

## Efecto del tratamiento poscosecha sobre los polifenoles presentes en cacao criollo porcelana del estado Zulia

Effect of the post-harvest treatment on the polyphenols present in porcelain creole cacao of Zulia state

Andreina B. Portillo López<sup>1\*</sup>, Elvis A. Portillo Páez<sup>2</sup>, Belkis B. Rodríguez Villasmil<sup>3</sup>, Drisneila L. Fuenmayor Boscán<sup>3</sup> y Rosa I. Villasmil Villasmil<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Fundación para el Desarrollo del Cacao (FUNDACACAO). Universidad del Zulia (LUZ), <sup>2</sup>Departamento de Agronomía, <sup>3</sup>Laboratorio de Tecnología de Alimentos. <sup>4</sup>Laboratorio de Biotecnología. Correo electrónico: elvisalfonso@gmail.com.

### Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento poscosecha sobre los polifenoles presentes en cacao Criollo Porcelana del estado Zulia. El estudio se realizó en la plantación de cacao Criollo Porcelana, del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo (CESID-Cacao-CORPOZULIA). Las almendras fermentadas y secadas fueron trasladadas y almacenadas a - 80 °C en el laboratorio. Para la determinación de polifenoles, se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, se estudiaron dos factores: dos (2) épocas de cosecha (EC) y el tiempo de fermentación (TF). Los resultados indicaron que ambos factores tuvieron efecto altamente significativo ( $p < 0,01$ ) sobre el contenido de polifenoles. Es decir, hubo una disminución de los polifenoles para la época y el tiempo de fermentación. Para la interacción ECxTF, no hubo diferencias significativas.

**Palabras clave:** polifenoles, calidad y astringencia.

### Abstract

The present investigation objective is to study the post harvest effect in Porcelana cocoa Criollo in Zulia State. The study was carried out in the Criollo

Recibido el 06-02-2017 • Aceptado el 08-05-2020

\*Autor de correspondencia. Correo electrónico: inapbl@gmail.com

Porcelana plantation, of the Socialist Center of Investigation and Development (CESID-Cacao-CORPOZULIA). The fermented and dried almonds were moved and stored at -80 °C in the laboratory. The Folin-Ciocalteu was used for these analyzes, two factors were studied: 2 harvest periods and the fermentation time. The results indicated that both factors had a big effect ( $P < 0,01$ ) in the polyphenol content. That is, there was a decrease in polyphenols for the time and period of fermentation. For the (ECxTF) interaction, there were no significative changes.

**Keywords:** polyphenols, quality, astringency.

## Introducción

Venezuela ha sido considerada un país productor de cacao finos de aroma de alta calidad. La calidad es uno de los aspectos de mayor importancia en el proceso productivo cacaotero, que determina la mayor o menor demanda comercial del cacao en grano. La obtención de cacao de alta calidad exige que se cumpla con una serie de requisitos que abarcan desde la selección del sitio de siembra, hasta la aplicación de una tecnología poscosecha adecuada.

Diversas investigaciones han determinado que el sabor del cacao depende esencialmente de tres factores: el genotipo, el tratamiento poscosecha y la torrefacción (Madriz, 1988). El sabor-aroma a chocolate de las almendras de cacao bien fermentado, seco y tostado, es el atributo máspreciado para la agroindustria, pues constituye el principal ingrediente de una amplia gama de productos de consumo masivo y especialidades.

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones

hidroxílicas. Los polifenoles en mayor concentración encontrados en el cacao son las epicatequinas y leucocianidinas.

Se ha observado que factores como: tipo de fermentador, frecuencia de remoción, aguante de la mazorca y el tiempo de fermentación, influyen significativamente en el desarrollo de las características sensoriales del cacao, principalmente en la evolución de los polifenoles que participan en el desarrollo del sabor astringente (Portillo *et al.*, (2007). Durante el proceso de fermentación los polifenoles totales presentes en las almendras de cacao disminuyen de manera considerable alrededor de un 70 y 80%.

Zambrano *et al.* (2010), determinaron en el cacao criollo Mérida, concentraciones de polifenoles totales de 47,71 mg ácido gálico.g<sup>-1</sup>, inferiores a los obtenidos en el cacao Forastero de Ghana, (66,37 mg ácido gálico.g<sup>-1</sup>).

En la presente investigación se evaluó el efecto del tratamiento poscosecha sobre los polifenoles presentes en cacao Criollo Porcelana del estado Zulia.

