

Desarrollo de modelos matemáticos para la predicción de perfiles sensoriales de licores de cacao a partir de caracterización química

Cristian Giovanni Palencia Blanco

Trabajo de investigación para optar el título de Magíster en Ingeniería Química

Director

Luis Javier López Giraldo

Ph.D en Química bioquímica y ciencia de los alimentos

Universidad Industrial de Santander
Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas
Escuela de Ingeniería Química
Maestría en Ingeniería Química
Bucaramanga
2020

Dedicatoria

A Dios, por darme sabiduría, bendiciones, por guiarme y permitirme cumplir un sueño más.

A mis padres, Gildardo Palencia y Felisa Blanco, por su amor, su cariño, por las enseñanzas y el ejemplo que me han dado, y sobre todo por creer en mí y darme ese apoyo incondicional para seguir adelante.

A mi hermosa familia, porque, aunque estuvieran lejos o cerca nunca dejaron de darme consejos, amor y alegrías.

A todas aquellas personas que me acompañaron en esta etapa de mi vida, por regalarme momentos felices, locos, sonrisas, lágrimas, momentos de angustia y de fe, tantas cosas inolvidables que han dejado huella y que siempre quedaran guardadas como gratos recuerdos

Por último, a las pocas personas que de una u otra manera aportaron a esta tesis, que me brindaron su apoyo y su ayuda en los momentos que más los necesité, y que, sin dudarlo, pusieron de su granito en este gran proyecto. A ustedes que saben muy bien quienes son, mil y mil gracias.

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander y a la escuela de Ingeniería Química por permitir una formación más para mi desarrollo personal.

Al doctor y director de tesis, el profesor Luis Javier López, por su guía constante y por el tiempo invertido en cada paso de la tesis de investigación.

A los integrantes del Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos CICTA, por acompañarme en este proceso de aprendizaje.

Tabla de contenido

	Pág.
Introducción	19
1. Objetivos	24
1.1. Objetivo General	24
1.2. Objetivos Específicos.....	24
2. Marco teórico y estado del arte	25
2.1. Breve historia del cacao	25
2.2. Cacao en el mundo.....	25
2.3. Cacao fino y de Aroma	26
2.4. Cacao en Colombia	29
2.5. Calidad del cacao	30
2.5.1. Características Físicas.....	31
2.5.2. Características Químicas.....	33
2.5.3. Características Organolépticas.....	34
2.6. Panel de catadores	34
2.7. Atributos sensoriales	35
2.7.1. Sabores básicos	36
2.7.2. Sabores específicos	36
2.7.3. Sabores adquiridos	36
2.8. Factores determinantes en la calidad del cacao	37
2.8.1. Genotipo.....	37

2.8.2.	Tratamiento de poscosecha	40
2.9.	Compuestos volátiles del cacao	44
2.9.1.	Ácidos	45
2.9.2.	Alcoholes	46
2.9.3.	Aldehídos y Cetonas	46
2.9.4.	Ésteres	49
2.9.5.	Pirazinas	50
2.9.6.	Otros compuestos	50
2.10.	Análisis de compuestos volátiles	51
2.10.1.	Extracción de los compuestos volátiles.	51
2.10.2.	Identificación y cuantificación de volátiles..	54
2.11.	Análisis de componentes principales	58
2.12.	Mínimos cuadrados parciales	63
3.	Metodología	67
3.1.	Etapa I. Preparación de licores de cacao	68
3.1.1.	Cosecha y fermentación..	68
3.1.2.	Secado y prueba de corte.	68
3.1.3.	Tostado, molienda y almacenamiento.....	70
3.1.4.	Preparación de la muestra para análisis SPME.....	70
3.1.5.	Preparación de la muestra para análisis sensorial.	71
3.2.	Etapa II. Montaje experimental SPME	71
3.2.1.	Superficie de respuesta.....	73

3.3.	Etapa III. Caracterización de compuestos volátiles	74
3.3.1.	Identificación de compuestos volátiles.	74
3.3.2.	Cuantificación de compuestos volátiles.	76
3.3.3.	Compuestos olor-activos.....	78
3.4.	Etapa IV. Caracterización sensorial	79
3.4.1.	Análisis sensorial.	79
3.4.2.	Perfil sensorial.....	80
3.5.	Etapa V. Modelamiento matemático.....	80
3.5.1.	Análisis de componentes principales	80
3.5.2.	Mínimos cuadrados parciales.....	82
3.5.3.	Estructuración de modelos de aroma	83
3.5.4.	Validación cruzada.....	83
3.6.	Etapa VI. Elaboración de informes	88
3.6.1.	Preparación de informes parciales	88
3.6.2.	Presentaciones y elaboración de artículos.....	88
3.6.3.	Realización del informe final.	89
4.	Resultados	90
4.1.	Análisis del material vegetal	90
4.1.1.	Prueba de corte.....	90
4.2.	Extracción de compuestos volátiles	93
4.2.1.	Optimización de las condiciones de extracción de los compuestos volátiles usando SPME-GC-FID.	93

4.3.	Identificación y cuantificación de compuestos volátiles usando SPME-GC-MS/FID.....	96
4.3.1.	Compuestos olor-activos.....	116
4.4.	Análisis sensorial	122
4.5.	Análisis de componentes principales	128
4.6.	Regresión de mínimos cuadrados parciales	138
4.7.	Estructuración de modelos de aroma	141
4.8.	Validación de los modelos de aroma	144
5.	Conclusiones	156
	Referencias bibliográficas	157
	Apéndices	176

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Porcentaje de calidad de cacao fino y de aroma exportado de cada país productor.	28
Tabla 2. Participación de los departamentos en la producción nacional del cacao.	30
Tabla 3. Requisitos Norma Técnica Colombiana 1252.	31
Tabla 4. Compuestos volátiles encontrados en matrices de cacao con su respectiva percepción sensorial.	47
Tabla 5. Factores de superficie de respuesta para las condiciones de extracción.	73
Tabla 6. Compuestos representativos por familia.	77
Tabla 7. Relación entre compuestos volátiles y licores de cacao.	80
Tabla 8. Relación entre atributos sensoriales y licores de cacao.	81
Tabla 9. Estrategia de regresión entre los compuestos volátiles y los atributos sensoriales de cada licor de cacao.	82
Tabla 10. Prueba de corte de las 10 variedades de cacao trabajadas.	91
Tabla 10. Continuación prueba de corte de las 10 variedades de cacao trabajadas.	91
Tabla 11. Valores de las variables de entrada (temperatura y tiempo) y de salida (área total) obtenidas mediante el diseño de superficie de respuesta.	93

Tabla 12. Compuestos volátiles identificados en las 10 variedades de cacao por GC-MS y corroborados mediante índices de retención de Kovats.....	102
Tabla 13. Concentraciones de los compuestos volátiles identificados en 2 de las 10 variedades de cacao analizadas (Continuación apéndice E).....	108
Tabla 14. Valores olor-activos de los compuestos volátiles encontrados en los licores de cacao BF y AZ.	116
Tabla 15. Compuestos olor-activos identificados en los licores de cacao.....	120
Tabla 16. Prueba LSD de Fisher a los atributos sensoriales percibidos	122
Tabla 17. Compuestos volátiles para la estructuración de los modelos de aroma.....	141
Tabla 18. Variables predictoras en el modelamiento de los atributos sensoriales.....	143

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Perfil sensorial de TCS 01. Variedad de cacao fino y de aroma.	20
Figura 2. a) Grano bien fermentado. b) Grano insuficientemente fermentado. c) Grano pizarroso. d) Grano con moho. e) Grano pasilla. f) Grano germinado.	32
Figura 3.. Cacao Criollo.....	38
Figura 4. Cacao Forastero.	38
Figura 5. Cacao trinitario.	39
Figura 6. Cambios químicos dentro de un grano de cacao durante la fermentación.	40
Figura 7. Formación de compuestos esenciales en el sabor y aroma por medio de la reacción de Maillard.....	43
Figura 8. Licor de Cacao (también conocido como masa o pasta de cacao)	44
Figura 9. Diseño de la técnica de Micro extracción en fase sólida.....	52
Figura 10. Etapas para el desarrollo de los objetivos planteados	67
Figura 11. Cosecha y fermentación de los granos.	68
Figura 12. Secado de los granos de cacao.....	69
Figura 13. Prueba de corte.	69

Figura 14. Tostado y molienda de los granos y almacenamiento del licor de cacao.....	70
Figura 15. Preparación de la muestra para análisis.....	71
Figura 16. Preparación de la muestra para cata.	71
Figura 17. Montaje experimental para la extracción de compuestos volátiles	72
Figura 18. Rampa de calentamiento en el horno del cromatógrafo.	74
Figura 19. Validación cruzada utilizando el método dejar uno afuera.	85
Figura 20. Superficie de respuesta estimada para la extracción de volátiles por SPME-GC-FID	95
Figura 21. Cromatograma del licor Var4AZ en GC-MS	97
Figura 22. a) Espectro de masa para el pico a identificar (t: 3.133). b), c), d) Compuestos con espectros de masa similares obtenidos por la biblioteca Wiley 8.....	98
Figura 23. Búsqueda de compuesto de interés.....	99
Figura 24. Búsqueda de la columna y características similares.....	100
Figura 25. Concentraciones de cada familia de compuestos en cada licor de cacao (Var1, Var2, Var3, Var4, Var5).	110
Figura 26. Concentraciones de cada familia de compuestos en cada licor de cacao (Var6, Var7, Var8, Var9, Var10).	111
Figura 27. Concentración total de compuestos volátiles agradables en los 20 licores de cacao	115

Figura 28. (a) Perfiles sensoriales de los licores AZ; (b) perfiles sensoriales de los licores BF. 124

Figura 29. Perfiles sensoriales de cada variedad de cacao con su respectivo licor AZ y BF. a) Var1, b) Var2, c) Var3, d) Var4..... 126

Figura 30. Perfiles sensoriales de cada variedad de cacao con su respectivo licor AZ y BF. e) Var5, f) Var6, g) Var7, h) Var8. 127

Figura 31. Perfiles sensoriales de cada variedad de cacao con su respectivo licor AZ y BF. i) Var9, j) Var10 127

Figura 32. Análisis de componentes principales: a) atributos sensoriales como cargas (loadings) y b) licores de cacao como observaciones (scores) 130

Figura 33. Análisis de componentes principales: a) Concentraciones de los compuestos volátiles como cargas (loadings) y b) licores de cacao como observaciones (scores) 133

Figura 34. Vista general de la variación encontrada en los datos a partir de las cargas de correlación. Compuestos volátiles (azul) y atributos sensoriales (rojo) 139

Figura 35. Regresión del atributo Cacao con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao. 144

Figura 37. Regresión del atributo Frutal con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao. 145

Figura 38. Regresión del atributo Nuez con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao. 146

Figura 39. Regresión del atributo Dulce con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao. 146

Figura 40. Regresión del atributo Ácido con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao. 147

Figura 41. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Cacao 152

Figura 42. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Floral..... 152

Figura 43. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Frutal..... 153

Figura 44. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Nuez..... 153

Figura 45. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Dulce..... 154

Figura 46. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Ácido 154

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Patrón de n-alcanos para la identificación de los compuestos volátiles	176
Apéndice B. Cálculo de factores de respuesta	181
Apéndice C. Formato de análisis sensorial	187
Apéndice D. Matrices: Licores de cacao vs Compuestos volátiles; Licores de cacao vs Análisis sensorial.	189
Apéndice E. Continuación de tabla 13 de concentraciones para los 20 licores (AZ y BF)	196
Apéndice F. Cromatogramas de los 20 licores de cacao	206
Apéndice G. Puntuaciones promedio de los catadores a los licores de cacao	210

Resumen

Título: Desarrollo de modelos matemáticos para la predicción de perfiles sensoriales de licores de cacao a partir de caracterización química¹

Autor: Cristian Giovanni Palencia Blanco²

Palabras claves: Compuestos volátiles, factor de respuesta, Índices de Kovats, atributos sensoriales, licor de cacao, modelos de aroma.

Descripción:

El proceso de cata es utilizado mundialmente para la caracterización sensorial de granos de cacao. En este estudio se incursionó en una nueva técnica de caracterización con el fin de obtener resultados con mayor objetividad desde el punto de vista químico. Se implementaron las técnicas SPME-HS, GC-MS, GC-FID y análisis sensorial con el fin de modelar características de aroma a partir de los compuestos volátiles encontrados en 10 variedades de cacao promisorias del departamento de Santander. Se observó el efecto de la temperatura y tiempo de extracción de los compuestos asociados con características de aroma, encontrando una temperatura de 60°C y tiempo de 40 minutos como puntos óptimos para extraer los volátiles de los licores de cacao. Además, por medio de las técnicas de cromatografía de gases, espectrometría de masas y análisis sensorial, se lograron identificar y cuantificar 77 compuestos volátiles en los 20 licores de cacao y 6 atributos sensoriales percibidos en ellos. Estos resultados permitieron determinar el perfil químico y el perfil sensorial de cada uno de los licores. El método de regresión de mínimos cuadrados parciales logró modelar matemáticamente los 6 atributos sensoriales a partir del perfil químico de compuestos volátiles obtenido. Se lograron reducir las variables predictoras (compuestos volátiles) que contribuyen en el modelamiento de los atributos sensoriales, de 77 compuestos a 16 compuestos volátiles mediante los valores olor-activos (OAV). Estos modelos obtuvieron coeficientes de determinación (R^2) de 0.85, 0.70, 0.89, 0.87, 0.79 para los atributos cacao, nuez, floral, frutal, ácido y dulce mostrando que los modelos propuestos describen y se ajustan en gran proporción a los datos analizados y, además, predicen con un buen nivel de confianza las percepciones sensoriales estudiadas.

¹ Trabajo de investigación para obtener el título de Magister en Ingeniería Química

² Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Luis Javier López Giraldo, Ph.D.

Abstract

Title: Development of mathematical models for the prediction of sensory profiles of cocoa liquors from chemical characterization³

Author: Cristian Giovanni Palencia Blanco⁴

Keywords: Volatile compounds, response factor, Kovats index, sensory attributes, cocoa liquor, aroma models.

Description:

The tasting process is used worldwide for the sensory characterization of cocoa beans. In this study, a new characterization technique was introduced in order to obtain results with greater objectivity from the chemical point of view. The SPME-HS, GC-MS, GC-FID and sensory analysis techniques were implemented with the purpose of modeling aroma characteristics from volatile compounds found in 10 promising cocoa varieties of the department of Santander. The effect of the temperature and the extraction time of the compounds associated with aroma characteristics was observed, finding a temperature of 60°C and time of 40 minutes as optimal points to extract the volatiles from the cocoa liquors. In addition, through the techniques of gas chromatography, mass spectrometry and sensory analysis, 77 volatile compounds were identified and quantified in the 20 cocoa liquors and 6 sensory attributes were perceived in them. These results allowed to determine the chemical profile and the sensory profile of each of the liquors. The partial least squares regression method was able to mathematically model the 6 sensory attributes from the chemical profile of volatile compounds obtained. The predictive variables (volatile compounds) that contribute to the modeling of sensory attributes were reduced from 77 compounds to 16 volatile compounds through odor-active values (OAV). These models obtained coefficients of determination (R^2) of 0.85, 0.70, 0.89, 0.87, 0.79 for the cocoa, nut, floral, fruity, acid and sweet attributes showing that the proposed models describe and adjust in large proportion to the analyzed data and in addition, these models predict with a good level of confidence the sensory perceptions studied.

³ Thesis to obtain the degree of Magister in Chemical Engineering

⁴ Faculty of Physical-Chemical Engineering. Chemical Engineering School. Advisor: Luis Javier López Giraldo, Ph.D.

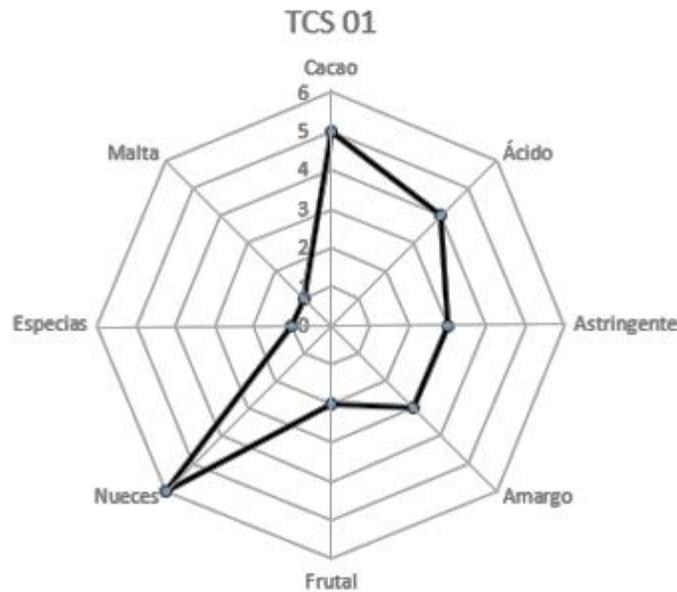
Introducción

El proceso de caracterización de granos de cacao se hace con base en las propiedades físicas, químicas y organolépticas. Entre los factores más influyentes para cada una de las categorías descritas se destacan (Fedecacao, 2004):

- Características físicas: índices de grano, fermentación y porcentaje de cascarilla.
- Características químicas: contenidos de grasa total, teobromina, cafeína, proteína bruta, análisis de pH, polifenoles totales y el perfil de ácidos grasos.
- Características organolépticas: sabores y aromas (*flavor*) relacionados con percepciones sensoriales como frutales, florales, nuez y cacao, entre otras.

Si bien, la calidad de los granos está íntimamente relacionada con cada una de las características mencionadas, es el *flavor* (sabor y aroma) del cacao el determinante a la hora de clasificar un grano como fino y de aroma; es decir de alta calidad (ICCO, 2019).

El análisis del *flavor* se realiza con base al perfil sensorial de los granos de cacao el cual se obtiene por medio de un panel de catadores. Este panel está conformado por personas que poseen amplia experiencia en procesos de cata de diferentes muestras y matrices de cacao (Ramos, González, Zambrano, & Gómez, 2013); cada uno de los catadores perfilan la muestra de cacao por medio de sus sentidos (vista, gusto, olfato, tacto) teniendo en cuenta los atributos sensoriales que se perciban (floral, frutal, nuez, cacao, herbal, dulce, ácido, amargo, astringente, entre otros) y la intensidad con la que se encuentren (puntuaciones), logrando de esta manera obtener el perfil sensorial como se observa en la Figura 1 (Palencia, 2016) .



Descripción organoléptica: Muestra que presenta un olor agrídulce y notas de trapiche en el inicio de la cata, pasando notas de malta y uvas pasas a la mitad de la cata. Su sabor a nuez es percibido desde el inicio hasta el final de la cata lo cual es muy agradable; notas de cacao y especias son percibidas durante la cata.

Figura 1. Perfil sensorial de TCS 01. Variedad de cacao fino y de aroma.

De esta manera, un cacao que ofrezca notas a frutas, flores, frutos secos, cacao, entre otros, con altas puntuaciones, y que posea un equilibrio entre acidez y amargor, puede llegar a ser un cacao de calidad.

Sin embargo, el proceso de cata es complejo debido a que los sentidos no están preparados para evaluar objetivamente, sino por comparación, lo que traduce a que el máximo parámetro de calidad será la muestra que mejor se haya catado y que se haya logrado memorizar. Además, se debe tener en cuenta que, aunque un panel de cata posea amplia experiencia, y puesto que, su respuesta obedece a la percepción de cada ser (estado de ánimo, alimentación, salud, ubicación en el momento, entre otros) el resultado no deja de ser subjetivo. No obstante, la subjetividad se reduce

gracias al entrenamiento y calibración del panel, empleando estándares de referencia para cada uno de los descriptores analizados (Cordero-Bueso, 2013).

Teniendo en cuenta que el proceso de cata es utilizado mundialmente para la caracterización sensorial de granos de cacao (Rizzuto & Díaz, 2004), en este proyecto se pretende incursionar en una nueva técnica de caracterización, con el fin de obtener resultados con mayor objetividad desde el punto de vista químico. Para esto, es necesario tener en cuenta que las propiedades asociadas con el *flavor* del cacao están profundamente ligadas con los compuestos volátiles presentes en los procesos del beneficio y el tostado de los granos de cacao (Afoakwa, Paterson, Fowler, & Ryan, 2008). En efecto, durante la etapa de fermentación y gracias a las condiciones de pH, temperatura y a la acción microbiológica, se forman ciertos compuestos precursores de aroma (Rodríguez-Campos et al., 2012). De igual manera, en el proceso de tostado, ciertas reacciones dan lugar a otros compuestos fundamentales para el aroma y sabor característico de un cacao fino. Investigaciones realizadas al licor de cacao de diferentes variedades muestran que existen aproximadamente 500 compuestos volátiles obtenidos dentro del proceso del beneficio de cacao, que están relacionados con el sabor y aroma (Crafack et al., 2014; Kongor et al., 2016; Moreira, Vilela, Santos, Lima, & Schwan, 2018). Se han desarrollado ciertos procedimientos que involucran técnicas y equipos como micro extracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), cromatografía de gases, espectrometría de masas y olfatómetros, donde se ha determinado que los grupos funcionales más influyentes en el sabor y aroma del cacao son los alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos y pirazinas (Afoakwa, Paterson, Fowler, & Ryan, 2009; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Misnawi & Ariza, 2011). Algunos compuestos encontrados son el ácido acético, benzaldehído, octanoato de etilo, 2,3,5,6-tetrametilpirazina, acetato de 2-feniletilo, 2-feniletanol, 2-heptanol, 2-nonanona, 2,3-butanodiol, 2-heptanona, acetato de 3-metilbutilo, benzoato de etilo,

2-pentanona, 3-hidroxi-2-butanona, 3-metilbutanol, 2,3,5-trimetilpirazina, linalool, ácido 3-metilbutanoico, ácido 2-metilbutanoico, entre otros (Aprotosoai, Luca, & Miron, 2016; Bonvehí, 2005; Jinap, Rosli, Russly, & Nordin, 1998; Noguera, 2014). La mayoría de estos compuestos ofrecen aromas característicos; así los alcoholes tienden a ofrecer aroma a floral, aldehídos a cacao tostado y dulce, ésteres a frutal, dulce, las pirazinas a nuez, frutos secos, tostado, los ácidos a acidez, rancio, agrío y las cetonas a mantequilla y floral (Cevallos-Cevallos, Gysel, Maridueña-Zavala, & Molina-Miranda, 2018; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Maier & Dandy, 1996; Misnawi & Sari, 2011; Pallares-Pallares, Perea-Villamil, & López-Giraldo, 2016; Rodríguez-Campos, Escalona-Buendía, Orozco-Avila, Lugo-Cervantes, & Jaramillo-Flores, 2011).

