	1,86 b	1,86 b	1,61 bc	1,57 bc	1,76 b	1,83 b	1,62 bc
3,5-dihidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona	t	0,91	t	t	t	0,22	0,37	0,51	0,37
octanoato de etilo	0,67 c	0,89 b	1,42 a	1,42 a	1,37 a	0,99 b	1,01 b	0,96 b	0,93 b
2,5-dimetil-3-isobutilpirazina	t	t	t	t	t	0,01	t	t	t
decanal	0,18 d	0,93 a	0,30 c	0,30 c	0,58 b	0,61 b	0,55 b	0,58 b	0,58 b
2,3-dihidrobenzofurano	t	0,93	t	t	t	0,01	0,01	t	t
2-fenilacetato de etilo	0,32 d	1,35 a	0,68 c	0,68 c	0,82 b	0,69 c	0,75 b	0,76 b	0,73 b
2-isopentil-6-metilpirazina	0,28 a	0,36 a	0,26 a	0,26 a	0,28 a	0,33 a	0,31 a	0,36 a	0,40 a
acetato de 2-feniletilo	2,44 c	4,67 b	6,26 a	6,26 a	6,49 a	5,99 b	5,03 b	5,11 b	4,97 b
ácido fenilacético	t	4,88	t	t	0,04	0,01	0,01	t	0,09
ácido nonanoico	t	t	t	t	0,02	0,02	0,02	t	t
(E)-2-fenil-2-butenal	5,08 c	4,36 c	5,32 b	5,32 b	6,16 a	5,83 ab	4,88 c	4,68 c	4,68 c
2-undecanona	t	t	t	t	t	0,08	0,15	0,28	0,18
2-metilnaftaleno	t	t	t	t	t	0,01	0,02	t	t
1H-indol	0,14	0,60	t	t	0,10	0,02	0,02	t	0,02
1-(3,4,5-trimetilfenil)-etanona	0,59	t	t	t	0,09	t	0,05	t	t

Tabla 1 (cont.)

	CCN-51	UF-221	UF-650A	UF-650B	UF-654	UF-667	UF-676	UF-677A	UF-677B
5-isopentil-2,3-dimetilpirazina	0,77 a	0,39 b	0,35 b	0,30 b	0,27 bc	0,26 c	0,25 c	0,32 b	0,43 b
antranilato de metilo	t	t	0,20 a	0,21 a	0,19 a	0,17 a	0,19 a	0,18 a	0,18 a
3-hidroxi-4-fenil-2-butanona	t	t	t	t	t	0,02	0,01	t	t
γ -nonalactona	1,75 b	2,03 a	1,12 d	1,16 d	1,75 b	1,39 c	1,55 c	1,46 c	1,41 c
4-metil-2-fenil-2-pentenal	0,87 b	0,81 b	0,86 b	0,81 b	0,49 c	0,43 c	0,44 c	1,34 a	1,38 a
2,3,5-trimetil-6-isopentilpirazina	t	t	t	t	t	0,01	t	t	0,03
(E)-cinamato de metilo	t	0,12	t	t	t	0,01	t	t	t
decanoato de etilo	0,46 a	0,41 a	0,37 a	0,47 a	0,48 a	0,45 a	0,49 a	0,48 a	0,43 a
benzoato de 3-metilbutilo	t	0,38 b	0,45 b	0,42 b	0,10 c	0,44 b	0,47 b	0,74 a	0,76 a
butanoato de 2-feniletilo	1,52	t	t	t	0,51	0,22	0,33	t	t
ácido (E)-cinámico	5,43 d	0,40 e	10,62 a	9,12 b	9,48 b	7,78 c	8,98 b	7,83 c	7,87 c
geranil acetona	0,05	t	t	0,05	0,05	0,06	0,09	t	0,05
5-metil-2-fenil-2-hexenal	3,02 b	2,70 c	2,78 c	2,78 c	3,22 b	2,98 b	3,93 a	4,15 a	3,95 a
ácido dodecanoico	0,19 b	0,35 a	0,03 d	0,14 bc	0,19 b	0,19 b	0,22 b	0,14 bc	0,14 bc
dodecanoato de etilo	0,97 c	0,87 c	1,01 b	1,17 b	0,99 b	1,03 b	1,32 a	1,19 b	1,19 b
ácido tetradecanoico	0,22 d	0,48 b	0,04 e	0,52 b	0,27 d	0,45 b	0,65 a	0,06 e	0,19 d
tetradecanoato de etilo	0,57 a	0,48 b	0,54 a	0,58 a	0,57 a	0,67 a	0,59 a	0,65 a	0,62 a
cafeína	1,06 c	2,10 a	2,02 a	1,96 a	1,36 b	1,99 a	1,42 b	1,40 b	1,43 b
hexadecanol	t	0,46 c	0,16 e	0,37 d	0,91 b	0,56 c	1,67 a	1,57 a	1,50 a
hexadecanoato de metilo	0,39 b	0,28 bc	0,23 c	0,26 c	0,25 c	0,33 b	0,41 a	0,21 c	0,28 b
ácido hexadecanoico	0,29	0,90	t	t	0,09	0,08	0,17	t	0,05
hexadecanoato de etilo	0,51 c	0,46 c	0,46 c	0,54 c	0,69 b	0,49 c	0,78 a	0,45 c	0,40 c
hexadecanoato de isopropilo	t	0,35	t	t	t	0,02	0,02	t	t
linoleato de etilo	0,14 b	0,23 ab	0,19 b	0,16 b	0,26 a	0,25 a	0,29 a	0,19 b	0,20 b
oleato de etilo	0,12 b	0,14 b	0,17 a	0,18 a	0,19 a	0,17 a	0,22 a	0,21 a	0,18 a
hexadecanoato de butilo	t	0,08 a	0,09 a	0,10 a	0,08 a	0,12 a	0,14 a	0,14 a	0,16 a
octadecanoato de etilo	0,10 a	0,04 a	0,09 a	0,08 a	0,18 a	0,09 a	0,11 a	0,12 a	0,09 a
octadecanoato de butilo	t	t	t	0,02	t	t	0,02	t	0,02
Área total	358x10⁶ b	471x10⁶ a	317x10⁶ c	327x10⁶ c	318x10⁶ c	389x10⁶ b	367x10⁶ b	481x10⁶ a	428x10⁶ a