## Materiales y Métodos

### Material vegetal

Para este estudio se contó con una plantación de cacao de tipo “Criollo Porcelana”, de aproximadamente 30 años de edad proveniente de la colección de trabajo del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo (CESID-Cacao) perteneciente a CORPOZULIA, situada en la Parroquia El Moralito, municipio Colón del estado Zulia. La zona presenta un clima de bosque húmedo tropical, está ubicada 8° 43' 27" al Norte y 71° 44' 33" por el oeste, altitud de 50 msnm, con una precipitación anual promedio de 1.738 mm, humedad relativa de 83% y una temperatura media de 26,8 °C.

El ensayo se realizó durante un (1) año en dos épocas de cosecha (Abril-Junio 2009 y Abril-Junio 2010). Se desgranaron 3.700 mazorcas de cacao Criollo Porcelana, cuyas almendras fueron fermentadas en tres cajas de madera dulce (Roble, *Quercus robur* L.) de 60x60x60 cm. Estas cajas fueron llenadas con las almendras hasta obtener una capa de 55 cm de cacao (272 kg de cacao fresco). Esta masa fue cubierta con hojas de plátano para promover la actividad microbiana por efecto de las levaduras que contienen las hojas de plátano y así asegurar una fermentación anaeróbica y el aislamiento térmico. La fermentación se realizó en un cuarto cerrado durante cuatro (4) días, ya que por ser un cacao tipo Criollo la duración del proceso no debe exceder este tiempo (Portillo *et al.*, 2007).

Se realizaron remociones de la masa de cacao cada 24 h, que

consistió en voltear las almendras de cacao, para lograr la aireación de las mismas y por consiguiente promover la actividad bacteriana, asegurando el grado de fermentación uniforme.

Se tomaron dos (2) muestras (1,5 Kg de cacao en baba) de cada cajón diariamente, seleccionándolas en nueve (9) puntos diferentes del cajón, situados a 30 - 35 cm de profundidad. Estas muestras fueron colocadas en los patios de secado al sol. El secado al sol se realizó en capas delgadas de tres (3) cm sobre patios de madera por cinco (5) horas al día, durante cinco (5) días, realizando remociones de la masa cada hora para garantizar un secado uniforme, hasta obtener un contenido de humedad cercano al 8 %. Este ensayo se realizó bajo un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial de 2x5, donde se evaluaron dos factores de estudio: Época de cosecha a dos niveles (EC1 y EC2) y tiempo de fermentación a cinco niveles (0, 24, 48, 72 y 96 h), con tres repeticiones. El conjunto de ensayos realizados durante esta investigación se resume en el cuadro 1.

Finalmente, las almendras fueron fermentadas, secadas y almacenadas a - 80 °C en el laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, para su posterior análisis.

### Determinación del contenido de polifenoles totales

Para la determinación de polifenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu utilizando muestras de cacao Criollo Porcelana deshidratadas y desgrasadas. Primeramente, se construyó una curva de calibración ( $R^2$

**Cuadro 1. Descripción de los Tratamientos.**

Época de cosecha	Tiempo de fermentación	Tratamiento
<b>(EC 1)</b> <b>Abril-Junio</b> <b>2009</b>	0	EC1-0
	24	EC1-24
	48	EC1-48
	72	EC1-72
	96	EC1-96
<b>(EC 2)</b> <b>Abril-Junio</b> <b>2010</b>	0	EC2-0
	24	EC2-24
	48	EC2-48
	72	EC2-72
	96	EC2-96

= 0,9990) a diferentes concentraciones (20 a 600 mg AG.L<sup>-1</sup>) a partir de una solución estándar de ácido gálico, las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro UVVisible Genesys® (105 UV-VIS), a 765 nm.

La extracción de los polifenoles se realizó de la siguiente manera: En un tubo de ensayo se colocaron 0,25 g de muestra de cacao y seguidamente se adicionó cinco (5) mL de una solución de metanol al 70% v/v. El tubo de ensayo se colocó en un baño ultrasónico por 30 min. Posteriormente, se centrifugó a una velocidad de 3000 rpm por 10 min y se obtuvo un extracto el cual se separó de la mezcla por decantación. El residuo sólido se centrifugó nuevamente, colectando el extracto que se separó. 100µL del extracto fueron colocados en un tubo Eppendorf de 1,5 mL y se le agregaron 900 µL de agua destilada.

En un balón aforado de 50mL, se colocaron 60 µL del extracto de cacao, y se le adicionaron 300 µL

de reactivo Folin-Ciocalteu, 4740 µL de agua desionizada y 900 µL de solución de carbonato de sodio al 20% m/v. La solución resultante se dejó en reposo en la oscuridad por dos (2) horas. Finalmente, se determinó la absorbancia de las soluciones que presentaron coloración azul. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por cada g de cacao.