Debido a que cada compuesto volátil puede influenciar al sabor y aroma de un alimento, varias investigaciones se han enfocado en la relación y predicción de variables como características sensoriales, años de añejamiento, nivel de calidad en diferentes matrices como vinos (Aznar, López, Cacho, & Ferreira, 2003; J. Lozano et al., 2007; Vilanova, Genisheva, Masa, & Oliveira, 2010), quesos (Thomsen et al., 2012), carnes (Song et al., 2012) y café (Ribeiro, Augusto, Salva, & Ferreira, 2012; Ribeiro, Augusto, Salva, Thomaziello, & Ferreira, 2009), utilizando como predictores variables obtenidas por caracterización química como los compuestos volátiles, pH, densidad, acidez, contenido de azúcar que son trabajadas mediante herramientas quimiométricas. Los resultados obtenidos muestran ser precisos a la hora de clasificar cada muestra de acuerdo con su calidad.

Sin embargo, para cacao, aún no se han estimado modelos predictivos que puedan predecir características sensoriales obtenidas de un panel experto y entrenado, a partir de las concentraciones de los compuestos volátiles. Por este motivo, en el marco de este trabajo de investigación, se abordó el reto de proponer modelos matemáticos para los seis atributos

sensoriales más percibidos en licores de cacao (frutal, floral, cacao, nuez, ácido y dulce), correlacionándolos con sus descriptores químicos; específicamente con las concentraciones de compuestos volátiles que han sido identificados como determinantes en el aroma, con el fin de predecir un equivalente al “perfil sensorial” obtenido por un panel de cata.

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Proponer modelos matemáticos que relacionen los atributos sensoriales: floral, frutal, nuez, cacao, dulce y ácido, percibidos en licores de cacao del departamento de Santander usando las concentraciones de los compuestos asociados con percepciones de aroma.

1.2. Objetivos Específicos

- Estandarizar la etapa de extracción de compuestos volátiles mediante la técnica de Microextracción en Fase Sólida–Cromatografía de Gases (SPME-GC, de sus siglas en inglés).
- Determinar el perfil de compuestos químicos volátiles asociados con características de aroma en licores de cacao de diferentes variedades promisorias en Santander.
- Determinar el perfil sensorial de licores de cacao de diferentes variedades promisorias en Santander
- Establecer estadísticamente la relación entre las características sensoriales obtenidas por un panel de cata y las concentraciones de los compuestos volátiles obtenidos por SPME-GC.

2. Marco teórico y estado del arte

2.1. Breve historia del cacao

La palabra cacao deriva del Olmeca y del lenguaje maya “ka’kaw”. El árbol de cacao, especie clasificada científicamente por Carlos Linneo como *Theobroma Cacao* L. (del griego “Theo/dios” y “broma/alimento”, “Alimento de los dioses”) es originario de los bosques de Suramérica, especialmente de las cuencas de la alta Amazonia y el Orinoco, difundido por los nómadas a Centroamérica y cultivado por primera vez por los Olmecas y los mayas hace más de 2500 años (Aguirre, 2007). La expansión del cacao hacia todo el mundo se dio por parte de los españoles en los tiempos de la conquista del continente americano donde observaron que las culturas mayas y aztecas utilizaban las semillas de cacao para producir una bebida llamada “xocolatl” de aroma y sabor muy amargo y también las utilizaban como símbolo de moneda de cambio para el comercio (Beckett, 2009). Fue Hernán Cortez quien promovió la llevada de este fruto a España en el siglo XV; y no fue sino hasta el siglo XVI cuando empezó a consumirse como chocolate. Inicialmente era reservado para el consumo de la clase social más alta y se popularizó su consumo en Europa en el siglo XVII (Beckett, 2009; ICCO, 2013). De allí se extendió hacia los otros continentes Asia, África y Oceanía siendo en estos momentos África el continente que más produce cacao a nivel mundial.

2.2. Cacao en el mundo

La demanda mundial de cacao es impulsada por el mercado mundial de productos de confitería de chocolate, cosméticos y farmacéuticos (Lozano, Vega, & Jhanory, 2017). El cacao se cultiva

exclusivamente en una banda geográfica muy estrecha cerca del Ecuador (20° al Norte y Sur del Ecuador) debido a las exigencias climáticas (Kongor et al., 2016; Moreno, 2012). Esta banda se extiende por África occidental, partes de Centro y Sudamérica y el Sudeste de Asia (Stoler, 2012). Actualmente el cacao se cultiva en más de 60 países concentrándose la mayor producción en los países como: Costa de marfil (2200 ton), Ghana (870 ton), Ecuador (298 ton), Camerún (260 ton), Nigeria (245 ton), Indonesia (220 ton), Brasil (195 ton), Perú (120 ton), República Dominicana (75 ton), Colombia (60 ton) y el resto de países (291 ton), para un total de 4834 toneladas en el 2018, dividiéndose entre África con un 77%, América con un 17% y Oceanía con 6% de producción mundial (Fedecacao, 2019).

La producción de cacao se puede categorizar en granos de cacao finos y de aroma, y granos de cacao ordinarios (forasteros). Como una generalización, los granos de cacao finos se producen a partir de variedades de árboles de cacao criollo o trinitario, mientras que los granos de cacao ordinarios provienen de los árboles forasteros. Cabe señalar que la diferencia entre cacao fino y de aroma al cacao ordinario está en el sabor y aroma más que en los otros factores de calidad. Los sabores finos incluyen frutas (frescas y pardas, frutas maduras), notas florales, herbales y de madera, notas de nueces y caramelo, así como bases de chocolate ricas y equilibradas (ICCO, 2019).

2.3. Cacao fino y de Aroma

Como se mencionó anteriormente, el cacao fino y de aroma posee mejores propiedades organolépticas que lo hacen más atractivo a mercados internacionales. Actualmente, los países con la mayor producción de cacao (Costa de Marfil, Ghana, Nigeria, Brasil, entre otros) solo producen

el tipo de cacao ordinario (cacao común), por lo que este tipo de cacao representa aproximadamente el 90% de la producción mundial (Chetschik et al., 2018). El cacao fino y de aroma es producido por los países como Ecuador, Perú, República Dominicana, Colombia, Nueva Guinea y México entre otros pocos, representando aproximadamente el 10% de la producción mundial de cacao (Chetschik et al., 2018).

Este tipo de cacao se diferencia del cacao ordinario por poseer características sensoriales aromáticas agradables ofreciendo mejores sabores y olores a los productos obtenidos, por lo cual es muy apetecido por las industrias chocolateras y es reconocido a nivel mundial como un cacao de alta calidad (ICCO, 2013). Por esta razón, hoy existen instituciones que regulan la economía del cacao. Una de estas instituciones es la Organización Internacional de Cacao (ICCO) que ha sido una entidad conformada por países productores y consumidores de cacao con el fin de contribuir al fortalecimiento de las economías cacaoteras nacionales de los países productores y consumidores; así como fomentar la transparencia en la economía mundial del cacao mediante el análisis y difusión de las estadísticas pertinentes y estudios apropiados. Teniendo en cuenta la importancia del cacao fino y de aroma, la ICCO reconoce a los países productores y exportadores de esta categoría de cacao, certificando por medio de un panel de expertos cuáles países cumplen con los requisitos de producir esta categoría. Esta certificación se ha dado por medio del Acuerdo Internacional de Cacao de 2001 anexo C (UNCTAD, 2017), mostrando los países productores de cacao fino que exportan exclusiva o parcialmente cacao fino y de aroma. La Tabla 1 muestra el avance de reconocimiento que ha determinado la ICCO desde el 2001 (ICCO, 2019).

Tabla 1.

Porcentaje de calidad de cacao fino y de aroma exportado de cada país productor.

Países con mayor producción de cacao fino y de aroma	Reconocimiento por parte de la ICCO			
	2005	2008	2010	2015
Bolivia	-	-	100%	100%
Colombia	100%	100%	95%	95%
Costa Rica	-	-	100%	100%
Ecuador	75%	75%	75%	75%
Madagascar	100%	100%	100%	100%
México	-	-	100%	100%
Papúa Nueva Guinea	25%	75%	90%	90%
Perú	-	100%	90%	75%
República Dominicana	-	40%	40%	40%
Trinidad Y Tobago	100%	100%	100%	100%
Venezuela	75%	75%	95%	100%

Como se observa en la Tabla 1, algunos países han aumentado su porcentaje de cacao de fino y de aroma como Venezuela y Nueva Guinea debido a que poseen cacaos genéticamente muy cercanos a los criollos y, además, han mejorado manejo en el beneficio y clasificación del cacao fino. Otros países como Colombia y Perú han disminuido su porcentaje de reconocimiento como productores de cacao fino y aroma, debido principalmente a las mezclas mal realizadas entre granos de cacaos finos (criollos) con granos de cacaos ordinarios (forasteros), reduciendo drásticamente el sabor aromático de sus granos de cacao (Contreras, 2017). Actualmente, se ha venido incrementando la demanda mundial del cacao fino y aroma, y cada vez los países cacaoteros muestran más interés en producir esta variedad de cacao para certificarse y exportar, con el fin de obtener mejores ingresos repercutiendo en el mejoramiento de vida de las familias cacaocultoras.

2.4. Cacao en Colombia

Antes del siglo XIX, las tierras colombianas eran cultivadas con cacao criollo reconocido por sus sabores suaves y aromáticos. Sin embargo, a mediados del siglo XIX se registraron en gran proporción enfermedades conocidas como “Escoba de bruja” y “Mal machete” las cuales afectaron los cultivos de esa época (Jaimes & Hernández, 2010). Por este motivo, se iniciaron investigaciones sobre la epidemiología, biología, el control químico, y se inició con la etapa de mejoramiento genético importando variedades de cacao de Trinidad y Ecuador para iniciar con el proceso de producción de semilla híbrida. Se observó que los materiales híbridos ofrecían mejores características que los cacaos criollos siendo más resistentes a las enfermedades y aumentando la productividad. Desde entonces y hasta hoy en día, Colombia produce en su mayoría variedades de cacaos trinitarios, y en menor proporción variedades de cacao forastero y criollos, siendo las variedades trinitarias reconocidas por su gran calidad y presentando una alta demanda en Europa (Sociedad de Agricultores de Colombia (SAC), 2019). La producción nacional es permanente en el transcurso del año, con dos picos marcados de productividad entre los meses de octubre-enero y abril-junio (Superintendencia Industria y Comercio., 2011; Valenzuela, Fernández, Puerta, & Mejía, 2012). El cultivo se da en casi todo el país por debajo de los 1300 msnm, pero se concentra en cuatro zonas principales: las montañas santandereanas, los valles interandinos secos, el bosque húmedo tropical y la zona cafetera marginal. Según Fedecacao (2019), es en el departamento de Santander donde se concentra la mayor producción nacional de cacao, produciendo aproximadamente 40% de la producción total de cacao en Colombia. En la Tabla 2 se observan los principales departamentos productores de cacao en Colombia (Fedecacao, 2019).

Tabla 2.

Participación de los departamentos en la producción nacional del cacao.

DEPARTAMENTO	AÑO	
	2017	2018
SANTANDER	23.042	23.574
ANTIOQUIA	5.407	4.905
ARAUCA	5.037	4.478
HUILA	4.822	4.455
TOLIMA	4.590	4.108
NARIÑO	2.871	3.376
CESAR	1.734	1.902
OTROS	13.032	10.069
TOTAL	60.535	56.867

Valores en Toneladas

Como se observó anteriormente Colombia es un país productor de cacao fino y de aroma convirtiéndolo en un gran exponente para la exportación de esta variedad de cacao al mundo; sin embargo, en el último año sólo el 12% del cacao producido fue exportado (Fedecacao, 2019).

2.5. Calidad del cacao

La calidad del cacao es un aspecto importante en el proceso productivo debido a que su nivel establecerá la demanda y el valor que obtenga el producto final. Esta calidad se define por un conjunto de características físicas, químicas y organolépticas que pueden ser evaluadas en los granos de cacao.

2.5.1. Características Físicas. Las características físicas comúnmente evaluadas son el porcentaje de cascarilla y el índice de grano. Estos son parámetros que se miden con el fin de conocer el rendimiento de granos de cacao en la mazorca; para esto, es necesario tener un índice de grano superior a 1.05 y un porcentaje de cascarilla menor al 12% en peso (Fedecacao, 2004).

Además, se realiza la prueba de corte con el fin de medir el grado de fermentación de un lote de cacao, por el cual indispensable realizarla para conocer si el lote puede ser tratado y manipulado para consumo humano teniendo en cuenta la norma técnica colombiana NTC 1252 del 2012 (ver tabla 3) (ICONTEC, 2012) y la norma ISO 2451 del 2017 (ISO, 2017). Esta prueba consiste en tomar una muestra aleatoria de 100 granos de cacao fermentados y secos, ubicándolos en una tabilla que posee una guillotina, con el fin de que el grano se divida longitudinalmente en partes iguales, haciendo posible la observación al interior del grano para evaluar el porcentaje de fermentación de los granos de cacao (Cubillos, Merizalde, & Correa, 2008).

Tabla 3.

Requisitos Norma Técnica Colombiana 1252.

REQUISITOS	Premio	Corriente	Pasilla
Contenido de humedad en % (m/m) máx.	7	7	7
Contenido de impurezas o materias extrañas en % (m/m) máx.	0	0,3	0,5
Grano mohoso interno, número de granos/100 granos máx.	2	2	3
Grano dañado por insectos y/o germinados, número de granos/ 100 granos máx.	1	2	2
Contenido de pasilla, número de granos/100 granos máx.	1	2	0
Contenido de almendra en % (m/m), mín.	-	-	40-60
Masa (peso) en g/100 granos, mín.	120	105-119	40
Granos bien fermentados, número de granos/ 100 granos mín.	65	60	60
Granos insuficientemente fermentados, número de granos/ 100 granos máx.	25	35	40
Granos pizarrosos, número de granos/100 granos máx.	1	3	3

Según NTC 1252 y la norma ISO 2451, el porcentaje de granos fermentados en la muestra debe ser de mínimo 65%, granos regularmente fermentados máximo 35%, granos pizarrosos máximo 1%, granos mohosos máximo 1%, granos germinados máximo 1% y no deben tener impurezas. Igualmente, un grano bien fermentado es de color marrón o chocolate como se muestra en la figura 2 (Compañía Nacional de Chocolate, 2018); sus alvéolos se encuentran bien definidos (quebrado por dentro, arriñonado), su cascarilla se desprende fácilmente de la almendra y tiene olor agradable. Por el contrario, el grano insuficientemente fermentado presenta un color marrón violeta, de estructura semi-compacta, con cáscara difícilmente separable y sabor amargo. El grano pizarroso presenta un color interior gris violeta oscuro con estructura completamente compacta y olor ácido; además, genera sabores astringentes y favorece el ataque de hongos. Si se cumple esta norma, los granos de cacao pueden ser tratados para su comercialización o producción de licor de cacao.

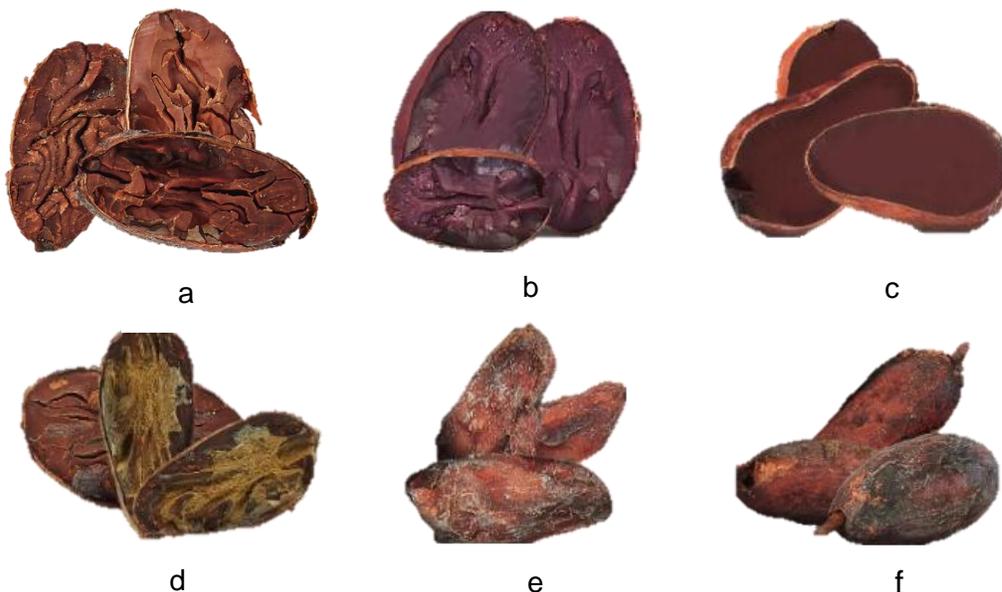


Figura 2. a) Grano bien fermentado. b) Grano insuficientemente fermentado. c) Grano pizarroso. d) Grano con moho. e) Grano pasilla. f) Grano germinado.

2.5.2. Características Químicas. En esta característica se evalúan el contenido de grasa total, perfil de ácidos grasos, relación teobromina/cafeína, contenido de polifenoles totales, pH y la proteína bruta.

Normalmente los granos de cacao deben tener porcentajes de grasa entre 50% - 55%, pH entre 5 - 5.5, porcentaje de proteína entre 11.5% - 13.5% y porcentaje de humedad entre 7% - 8%. Un porcentaje mayor de humedad puede acarrear problemas de crecimiento de mohos y bacterias, olores y sabores desagradables con consecuencias potencialmente graves para la seguridad alimentaria; y un contenido menor, hará que la cascarilla sea demasiado frágil dando lugar a una proporción de granos rotos (CAOBISCO/AEC/FCC, 2015).

En el perfil de ácidos grasos son predominantes los ácidos grasos saturados como el esteárico (C 18:0 - 35%) y palmítico (C 16:0 - 25%), como también los ácidos grasos monoinsaturados como el oleico (C 18:1 - 35%) y en menor proporción los polinsaturados como el linoleico (18:2 - 3%) (Lares, Gutiérrez, Pérez, & Álvarez, 2012). Otros compuestos con gran importancia encontrados en los granos de cacao son los polifenoles. La concentración de éstos en granos de cacao secos y libres de grasa oscila en un 15-20% (p/p) y se encuentran agrupados como catequinas (37%), antocianinas (4%) y proantocianinas (58%) (Perea-Villamil, Cadena-Cala, & Herrera-Ardila, 2009). Sin embargo, estos compuestos son mayoritariamente eliminados mediante las etapas de secado y tostado de los granos de cacao, lo cual, sensorialmente es adecuado, debido a su relación con la sensación de astringencia que ofrece en el perfil sensorial de granos de cacao (Gawel, Smith, Cicerale, & Keast, 2018; Pérez-Burillo, Giménez, Rufián-Henares, & Pastoriza, 2018).

Por último, ciertas investigaciones han mostrado que, si se conoce la concentración de metilxantinas (teobromina y cafeína), es posible distinguir el genotipo del cacao por medio de la

relación teobromina/cafeína; si la relación arroja valores menores a 2.5 la muestra se puede considerar como una variedad de cacao criollo; si la relación se encuentra entre 2.5 y 9.5, se considera variedad trinitaria y si la relación es mayor a 9.5 se considera forastero (Amores, Espín, Jiménez, & Saltos, 2002; Zambrano, Romero, Gómez, Ramos, & Lacruz, 2010)

2.5.3. Características Organolépticas. Esta es la caracterización más importante a la hora de conocer un cacao de calidad (fino y de aroma) (Fedecacao, 2004; ICCO, 2019; Sánchez, 2007).

Se realiza por medio de una evaluación sensorial para la aceptación o rechazo del licor de cacao por parte de un panel de catadores o consumidores, de acuerdo con las sensaciones experimentadas desde el momento que lo observa y lo consume, para definir adecuadamente su sabor y aroma (Baños & Urrutia, 2014; Hernández, 2005). El sabor y aroma es una combinación compleja de sensaciones gustativas, olfativas, táctiles y visuales, que se perciben a la hora de consumir el licor de cacao (M. González, 2016; Ramos et al., 2013). Esta característica depende principalmente del factor genético del cacao, aunque también del tratamiento poscosecha que se aplique (Zambrano et al., 2010).

2.6. Panel de catadores

Es un grupo de expertos entre 8 a 20 personas seleccionadas y entrenadas con un vasto conocimiento en variedades de cacao y en cata de muestras para valorar sensorialmente el licor de cacao por medio de sus sentidos vista, olfato, gusto, tacto, siguiendo los pasos mostrados en la Norma Técnica Colombiana NTC 3929 (ICONTEC, 2009). Cada uno de los integrantes del grupo expresa su opinión de forma numérica por medio de una escala determinada y respuestas a

preguntas seleccionadas (Cordero-Bueso, 2013). Los resultados son analizados estadísticamente para conocer el grado de certeza en igualdad o diferencia de las muestras ejecutadas. Con los resultados obtenidos, se realiza el perfil sensorial de cada licor de cacao estudiado, según la puntuación dada por los catadores con la escala establecida valorando los diferentes atributos sensoriales encontrados en las muestras (Cubillos et al., 2008; Ramos et al., 2013). Según la Guía Técnica Colombia (GTC) 165 del 2007 (ICONTEC, 2007), existen varias restricciones para los integrantes del panel de expertos, para que puedan ofrecer un resultado acertado y confiable. También se deben encontrar en un lugar cerrado con un ambiente tranquilo y sin olores, que permita la buena caracterización de los licores. Estas limitaciones son necesarias para determinar un perfil sensorial adecuado y preciso permitiendo un correcto resultado de la muestra tratada. Es necesario tener en cuenta que esas percepciones dependen de cada individuo (estado de ánimo, salud, conocimiento, destreza), del espacio y el tiempo principalmente (Hernández, 2005). Para calificar cada una de las características sensoriales de los granos de cacao, se utilizan diversas escalas, la cual la más utilizada es la escala que varía entre 0-10, 0 cuando no se percibe el atributo, 1-2 cuando la intensidad es muy baja, 3-4 cuando la intensidad es baja, 5-6 cuando la intensidad media, 7-8 cuando la intensidad es moderada y 9-10 cuando la intensidad es alta (Cuellar, Espinosa, Sánchez, Cruz, & Salazar, 2018; ICONTEC, 2009; Niu et al., 2011)

2.7. Atributos sensoriales

Los atributos sensoriales son los aromas característicos percibidos en cada muestra de licor de cacao. Pueden manifestarse una gran variedad de sabores y aromas, dependiendo de la capacidad de percepción y análisis del catador; sin embargo, los atributos más frecuentemente percibidos y encontrados en una cata del licor de cacao son (Díaz & Pinoargote, 2012; Guzmán & Gómez,

2014; Solórzano Chavez, Nicklin, Amores Puyutaxi, Jiménez Barragan, & Barzola Miranda, 2015):

2.7.1. Sabores básicos

- **Acidez:** describe un sabor ácido por la presencia de ácidos volátiles y semi-volátiles y que se relaciona con sabores a vinagre o lácticos
- **Amargor:** describe un sabor fuerte ofrecido por la falta de fermentación de los granos. Se relaciona con café oscuro.
- **Astringente:** describe un sabor desagradable, dejando una sensación seca y áspera en la boca, se da por una mala fermentación y secado de los granos.