A y B indican cosechas de 2008 y 2009, respectivamente.

t:<0,01 %.

Letras distintas indican diferencia significativa para $p \leq 0,05$.

En los casos en que fue posible hacer tratamiento estadístico se encontró que el contenido de varios ácidos fue significativamente diferente ($p \leq 0,05$) entre las muestras. La presencia de los ácidos producidos por la fermentación es importante en el producto final, pero no puede ser excesiva porque se incrementa entonces la nota ácida y por eso durante el secado, tostado y conchado se busca una reducción de ellos para "redondear" los aromas de cacao y chocolate (6). El clon CCN-51 tuvo el mayor contenido de ácido isopentanoico, mientras que los clones UF-667 y UF-677 tuvieron los más altos contenidos de ácido 2-metilbutanoico. El clon UF-650 presentó el valor más alto de ácido acético y el clon UF-221 el más alto de ácido fenilacético, los que han sido reportados como organolépticamente importantes. En particular, el ácido fenilacético aporta notas dulces y florales (19). El clon UF-677 presentó el mayor contenido de ácido 2-metilpropanoico, pero a este ácido no se le atribuye ninguna importancia sensorial.

Los aldehídos 2-metilbutanal y 3-metilbutanal son considerados compuestos de impacto importantes en el cacao y chocolate (2, 3, 6). En la comparación se encontró que el clon UF-221 posee el contenido más alto de 3-metilbutanal, mientras que las muestras UF-221, UF-650 y UF-677 son los que tienen mayor proporción de 2-metilbutanal. Otro importante compuesto de impacto, el fenilacetaldehído (2, 3), también fue detectado significativamente en mayor concentración en los clones UF-221, UF-667 y UF-677.

Otro compuesto al que se le ha atribuido importancia sensorial es el trisulfuro de dimetilo (6), cuyo comportamiento en las muestras analizadas se comportó de la forma siguiente: UF-650 > UF-221 = UF-667 = UF-676 = UF-677 > CCN-51 = UF-650 = UF-654. El pirrol-2-carboxaldehído también ha sido reconocido como compuesto de impacto en el cacao con aporte de nota a nuez (19) y solo se detectó en concentraciones significativamente más altas en los clones UF-677 y UF-667.