#### **Análisis Estadísticos**

Un análisis de varianza (ANOVA) fue aplicado sobre los datos obtenidos. Los factores de estudio fueron: época de cosecha y el tiempo de fermentación. Se utilizó la prueba de medias por Tukey para clasificar las diferencias existentes entre los tratamientos. La prueba de medias de las interacciones se analizó a través del método mínimos cuadrados LS Means del procedimiento GLM del SAS. Todos los análisis fueron realizados con el software estadístico SAS, versión 9 SAS (2002).

## Resultados y discusión

El análisis de varianza para la variable polifenoles totales mostró diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ) sólo para los factores de estudio época de cosecha (EC) y tiempo de fermentación (TF).

La prueba de medias del contenido de polifenoles totales del cacao Criollo Porcelana (cuadro 2), muestra que el contenido de polifenoles totales de las almendras de cacao disminuye en función del tiempo de fermentación, obteniéndose concentraciones entre 142,45 y 45,48 mg AG.g<sup>-1</sup>. En este sentido, Portillo (2008), encontró que la concentración de los flavonoles disminuye durante la fermentación indistintamente del factor estudiado; esta disminución es superior al 60%. Sin embargo, se observó que, para todos los cacaos estudiados, el análisis estadístico confirmó que el tiempo de fermentación es el factor más importante. Por otra parte,

Rivera *et al.* (2012), reportaron que el tiempo de fermentación disminuye el contenido de polifenoles totales en el cacao Nacional, obtuvieron el menor contenido al quinto día de fermentación con 38,36 mg AG.g<sup>-1</sup>, a diferencia del testigo (sin fermentar) que obtuvo el mayor promedio con 98,56 mg AG.g<sup>-1</sup>.

Durante la fermentación, ocurre una fuerte disminución del contenido de polifenoles totales entre el 70 y 80%. Esta disminución se debe a fenómenos de difusión, de curtido y de polimerización oxidativa que ocasiona una reducción de la astringencia (Villeneuve *et al.*, 1989). Los polifenoles de la semilla del cacao están almacenados en células distribuidas en grupos a través de los cotiledones. Son compuestos que participan activamente en las modificaciones bioquímicas en el interior de las almendras durante la fermentación, una de ellas, la oxidación enzimática, que causa la disminución del contenido de polifenoles.

**Cuadro 2. Prueba de medias  $\pm$  desviación estándar del contenido de polifenoles totales.**

Factores de estudio	Polifenoles totales (mgAG.g <sup>-1</sup> )
<b>Época de cosecha (EC)</b>	
EC1	92,79 $\pm$ 39,70 <sup>a</sup>
EC2	53,52 $\pm$ 44,22 <sup>b</sup>
<b>Tiempo de Fermentación (TF)</b>	
0	142,45 $\pm$ 44,85 <sup>a</sup>
24	69,63 $\pm$ 19,60 <sup>b</sup>
48	61,37 $\pm$ 23,32 <sup>bc</sup>
72	45,48 $\pm$ 28,37 <sup>c</sup>
96	46,83 $\pm$ 25,12 <sup>c</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

El efecto de la época de cosecha y el tiempo de fermentación sobre el contenido de polifenoles totales del cacao criollo Porcelana (figura 1) muestra que hubo una diferencia marcada entre las dos época de cosecha, oscilando los valores de la EC1 entre 165,33 – 69,89 mg.g<sup>-1</sup>, mientras que para la EC2 entre 119,61 – 23,76 mg AG.g<sup>-1</sup>.

Jonfia-Essien *et al.* (2008), encontraron valores de polifenoles totales en cacao híbridos entre 69,9 y 81,6 mg AG.g<sup>-1</sup> lo que infiere que los cacaos criollos son de poca astringencia. Por otra parte, Pallares *et al.* (2016), reportaron concentraciones de polifenoles totales en el cacao CCN51 entre 36,68 y 73,48 mg AG.g<sup>-1</sup>, de igual forma observaron que la fermentación tienen un efecto significativo en la reducción de polifenoles. Es importante

destacar que el cacao se encuentra dentro del grupo de alimentos rico en antioxidantes polifenólicos en los cuales prevalecen los flavanoles, procianidinas, monómeros y oligómeros de epicatequinas (Ferrari y Torres, 2003).

Cabe resaltar que el contenido de polifenoles no determina solo la calidad del grano de cacao desde el punto de vista organoléptico y fitoquímico, sino también la resistencia a plagas que pueden tener los granos en la fase de almacenamiento, ya que la resistencia es proporcional al contenido de éstos.