2.7.2. Sabores específicos

- **Cacao:** describe el sabor de los granos bien fermentados, secos y tostados. Se relacionan con barras de chocolate negro.
- **Floral:** describe un aroma a flores, con tonos perfumados. Se relaciona con flores de cítricos, violetas, entre otras.
- **Frutal:** describe sabores de fruta madura. Se relaciona con frutas dulces y frutas cítricas.
- **Nuez:** describe sabores de almendras y nuez. Se relaciona con las frutas secas.

2.7.3. Sabores adquiridos

- **Crudo/verde:** describe un aroma poco desagradable debido a un tostado incompleto de los granos.

- Humo: describe un aroma a humo de madera quemada debido a un sobretostado de los granos.
- Moho: describe sabores mohosos desagradables por una sobrefermentación de los granos o un secado incorrecto favoreciendo la proliferación de hongos.

2.8. Factores determinantes en la calidad del cacao

Con el fin de obtener granos de cacao con características sensoriales agradables es necesario tener en cuenta los factores determinantes en la calidad del cacao. Existen varios factores que inciden en esta, sin embargo, hay dos factores que son clave en el desarrollo del *flavor* del cacao (González, Pérez, & Palomino, 2012), los cuales son:

2.8.1. Genotipo. El genotipo es un factor crucial para conocer un cacao de calidad. Como se mencionó anteriormente existen dos categorías de cacao: fino (criollo y trinitario) y ordinario (forastero) (De la cruz, Vargas, & Del Ángel, 2013; Fedecacao, 2004; Solórzano Chávez et al., 2015). A continuación, se señalan las ventajas y desventajas de cada una de las variedades.

El cacao criollo (figura 3) (Palencia, 2017), es el cacao de mayor calidad, contiene un alto nivel de notas aromáticas con aromas a frutal, flora, nuez y caramelo. Se utiliza exclusivamente en la producción de chocolatería de alta calidad, sin embargo, es menos productivo que las demás variedades y, además, son muy vulnerables a las enfermedades por lo que requiere cuidados especiales de los cuales va a depender la calidad de fino y de aroma obtenida (Badrie, Bekele, Sikora, & Sikora, 2015; CAOBISCO/AEC/FCC, 2015). Esta variedad crece por lo general en

climas cálidos y húmedos de las tierras bajas tropicales de Latinoamérica. Se cultiva en Colombia, Venezuela, Perú, México, Madagascar e Islas del Caribe en su mayoría.



Figura 3.. Cacao Criollo

El cacao forastero (figura 4) (Palencia, 2017) es el cacao ordinario o común, el más resistente a enfermedades y dada su alta productividad, representa aproximadamente el 90% de la producción mundial de cacao (Chetschik et al., 2018). Sin embargo, posee notas sensoriales ácidas y astringentes muy fuertes que no lo califican como fino o de aroma (Badrie et al., 2015). Se cultiva en grandes cantidades en Ghana, Nigeria, Costa de Marfil, Indonesia, Brasil y Ecuador.



Figura 4. Cacao Forastero.

El cacao trinitario (figura 5) (Palencia, 2017), es un híbrido que se obtiene al clonar las variedades de cacao criollo y forastero. Son más resistentes a las enfermedades que los criollos y

tienen un aroma más fino que los forasteros (Badrie et al., 2015; CAOBISCO/AEC/FCC, 2015). Aunque sea un híbrido, hace parte de las variedades de cacao fino por sus notas florales y frutales teniendo más acogida entre los agricultores por su mejor producción y más resistencia. Se cultiva en las mismas zonas de cacao criollo y en algunas partes del sudeste de Asia.



Figura 5. Cacao trinitario.

El cacao Nacional es una variedad diferente que es cultivada en Ecuador; sin embargo, la mayoría de las plantaciones fueron devastadas por la enfermedad de “escoba de bruja”, una especie de cáncer de los árboles al que solamente sobrevivieron los híbridos de las variedades Trinitario y Nacional (CAOBISCO/AEC/FCC, 2015). Según la ICCO (2013), esta variedad es una excepción debido a que se considera que son árboles forasteros, pero producen cacaos finos y de aroma.

2.8.2. Tratamiento de poscosecha. Después de la recolección y el desgranado de las mazorcas, los granos de cacao pasan a las etapas de beneficio. El beneficio del cacao es el proceso aplicado a los granos de cacao para obtener las condiciones físicas, químicas y organolépticas que ofrecen cierta calidad para la elaboración de productos finales (Cubillos et al., 2008; González et al., 2012). En este proceso se generan compuestos volátiles que se asocian a aromas característicos de un cacao de calidad (Rodríguez-Campos et al., 2011). Las etapas que comprende el beneficio del cacao son:

2.8.2.1. Fermentación: La fermentación es la etapa siguiente del desgranado de las mazorcas. Consiste en amontonar los granos durante varios días con el fin de que los microorganismos descompongan el mucílago (la pulpa blanca y azucarada que envuelve a los granos), y se inicien los cambios y las reacciones bioquímicas dentro y fuera de los granos que serán importantes para el desarrollo de los compuestos volátiles responsables del sabor y aroma agradables (Cubillos et al., 2008; Diaz & Pinoargote, 2012; Perea-Villamil, Cadena-cala, & Herrera-ardila, 2009). En la Figura 6 se pueden observar los diferentes cambios que ocurren en el grano durante la fermentación (Beckett, 2009).

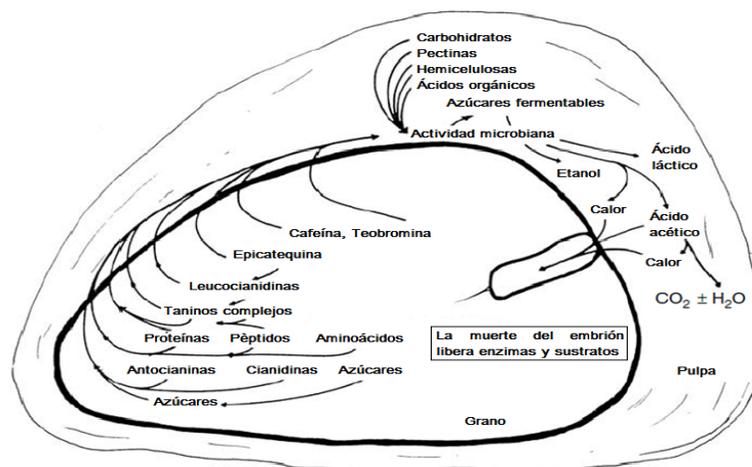


Figura 6. Cambios químicos dentro de un grano de cacao durante la fermentación.

En esta etapa, la pulpa de los granos de cacao es rica en carbohidratos y tiene pH entre 3 y 4 debido a la presencia de ácido cítrico. Además, contiene pectina y otros polisacáridos que dificultan la difusión del aire. Al comenzar el proceso de fermentación se encuentran diferentes levaduras (*Hanseniaspora guilliermondii*, *Saccaromyces cerevisiae* y *Pichia membranaefaciens*, entre otras) transformando los azúcares (glucosa, fructuosa y sucrosa) en etanol y dióxido de carbono y además, estas levaduras consumen oxígeno por lo que generan un ambiente anaerobio (Wacher, 2011). Al encontrar un ambiente anaerobio se desarrollan las bacterias lácticas (*Lactobacillus collonides*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus acidilactici*, entre otras) que continúan con la degradación de los carbohidratos produciendo ácido láctico (Batista, Ramos, Dias, Pinheiro, & Schwan, 2016; Schwan & Wheals, 2004). Las levaduras hidrolizan las pectinas logrando una disminución de la viscosidad de la pulpa restante favoreciendo la entrada de aire por lo que se detiene la producción de ácido láctico (Rivera et al., 2012). Esta entrada de aire favorece el desarrollo de las bacterias acéticas (*Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Gluconobacter oxydans*, entre otras) (Nielsen, Jakobsen, & Jespersen, 2010). Las bacterias comienzan a oxidar el etanol a ácido acético y posteriormente en dióxido de carbono y agua, liberando calor y aumentando la temperatura. El pH ácido y las altas temperaturas evitan la germinación del embrión, al tiempo que descomponen las paredes celulares (ICCO, 2012). Como resultado, se segregan sustancias al interior del grano activando reacciones catalizadas por enzimas que permiten la oxidación y la degradación de proteínas en aminoácidos; así como la generación de compuestos volátiles. Algunas de las actividades enzimáticas son llevadas a cabo por ciertas enzimas como la sacarasa transformando la sacarosa en glucosa y fructuosa, algunas proteasas que degradan las proteínas en péptidos y aminoácidos y la polifenoloxidasas, responsable de la

oxidación de los polifenoles (epicatequina en mayor proporción) dando lugar al color marrón que se obtiene durante la fermentación (Thompson, Miller, Lopez, & Camu, 2013).

2.8.2.2 Secado. En esta etapa, los granos de cacao son secados comúnmente al sol para disminuir la astringencia, la acidez (oxidación de los polifenoles y volatilización de algunos ácidos) y reducir el contenido de humedad de un 60% a un 7% (González et al., 2012; Valenzuela et al., 2012). Es importante que el secado se lleve a cabo de manera cuidadosa y lenta para que las reacciones que ocurrieron durante la fermentación continúen en el desarrollo de los precursores de aroma y no se detengan o tomen diferentes rutas desarrollando compuestos de sabores no deseados (ácidos y amargos). Igualmente, durante esta etapa es importante que la temperatura de los granos no exceda los 65°C, teniendo en cuenta que un sobre secado puede hacer que el grano se fracture fácilmente, liberando los aromas importantes en el desarrollo del sabor del cacao (ICCO, 2012).

2.8.2.3 Tostado: En esta etapa se desarrollan la mayor parte de los compuestos volátiles que ofrecen las características de sabor y aroma agradable (Frauendorfer & Schieberle, 2008; Kongor et al., 2016; Sánchez, 2007). Por acción de la temperatura se esterilizan los granos de cacao de posibles contaminaciones bacterianas. Las variables importantes en esta etapa son la temperatura y el tiempo de tostado. Los granos de cacao se exponen a ciertas temperaturas entre 100°C-140°C en un tiempo entre 8 – 20 minutos dependiendo del equipo tostador (Álvarez et al., 2010). Durante esta etapa se desarrollan reacciones del tipo Maillard (pardeamiento no enzimático), la cual consta de un conjunto complejo de reacciones químicas para la obtención de melanoidinas y de compuestos aromáticos como pirazinas en donde el contenido de aminoácidos libres y los azúcares se reduce aproximadamente en un 50% y 90% aproximadamente (Reineccius, 2005).

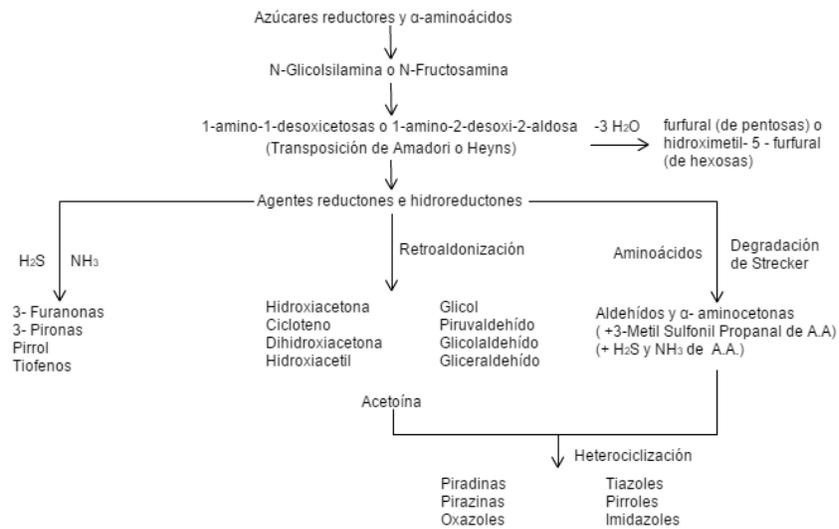


Figura 7. Formación de compuestos esenciales en el sabor y aroma por medio de la reacción de Maillard.

Como se observa en la Figura 7 (Reineccius, 2005), esta reacción se da por medio de la condensación de los azúcares reductores con un grupo amino libre de los aminoácidos, obteniéndose N-glicósilamida sustituida, que por medio de la transposición de Amadori se transforma en una cetosa (1-amino-1-desoxicetosa) o la transposición de Heyns se transforma en una aldosa (1-amino-2-desoxi-2-aldosa). Siguiendo a esto, se da una de las reacciones principales: la degradación de Strecker en donde reaccionan compuestos dicarbonilos con aminoácidos, para obtener una cetona y un aldehído que por medio de un ordenamiento de moléculas y en presencia de oxígeno produce las pirazinas que son compuestos esenciales para el sabor y aroma del cacao. Del desencadenamiento complejo de estas reacciones, los compuestos volátiles obtenidos con mayor proporción son las pirazinas y en menor proporción los pirroles, piridinas, oxazoles, imidazoles, tiazoles, furanos y pironas (Afoakwa et al., 2008; Beckett, 2009; Song et al., 2010)

2.8.2.4 Descascarillado y molienda. En esta etapa el objetivo es remover la cascarilla de los granos de cacao debido a que ésta produce sabores ácidos y astringentes (Choy, 2007; Scheu, Dand, & Wagner, 2001). Al retirar la cascarilla, los granos de cacao quedan reducidos a nibs de cacao (pedazos pequeños de cacao) para después ser molidos en un molino, con el fin de obtener el líquido pastoso llamado licor de cacao como se observa en la figura 8 (Trade Cocoa, 2017).



Figura 8. Licor de Cacao (también conocido como masa o pasta de cacao)

2.8.2.5 Almacenamiento. El licor de cacao debe ser preservado de toda contaminación por sabores y olores extraños. Debe ser almacenado en refrigeración por debajo de los 4°C empacado al vacío para evitar el contacto con humedad y agentes contaminantes.

2.9. Compuestos volátiles del cacao

En el tratamiento poscosecha anteriormente mencionado, se forman ciertos compuestos que ofrecen ese sabor y aroma agradable o incluso desagradable del cacao (Aculey et al., 2010; Afoakwa et al., 2008; Kongor et al., 2016). Diferentes compuestos volátiles han sido identificados a lo largo de los últimos 100 años los cuales han sido asociados con sabores y aromas, desarrollando las características principales de un cacao de calidad. Las primeras investigaciones realizadas para determinar qué componentes ofrecían el sabor y aroma característico del cacao

fueron desarrolladas por Bainbridge & Davies (1912). Estos últimos prepararon un destilado de granos de cacao con hexano, e identificaron como compuestos principales al linalool y algunos ésteres de metilo que ofrecían un olor característico ácido y tenía un sabor a cilantro. Desde esa fecha se han realizado numerosos estudios con el fin de determinar los compuestos volátiles responsables del sabor y aroma del cacao. Se han encontrado aproximadamente 500 compuestos volátiles que han sido identificados y asociados con aromas deseables e indeseables, siendo algunos de ellos mostrados en la tabla 4 (Afoakwa et al., 2008; Ducki, Miralles-Garcia, Zumbé, Tornero, & Storey, 2008; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Misnawi & Sari, 2011; Noguera, 2014; Rodríguez-Campos et al., 2011). Entre los grupos funcionales más influyentes en el sabor y aroma del cacao se encuentran los aldehídos, cetonas, alcoholes, pirazinas, ésteres y ácidos donde cada uno de estos grupos ofrecen ciertas características sensoriales responsables del sabor y aroma del cacao (Aprotosoai et al., 2016; Bonvehí, 2005; Jinap et al., 1998; Kongor et al., 2016). En la tabla 3 se muestran algunos compuestos volátiles presentes en el cacao y su descriptor sensorial.

2.9.1. Ácidos. Los ácidos son compuestos obtenidos en la etapa de fermentación del cacao. El principal ácido obtenido es el ácido acético que proporciona un fuerte e indeseable olor y sabor a vinagre. Otros ácidos que se producen en menor proporción son el ácido succínico, ácido propanoico, ácido láctico, ácido 2-metilbutanoico, ácido valérico, ácido isovalérico, entre otros (Counet, Callemien, Ouwerx, & Collin, 2002).

Una fermentación mayor a seis días provoca un aumento en la concentración de estos ácidos dando como resultado notas sensoriales astringentes y rancias. Estos ácidos volátiles son removidos por lo menos en un 70%, en las etapas de secado y tostado (Afoakwa et al., 2008; Rodríguez-Campos et al., 2012)

2.9.2. Alcoholes. Los alcoholes son compuestos obtenidos mayoritariamente en la fermentación por la acción microbiológica y en la degradación por calor de los aminoácidos (Aprotosoai et al., 2016). Estos compuestos poseen un umbral oloroso alto por lo que son muy importantes para el perfil sensorial de granos de cacao. Las concentraciones de estos compuestos se reducen por la oxidación de éstos a aldehídos, o por la volatilización en la etapa del secado. Según Rodríguez-Campos et al., (2012), algunos alcoholes son responsables de producir aromas deseados como floral y herbal tales como el 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-heptanol, 2-feniletanol, 2-metilpropanol, linalool, entre otros.

2.9.3. Aldehídos y Cetonas. Los aldehídos y las cetonas son compuestos obtenidos en bajas cantidades en la fermentación por la oxidación de los alcoholes, y en mayores cantidades por medio de la degradación de Strecker de aminoácidos libres en la etapa de tostado del cacao. Varios aldehídos han sido identificados como importantes en el desarrollo del aroma y sabor del cacao, ofreciendo notas sensoriales a dulce, malta y chocolate por lo que se ha encontrado que una alta concentración de estos compuestos es favorable para la calidad del cacao (Aprotosoai et al., 2016; Reineccius, 2005; Rodríguez-Campos et al., 2012). Entre ellos se destacan el 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, acetaldehído, benzaldehído y fenilacetaldehído (Afoakwa et al., 2009; Moreira et al., 2018).

Por otra parte, las cetonas encontradas que ofrecen olores importantes como dulces y florales son la acetofenona encontrada en granos de cacao tostados y la acetoína obtenida por la acción de las levaduras en la fermentación y ofrece notas a almendra y mantequilla (Noguera, 2014; Pallares-pallares et al., 2016; Rodríguez-Campos et al., 2012; Tran et al., 2015).

Tabla 4.

Compuestos volátiles encontrados en matrices de cacao con su respectiva percepción sensorial.

Compuestos	Atributo sensorial
Ácidos	
Ácido Acético	Vinagre, rancio
Ácido Propanoico	Purga, rancio
Ácido Isobutírico	Manteca, rancio
Ácido Butanoico	Dulce, rancio
Ácido Hexanoico	Purga, rancio
Ácido Octanoico	Manteca, rancio
Ácido Fenilacético	Manteca
Ácido 2-Metilpropionico	Metal
Ácido 3-Fenilpropionico	Floral
Ácido Cinámico	Dulce
Alcoholes	
1-Propanol	Caramelo
2-Metil-1-butanol	Vino, frutal
3-Metil-2-Butanol	
1,3-Butanediol	
2,3-Butanediol	Caramelo
2-Pentanol	Verde
1-Hexanol	Frutal
2-Hexanol	Frutal
2-Heptanol	Cítrico
1-Feniletanol	Caramelo, Floral
2-Feniletanol	Caramelo, Floral
Alcohol bencílico	Floral
Aldehídos	
2-Fenilacetaldehído	Floral
2-Metilpropanal	Chocolate, dulce
2-Fenilpropanal	Floral
2-Metilbutanal	Chocolate, dulce
3-Metilbutanal	Chocolate, dulce
2-Fenil-2-butenal	Cacao
4-Metil-2-Fenil-2-pentenal	Chocolate
n-Hexanal	Herbal
5-Metil-2-fenil-2-hexenal	Chocolate
2-Nonenal	Herbal
Vanilina	Vainilla

Cetonas	
2-Pentanona	Frutal
2,3-butanoidona	Mantequilla
Acetoína	Mantequilla, crema
Fenilmetilcetona	
2-Heptanona	Frutal, frutal
Acetofenona	Floral
2-Hidroxiacetofenona	Herbal
4-Metilacetofenona	Frutal
Ésteres	
Acetato de etilo	Piña, frutal
Acetato de isobutilo	Frutal
Acetato de isoamilo	Frutal
Acetato de fenilo	Floral
Fenilacetato de metilo	Floral
Fenilacetato de etilo	Floral
Acetato de fenetila	Floral
Buriato de etilo	Futal
Lactato de etilo	Frutal
Succinato de dietilo	Floral
2-Metilbutanoato de etilo	Frutal
3-Metilbutanoato de etilo	Frutal
Valerato de etilo	Frutal
Hexanoato de etilo	Uvas, frutal
Octanoato de etilo	Floral, frutal
Decanoato de etilo	Pera, frutal
Laurato de etilo	Frutal
Benzoato de isoamilo	Floral
Salicilato de metilo	Nuez
Cinamato de metilo	Frutal
Cinamato de etilo	Caramelo
Pirazinas	
2-Metilpirazina	Cacao
2-Etilpirazina	Nuez
2,5-Dimetilpirazina	Nuez
2,6-Dimetilpirazina	Nuez
2-Etil-5-metilpirazina	Pimienta
2,3-Dietilpirazina	Tierra, nuez
2,3-Dimetilpirazina	Caramelo
2,3,5-Trimetilpirazina	Nuez
2,3,5,6-Tetrametilpirazina	Nuez
2,3,5-Trimetil-6-etilpirazina	Caramelo

Otros	
Pirrol	Nuez
2-Acetilpirrol	Caramelo
2-Pirrolaldehído	Nuez
Benzonitrilo	Nuez
2-Furfural	Almendra, nuez
5-Metil-2-furfural	Caramelo
2-Acetilfurano	Café, caramelo
4-Hidroxi-2,5-dimeril-3-furanona	Cereza, caramelo
3-Hidroxi-2-metil-4-pirona	Coco, nuez
(S)-Linalool	Floral
(R)-Linalool	Floral

Fuente: Afoakwa, Quao, Takrama, Budu, & Saalia (2013); Aprotosoiaie et al., (2016); Bonvehí, (2005); Counet, Callemien, Ouwerx, & Collin, (2002); Ducki et al., (2008); Kongor et al., (2016); Krings, Zelena, Wu, & Berger, (2006); Misnawi & Ariza, (2011); Moreira et al., (2018); Rodríguez-Campos et al., (2011); Tran et al., (2015)

2.9.4. Ésteres. Los ésteres son compuestos que están asociados con notas frutales como piña, banano, manzana y representan el segundo grupo más importante de compuestos volátiles, después de las pirazinas al final del tostado del cacao (Aprotosoiaie et al., 2016; Jinap et al., 1998).