El furaneol, que aporta notas dulces y a caramelo en el cacao (6), se detectó en la mayor concentración en el clon UF-221, seguido de UF-677; mientras que el resto de los clones no se diferenciaron en este compuesto furánico.

En el estudio se encontraron dos piranonas: massoi lactona y lactona del ácido dehidromevalónico (5,6-dihidro-4-metil-(2H)-piran-2-ona), que son consideradas compuestos de impacto y que la primera aporta nota a coco y la segunda a leche condensada (19). La massoi lactona se encontró en concentraciones significativamente diferentes entre las muestras con el comportamiento siguiente: UF-221 > UF-677A > UF-677B > CCN-51 = UF-650 = UF-654 = UF-667 = UF-676. La lactona del ácido dehidromevalónico (5,6-dihidro-4-metil-(2H)-piran-2-ona) estuvo en mayor concentración en la segunda cosecha del clon UF-677.

El 2-feniletanol aporta notas florales al cacao y chocolate (23, 24) y el comportamiento de su contenido en las muestras bajo estudio fue el siguiente: CCN-51 > UF-221 = UF-650 = UF-654 = UF-667 = UF-676 = UF-677.

Con relación a las pirazinas, compuestos sensorialmente importantes en todos los productos tostados, se encontraron diferencias significativas entre tres de ellas consideradas particularmente de impacto en el cacao y chocolate: trimetilpirazina, tetrametilpirazina y 2-etil-3,5-dimetilpirazina. Para la trimetilpirazina, que aporta notas a cacao (16), se encontró el comportamiento siguiente: UF-221 > UF-667 = UF-677 > UF-650 = UF-654 = UF-676 > CCN-51. La tetrametilpirazina, que también aporta notas a cacao (6, 16), tuvo su mayor contenido en el clon UF-221 y el resto de los clones no se diferenciaron entre sí. La 2-etil-3,5-dimetilpirazina, que posee notas a papas fritas (18), tuvo el comportamiento en su contenido siguiente: UF-221 > UF-650 = UF-650A = UF-677B > UF-650A = UF-654 = UF-667 = UF-676 = UF-677A > CCN-51. En resumen, el clon UF-221 tuvo mayores contenidos de las tres pirazinas sensorialmente importantes, mientras que el clon UF-677 mantuvo concentraciones significativamente más elevadas en las otras pirazinas detectadas.

Se conoce que los compuestos de mayor impacto sensorial en los productos tostados son los compuestos heterocíclicos con átomos de N y O, generados durante el tostado y que son consecuencia de la secuencia compleja de procesos inducidos por el calor, conocidos como reacciones de Maillard (25). Para el cacao, en términos de contribución a sus características sensoriales y en consecuencia de su valor comercial, los productos más importantes de las reacciones de Maillard

son las pirazinas (16). Considerando el impacto en el aroma, la relación entre las cantidades de tetrametilpirazina y trimetilpirazina (llamada relación pirazínica) ha sido adoptada como un parámetro de calidad de estos productos (26). Esta relación mientras más cercana es a la unidad indica una mayor calidad sensorial (16, 17). Los resultados de este estudio indican que los clones UF-221, UF-677 y UF-667 poseen una relación pirazínica igual o muy cercana a la unidad, mientras que son mayores para el resto de los clones.

CONCLUSIONES

Se caracterizaron los componentes volátiles de licores de cacao provenientes de siete clones bajo estudio de generalización del cultivo en Cuba. En total, se cuantificaron 100 compuestos volátiles, agrupados en 23 ésteres, 22 compuestos nitrogenados, 12 aldehídos, 11 ácidos, 9 cetonas, 9 alcoholes, 6 compuestos furánicos, 3 terpenos, 2 lactonas, 2 compuestos azufrados y 1 hidrocarburo. Los clones UF-677 y UF-221 tuvieron las mejores características en cuanto a cantidad total y concentraciones individuales de sus compuestos volátiles sensorialmente importantes en comparación con los otros clones.