En relación a las diferencias encontradas en el comportamiento del contenido de polifenoles en las almendras de cacao de las dos épocas de cosecha, se puede atribuir a la diferencia de condiciones edafoclimáticas en cada una de

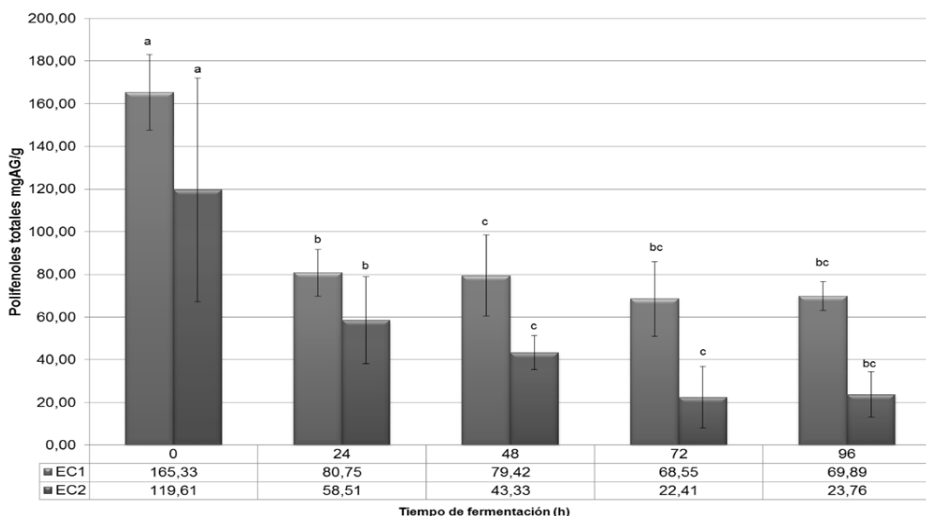


Figura 1. Prueba de medias ± desviación estándar del efecto de la época de cosecha y tiempo de fermentación sobre el contenido de polifenoles.

ellas, ya que la deficiencia de agua y nutrientes en el suelo, trae como consecuencia una reducción en el tamaño de las mazorcas y de las almendras, originando variaciones significativas en la composición bioquímica de los cotiledones.

## Conclusiones

Los factores de estudio, tiempo de fermentación (TF) y época de cosecha (EC) afectaron significativamente el contenido de polifenoles.

El contenido de polifenoles de las almendras de cacao disminuyó en función del tiempo de fermentación, provocando una disminución en la astringencia.

El tiempo óptimo para fermentar el cacao Porcelana es 72 h y los mejores resultados del contenido de polifenoles se obtuvieron en la época de cosecha dos.

Los resultados de los factores evaluados, sugieren mejorar el protocolo poscosecha para la obtención de un producto de alta calidad chocolatera.

## Literatura citada

Ferrari, K. y A. Torres. 2003. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 57:251-260.

Jonfia-Essein, W., G. West, P. Alderson y G. Tucker. 2008. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *ScienceDirect. Food chemistry* 108. Pp1155-1159

Madriz, J. 1988. Estudio de la fermentación del cacao en gavetas Rohan en tres fincas de la zona Atlántica de Costa Rica. Informe Técnico. 79p

Pallares, A., M. Estupiñán, J. Perea y L. López. 2016. Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista Ion.* 29(2):7-21. Bucaramanga (Colombia).

Portillo, E, L. Graziani de Farinas y E. Betancourt. 2007. Análisis Químico del Cacao Criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía.* Volumen 24 (3): 522-546.

Portillo, E. 2008. Influencia del tratamiento poscosecha sobre el desarrollo del aroma del cacao criollo venezolano. Trabajo de ascenso para optar a la categoría de profesor Titular. Departamento de Agronomía. Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia.

Rivera, R., F. Mecías, A. Guzmán, M. Peña, H. Medina, L. Casanova, A. Barrera y P. Nivelá. 2012. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional. *Revista de Ciencia y Tecnología* 5(1): 7-12.

Statistical Analysis System (SAS). 2002. Versión 9.0. User's guide Raleigh. North Carolina.

Villeneuve F., E. Cros y J. Macheix. 1989. Recherche d'un indice de fermentation du cacao. III. Evolution des flavan-3-ols de la fève. *Café, Cacao, Thé*, 33, 165-170.

Zambrano, A., C. Romero, Á. Gómez, G. Ramos, C. Lacruz, M. Brunetto; G. Máximo, L. Gutiérrez e Y. Delgado. 2010. Evaluación química de precursores de aroma y sabor del cacao criollo merideño durante la fermentación en dos condiciones edafoclimáticas. *Agronomía Trop.* 60(2): 211-219