Estos compuestos son obtenidos en bajas cantidades por la acción de las levaduras y se desarrollan en mayor proporción en la etapa de tostado de los granos de cacao (Frauendorfer & Schieberle, 2008). Según Afoakwa et al., (2013), Krings et al., (2006), y Rodríguez-Campos et al., (2011), los principales ésteres que se encuentran en el licor de cacao son el 2-feniletilacetato, butanoato de etilo, lactato de etilo, acetato de 2-feniletilo, acetato de etilo, acetato de isobutilo y el octanoato de etilo.

2.9.5. Pirazinas. Las pirazinas son los volátiles más importantes en el sabor y aroma del cacao debido a que ofrecen notas a nuez, avellana, almendras (frutos secos) y a cacao tostado. (Aprotosoiaie et al., 2016; Ducki et al., 2008; Jinap et al., 1998; Krings et al., 2006; Rodríguez-Campos et al., 2011). La mayoría de las pirazinas se obtienen por la autocondensación de las α -aminocetonas en la degradación de Strecker y la reacción de Maillard en el tostado del cacao (Reineccius, 2005). Según Bonvehí (2005), las pirazinas son aproximadamente el 40% del total de compuestos del polvo y del licor de cacao obtenido, entre las cuales sobresalen la 2-metilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, 2,3,5,6-tetrametilpirazina. Estos compuestos conforman el grupo de compuestos que se asocian con notas sensoriales a nuez, avellana, cacao tostado, siendo las notas más deseadas en la calidad del cacao. Según Afoakwa et al., (2008) y Counet et al., (2002), los cacaos criollos y trinitarios muestran los más altos niveles de pirazinas.

2.9.6. Otros compuestos. Otros compuestos con ciertas notas sensoriales pero que no corresponden a los grupos anteriormente mencionados son los furanos, fenoles, pirroles, pironas y terpenos. El 2-metoxifenol, es un compuesto que ofrece notas de humo indeseables en la calidad del cacao, se obtiene por un sobresecado o un sobretostado de los granos de cacao (Rodríguez-Campos et al., 2012). Otros compuestos estudiados obtenidos en la degradación de Strecker son el 2-acetil-1-pirrol, que ofrece notas deseables como caramelo y chocolate en cacaos tostados y la 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H) furanona que ofrece notas de dulce y caramelo (Bonvehí 2005; Counet et al., 2002; Misnawi & Ariza, 2011). Algunos monoterpenos que aparecen en el licor de cacao son el β -mirceno y el β -pineno que ofrecen aromas a floral (geranium y pino respectivamente) que corresponden a notas agradables en el cacao (Czerny et al., 2008; Tran et al., 2015).

2.10. Análisis de compuestos volátiles

Con el transcurso de los años, se ha mostrado el interés de encontrar los compuestos volátiles responsables de los sabores y aromas característicos del cacao. Para esto, fue necesario implementar métodos de extracción, identificación y cuantificación de los volátiles con el fin de encontrar específicamente cuáles compuestos aportan con mayor proporción al sabor y aroma en las diferentes matrices de cacao (polvo y licor de cacao).

2.10.1. Extracción de los compuestos volátiles. Para la extracción de estos compuestos se han aplicado diferentes técnicas como la destilación al vapor o extracción con solventes (Counet et al., 2002; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Jinap et al., 1998; Krings et al., 2006). Sin embargo, debido a las desventajas de estos métodos (alto costo y tiempos de preparación y extracción excesivos), se han desarrollado técnicas de extracción de volátiles más eficientes, considerando una de ellas la técnica de microextracción en fase sólida con espaciado de cabeza (SPME-HS, de sus siglas en inglés) (Cevallos-Cevallos et al., 2018; Merkle, Kleeberg, & Fritsche, 2015; Moreira et al., 2018). Esta técnica consiste en exponer una microfibras en un recipiente tapado herméticamente a un tiempo y temperatura determinada, con el fin de que los compuestos que están atrapados en el licor de cacao sean liberados al espaciado de cabeza del vial (fase vapor) y ocurra una transferencia de masa desde el espaciado de cabeza a la microfibras, como se muestra en la figura 9 (Merkle et al., 2015; Yang et al., 2018).

Además, esta técnica realiza la extracción de manera rápida y es llevada a cabo con una gran capacidad de adsorción sin necesidad de solventes, teniendo en cuenta la polaridad de la microfibras, el tiempo y la temperatura de exposición.

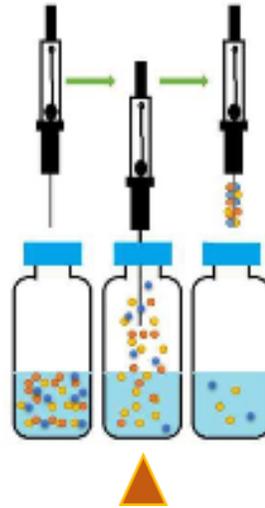


Figura 9. Diseño de la técnica de Micro extracción en fase sólida.

Esta técnica fue evaluada por Ducki et al., (2008), en la cual, utilizaron 4 tipos de microfibras con diferentes revestimientos (fase estacionaria): (i) polidimetilsiloxano (PDMS), (ii) divinilbenceno-polidimetilsiloxano (DVB-PDMS), (iii) carboxen-polidimetilsiloxano (CAR-PDMS) y (iv) divinilbenceno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS). En su trabajo examinaron la eficiencia de las microfibras para adsorber compuestos volátiles de licores de cacao. Se observó que la fibra sin revestimiento 100 μm PDMS era ineficiente a la hora de adsorber compuestos claves relacionados con el sabor y aroma. Las fibras con diferente revestimiento mostraron un mejor resultado, entre ellas la fibra 65 μm DVB-PDMS (revestimiento apolar), la cual fue la mejor extrayendo semivolátiles y la fibra 75 μm CAR-PDMS (revestimiento polar) que fue la mejor extrayendo volátiles. A pesar de haber obtenido buenos resultados con las dos fibras

por aparte, utilizaron una fibra con doble revestimiento (polar y apolar) la cual fue DVB-CAR-PDMS de 50/30 μm , logrando extraer los dos tipos de compuestos (volátiles y semivolátiles), los cuales son claves en el desarrollo del aroma del licor de cacao. Con esto, concluyeron que la fibra con doble revestimiento era la mejor para adsorber y extraer los compuestos volátiles de los licores de cacao. Además, establecieron que las condiciones óptimas para asegurar la transferencia eficiente de los volátiles a la fibra eran una temperatura de 60°C y un tiempo de exposición de la fibra de 15 minutos.

Rodríguez-Campos et al., (2011), realizaron la extracción de volátiles de granos de cacao secos y fermentados utilizando la técnica SPME-HS con una fibra 50/30 μm DVB-CAR-PDMS con tiempo de exposición de 30 min y temperatura 60°C extrayendo diferentes compuestos como ésteres, alcoholes, ácidos entre otros. Noguera (2014), realizó la extracción de volátiles utilizando la técnica SPME-HS con una fibra 50/30 μm DVB-CAR-PDMS y tiempos de exposición de 1 hora a una temperatura de 60°C en el espaciado de cabeza. De la misma manera, Pallares-Pallares et al., (2016), utilizaron la técnica SPME-HS con una fibra 50/30 μm DVB-CAR-PDMS manejando tiempos de acondicionamiento de 15 min y de exposición de la fibra de 30 min con una temperatura de 60°C en el espaciado de cabeza, lugar donde fueron adsorbidos los compuestos volátiles. Batista et al., (2016) y Moreira et al., (2018), extrajeron compuestos volátiles a partir de muestras de licor de cacao y chocolate con la técnica SPME-HS descrita por Ducki et al., (2008), por ser la técnica y la microfibra DVB/CAR/PDMS que ofrecen mejores resultados de adsorción y extracción de volátiles en este tipo de matrices, mostrando que a 60°C y 30 min se extraen la mayor cantidad de volátiles asociados con compuestos de aroma.

2.10.2. Identificación y cuantificación de volátiles. Después de la adsorción de los compuestos en la fibra, se llevan a la etapa de identificación. Para esto, la desorción de los compuestos volátiles almacenados en la fibra se realiza comúnmente en los puertos de inyección de los equipos de cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) a temperaturas promedio de 250°C con el fin de ser analizados. El GC es acoplado a un espectrómetro de masa (MS, por sus siglas en inglés) con el fin de lograr la identificación de los compuestos o igualmente es acoplado a un detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés) para su cuantificación (Rodríguez-Campos et al., 2012; Yang et al., 2018).

Ducki et al., (2008), identificaron 42 compuestos en muestras de cacao utilizando un GC Varian CP-3800 equipado con una columna capilar VF-5ms de alta polaridad de 30 m de largo (l), 0.25 mm de diámetro interno (d.i) y 1 µm de espesor de la película (e), acoplado a un MS Varian 1200L Quadropole a una temperatura de la fuente de 280°C. Además de los espectros de masa obtenidos por el espectrómetro de masas (MS), estos investigadores utilizaron los Índices de Kovats (IK) para asegurar la identificación de los compuestos. El GC fue instalado con un flujo constante de 1ml/min de helio (gas de arrastre), con temperaturas del horno en rampa de calentamiento inicialmente a 30°C durante 5 min, después aumenta 10°C/min hasta llegar a 200°C para aumentar a una razón de 25°C/min hasta 280°C y mantener esa temperatura finalmente durante 5 min. El puerto inyector se estableció en modo splitless a 250°C para asegurar la desorción de los compuestos. La cuantificación se llevó a cabo con el método de estándar interno, usando el tolueno como estándar. Agregaron una cantidad de 50 µg de tolueno a la muestra de 2 gramos de polvo de cacao para evitar el enmascaramiento de los picos de interés. Adicionalmente, estos investigadores cuantificaron algunos compuestos con su mismo patrón analítico con el fin de obtener concentraciones más precisas para esos compuestos. Entre los compuestos identificados con mayor

concentración fueron 2,3-butanodiona, 3-metilbutanal, 2,3-butanediol, ácido 3-metilbutanoico, 2,3-dimetilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, benzaldehído y fenilacetaldehído.

Misnawi & Ariza (2011), identificaron aproximadamente 39 compuestos en 3 diferentes muestras de licores de cacao obtenidos de cacao forastero, de los cuales, 9 compuestos aparecieron constantemente (ácido acético, tetrametilpirazina, feniletanol, 2-feniletacetato, propanol, metoxiacetato, trimetilpirazina, benzaldehído y 2-acetilpirrol); para esto, usaron un GC Agilent 7890A equipado con una columna capilar DB-FFAP (Polietilenglicol modificado con ácido nitrotereftálico) de alta polaridad de 30 m de largo (l), 0.25 mm de diámetro interno (d.i) y 0.25 μm de espesor de la película (e). La temperatura del horno tuvo una rampa de calentamiento de 60°C (5 min) - (5°C/min) - 220°C (5 min). El puerto inyector se estableció en modo splitless a 260°C y el gas de arrastre fue helio a 1 ml/min. El MS utilizado fue Agilent 5975 C triple eje a una temperatura de la fuente fue de 260°C.

Rodríguez-Campos et al., (2011), identificaron 39 compuestos producidos durante el proceso de fermentación y secado de los granos de cacao, tales como el ácido isovalérico, isobutírico, propanoico que, según ellos, dependiendo de su concentración, estos compuestos pueden ser un indicador de una buena fermentación, o compuestos como acetato de 3-metilbutilo, pentanaldehído, 2,3-pentanodiona, 2,3-butanodiol que se desarrollan durante el secado de los granos de cacao. En esta investigación, utilizaron un GC Hewlett Packard Model 5890 series II equipado con una columna capilar Innovax de alta polaridad de 60 m (l), 0.25 mm (d.i) y 0.25 μm (e). La temperatura del horno fue llevada a cabo en rampa de calentamiento a 40°C (5 min) - (10°C/min) - 200°C (30 min). El gas de arrastre fue helio a 0.7 ml/min. El modo de inyección fue splitless a 240°C (5 min). El MS utilizado fue un Hewlett Packard Model 5972 a una temperatura de la fuente de 260°C.

Noguera (2014), identificó 50 compuestos volátiles de los cuales 20 compuestos se encontraron en todas las muestras de licor de cacao evaluadas (ácido acético, benzaldehído, octanoato de etilo, 2,3,5,6-tetrametilpirazina, acetato de 2-feniletilo, 2-feniletanol, 2-heptanol, 2-nonanona, 2,3-butanodiol, entre otros), y cuantificó 11 compuestos presentes en los licores de cacao con el método de adición estándar. Utilizó un GC Agilent 7890A equipado con una columna capilar HP-5 de baja polaridad de 30 m (l), 0.25 mm (d.i) y 0.25 μ m (e) y otra columna capilar DB-Wax de alta polaridad de 30 m (l), 0.25 mm (d.i) y 0,25 μ m (e) para analizar la mayor cantidad de compuestos. La temperatura del horno para la primera columna fue inicialmente 30°C (5 min) - (10°C/min) - 200°C - (25°C/min) - 280°C (5 min), y para la segunda columna fue inicialmente 40°C (5 min) - (10°C/min) - 200°C (30 min). El puerto inyector fue establecido en modo splitless a 220°C y el gas de arrastre fue helio a 1ml/min. El MS utilizado fue Agilent 5975 C triple eje con temperatura de la fuente fue de 240°C y al igual que Ducki et al., (2008), utilizó los índices de kovats para asegurar la identificación de los compuestos volátiles.

Pallares-Pallares et al., (2016), identificaron 34 compuestos durante las etapas de fermentación y secado del clon de cacao CCN 51. Mostraron que en la fermentación se desarrollan compuestos como benzaldehído, fenilacetaldehído, 2,3-butanodiol, 1-hexanol, 3-hidroxi-2-butanona, y a un mayor tiempo de fermentación las concentraciones de los alcoholes aumentan hasta dos veces su concentración (3-metilbutanol, 2-feniletanol, etanol); además, se desarrollan ésteres que ofrecen un buen sabor y aroma al licor de cacao como el acetato de 2-feniletilo, benzoato de etilo, hexanoato de etilo y 2-fenietil acetato. Igualmente, mostraron un aumento de compuestos poco deseables como el ácido propanoico y 3-metilbutanoico a un mayor tiempo de fermentación (mayor a 6 días). Para el análisis de estos compuestos, utilizaron un GC Agilent 7890A equipado con una columna capilar DB-Wax de alta polaridad de 30 m (l), 0.25 mm (d.i) y 0.25 μ m (e). La

temperatura del horno fue inicialmente 40°C (5 min) - (10°C/min) - 200°C (30 min). El gas de arrastre fue helio a 0.7 ml/min y el modo de inyección fue splitless a 240°C durante 5 minutos. El MS utilizado fue Agilent 5975 C triple eje con temperatura de la fuente fue de 260°C.

Batista et al., (2016), identificaron 67 compuestos volátiles entre la fermentación de los granos de cacao y los chocolates obtenidos de estos granos. En esta investigación, mezclaron diferentes cultivos de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri*, *Hanseniaspora uvarum*, para ser inoculadas al inicio de la fermentación de los granos de cacao, con el fin de obtener una mayor producción de volátiles precursores de sabor y aroma agradables y así, mejorar el perfil sensorial enfocándose en compuestos que ofrezcan atributos sensoriales a frutal, floral y cacao. Los compuestos volátiles identificados en las muestras inoculadas en comparación con las muestras sin inocular mostraron un aumento de áreas relativas (respuesta del GC) de 2-heptanona, acetato de 3-metilbutilo, acetato de 2-feniletilo, benzoato de etilo, 2-pentanona, 3-hidroxi-2-butanona, ácido acético, 3-metilbutanol, 2-heptanol, 2-feniletanol, entre otros. Para este análisis utilizaron un GC shimadzu QP2010 SE, equipado con una columna capilar RTX-5MS de baja polaridad de 30 m (l), 0.25 mm (d.i) y 0.25 µm (e). La temperatura del horno fue configurada en rampa de calentamiento a 40°C (5 min) - (10°C/min) - 200°C (30 min) y acoplado a un MS shimadzu QP2010 Quadrupole a una temperatura de la fuente de 260°C. El gas de arrastre fue helio de alta pureza a un flujo de 0.7 ml/min y el modo de inyección fue splitless a 240°C. Además del uso de la base de datos (NIST 14 GC-MS) para la identificación, utilizaron una mezcla de n-alcenos con el fin de calcular los índices de retención de Kovats y así, asegurar la identificación de los compuestos comparando con los valores de la literatura.

Moreira et al., (2018), identificaron 36 compuestos volátiles al inicio de la fermentación (0 horas) mientras que al final de la fermentación (144 horas), identificaron 42 compuestos volátiles a partir de clones de cacaos híbridos cultivados en Brasil. Algunos de los compuestos identificados fueron 2-feniletanol, fenilmetanol, 3-metilbutanol, etanol, 2-octanol, ácido acético, ácido 3-metilbutanoico, ácido 2-metilbutanoico, ácido propanoico, fenilacetaldehído, benzaldehído, 2-nonanona, acetato de 2-feniletilo, benzoato de etilo, acetato de 3-metilbutilo, 2-acetipirrol, linalool, entre otros. Utilizaron un GC Shimadzu QP2010 SE, equipado con una columna capilar OV Carbonwax 20M de alta polaridad de 30 m (l), 0.25 mm (d.i) y 0.25 μ m (e). La temperatura del horno fue configurada en rampa de calentamiento a 40°C (5 min) - (10°C/min) - 200°C (20 min) y acoplado a un MS Shimadzu QP2010 Quadrupole a una temperatura de la fuente de 230°C. El gas de arrastre fue helio de alta pureza a un flujo de 1.4 ml/min y el modo de inyección fue splitless a 240°C. Además del uso de la base de datos (NIST Library, Gaithersburg, MD, USA) para la identificación, utilizaron los índices de retención de Kovats para asegurar la identificación de los compuestos comparando con los valores encontrados en la literatura.

2.11. Análisis de componentes principales

Cuando se tienen gran cantidad de datos para ser analizados estadísticamente, existen herramientas que pueden ayudar a entender el comportamiento de éstos, mejorando la capacidad de análisis. Una de estas herramientas es el análisis de componentes principales.

El análisis de componentes principales (PCA, Principals Components Analysis, por sus siglas en inglés) es una técnica multivariable de síntesis, utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. La idea es transformar un conjunto de variables originales posiblemente correlacionadas entre sí, en otro conjunto de nuevas variables sin correlación llamado conjunto de

Componentes Principales, con el fin de identificar patrones y estructuras (Peña, 2002). Estos nuevos componentes (variables) extraerán la información relevante del conjunto inicial de variables originales y serán una combinación lineal de estas y, además, estos componentes serán independientes entre sí, logrando explicar por medio de un mínimo número de componentes principales la mayor varianza de los datos. Este análisis multivariante fue propuesto por Karl Pearson a finales del siglo XIX y estudiada por Hotelling a mediados del siglo XX; sin embargo, no había sido popular hasta el desarrollo de las computadoras. Esta técnica ha sido ampliamente utilizada en diferentes disciplinas científicas en las que se maneja información cuantitativa con un número grande de variables. En casos específicos, este análisis ha sido implementado a diferentes variables que afectan directa o indirectamente la calidad en las etapas de fermentación, secado y tostado de los granos de cacao con el fin de encontrar grupos de variables que afecten en mayor proporción a la calidad del cacao. Algunas de estas variables han sido las concentraciones de aminoácidos, azúcares reductores, compuestos volátiles, pH, acidez, entre otros.

De Brito et al., (2000), utilizaron el PCA para analizar los cambios químicos que ocurren en las diferentes etapas de fermentación y secado con los azúcares y aminoácidos libres en las diferentes muestras de cacao. El análisis se desarrolló tomando como variables las concentraciones de los aminoácidos y azúcares presentes en los granos de cacao en cada etapa: (i) granos sin fermentar, (ii) fermentación a 72 horas, (iii) secado y (iv) tostado. Los componentes principales obtenidos explicaron el 62.6% y el 29.1% de la varianza total (PC1 y PC2 respectivamente). Por medio de las cargas de correlación agruparon las variables que se correlacionaban entre sí (mismas características) por lo cual, la primera componente (PC1) estuvo fuertemente influenciada por la mayoría de los aminoácidos a excepción de la tirosina, prolina y ácido glutámico que fueron explicadas en la segunda componente con todos los azúcares presentes, glucosa, fructuosa y

sacarosa. En la segunda componente principal (PC2), las cargas de los azúcares (sacarosa, glucosa y fructuosa) y de los aminoácidos prolina y ácido glutámico, son mayores a 0.7 con signo positivo, lo que implica una alta correlación de estas variables con la PC2, mientras que las cargas de los aminoácidos restantes son de signo negativo, reflejando que al haber un aumento en las concentraciones de los azúcares, de la prolina y del ácido glutámico en las etapas de granos de cacao sin fermentar y fermentados a 72 horas, habrá una reducción de los aminoácidos restantes en esas etapas. A diferencia de la PC2, la PC1 mostró que las cargas de la mayoría de los aminoácidos son de signo positivo y mayores a 0.7, observando una buena correlación de los aminoácidos con la PC1, mientras que las cargas de los azúcares, de la prolina, del ácido glutámico y tirosina son menores a 0.7 mostrando una baja correlación con esta componente. Las variables que poseen signo negativo en esta componente son la lisina y la sacarosa, con lo que se deduce que al haber un aumento de las concentraciones de los aminoácidos y los azúcares, habrá una reducción de la lisina y la sacarosa en las etapas de fermentación de 72 horas y secado. También se observa que la lisina es la única variable que se encuentra con signos negativos en las dos componentes (PC1 y PC2), mostrando que una reducción de los aminoácidos y los azúcares reductores muestran un aumento de la lisina en las etapas de tostado. Lo anterior podría explicarse por las reacciones de Maillard en esta etapa. Por último, se podría agrupar y nombrar la PC1 como “etapas intermedias del beneficio de cacao” y la PC2 como “etapa inicial y final del beneficio”.