REFERENCIAS

1. Pontillon, J. La fabrication du chocolat. En: Pour la Science. Paris, Ed. Belin, 1995, pp. 118-126.
2. Flament, I. Coffee, Cocoa and Tea. En: Volatile Compounds in Foods and Beverages. Maarse, H. (Ed.), New York, Marcel Dekker Inc., 1991, pp. 617-669.
3. Ziegleder, G. y Biehl, B. Analysis of cocoa flavour components and flavour precursors. En: Analysis of Nonalcoholic Beverages. Modern Methods of Plant Analysis - New series, Linskens, H.F. y Jackson, J.F. (Eds.), Berlin, Springer-Verlag, 1998, pp. 321-393.
4. Kattenberg, H. y Kemming, A. The flavor of cocoa in relation to the origin and processing of the cocoa beans. En: Food Flavors, Ingredients and Composition. Charalambous, G. (Ed.), Amsterdam, Elsevier Science, 1993, pp. 1-22.
5. Clapperton, J.; Yow, S.; Chan, J.; Lim, D.; Lockwood, R.; Romanczyk, L. y Hammerstone, J. Trop. Agric. (Trinidad) 71: 303-308, 1994.
6. Counet, C.; Callemien, D.; Ouwerx, C. y Collin, S. J. Agric. Food Chem. 50: 2385-2391, 2002.
7. Baigrie, B. Cocoa flavour. En: Understanding Natural Flavours. Piggott, J. R. y Paterson, A. (Eds.), Glasgow, Blackie Academic & Professional, 1994, pp. 268-282.
8. Nijssen, L.; Visscher, C.; Maarse, H.; Willemsens, L. y Boelens, M. En: Volatile Compounds in Food. Qualitative and Quantitative Data: Cocoa. Nutrition and Food Research Institute, Zeist, The Netherlands, 1996.
9. Pino, J. Tecnología de Alimentos (México) 26: 26-30, 1991.
10. Pino, J. Nahrung 36: 175-180, 1992.
11. Pino, J. Alimentaria (248): 85-92, 1993.
12. Nazaruddin, R.; Osman, H.; Mamot, S.; Wallid, S. y Aini, I. N. J. Food Proc. Preserv. 30: 280-298, 2006.
13. Pino, J.; Nuñez de Villavicencio, M. y Roncal, E. Nahrung 36: 302-306, 1992.
14. Pino, J. y Roncal, E. Nahrung 36: 299-301, 1992.
15. Pino, J.; Nuñez de Villavicencio, M. y Roncal, E. J. Food Quality 16: 125-132, 1993.
16. Bonvehí, J. y Coll, F. J. Agric. Food Chem. 50: 3743-3750, 2002.
17. Pini, G.; de Brito, E.; García, N.; Valente, A. y Augusto, F. J. Braz. Chem. Soc. 15: 267-271, 2004.
18. Frauendorfer, F. y Schieberle, P. J. Agric. Food Chem. 54: 5521-5529, 2006.
19. Krings, U.; Zelena, K.; Wu, S. y Berger, R. G. European Food Res. Technol. 223: 675-681, 2006.
20. Wardencki, W., Michulec, M. y Curyto, J. Intern. J. Food Sci. Technol. 39: 703-717, 2004.
21. Adams, R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Co., Carol Stream, 2004.
22. Adamek, P.; Bergstorm, B.; Borjesson, T. y Stolmann, U. Determination of volatile compounds for the detection of moulds. En: Modern Methods in Food Mycology. Sansom, R.A. y Pitt, J.I. (Eds.), Amsterdam, Elsevier, 1992, pp. 327-336.
23. Schnermann, P. y Schieberle, P. J. Agric. Food Chem. 45: 867-872, 1997.
24. Schieberle, P. y Pfnuer, P. Characterization of key odorants in chocolate. En: Flavor Chemistry: 30 Years of Progress. Teranishi, R. et al. (Eds.), New York, Kluwer Academic/Plenum, 1999, pp. 147-153.
25. Vernin, G. y Parkányi, C. En: Chemistry of Heterocyclic Compounds in Flavours and Aromas. Vernin, G. (Ed.), Chichester, Ellis Horwood, 1982.
26. van der Wal, B.; Kettenes, D.; Stoffelsma, J.; Sipma, G. y Semper, A. J. J. Agric. Food Chem. 19: 276-280, 1971.