Rodríguez-Campos et al., (2011), realizaron dos PCA para determinar las variables que fueron importantes en el proceso de fermentación y en el proceso de secado de los granos de cacao. El análisis incluyó como variables la acidez titulable, pH, azúcares reductores y los compuestos volátiles y ácidos no volátiles (oxálico, málico, láctico, cítrico y succínico) encontrados en los granos. Como resultado se obtuvo dos componentes principales en el PCA del proceso de

fermentación que explicaron el 38.8% y el 22.2% de la varianza (PC1 y PC2) respectivamente; y dos componentes principales en el proceso de secado que explicaron un 46.71% y 19.63% de la varianza (PC1 y PC2) respectivamente. En la etapa de fermentación el componente PC1 fue altamente influenciado por el acetato de metilo, acetoína, 2,3-butanodiona, feniletilacetato, el 3-metilbutanol, ácido succínico, láctico, málico y la acidez titulable; mostrando un aumento en la concentración en los días 3, 4 y 5 de esta etapa e influenciado negativamente a la concentración de sacarosa, ácido cítrico, 2-pentanol y el pH debido a la reducción de la concentración en la etapa de fermentación. El componente PC2 de la etapa de fermentación fue influenciado positivamente por los ácidos butírico, isovalérico y propanoico debido a que incrementan la concentración en los últimos días de fermentación (6,7,8) e influenciado negativamente por el acetato de etilo, ácido nonanoico, 3-metilbutanol y el 2,3-butanodiol que fueron importantes a los 2 días de fermentación.

El componente PC1 de la etapa de secado fue positivamente influenciado por el fenilacetaldehído, glucosa, alcohol fenetílico, y el ácido hexanoico, estos compuestos mostraron una reducción de la concentración en la etapa del secado e influenciado negativamente por el 3-metil-2-butanol, 2-metilpropanol, ácido acético y la tetrametilpirazina debido al incremento de estos compuestos en los últimos días del secado. El componente PC2 de la etapa del secado fue positivamente influenciado por acidez titulable, 2,3-butanodiona, fructuosa y acetato de metilo debido a la reducción de estos compuestos en esta etapa, e influenciado negativamente por un aumento de la acetoína. Por último, el PCA logró discriminar la etapa de fermentación en cuatro grupos (fermentación de 0-1 día, 2 día, 3-5 días, 6-8 días) y la etapa de secado en tres (0-1 día, 2-3 días, 4-5 días), mostrando las variables relevantes de cada grupo en cada uno de los días de fermentación y secado de los granos de cacao. Pallares-Pallares et al., (2016), realizaron un PCA

para establecer los compuestos volátiles característicos del clon CCN-51 y determinar el efecto del beneficio sobre el comportamiento de sustancias de aromas deseables e indeseables en el clon mencionado. El análisis se realizó con las concentraciones de los compuestos volátiles presentes en el licor de cacao. Los componentes principales obtenidos explicaron el 43.49% y el 24.54% de la varianza total de los datos (PC1 y PC2 respectivamente). La componente PC1, agrupó positivamente compuestos volátiles como hexanoato de etilo, fenilacetaldehído, benzaldehído, y 2-feniletanol, los cuales son compuestos deseables en los licores de cacao debido a que ofrecen mejores características sensoriales y se encuentran en la etapa final del beneficio (muestras totalmente fermentadas). Por otra parte, la PC1 agrupó negativamente las muestras con más bajo nivel de fermentación (inicio de fermentación, 0-1 día) correlacionándolas con los compuestos como 2-heptanol, 2-heptanona, 2-pentanol y 2-nonanona observando que una reducción de estos compuestos mostrará un aumento en los compuestos agrupados positivamente por la PC1. Por otra parte, la componente PC2 fue influenciada positivamente por los compuestos 2-heptanol, 2-heptanona, 2-pentanol y 2-nonanona que aparecen al inicio de la fermentación, y negativamente por los compuestos 2-metilpropanol, hexanol, benzoato de etilo, 3-metilbutanol, etanol, los cuales son compuestos que se producen en la etapa intermedia de la fermentación (2,3,4 días), mostrando que un aumento de estos compuestos se verán reducidos los compuestos que se encuentran al inicio de la fermentación. Además, por medio del análisis, determinaron que el sistema evaluado dependió principalmente del nivel de fermentación y no del nivel de secado, considerando que la etapa de fermentación ofrece la mayor influencia en el desarrollo de compuestos volátiles asociados con propiedades de aroma.

2.12. Mínimos cuadrados parciales

Como se mencionó anteriormente, PCA es una buena herramienta para encontrar relaciones entre variables y en agrupar las variables con características similares. Por medio del PCA se encontró relación entre los compuestos volátiles y los atributos sensoriales pertenecientes a cada uno de ellos. Sin embargo, PCA no es una herramienta para estimación de modelos de predicción dado que no se dispone de una variable de respuesta que permita predecir una variable dependiente. Por lo tanto, es necesario utilizar un método para la predicción o estimación de modelos siendo el más utilizado la regresión de mínimos cuadrados parciales.

La regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS, Partial Least Square regression, por sus siglas en inglés), es un método estadístico que determina una regresión lineal mediante la proyección de las variables de predicción y las variables observables a un nuevo espacio. El objetivo es predecir un grupo de variables dependientes del grupo de variables independientes o predictoras. Esta predicción se logra extrayendo de los predictores un conjunto de factores ortogonales llamados variables latentes que tienen el mejor poder predictivo (Abdi, 2010). Generalmente es utilizado en situaciones que se tienen gran número de variables predictoras, cuando el número de variables independientes sea mayor al número de observaciones y cuando existe multicolinealidad entre las variables (Tobias, 1995; Wehrens & Mevik, 2007). Este método fue desarrollado por el estadístico sueco Herman Wold y su hijo Svante Wold en 1966 y ha sido ampliamente utilizado en quimiometría, economía, bioinformática, neurociencia y antropología. A lo mejor de nuestro conocimiento, no se ha utilizado este tipo de métodos estadísticos para lograr predecir atributos sensoriales a partir de licores de cacao, pero se ha encontrado el uso de PLS para

la estimación de diferentes modelos predictivos de matrices olor-activas como café, quesos, vinos, arroces, entre otros.

Aznar et al., (2003), utilizaron PLS para la predicción de atributos sensoriales de vinos tintos provenientes de España a partir de su composición química. Fueron evaluadas 18 características sensoriales y 27 compuestos volátiles de los 57 vinos añejados, de los cuales sólo 9 características sensoriales obtuvieron coeficientes de correlación entre 0.6 y 0.81 (Vainilla-canela, animal-cuero, café, madera, hierbas, floral, dulce-cacao, frutal, frutos rojos) con la capacidad de explicar un 45% de la varianza original. Encontraron que los modelos correlacionaban positivamente los compuestos químicos con olores y atributos sensoriales agradables (B-damascenona, vanilina, B-metil- γ -octalactona), y negativamente con los compuestos que mostraban características aromáticas desfavorables (fenoles, 3-(metiltio)propanol).

Jumtee, Komura, Bamba, & Fukusaki (2011), evaluaron la clasificación de la calidad sensorial de algunos téis verdes japoneses mediante el perfil de compuestos volátiles utilizando la técnica de mínimos cuadrados parciales con análisis discriminante (PLS-DA). Realizaron la extracción de los volátiles por medio de la hidrodestilación al vacío y se analizó en el GC-MS. Se desarrolló un modelo predictivo de calidad a partir de la relación entre atributos subjetivos (características sensoriales) y atributos objetivos (compuestos volátiles) utilizando las proyecciones de mínimos cuadrados parciales. Identificaron varios compuestos volátiles olor-activos que favorecieron la predicción del modelo como geraniol, indol, linalol, cis-jasmona, cumarina, alcohol fenético entre otros. El modelo se validó por medio del método de validación cruzada (cross validation, por sus siglas en inglés) mostrando que el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.95 y el error

cuadrático medio de estimación fue de 1.004 lo cual representa menos del 5% de error, indicando un modelo de calibración confiable.

Thomsen et al., (2012), relacionaron los compuestos volátiles con las características sensoriales obtenidas mediante un panel entrenado de cata, de 7 variedades de quesos semiduros comercializados en Francia. Tomaron las puntuaciones de intensidad de 9 atributos sensoriales y 31 compuestos químicos olor-activos, para ser analizados por PSL con el fin de determinar las correlaciones entre estos dos conjuntos de datos y los modelos de predicción. Se observó correlaciones entre los atributos sensoriales y los compuestos olor-activos con umbrales de percepción bajos y buena correlación entre los atributos sensoriales fuertes (como rancio, astringente, queso fuerte) y compuestos con olores a putrefacción (ácido 3-metilbutanoico, ácido butanoico y trisulfuro de dimetilo).

Ribeiro et al., (2012), realizaron modelos de predicción de calidad basados en análisis quimiométricos mediante PLS a partir de la relación entre los perfiles cromatográficos de los compuestos volátiles y los datos sensoriales obtenidos de café tostado. Estos seis modelos fueron capaces de predecir acidez, amargor, sabor, frescura, cuerpo y calidad general de diferentes bebidas de café tostado con bajos errores de validación (validación cruzada, dejando cinco afuera) y altos coeficientes de determinación (RMSECV-R²) de 0.27-0.83, 0.33-0.89, 0.26-0.95, 0.36-0.92, 0.26-0.89, y 0.38-0.92 respectivamente, logrando observar una fuerte correlación entre los compuestos volátiles y los atributos sensoriales descritos.

Xiao, Luo, Niu, & Wu, (2018), relacionaron por medio de PSL 39 compuestos de aroma encontrados en 5 diferentes tipos de aceites esenciales provenientes de flor rosa con 10 atributos

sensoriales (dulce, miel, fermentado, picante, frutal, madera, floral, herbal, verde y fresco) percibidos por un panel de cata experto. De estos 10 atributos, sólo 7 fueron capaces de explicar en mayor proporción los modelos (dulce, miel, herbal, verde, fresco frutal y madera). Los compuestos que lograron superar los valores olor-activos (OAV, por sus siglas en inglés) y que estructuraron los modelos fueron 2-nonanona, 2-undecanona, acetato de citronela, decanoato de etilo, geraniol, linalool, limoneno, dodecanoato de etilo, eugenol y o-cimeno principalmente. Después del análisis del marco teórico y el estado del arte, es posible resaltar la importancia de estudiar modelos de predicción y correlación entre los compuestos volátiles y los atributos sensoriales percibidos en licores de cacao por medio de la técnica de mínimos cuadrados parciales. Además, es posible resaltar que todavía no se encuentran reportados estudios con modelos de predicción para matrices de cacao.

3. Metodología

Las etapas que se llevaron a cabo a lo largo de este estudio se presentan en este capítulo. Cada una de estas etapas se realizó con el fin de cumplir los objetivos planteados. En la Figura 10 se muestran las actividades realizadas en el desarrollo de la investigación planteada.

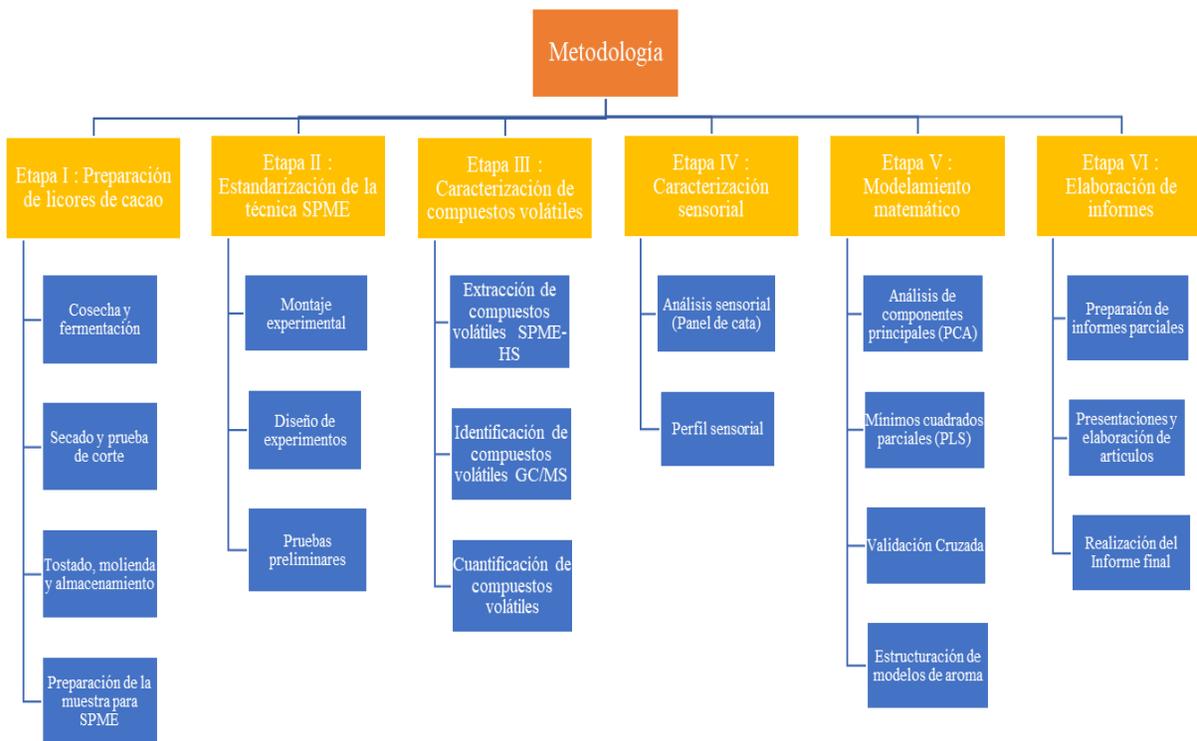


Figura 10. Etapas para el desarrollo de los objetivos planteados

3.1. Etapa I. Preparación de licores de cacao

3.1.1. Cosecha y fermentación. Inicialmente, se recolectaron los frutos de cacao de 10 variedades trinitarias de los cultivos sembrados en Rionegro, Santander ofrecidos por la empresa Agrosavia. Los frutos fueron cortados y desgranados para posteriormente ser sometidos a un proceso de fermentación (en el mismo lugar de recolección) por 6 días en cajones de madera de dimensiones 15 x 15 pulgadas, con remoción de granos a las primeras 48 horas y posteriormente cada 12 horas (figura 11) (Rodríguez, 2019).



Figura 11. Cosecha y fermentación de los granos.

3.1.2. Secado y prueba de corte. Después de la fermentación, los granos fueron secados por 5 días en plataformas de madera expuestos al sol (figura 12), con una remoción inicialmente cada hora durante 24 horas y posteriormente cada 4 horas con el fin de alcanzar un contenido de humedad de 6-8% para evitar la formación de moho como lo especifica la Norma Técnica Colombiana NTC 1252 (ICONTEC, 2012). Posteriormente, se realizó la prueba de corte para determinar la calidad de los granos fermentados y secos.

Para esto, se seleccionaron 100 granos al azar de cacaos secos y fermentados, y se ubicaron en una guillotina (marca Magra) donde se cortaron longitudinalmente dividiéndose por la mitad. Seguidamente, se identificó el porcentaje de granos bien fermentados, insuficientemente fermentados, pizarrosos y con moho como lo indica la NTC 1252 (figura 13).



Figura 12. Secado de los granos de cacao



Figura 13. Prueba de corte.

A partir de la prueba de corte, se seleccionaron dos tipos de muestras para cada una de las 10 variedades de granos de cacao: granos bien fermentados (BF) y granos al azar (AZ). Para escoger solo granos bien BF, se optó por realizar 3 pruebas de corte a cada variedad con el fin de excluir a

los granos con defectos, semifermentados e insuficientemente fermentados. Los granos AZ fueron tomados al azar sin selección (granos bien fermentados, semifermentados, insuficientemente fermentados y con defectos), como normalmente sucede en una muestra de cacao.

3.1.3. Tostado, molienda y almacenamiento. Se tomaron 250 gramos de cada variedad de cacao fermentado y seco por cada tipo de muestra (BF y AZ), y se realizó el proceso de tostado a 110°C durante 12 minutos (condiciones Agrosavia), empleando un tostador de doble tambor marca KAFFEMAT. Posteriormente, los granos tostados fueron descascarillados y molidos usando un molino mortero marca Restch RM-200 que se operó durante 1 hora para cada licor, hasta obtener un diámetro de partícula inferior a 50 micras. Después el licor de cacao fue empacado al vacío y almacenado a 4°C para su posterior uso (figura 14).



Figura 14. Tostado y molienda de los granos y almacenamiento del licor de cacao.

3.1.4. Preparación de la muestra para análisis SPME. De cada tipo de muestra (granos BF y AZ), se tomaron 2 gramos de licor de cacao y fueron agregados a un vial de 10ml (PTFE/Silicona septa) con agitador magnético (figura 15).



Figura 15. Preparación de la muestra para análisis.

3.1.5. Preparación de la muestra para análisis sensorial. De cada tipo de muestra (granos BF y AZ), se tomaron 10 gramos de licor de cacao y se fundieron. Luego se adicionaron a una copa de cata para su posterior evaluación. Entre cada licor de cacao catado, se hacía un enjuague con agua y con galleta salada con el fin de neutralizar los sabores y olores del anterior licor (figura 16) (Rodríguez, 2019).



Figura 16. Preparación de la muestra para cata.

3.2. Etapa II. Montaje experimental SPME

En esta sección se evaluó el efecto de la temperatura y del tiempo de exposición de la microfibra, sobre el aumento de la extracción de los compuestos volátiles usando la técnica de microextracción en fase sólida (Solid Phase Micro Extraction Head-Space, SPME-HS). Para tal

fin, se utilizó una microfibras de polidimetilsiloxano con recubrimiento anfifílico divinilbenceno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS) 50/30 μ m de Supelco, la cual según Ducki et al., (2008), Moreira et al., (2018) y Rodríguez-Campos et al., (2011), permite una mayor adsorción de los compuestos volátiles.

Inicialmente, se colocó la muestra de licor de cacao en baño maría de aceite mineral dentro de un vaso crisol con agitador como se muestra en la figura 17. Este vaso crisol se ubicó sobre una plancha de calentamiento y se le introdujo un termómetro para el control de temperatura.

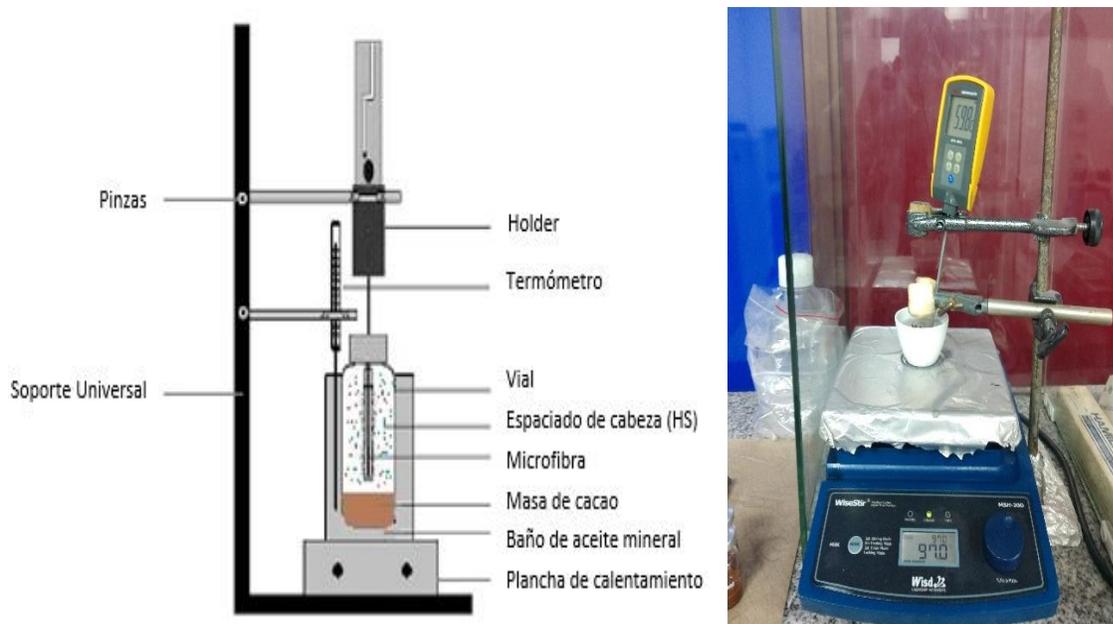


Figura 17. Montaje experimental para la extracción de compuestos volátiles

Después, la microfibras contenida en el holder se expuso en el espaciado de cabeza a las condiciones descritas en la tabla 5. Luego de transcurrido el tiempo, se retiró el holder e inmediatamente fue llevado a cromatografía de gases con el fin de determinar el área total (GC-

FID) asociada con los compuestos precursores de aroma identificados por cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas (GC-MS) (ver sección 4.3.1).

3.2.1. Superficie de respuesta. Con el fin de determinar las condiciones óptimas de tiempo y temperatura del método SPME-HS para la extracción de los compuestos volátiles del licor de cacao, se empleó una aproximación de superficie de respuesta tomando como respuesta la señal del detector FID-GC (unidades de área). Para ello, se utilizó el software TIBCO STATISTICA versión 13.5, en el cual se realizó un diseño 22 + estrella con 5 puntos centrales y 1 réplica, estableciendo el número y rango de los factores y la variable de respuesta como se muestra en la tabla 5. Los tiempos y temperaturas utilizadas y mostradas en la tabla fueron evaluadas a partir de la bibliografía realizada (Ducki et al., 2008; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Misnawi & Sari, 2011; Noguera, 2014; Rodríguez-Campos et al., 2011).

Tabla 5. Factores de superficie de respuesta para las condiciones de extracción.

Factores		Temperatura (°C)		Variable de respuesta
Tiempo	Niveles	50	70	Unidades de área del
(min)	15	15, 50	15, 70	cromatograma
	60	60, 50	60, 70	(GC-FID)

3.3. Etapa III. Caracterización de compuestos volátiles

3.3.1. Identificación de compuestos volátiles. En el momento que la microfibra se introdujo en el puerto inyector del cromatógrafo, comenzó el proceso de desorción de los compuestos por medio de la temperatura, pasando a través de la columna capilar, para finalmente llegar al detector de masas.

La desorción de la microfibra se realizó en un cromatógrafo de gases GC 7890A (Agilent Technologies) acoplado a un espectrómetro de masas (Hewlett Packard, Model 5972) con detector cuadrupole (MSD, Agilent Technologies Modelo 5975) utilizando el software MSD ChemStation E.02 (Agilent Technologies). Para la separación se utilizó una columna capilar apolar 5%-fenilpolimetilsiloxano (HP-5) de 30m (l) x 0.25mm (e) x 0,25µm d.i. El perfil de temperatura del horno usado para la separación de los analitos fue propuesto por Noguera (2014), sin embargo, se hicieron algunas modificaciones. La rampa de calentamiento del horno fue fijada inicialmente a 30°C durante 10 min, luego se incrementó a 3°C/min hasta 60°C manteniendo en esta temperatura durante 10 min, después aumentó a 10°C/min hasta 150°C y finalmente incrementó en 4 °C/min hasta los 200°C manteniendolo durante 5 min (figura 18).

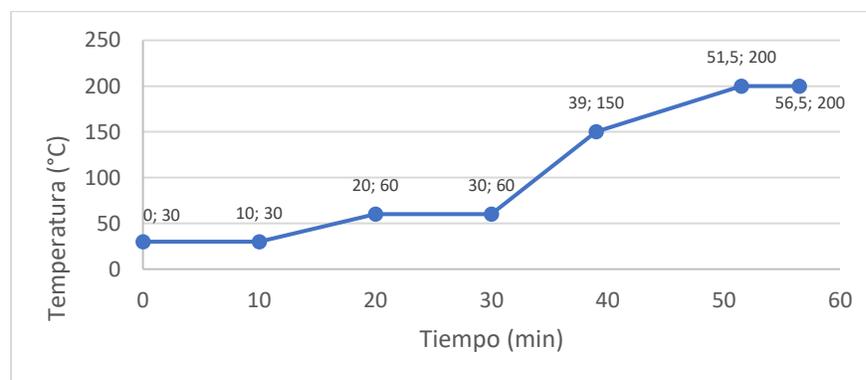


Figura 18. Rampa de calentamiento en el horno del cromatógrafo.

El gas de arrastre fue neón a 1ml/min, la temperatura del inyector fue de 265°C en modo Split 3:1 y se utilizó un sistema de ionización de impacto electrónico a 70 eV con una temperatura de la fuente de 230°C.

Al llegar al detector de masas (MSD), se obtuvieron las señales de relación masa/carga (m/z) para cada uno de los picos correspondientes a los compuestos volátiles; seguidamente, se creó un cromatograma (reporte), en donde cada señal (pico) fue comparada con la biblioteca WILEY 8 (WILEY Registry of Mass Spectral data 8th edition) de espectros de masa. Para cada uno de los espectros, se comparó el grado de coincidencia de cada una de las relaciones e intensidades m/z de cada compuesto (fragmentos) versus la información tabulada en las bases de datos de espectros de compuestos conocidos. De acuerdo con el software MSD ChemStation E.02, la identidad de los compuestos se estableció a una calidad mínima de 60%.

Finalmente, para corroborar la identificación cada compuesto, se calcularon los índices de retención de Kovats por medio de la ecuación Eq-1 (Babushok, Linstrom, & Zenkevich, 2011; Lucero, Estell, Tellez, & Fredrickson, 2009) y se comparó dicho valor con el tabulado en la biblioteca NIST SRD 69 (NIST, 2018).

$$IK = 100n + 100 \left[\frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{Rn} - t_{Rn}} \right] \quad Eq-1$$

Donde, IK es el índice de retención del compuesto de interés x , n es número de átomos de carbono del n -alcano que eluye antes del compuesto de interés x , t_{Rx} es el tiempo de retención del compuesto de interés x , t_{Rn} y t_{Rn} son los tiempos de retención de n -alcanos que eluyen antes y

después del compuesto x. Para el cálculo del Índice de Kovats se utilizó un patrón de n-alcános con átomos de carbono que variaron desde C5-C20 (ver apéndice A).

3.3.2. Cuantificación de compuestos volátiles. Para la cuantificación de los compuestos volátiles, se utilizó el método semi-cuantitativo propuesto por Gualdrón & Guarín (2017) y Ojeda (2018). En este método se utilizó un cromatógrafo de gases 7890A (Agilent Technologies) acoplado a un detector de ionización de llama (FID-GC). Se utilizó una columna apolar 5%-fenilpolimetilsiloxano (HP-5) de dimensiones 30m (l) x 0.25mm (e) x 0,25 μ m (d.i) y la misma rampa de calentamiento del horno trabajada para la identificación (ver figura 18). El puerto inyector fue establecido en modo split (3:1) a una temperatura de 265°C y el gas de arrastre fue hidrógeno a 0.7 ml/min. Así mismo, se seleccionó tolueno como estándar interno, debido a que es un compuesto que tiene un área definida, no hace parte de la matriz, no interfiere con los analitos de interés y es suficientemente volátil. En trabajos análogos se reporta el uso de tolueno como estándar interno para cuantificar compuestos volátiles en matrices de cacao (Ducki et al., 2008). Debido a la cantidad de compuestos volátiles de diferentes grupos funcionales presentes en el licor de cacao, se hizo la suposición de que la respuesta de los analitos podría aproximarse por familia de compuestos. Para esto, se calculó un factor de respuesta a cada una de las familias de compuestos encontrados en los licores de cacao (pirazinas, ácidos, ésteres, aldehídos, cetonas y alcoholes) por medio de un compuesto representativo mostrados en la tabla 6 (Gualdrón & Guarín, 2017; Ojeda, 2018). Los cálculos se pueden ver en el apéndice B.

Tabla 6.

Compuestos representativos por familia.

Familias	Compuesto representativo	Factor de respuesta calculado
Pirazinas	Trimetilpirazina	0.88
Alcoholes	Linalol	2.19
Ácidos	Ácido acético	1.02
Ésteres	Acetato etilo	6.38
Cetonas	Acetofenona	0.38
Aldehídos	Fenilacetaldehído	2.84
Otros	Acetilpirrol	1.10

$$C_x = FR \times \frac{A_x \times C_{EI}}{A_{EI} \times \rho} \quad Eq-2$$

Donde, A_x es el área del compuesto de interés, C_{EI} es la concentración del estándar interno (mg/L), A_{EI} es el área del estándar interno, FR es el factor de respuesta y ρ es la densidad del licor de cacao (kg/L)

La cuantificación de los compuestos volátiles presentes en los licores de cacao se realizó por medio de la ecuación Eq-2. Se prepararon tres muestras idénticas para cada análisis y se tomó el promedio de los resultados.

3.3.3. Compuestos olor-activos. Después de identificar y cuantificar los compuestos volátiles, se decidió analizar los compuestos que más aportaban al sabor y aroma a los licores de cacao. Con el fin de evaluar la contribución de un compuesto químico al aroma, se determinó el valor de la actividad olor-activa (OAV, odor-active value, por sus siglas en inglés) de cada compuesto. OAV es una medida de qué tan importante es un compuesto específico para el olor de una muestra. Este parámetro se calculó mediante la ecuación Eq-3 al igual que otras investigaciones (Aznar et al., 2003; Cordero-Bueso, 2013; Cordero et al., 2019; Cuevas-Glory, Ortiz-Vazquez, Sauri-Duch, & Pino, 2013; Culleré, Escudero, Cacho, & Ferreira, 2004; Feng et al., 2018; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Jeti, Yang, Kurnianta, Finn, & Qian, 2007; Liu, Feng, & Chen, 2017; Ouyang et al., 2017; Pang et al., 2012; Qian & Wang, 2005).

$$OAV = \frac{C_x}{OT_x} \quad Eq-3$$

Donde, C_x es la concentración del compuesto volátil a analizar, OT_x es la concentración correspondiente al umbral del olor del compuesto volátil en el ser humano (Odor threshold, en inglés)

Los valores olor-activos se calcularon como la relación entre la concentración de un compuesto individual y la concentración correspondiente al umbral de percepción de ese compuesto encontrado en la literatura. Compuestos con valores de OAV mayores a 1 ($OAV > 1$), superaron el umbral del olor y, por consiguiente, fueron los compuestos que se tomaron para modelar la relación

existente entre los atributos sensoriales y las concentraciones de compuestos volátiles (Aznar et al., 2003; Cordero et al., 2019; Cuevas-Glory et al., 2013; Culleré et al., 2004).

3.4. Etapa IV. Caracterización sensorial

3.4.1. Análisis sensorial. Los 20 licores (10 BF y 10 AZ) de las 10 variedades trabajadas, fueron analizados por un panel de expertos externo usando la Norma Técnica Colombiana NTC 3929 (ICONTEC, 2009). El panel estuvo conformado por 4 catadores (3 mujeres y 1 hombre); cada uno de ellos analizó y calificó cada licor de cacao con respecto a los diferentes atributos sensoriales percibidos. Los catadores fueron ubicados en cabinas dentro de un lugar cerrado separados el uno del otro. Inicialmente, cada uno de los licores codificados se fundió en un baño María a 55°C por 15 min, para posteriormente servir 15 gramos de licor en cada envase (copas de vidrio). Siguiendo a esto, los catadores procedieron a realizar la cata de los licores evaluando los sabores básicos, atributos agradables y atributos no agradables que fueran percibidos en los licores y, además, otras observaciones percibidas (notas atípicas).

Se estableció una escala de puntuación de 0 a 10 para la calificación de cada atributo, donde 0 representa ausencia del aroma o sabor, 1-2 percepción baja, 3-5 percepción media, 6-8 fuerte y 9-10 muy fuerte (escala preferible por los catadores) siendo una de las escalas también utilizada en otras investigaciones (Cuellar et al., 2018; Niu et al., 2011; Yu, Xie, Xie, Ai, & Tian, 2019). La puntuación final de cada atributo para cada licor fue calculada como la media aritmética de los datos totales. Los resultados asociados con las puntuaciones de los atributos sensoriales evaluados fueron analizados mediante el análisis de varianza ANOVA con el fin de identificar si existen diferencias significativas entre los atributos. En el apéndice C se muestra el formato de análisis sensorial que usaron los catadores.

3.4.2. Perfil sensorial. Con las puntuaciones promedio obtenidas para cada uno de los seis atributos trabajados, se elaboraron los perfiles sensoriales de los licores de cacao mediante gráficos radiales.

3.5. Etapa V. Modelamiento matemático

3.5.1. Análisis de componentes principales. La relación entre las concentraciones de los compuestos volátiles con los licores de cacao y las puntuaciones de cada atributo sensorial con los licores de cacao fue evaluada usando la técnica estadística conocida como Análisis de Componentes Principales (PCA). El objetivo de este análisis fue identificar los compuestos volátiles y los atributos sensoriales que explicaban en mayor proporción a los licores de cacao. Se utilizó el paquete de análisis de datos multivariable The Unscrambler X 10.5.1 del Software CAMO. Para la obtención de los componentes principales, se introdujeron las matrices como se observan en la tabla 7 y tabla 8:

Tabla 7.

Relación entre compuestos volátiles y licores de cacao.

PCA 1				
Compuesto	Compuesto 1	Compuesto 2	Compuesto 3	...
Licores				
Licor de cacao 1	Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	...
Licor de cacao 2	Concentración 4	Concentración 5	Concentración 6	...
Licor de cacao 3	Concentración 7	Concentración 8	Concentración 9	...
...

Variables (loadings): Compuestos volátiles

Observaciones (scores): Licores de cacao

Tabla 8.

Relación entre atributos sensoriales y licores de cacao.

PCA 2				
Atributo \ Licores	Atributo 1	Atributo 2	Atributo 3	...
Licor de cacao 1	Puntuación 1	Puntuación 2	Puntuación 3	...
Licor de cacao 2	Puntuación 4	Puntuación 5	Puntuación 6	...
Licor de cacao 3	Puntuación 7	Puntuación 8	Puntuación 9	...
...

Variables (loadings): Atributos sensoriales

Observaciones (scores): Licores de cacao

Para la matriz de compuestos vs licores de cacao, se tomaron como variables los compuestos volátiles y como observaciones los licores de cacao. Así mismo, para la matriz de atributos vs licores de cacao, se tomaron como variables los atributos sensoriales y como observaciones los licores de cacao. Se realizó el análisis de varianza, covarianza, apalancamientos vs influencia y las correlaciones entre cada variable para obtener los diferentes componentes principales con sus respectivas puntuaciones perdiendo la menor cantidad de información posible.

3.5.2. Mínimos cuadrados parciales. Se utilizó la regresión de mínimos cuadrados parciales para obtener los modelos de predicción de los seis atributos sensoriales. Para tal fin, las concentraciones de los compuestos volátiles representativos en los licores de cacao fueron consideradas como las variables independientes (predictoras); mientras que, las puntuaciones de los atributos sensoriales fueron las variables dependientes (respuesta). De igual manera, se trabajó con el paquete de análisis de datos multivariable The Unscrambler X 10.5.1 del Software CAMO.

En la tabla 9 se observa la estrategia de regresión introducida al software, y en el apéndice D se encuentran las matrices introducidas.

Tabla 9.

Estrategia de regresión entre los compuestos volátiles y los atributos sensoriales de cada licor de cacao.

Matriz de predictores (X)				
Compuesto	Compuesto 1	Compuesto 2	Compuesto 3	...
Licores				
Licor de cacao 1	Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	...
Licor de cacao 2	Concentración 4	Concentración 5	Concentración 6	...
Licor de cacao 3	Concentración 7	Concentración 8	Concentración 9	...
...

Matriz de respuestas (Y)				
Atributo	Atributo 1	Atributo 2	Atributo 3	...
Licores				
Licor de cacao 1	Puntuación 1	Puntuación 2	Puntuación 3	...
Licor de cacao 2	Puntuación 4	Puntuación 5	Puntuación 6	...
Licor de cacao 3	Puntuación 7	Puntuación 8	Puntuación 9	...
...

Variables independientes o predictoras (X loadings): Compuestos volátiles

Variables dependientes o respuesta (Y loadings): Atributos sensoriales

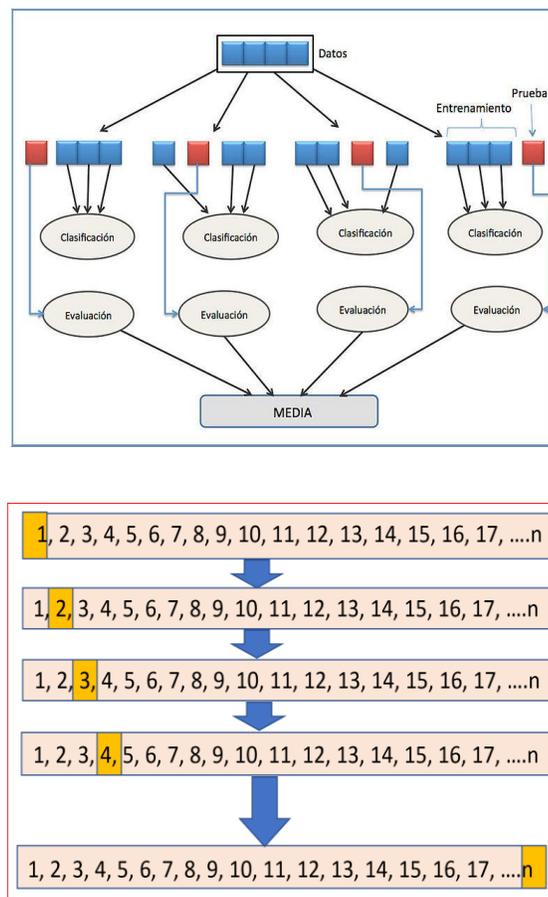
Observaciones (scores): Licores de cacao

3.5.3. Estructuración de modelos de aroma. Se estructuraron los modelos mediante las variables independientes y las variables dependientes con las mejores correlaciones obtenidas en las cargas de correlación.

3.5.4. Validación cruzada. La precisión del modelo fue medida usando la herramienta de validación cruzada mediante el método dejar uno afuera (Leave One Out, por sus siglas en inglés), debido a que la estimación del error es mucho más estable con respecto a otros tipos de herramientas y además, no tiende a sobrestimar la estimación del error (Cordero et al., 2019; Jumtee et al., 2011; Owusu, Petersen, & Heimdal, 2013; Singh, Malik, Basant, & Saxena, 2007; Thomsen et al., 2012; Zhu et al., 2015).

En la figura 19 se esquematiza la estructura como trabaja esta herramienta (Domenech, 2011); Khandelwal, 2018).

Los parámetros que fueron usados para evaluar la exactitud, precisión y predicción de los seis modelos fueron: Raíz del error cuadrático medio (RMSE), la pendiente de la línea de regresión entre el valor real y el predicho (Slope), el intercepto con el eje Y (offset), el coeficiente de determinación (R2) y el coeficiente de correlación de Pearson. A continuación, se definen cada uno de ellos.



Descripción de la figura 19: Cada cuadro azul corresponde a un licor de cacao. En el momento de la validación cruzada (dejando uno afuera), se escoge el primer licor de cacao (cuadro rojo) y se retira de los demás datos, obteniendo el modelo con los 19 licores restantes (clasificación). Al obtenerse el modelo con los 19 licores restantes, se utiliza el licor de cacao que se extrajo (se dejó por fuera) para ser introducido en este modelo obtenido, con el fin de evaluar la exactitud y precisión del modelo (evaluación). Después de esto, se introduce a los datos el licor de cacao que se había retirado con anterioridad y se extrae un nuevo

licor de cacao diferente al extraído en la primera instancia (segundo cuadro rojo) para solo dejar uno afuera. Igualmente, se obtiene el modelo con los 19 licores restantes y, el nuevo licor de cacao que se había retirado se introduce para evaluar la exactitud y precisión del modelo nuevamente. Este procedimiento se realiza hasta que los 20 licores de cacao hayan quedado por fuera uno solo a la vez. Los valores de la validación cruzada se obtienen del promedio de los valores de los 20 licores de cacao (media).

Figura 19. Validación cruzada utilizando el método dejar uno afuera.

3.5.4.1. Raíz del error cuadrático medio (Root Mean Square Error, RMSE). Es

la raíz de la diferencia entre valor real y el valor estimado de un modelo. Este error es positivo y se comporta como la desviación estándar de la variable dependiente. Cuando este error obtiene un valor de 0, indicará un ajuste perfecto de los datos (sin desviación). Sin embargo, hay que tener en cuenta que para comparar este tipo de errores solo será válido si se trabaja con la misma escala ya que depende de ésta (Gemperline, 2006; Wehrens, 2011). Se calcularon 3 diferentes errores para cada modelo, como se muestra a continuación:

RMSEC (Root mean square error of calibration). La raíz del error cuadrático medio de calibración se calcula mediante la diferencia de los datos de reales de las muestras con los datos estimados, este valor se eleva al cuadrado y se divide por el número total de muestras, así como se observa en la ecuación Eq-4 (Bugaud & Alter, 2016; Ribeiro et al., 2012; Singh et al., 2007; Teye et al., 2015).

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{ic})^2}{n}} \quad Eq-4$$

Donde, y_i son los valores reales de la muestra, \hat{y}_{ic} son los valores estimados por la calibración y n es el número de datos de muestra.

RMSEV (Root mean square error of validation). La raíz del error cuadrático medio de validación se calcula mediante la diferencia de los datos de reales de las muestras con los

datos estimados de la validación cruzada (dejando uno afuera); este valor se eleva al cuadrado y se divide por el número total de muestras, así como se observa en la ecuación Eq-5 (Bugaud & Alter, 2016; Ribeiro et al., 2012; Singh et al., 2007; Teye et al., 2015).

$$RMSEV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{iv})^2}{n}} \quad Eq-5$$

Donde, y_i son los valores reales de la muestra, \hat{y}_{iv} son los valores estimados por la validación y n es el número de datos de muestra

RMSEP (Root mean square error of prediction). La raíz del error cuadrático medio de predicción se calcula mediante la diferencia de los datos de reales de las muestras con los datos estimados de un conjunto de muestras diferentes; este valor se eleva al cuadrado y se divide por el número total de muestras, así como se observa en la ecuación Eq-6 (Bugaud & Alter, 2016; Ribeiro et al., 2012; Singh et al., 2007; Teye et al., 2015).

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{ip})^2}{n}} \quad Eq-6$$

Donde, y_i = son los valores reales de la muestra, \hat{y}_{ip} =son los valores estimados por la predicción y n es el número de datos de muestra

3.5.4.2. Pendiente (slope). Es la pendiente de la recta entre los datos observados y predichos. Se encuentra en un rango de 0-1. Cuanto más cercano este a 1, mejor se modelarán los datos

3.5.4.3. Intercepto (offset). Esta es la intersección de la recta de los datos con el eje Y cuando el eje X se establece en cero.

3.5.4.4. Sesgo (Bias). El sesgo examina la diferencia entre la media observada y un valor real. El sesgo indica cuál es la exactitud del sistema de medición cuando se compara con un valor de real.

3.5.4.5. Coeficiente de correlación de Pearson. Este coeficiente mide la dirección y la fuerza de la asociación y relación entre variables cuantitativas. Sus valores fluctúan entre -1 y 1. Cuando los valores se acercan a 1 significa que la asociación entre esas dos variables es exacta. Cuando no existe asociación entre las variables el valor es 0 (Pedroza & Dicovskyi, 2007). El signo de este coeficiente indica la dirección de asociación. Cuando el valor es positivo existe una correlación positiva; quiere decir, que cuando aumente la variable X, aumentara la variable de asociación Y. Por el contrario, si el valor es negativo se da una correlación negativa; quiere decir que cuando aumente la variable X, disminuirá la variable de asociación Y. Lo adecuado de este coeficiente es que podemos medir la covarianza entre dos variables sin que se vean afectadas las unidades de cada variable.

3.5.4.6. Coeficiente de determinación (R^2). El coeficiente de determinación se define como la proporción de la varianza total de la variable explicada por la regresión y es calculada por medio de la ecuación Eq-7. El coeficiente de determinación, también llamado r cuadrado, refleja la bondad del ajuste de un modelo a la variable que pretender explicar. Es importante saber que el resultado del coeficiente de determinación oscila entre 0 y 1. Cuanto más cerca de 1 se sitúe su valor, mayor será el ajuste del modelo a la variable que estamos intentando explicar. De forma inversa, cuanto más cerca de cero, menos ajustado estará el modelo y, por tanto, menos fiable será (Economipedia, 2012; Schneider, Hommel, & Blettner, 2010).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad \text{Eq-7}$$

Donde, y_i son los valores de la variable dependiente, \hat{y}_i son los valores predichos de la variable dependiente y \bar{y}_i es la media de los datos de la variable dependiente

3.6. Etapa VI. Elaboración de informes

3.6.1. Preparación de informes parciales. Durante la ejecución del proyecto se realizaron varios informes parciales con el fin de evaluar y dar a conocer cada objetivo alcanzado mostrando cada alcance obtenido en cada etapa.

3.6.2. Presentaciones y elaboración de artículos. Se realizaron dos presentaciones, una ponencia nacional en la jornada de socialización de poster de la escuela de Ingeniería Química perteneciente a la Universidad Industrial de Santander, obteniendo como resultado el mejor poster de maestría 2017- I, y una ponencia internacional en el Congreso Mundial

de Ciencia y Tecnología de Alimentos organizado por Conference Series IIC Ltd obteniendo como resultado la mejor presentación poster de ciencia y tecnología en alimentos 2018. Además, están en proceso de publicación dos artículos científicos uno relacionado con el desarrollo un método de semi-cuantificación de compuestos volátiles presentes en los licores de cacao y el otro con el desarrollo de modelos matemáticos para la predicción de perfiles sensoriales de licores de cacao.

3.6.3. Realización del informe final. Al finalizar toda la parte experimental, se redactó el informe final con el fin de almacenar los resultados logrados en el trabajo investigativo de la tesis de maestría.

4. Resultados

En esta sección se presentan los resultados obtenidos, con su respectivo análisis, siguiendo la metodología descrita anteriormente.

4.1. Análisis del material vegetal

En esta etapa se presentan los resultados referentes al cumplimiento de las especificaciones de la NTC 1252 con respecto a la prueba de corte. Seguidamente, los granos de cacao que cumplieron con la norma continuaron con el proceso de tostado y molienda, y se obtuvieron licores de cacao BF y AZ de cada variedad.

4.1.1. Prueba de corte. En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos de la prueba de corte para cada una de las 10 variedades analizadas (datos obtenidos por medio de una experta en cacao de la empresa Agrosavia). Según la norma NTC 1252 (ICONTEC, 2012), los granos de cacao trabajados y mostrados en la tabla 10 se clasifican en dos categorías: cacao corriente y premium. En efecto, se aprecia que la variedad 9 (Var9) se clasifica como cacao corriente puesto que superan el límite de granos insuficientemente fermentados (28/100 granos) de un cacao premium. La NTC 1252 especifica que, para un cacao premium, debe haber un máximo de 25/100 granos insuficientemente fermentados y para cacao corriente un máximo de 35/100 granos (ver tabla 3). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la Var9 supera los 25/100 granos insuficientemente fermentados que los podría haber catalogado como granos premium.

Tabla 10.

Prueba de corte de las 10 variedades de cacao trabajadas.

REQUISITOS	Variedades				
	Var1	Var 2	Var 3	Var 4	Var 5
Contenido de humedad en % (m/m)	6.9	7.2	6.7	7.4	6.9
Contenido de impurezas o materias extrañas en % (m/m)	0	0	0	0	0
Grano mohoso interno, número de granos/100 granos	0	0	0	0	0
Grano dañado por insectos y/o germinados, número de granos/ 100 granos	0	0	0	0	0
Contenido de pasilla, número de granos/100 granos	0	0	0	0	0
Índice de grano	1.61	1.81	1.60	2.94	2.10
Granos bien fermentados, número de granos/ 100 granos	83	87	82	80	85
Granos insuficientemente fermentados, número de granos/ 100 granos.	17	13	18	20	15
Granos pizarrosos, número de granos/100 granos	0	0	0	0	0

Tabla 11.

Continuación prueba de corte de las 10 variedades de cacao trabajadas.

REQUISITOS	Variedades				
	Var 6	Var 7	Var 8	Var 9	Var 10
Contenido de humedad en % (m/m)	7.2	6.8	7.1	7	6.9
Contenido de impurezas o materias extrañas en % (m/m)	0	0	0	0	0
Grano mohoso interno, número de granos/100 granos	0	0	0	0	0

Grano dañado por insectos y/o germinados, número de granos/ 100 granos	0	0	0	0	0
Contenido de pasilla, número de granos/100 granos	0	0	0	0	0
Índice de grano	1.79	2.00	2.10	1.10	1.84
Granos bien fermentados, número de granos/ 100 granos	88	76	78	72	77
Granos insuficientemente fermentados, número de granos/ 100 granos.	12	24	22	28	23
Granos pizarrosos, número de granos/100 granos	0	0	0	0	0

Por otro lado, las variedades 1,2,3,4,6,7,8 y 10 (Var1, Var2, Var3, Var4, Var5, Var6, Var7, Var8, Var10) se clasifican como cacaos premium puesto que no superaron la cantidad máxima de granos insuficientemente fermentados (25/100). De igual manera, ninguna de las variedades superó el porcentaje máximo de humedad (7-8%) y, además, no se identificaron granos pasilla, mohosos o germinados, mostrando un buen nivel de limpieza, de fermentación y de secado de los granos de cacao trabajados. También se observa el peso de 100 granos de cada variedad de cacao, mostrando que la variedad con mayor índice de grano es la Var4 con 2.94 y la menor es la Var9 con índice de grano de 1.10. El bajo índice de grano de la Var9 pudo afectar el nivel de fermentación el cual fue catalogado cacao corriente por la NTC 1252.

A pesar de lo difícil que es mantener la homogeneidad durante el proceso de fermentación y la importancia que cobra implementar un proceso donde las variables (temperatura y humedad) sean controladas en un rango específico, estos resultados mostraron buena homogeneidad evitando problemas de fermentación.

Si bien, todas las variedades pasaron los estándares mínimos requeridos por la norma, se decidió seleccionar de cada variedad sólo granos BF con el fin de identificar los compuestos asociados con percepciones agradables y granos al AZ para identificar los compuestos asociados con las percepciones de un cacao normal.

4.2. Extracción de compuestos volátiles

En esta sección se presentarán los principales resultados asociados con la estandarización de la técnica SPME-GC usada para la extracción de compuestos volátiles a partir de licores de cacao.

4.2.1. Optimización de las condiciones de extracción de los compuestos volátiles usando SPME-GC-FID. En la tabla 11 se muestra la evolución de las áreas totales obtenidas por los compuestos volátiles adsorbidos sobre la superficie de la microfibra en función de la temperatura y tiempo de exposición.

Tabla 12.

Valores de las variables de entrada (temperatura y tiempo) y de salida (área total) obtenidas mediante el diseño de superficie de respuesta

<i>Corrida</i>	<i>Bloque</i>	<i>Temperatura</i> °C	<i>Tiempo</i> <i>Min</i>	<i>Área</i> <i>Área</i>
1	1	45.8579	37.5	2889.3
2	1	50	15	2193.1
3	1	50	60	3550.4
4	1	60	5.68019	2104.9
5	1	60	37.5	3407.7
6	1	60	37.5	3494.5
7	1	60	37.5	3530.8
8	1	60	37.5	3587.3
9	1	60	37.5	3588.2
10	1	60	69.3198	4373.8
11	1	70	15	2989.8

12	1	70	60	4004.6
13	1	74.1421	37.5	4370.7
14	2	45.8579	37.5	2786.2
15	2	50	15	2020.9
16	2	50	60	3552.2
17	2	60	5.68019	2090.6
18	2	60	37.5	3424.9
19	2	60	37.5	3471.4
20	2	60	37.5	3474.4
21	2	60	37.5	3479.7
22	2	60	37.5	3669.8
23	2	60	69.3198	4274.3
24	2	70	15	2835.4
25	2	70	60	4070.4
26	2	74.1421	37.5	4455.4

De los resultados obtenidos en la tabla 11, se observa que en promedio los errores relativos asociados con las áreas de la prueba y la réplica no superan 8%. A partir de este resultado, se infiere que la capacidad de absorción de la fibra y la extracción de los compuestos de interés es aproximadamente constante. Además, los resultados obtenidos fueron graficados en forma de superficie de respuesta (figura 20). Según la optimización realizada en el software TIBCO STATISTICA versión 13.5, las condiciones óptimas de tiempo y temperatura para maximizar el área total (variable de respuesta del diseño) de los compuestos volátiles extraídos por SPME fueron de 69 minutos y 74°C respectivamente. Un análisis más detallado de la gráfica 20, muestra que el incremento en el área obtenida de los compuestos volátiles deja de ser apreciable para valores de tiempo mayores a 60 minutos; a partir de este tiempo, la pendiente de la curva área vs tiempo tiende a valores cercanos a cero.

Este comportamiento fue observado previamente por Pini, De Brito, García, Valente, & Augusto (2004), quien explica que la pendiente de la curva tiende a reducirse debido al equilibrio

que ocurre entre la microfibras y la fase de vapor del espaciado de cabeza del vial conforme se alcanza el tiempo de 60 minutos.

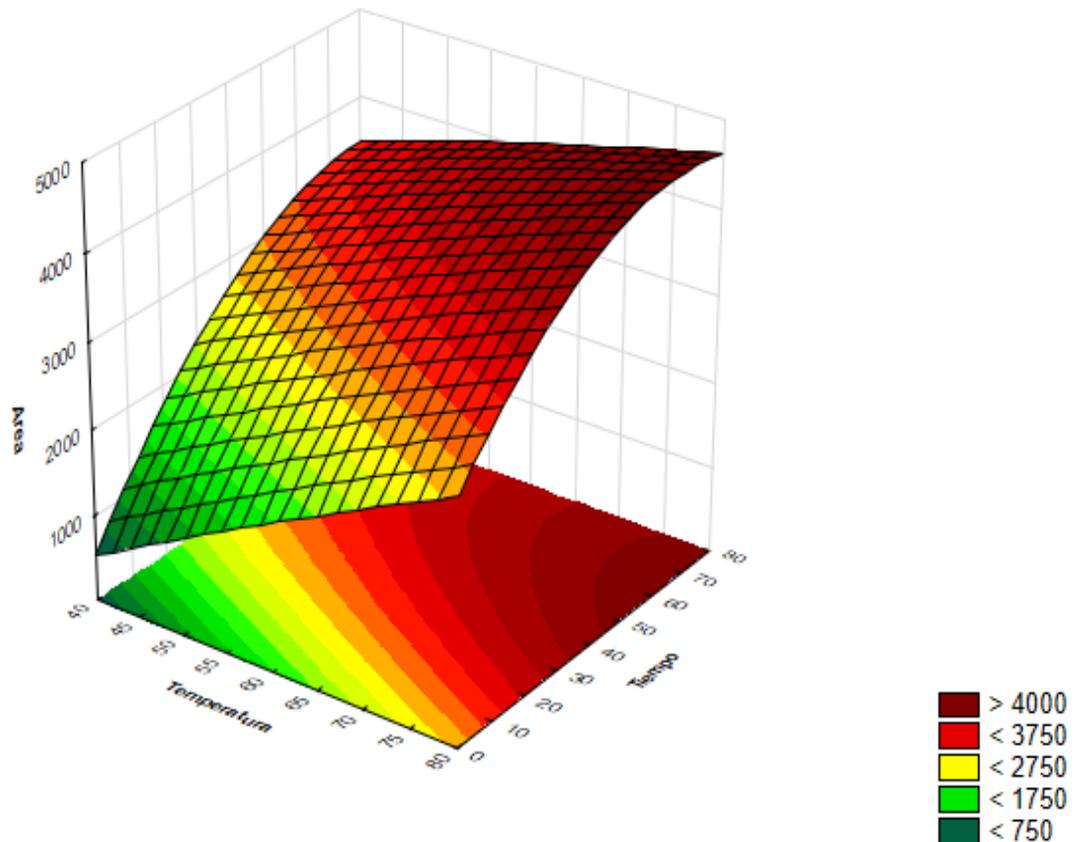


Figura 20. Superficie de respuesta estimada para la extracción de volátiles por SPME-GC-FID

Por otra parte, Ducki et al., (2008), corroboraron que cuando se alcanzan temperaturas superiores a 65°C, el licor de cacao tiende a liberar algunos compuestos que no se encuentran asociados con compuestos de aroma. Considerando lo expuesto en los párrafos anteriores, se decidió trabajar a una temperatura de 60°C y un tiempo de exposición de 40 minutos. Esta decisión implica una pérdida relativa de área total de 15% pero previene posibles interferencias con compuestos que no están asociados a compuestos de aroma.

Los resultados acá obtenidos concuerdan con los previamente reportados por diversos autores. Así, por ejemplo, Ducki et al., (2008), Moreira et al., (2018), Pallares-pallares et al., (2016), Rodriguez-Campos et al., (2011), extrajeron los compuestos volátiles con la microfibras DVB/CAR/PDMS a un tiempo y temperatura óptimos de 30 min y 60°C respectivamente. Otros autores como Tran et al., (2015) y Noguera (2014) extrajeron a la misma temperatura, pero con tiempos de 35 min y 60 min, respectivamente.

4.3. Identificación y cuantificación de compuestos volátiles usando SPME-GC-MS/FID

La extracción de los compuestos usando SPME se realizó a las condiciones descritas como óptimas en la sección anterior (60°C y 40 min). En la figura 21 se puede observar el cromatograma obtenido para el licor Var4AZ obtenido por el software MSD ChemStation. En el cromatograma, se observan 69 picos, cada uno de ellos asociados con un compuesto. Los picos fueron identificados comparando las intensidades y relaciones de masa/carga (m/z) obtenidas por el software con la base de datos Wiley 8.

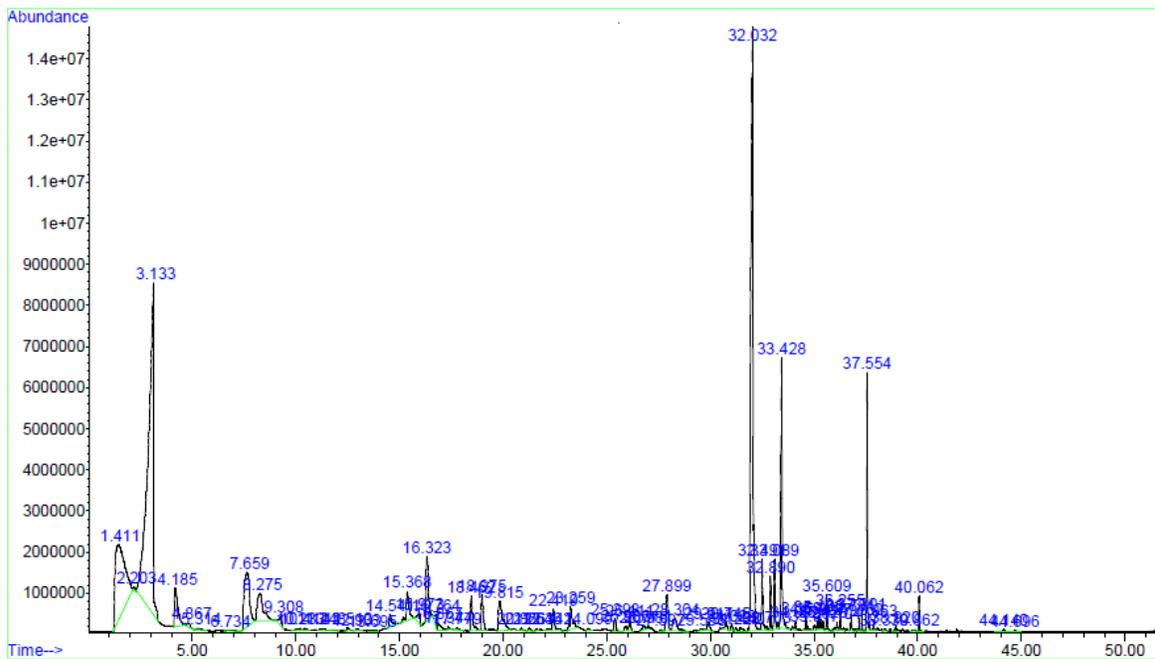


Figura 21. Cromatograma del licor Var4AZ en GC-MS

Por ejemplo, para conocer la identidad del pico con tiempo de retención de 3.133 min, primero se obtuvo el espectro de masa mostrado en la figura 22a. En dicho espectro, se observa que el pico con tiempo de retención de 3.133 min tiene como señales características las relaciones m/z 28, 43, 45 y 60 (uma) con intensidades de 13%, 100%, 93.84% y 65.33% respectivamente. En las figuras 22b, 22c y 22d se aprecian los espectros de los compuestos encontrados en la base de datos Wiley 8 de espectros de masa que más coinciden con el pico bajo análisis. En la parte inferior de la figura 22, se observa la siguiente información de izquierda a derecha: 1) nombre del compuesto a comparar, 2) referencia (Ref\#), 3) número CAS (CAS\#) y 4) calidad (Qual). El parámetro que mide que tan idéntico es el pico bajo análisis con los compuestos sugeridos por la base de datos es la calidad (Qual). Así las cosas, se observa que hay un 91% de coincidencia del pico analizado con los 3 compuestos analizados por la base de datos Wiley 8.

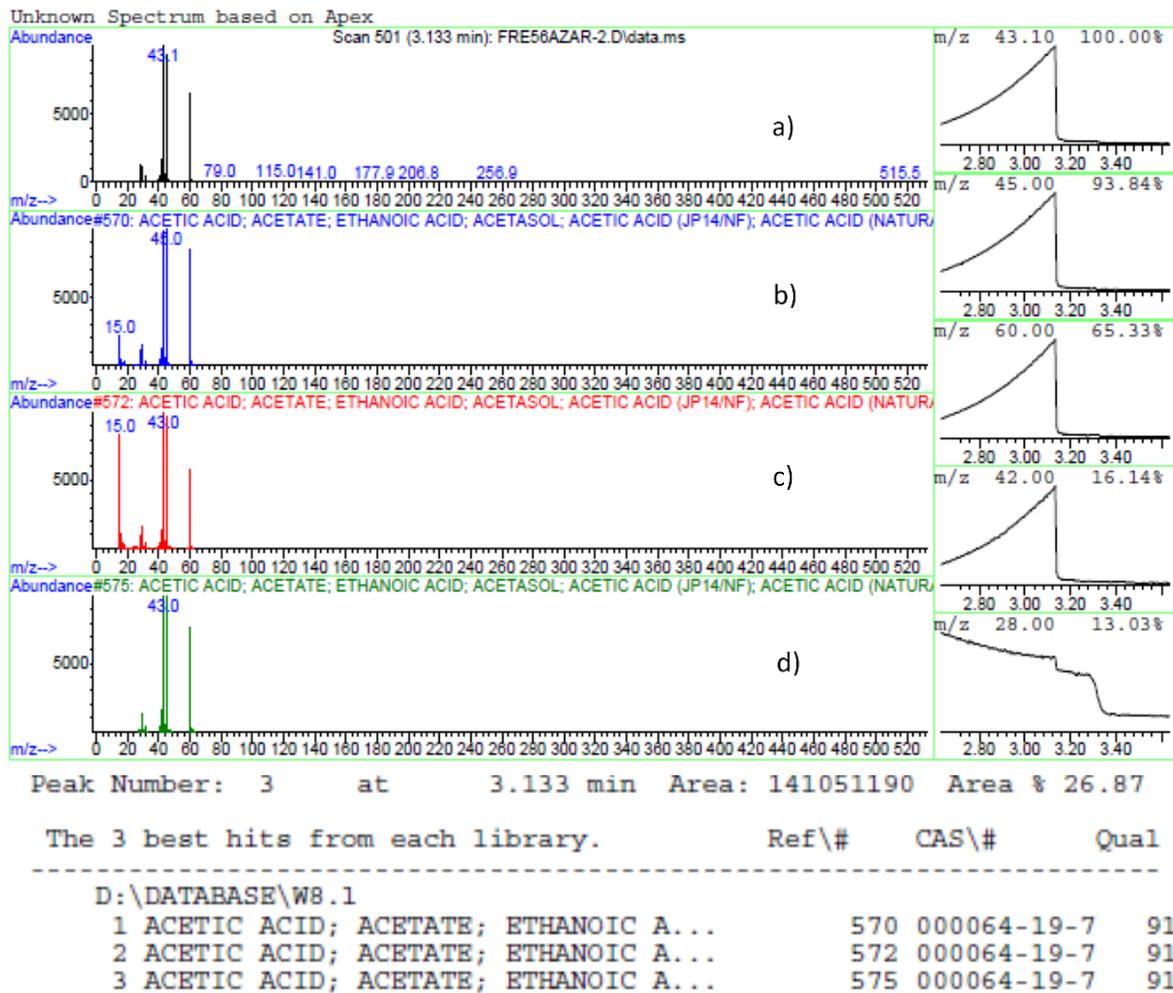


Figura 22. a) Espectro de masa para el pico a identificar (t: 3.133). b), c), d) Compuestos con espectros de masa similares obtenidos por la biblioteca Wiley 8

Sin embargo, con este resultado, es apresurado concluir que este pico corresponda al compuesto ácido acético. Por lo tanto, para asegurar la identidad del compuesto, se procedió a calcular el índice de retención de Kovats (IK). Este índice se calcula por medio de la ecuación Eq-1 (ver sección 3.3.1) remplazando los valores de tiempo de retención del patrón de hidrocarburos con el tiempo del pico de interés como se muestra a continuación:

$$IK_{2,3-but} = 100 * (6) + 100 \left[\frac{3.133 \text{ min} - 2.726 \text{ min}}{4.705 \text{ min} - 2.726 \text{ min}} \right]$$

$$IK_{2,3-but} = 620.56$$

Con el valor del IK, ahora se procede a comparar con la biblioteca NIST SRD 69 para confirmar la identidad del pico de la siguiente manera:

I. Se busca el compuesto por el número de registro del CAS (figura 23)

NIST National Institute of Standards and Technology
U.S. Department of Commerce

Libro del Web de Química del NIST, SRD 69

🏠 Búsquedas ▾ Datos de NIST ▾ Sobre ▾

Acetic acid

- **Fórmula:** C₂H₄O₂
- **Peso molecular:** 60.0520
- **IUPAC InChI Estándar:**
 - InChI=1S/C2H4O2/c1-2(3)4/h1H3, (H, 3, 4)
 - [Descarga el identificador en un archivo..](#)
- **IUPAC InChIKey Estándar:** QTBSEBXVTEAMEQO-UHFFFAOYSA-N
- **Número de registro CAS:** 64-19-7
- **Estructura química:**

Esta estructura está también disponible como [2d Mol file](#) o como [computed 3d SD file](#).
- **Isoanálogos:**
 - [Acetic acid-d4](#)
- **Otros nombres:** Ethanoic acid; Ethylic acid; Glacial acetic acid; Methanecarboxylic acid; Vinegar acid; CH₃COOH; Acetasol; Ethanoic acid monomer; NSC 132953
- **Información en esta página:**
 - [Cromatografía de gas](#)
 - [References](#)
 - [Notes](#)
- **Otros datos disponibles:**

Figura 23. Búsqueda de compuesto de interés

II. En la base de datos del compuesto, se selecciona cromatografía de gases. Siguiendo a esto, se procede a buscar el tipo de columna utilizada con rampa de calentamiento similares; en

este caso, la columna capilar HP5-MS, no polar, con temperatura programada, así como lo muestra la figura 24.

III.

Normal alkane RI, non-polar column, temperature ramp

[View large format table.](#)

Column type	Active phase	I	Reference
Capillary	Optima-5 MS	609.	Goeminne, Vandendriessche, et al., 2012
Capillary	DB-5	640.	Cais-Sokolinska, Majcher, et al., 2011
Capillary	VF-5 MS	587.	Leffingwell and Alford, 2011
Capillary	VF-5 MS	588.	Leffingwell and Alford, 2011
Capillary	DB-5 MS	623.	Majcher, Lawrowski, et al., 2010
Capillary	HP-5 MS	622.	Pino, Marquez, et al., 2010

Figura 24. Búsqueda de la columna y características similares

Al comparar el IK obtenido por la fórmula ($IK=620.56$) con el encontrado en la base de datos ($IK=622$), se observa que no supera las 10 unidades de diferencia, que, según Bianchi, Careri, Mangia, & Musci (2007), la diferencia máxima aceptable para asegurar la identificación del pico es de 10 unidades. Igualmente, Lucero et al., (2009), menciona que un rango aceptable para lograr una identificación precisa es tomando una desviación de ± 10 unidades. De esta manera, se realizó la identificación para cada uno de los demás picos encontrados en cada licor de cacao. Los 20 cromatogramas se pueden observar en el apéndice F.

Se identificaron y se cuantificaron 77 compuestos volátiles presentes en los 20 licores de cacao obtenidos de las 10 variedades del departamento de Santander. En la tabla 12 se observan los compuestos identificados por GC-MS con sus respectivos IK y percepción sensorial encontrada en la literatura. Se obtuvieron 6 pirazinas, 8 ácidos, 8 aldehídos, 10 cetonas, 11 alcoholes, 19

ésteres, y 15 compuestos de otros grupos funcionales como terpenos, pironas, furanos, nitrilos, pirroles; de estos resultados, los ésteres y los alcoholes fueron las familias con mayor número de compuestos de aroma representando un 25% y 15% del total de compuestos respectivamente.

Resultados similares fueron reportados por Afoakwa et al., (2008), Aprotosoai et al., (2016), Batista et al., (2016), Bonvehí, (2005), Ducki et al., (2008), Frauendorfer & Schieberle (2008), Krings et al., (2006), Misnawi & Sari (2011), Moreira et al., (2018), Noguera (2014), Pallares-pallares et al., (2016), Tran et al., (2015), mencionados en la sección 1.10.2, en los cuales los compuestos que aparecieron constantemente en las diferentes matrices de cacao (polvo y licor de cacao) fueron ácido acético, ácido 3-metilbutanoico, 2-feniletanol, linalool, 2-heptanol, 2,3-butanodiol, 2-propanol, benzaldehído, fenilacetaldehído, 3-hidroxi-2-butanona, acetofenona, 2-heptanona, 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, acetato de 2-fenietilo, acetato de etilo, acetato de 3-metilbutilo, octanoato de etilo, metoxiacetato y 2-acetilpirrol. Además, cada uno de estos compuestos fue asociado con una percepción de aroma basado en las cualidades olorativas de los compuestos. Estos investigadores concuerdan que la presencia de aldehídos como benzaldehído, fenilacetaldehído, 2-fenil-2-butenal en el polvo y en licor de cacao se asocian con la probabilidad de tener percepciones dulces, cacao y chocolate. Así mismo, los mismos autores han evidenciado que la presencia de alcoholes como el 2,3 butanodiol, 2-heptanol, linalool, 2-feniletanol, confieren a los licores de cacao percepciones asociadas con notas florales y herbales. También mencionan que cetonas como la 3-hidroxi-2-butanona, 2-heptanona, 2-nonanona y ésteres como el acetato de 3-metilbutilo, octanoato de etilo, dodecanoato de etilo, 3-fenil-2-propenoato de etilo les confieren a los licores de cacao percepciones asociadas con mantequilla-floral y frutal respectivamente.

Tabla 13.

Compuestos volátiles identificados en las 10 variedades de cacao por GC-MS y corroborados mediante índices de retención de Kovats.

Grupo funcional	#	Compuestos volátiles	Índices de Kovats		Calidad	Percepción sensorial
			Calculado	Literatura		
Ácidos	1	Ácido acético	625	622	97	Vinagre, ácido, rancio
	2	Ácido propanoico	710	702	77	Rancio
	3	Ácido 2-metilpropanoico	779	785	80	Manteca, rancio
	4	Ácido Butanoico	799	795	82	Rancio
	5	Ácido 3-metilbutanoico	854	848	93	Queso acre, rancio
	6	Ácido 2-metilbutanoico	864	858	85	Queso, rancio
	7	Ácido hexanoico	997	999	81	Rancio, metálico
	8	Ácido octanoico	1197	1201	74	Queso, rancio, manteca
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	698	700	85	Floral
	10	3-metilbutanol	733	730	83	Floral
	11	2-pentanol	736	706	83	Floral
	12	2,3-butanodiol	782	782	91	Floral
	13	2,3-butanodiol	792	793	90	Floral
	14	2-heptanol	894	894	95	Floral, hierba
	15	Fenilmetanol	1024	1030	86	Floral, cítrico
	16	1-octanol	1067	1068	73	Floral
	17	β -linalool	1090	1092	97	Floral
	18	2-nonanol	1094	1098	88	Floral
	19	2-feniletanol	1108	1110	95	Floral, rosas,
Aldehídos	20	3-metilbutanal	642	648	74	Malta, dulce, chocolate
	21	Benzaldehído	955	959	96	Dulce, almendras
	22	Fenilacetaldehído	1029	1029	81	Dulce, nuez
	23	Decanaldehído	1185	1188	88	Tostado, nuez
	24	4-etilbenzaldehido	1191	1094	92	Dulce, almendras
	25	2-fenil-2-butenal	1277	1281	97	Dulce, cacao, almendras

	26	4-metil-2-fenil-2-pental	1378	1383	74	Cacao, dulce
	27	5-metil-2-fenil-2-hexenal	1475	1483	81	Cacao, dulce
Cetonas	28	2,3-Butanodiona	590	591	88	Floral, frutal
	29	3-hidroxy-2-butanona	705	710	95	Mantequilla, frutal
	30	2-heptanona	882	889	82	Floral, frutal
	31	3-hepten-2-ona	929	942	72	Floral
	32	2-octanona	987	985	75	Floral, herbal
	33	3-metil-2-ciclohexenona	1046	1039	84	
	34	2,6-heptadiona	1049	N.E	77	
	35	1-feniletanona	1060	1062	92	Floral, almendras
	36	2-nonanona	1087	1087	90	Floral, frutal
	37	2-undecanona	1287	1292	93	Floral, herbal
	Ésteres	38	Acetato de 2-pentilo	842	843	84
39		Acetato de 3-metilbutilo	867	867	91	Banano, frutal
40		Acetato de 2-metilbutilo	886	883	86	Frutal
41		Hexanoato de etilo	991	997	80	Manzana, frutal
42		Acetato de hexilo	1000	1008	74	Frutal
43		Acetato de 2-heptilo	1038	1043	89	Frutal
44		2-butanodiol-diacetato	1066	1066	90	
45		Acetato de benzilo	1154	1161	88	Pera, frutal, floral
46		Benzoato de etilo	1162	1168	88	Frutal, floral
47		2-fenilacetato de metilo	1166	1177	72	Frutal, dulce
48		Butandioato de dietilo	1167	1167	79	Frutal
49		Octanoato de etilo	1184	1192	94	Manzana, dulce
50		2-fenilacetato de etilo	1251	1255	97	Frutal, dulce
51		Acetato de 2-feniletilo	1258	1264	98	Frutal, dulce
52		3-fenilpropanoato de etilo	1350	1353	85	Frutal
53		Decanoato de etilo	1384	1392	94	Frutal, miel
54		3-fenil-2-propenoato de etilo	1451	1462	81	Frutal, canela
55		Dodecanoato de etilo	1594	1591	87	Frutal
56	Butanoato de 2-feniletilo	1625	N.E	84		
Otros	57	2-furancarboxaldehido	809	820	74	Dulce, caramelo
	58	2-furanmetanol	834	850	70	Dulce, floral
	59	Dihidro-2(3H)Furanona	906	910	76	

60	β -pineno	964	968	81	Pino, floral
61	Benzonitrilo	983	989	97	Almendras
62	β -mircerol	986	983	88	Floral, frutal, picante
63	3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno	1026	1028	73	
64	γ -Terpineno	1050	1050	85	Herbal, floral, limon
65	2-acetilpirrol	1062	1060	98	Chocolate, cacao
66	2,4,6-octatrieno-2,6-dimetil (allo-ocimeno)	1125	1128	73	Dulce, herbal
67	2-fenilacetnitrilo	1133	1140	74	
68	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	1137	1149	97	
69	6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol	1165	1173	77	
70	α -terpineol	1174	1179	73	Floral, lila
71	2-piperidiona	1186	1082	71	
Pirazinas					
72	2,3-dimetilpirazina	909	911	87	Nuez, cacao, tostado
73	2,3,5-trimetilpirazina	993	991	91	Nuez, tostado
74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	1073	1079	82	Tostado
75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	1081	1086	99	Nuez, almendras
76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	1147	1155	74	Nuez
77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	1173	N.E	87	Almendras

Construida por el autor a partir de los cálculos y las fuentes mencionadas.
 N.E: No Encontrado

Fuente: Afoakwa et al., (2008);(2009), Aprotosoai et al., (2016), Bonvehí (2005), Cordero et al., (2019), Counet et al., (2002), Ducki et al., (2008), Frauendorfer & Schieberle (2008), Gualdrón & Guarín (2017), Krings et al., (2006), Misnawi & Sari (2011), Noguera (2014), Pallares-pallares et al., (2016), Pini et al., (2004), Scheu et al., (2001), Tran et al., (2015).

En lo que respecta a las pirazinas tales como la 2,3,5,6-tetrametilpirazina y 2,3,5-trimetilpirazina se asocian con las percepciones a nuez, cacao y tostado. Por lo tanto, los compuestos identificados en la tabla 12 sugieren que los licores obtenidos en este trabajo puedan tener este tipo de características sensoriales.

Por otra parte, se encontraron dos compuestos nuevos que no habían sido reportados previamente en licores de cacao como la 3-metil-2-ciclohexanona y el epoxi linalol (6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol). Sin embargo, a la fecha, estos compuestos no han sido relacionados con un aroma o percepción sensorial particular. Así mismo, para compuestos previamente reportados en matrices de cacao como 2-butanodiol-diacetato, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona, 2-fenilacetnitrilo, 3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno y la 2,6-heptadiona mostrados en la tabla 12 no se encontraron reportes sobre algún aroma relacionado.

En la tabla 13 se observan las concentraciones obtenidas para cada compuesto en cada licor de cacao, y en las figuras 25 y 26, se muestran las concentraciones por familia de compuestos para los 20 licores de cacao. Según las figuras 25 y 26, con respecto a la familia de los ácidos, se observa que sus concentraciones en los licores BF, se reducen en un 22% en promedio con respecto a las concentraciones obtenidas en los licores AZ; este resultado se explica debido a que los licores BF solo consideran granos bien fermentados, lo cual, reduce la cantidad de ácido proveniente de los granos insuficientemente fermentados. Analizando el comportamiento del ácido acético en la tabla 13 (compuesto con mayor concentración de los ácidos, 13.7 mg/kg promedio en los licores BF y 18.1 mg/kg promedio en los licores AZ; asociado con percepciones a vinagre), la reducción en los licores BF fue 24% con respecto a los licores AZ; con excepción del licor Var9BF que tuvo un leve aumento de 2% para este ácido. Esto se debe a que los granos de este licor de cacao fueron los que obtuvieron mayor número de granos insuficientemente fermentados como se observa en la tabla 10. La reducción de las concentraciones de ácidos en los licores BF, puede verse reflejada en una mejora en la percepción sensorial minimizando los aromas de vinagre, rancio y agrío que son característicos de los ácidos en el cacao. Otros ácidos que se asocian con percepciones

desagradables son el ácido 3-metilbutanoico y el ácido 2-metilbutanoico que presentan fuerte aroma a rancio. Estos dos ácidos disminuyeron sus concentraciones en licores BF en un 16% y 20% respectivamente.

Por otra parte, se observa en las figuras 25 y 26 que las concentraciones de los aldehídos aumentan en promedio un 19% en los licores BF con respecto a los licores AZ. Según Reineccius (2005), la reducción en las concentraciones de los ácidos, favorecen las reacciones de Maillard en la etapa de tostado, generando un aumento en las concentraciones de compuestos como aldehídos y pirazinas. En lo que respecta a los aldehídos, tanto en la literatura especializada como en este trabajo, el benzaldehído y el fenilacetaldéhidó son los compuestos que tienen las concentraciones más altas en esta familia; este hecho es favorable puesto que estos compuestos han sido asociados con aromas a almendras, dulce y caramelo (Afoakwa et al., 2008; Counet et al., 2002; Frauendorfer & Schieberle, 2008; Moreira et al., 2018; Pallares-pallares et al., 2016). Para el caso específico de este trabajo, las concentraciones promedio de benzaldehído y fenilacetaldéhidó en los licores BF y AZ fueron de 11.9 y 1.5 mg/kg promedio, y 9.6 y 1.3 mg/kg promedio respectivamente. También, a partir de la tabla 13, se calculó que la concentración de benzaldehído y fenilacetaldéhidó aumentó en promedio un 22% y 9.5% en los licores BF con respecto a los licores AZ. El compuesto 2-fenil-2-butenal y el 5-metil-2-fenil-2-hexenal aumentan su concentración en los licores BF en un 24% y 12% promedio respectivamente, el cual puede ser beneficioso, debido al aroma agradable a cacao tostado que desarrolla este tipo de compuestos.

Con respecto a la familia de las cetonas, las más reportadas en matrices de cacao son la 3-hidroxi-2-butanona (aroma a mantequilla, floral), la acetofenona (1-feniletanona) y la 2-nonanoa

(aroma a floral) (Bonvehí, 2005; Moreira et al., 2018; Pallares-Pallares et al., 2016; Tran et al., 2015), que son los compuestos cetónicos con mayor concentración en las variedades trabajadas (ver tabla 13); estas cetonas tienen concentraciones promedio en los licores BF y AZ de 1.2, 0.45 y 1.9 mg/kg y 1.5, 0.48 y 2 mg/kg respectivamente. Sin embargo, observando las figuras 25 y 26, a diferencia de los aldehídos, este grupo funcional se comporta similar al de los ácidos encontrándose en mayor concentración en las muestras AZ que en las muestras BF. Esto puede pasar, debido al efecto contrario que ocurre la presencia de los ácidos en las reacciones de Maillard; cuanto menor sea la concentración de ácidos presentes en la etapa de tostado, mayor será la concentración de aldehídos (Reineccius, 2005). A partir de esto, podría ocurrir que, si la concentración de los ácidos aumenta, la reacción de Maillard podría tomar otra dirección y producir compuestos cetónicos.

De los 19 ésteres identificados, el acetato de 3-metilbutilo, benzoato de etilo, octanoato de etilo, acetato de 2-feniletilo, 2-fenilacetato de etilo y el decanoato de etilo han sido ampliamente reportados en investigaciones similares teniendo en cuenta la identificación de compuestos volátiles presentes en los granos de cacao asociados con aromas agradables a frutas maduras (Aprotosoai et al., 2016; Counet et al., 2002; Krings et al., 2006; Moreira et al., 2016; Pallares-Pallares et al., 2016; Schnermann & Schieberle, 1997; Tran et al., 2015).

Tabla 14.

Concentraciones de los compuestos volátiles identificados en 2 de las 10 variedades de cacao analizadas (Continuación apéndice E)

Grupo funcional	No	Compuestos volátiles	Var1AZ		Var1BF		Var2AZ		Var2BF	
			Con. ^a (mg/kg)	Des. Est. ^b						
Ácido	1	Ácido acético	26.409	1.988	15.992	0.161	19.451	0.192	14.702	0.258
	2	Ácido propanoico	N/D	N/D	N/D	N/D	0.534	0.053	N/D	N/D
	3	Ácido 2- metilpropanoico	2.757	0.247	1.836	0.043	2.794	0.260	1.645	0.054
	4	Ácido Butanoico	0.156	0.003	0.109	0.010	0.428	0.002	0.496	0.011
	5	Ácido 3- metilbutanoico	3.423	0.240	1.981	0.012	2.835	0.024	2.489	0.059
	6	Ácido 2- metilbutanoico	2.181	0.030	1.037	0.017	1.307	0.083	1.048	0.008
	7	Ácido hexanoico	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	8	Ácido octanoico	0.141	0.006	0.141	0.012	0.187	0.017	0.162	0.015
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	0.211	0.008	0.087	0.006	N/D	N/D	0.076	0.004
	10	3-metilbutanol	0.330	0.024	0.214	0.019	0.138	0.011	0.106	0.008
	11	2-pentanol	0.407	0.020	0.374	0.005	0.471	0.014	0.429	0.003
	12	2,3-butanodiol	16.307	1.327	16.021	0.507	10.461	0.433	6.419	0.047
	13	2,3-butanodiol	4.351	0.292	6.056	0.284	3.796	0.147	3.700	0.015
	14	2-heptanol	3.511	0.201	1.622	0.025	4.562	0.295	3.638	0.023
	15	Fenilmetanol	0.080	0.008	0.119	0.001	0.133	0.011	0.104	0.004
	16	1-octanol	0.441	0.028	N/D	N/D	0.536	0.052	0.143	0.012
	17	β-linalool	0.120	0.008	0.148	0.000	0.793	0.071	0.216	0.020
	18	2-nonanol	4.337	0.006	3.133	0.102	12.055	0.616	12.021	0.500
	19	2-feniletanol	21.761	0.188	27.717	0.133	12.550	0.335	13.105	0.241
	20	3-metilbutanal	0.910	0.007	0.780	0.006	0.633	0.014	0.655	0.049
	21	Benzaldehído	12.624	0.429	14.297	0.262	12.901	0.343	13.528	0.240
	22	Fenilacetaldehído	1.921	0.174	1.688	0.016	1.232	0.077	1.345	0.048
Aldehídos	23	Decanaldehído	0.214	0.017	0.224	0.003	0.215	0.015	0.187	0.016
	24	4-etilbenzaldehído	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	25	2-fenil-2-butenal	0.922	0.007	1.101	0.024	0.542	0.047	0.608	0.016
	26	4-metil-2-fenil-2- pentenal	0.440	0.016	0.345	0.000	0.254	0.007	0.222	0.016
	27	5-metil-2-fenil-2- hexenal	0.161	0.008	0.248	0.019	0.130	0.008	0.158	0.008
Cetonas	28	2,3-Butanodiona	0.287	0.014	0.197	0.012	0.131	0.005	0.093	0.001
	29	3-hidroxy-2- butanona	2.551	0.165	1.520	0.029	1.822	0.134	0.961	0.025
	30	2-heptanona	0.329	0.003	0.129	0.006	1.009	0.037	0.592	0.019
	31	3-hepten-2-ona	0.018	0.001	N/D	N/D	0.035	0.002	0.031	0.001
	32	2-octanona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0.022	0.002
	33	3-metil-2- ciclohexenona	0.056	0.003	0.038	0.002	0.220	0.015	0.209	0.007

	34	2,6-heptadiona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	35	1-feniletanona	0.335	0.014	0.223	0.002	0.823	0.075	0.607	0.010
	36	2-nonanona	0.942	0.014	0.632	0.015	6.377	0.341	6.390	0.269
	37	2-undecanona	0.025	0.002	0.020	0.001	0.062	0.004	0.061	0.002
Ésteres	38	Acetato de 2-pentilo	N/D	N/D	0.435	0.028	0.724	0.052	0.512	0.018
	39	Acetato de 3-metilbutilo	1.189	0.017	1.439	0.079	1.396	0.068	0.775	0.018
	40	Acetato de 2-metilbutilo	5.129	0.522	0.353	0.030	1.028	0.015	0.591	0.018
	41	Hexanoato de etilo	1.149	0.074	0.869	0.017	0.584	0.034	0.302	0.018
	42	Acetato de hexilo	1.242	0.017	N/D	N/D	0.622	0.016	0.434	0.018
	43	Acetato de 2-heptilo	N/D	N/D	9.558	0.723	12.834	0.201	14.190	0.131
	44	2-butanodiol-diacetato	11.942	0.248	0.733	0.059	2.272	0.120	0.946	0.073
	45	Acetato de benzilo	0.721	0.001	0.991	0.071	1.358	0.122	1.012	0.017
	46	Benzoato de etilo	0.908	0.074	1.128	0.009	1.879	0.139	1.025	0.036
	47	2-fenilacetato de metilo	1.403	0.017	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	48	Butandioato de dietilo	N/D	N/D	0.516	0.026	0.381	0.035	0.302	0.018
	49	Octanoato de etilo	0.815	0.018	2.799	0.007	2.678	0.155	2.378	0.090
	50	2-fenilacetato de etilo	3.834	0.203	2.867	0.025	3.427	0.135	3.219	0.015
	51	Acetato de 2-feniletilo	3.206	0.071	42.808	0.220	33.739	2.715	30.338	0.538
	52	3-fenilpropanoato de etilo	36.401	1.519	0.761	0.020	1.282	0.051	0.355	0.018
	53	Decanoato de etilo	0.801	0.074	4.619	0.116	5.763	0.488	3.745	0.088
	54	3-fenil-2-propenoato de etilo	5.196	0.012	0.394	0.009	0.343	0.017	0.368	0.000
	55	Dodecanoato de etilo	0.347	0.000	0.693	0.040	0.914	0.034	0.762	0.073
	Otros	56	Butanoato de 2-feniletilo	0.708	0.018	1.019	0.006	1.003	0.087	0.880
57		2-furancarboxaldehido	0.191	0.003	0.111	0.009	0.269	0.025	0.288	0.029
58		2-furanmetanol	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
59		Dihidro-2(3H)Furanona	0.350	0.032	0.309	0.005	0.277	0.008	0.216	0.020
60		β -pineno	0.096	0.006	0.074	0.007	0.374	0.027	0.224	0.014
61		Benzonitrilo	0.128	0.003	N/D	N/D	0.294	0.005	0.288	0.017
62		β -mircerol	0.178	0.003	0.087	0.001	0.304	0.030	0.354	0.011
63		3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
64		γ -Terpineno	0.251	0.006	0.217	0.013	0.223	0.016	0.074	0.006
65		2-acetilpirrol	0.126	0.006	0.119	0.009	1.413	0.098	0.616	0.031
66		2,4,6-octatrieno-2,6-dimetil (allo-cymene)	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
67		2-fenilacetnitrilo	0.379	0.014	0.145	0.002	0.436	0.024	0.395	0.017
68		2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	0.515	0.005	0.249	0.003	0.324	0.030	0.334	0.011
69		6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol	0.107	0.003	0.049	0.002	0.209	0.019	0.161	0.011

	70	α -terpineol	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	71	2-piperidiona	0.124	0.009	0.151	0.005	0.497	0.038	0.171	0.003
Pirazinas	72	2,3-dimetilpirazina	0.291	0.020	0.302	0.011	0.201	0.017	0.225	0.015
	73	2,3,5-trimetilpirazina	0.984	0.035	0.896	0.006	1.005	0.027	0.810	0.012
	74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	30.971	0.675	39.905	0.253	19.295	0.382	21.272	0.958
	76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	0.188	0.005	0.212	0.008	0.144	0.010	0.145	0.010
	77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D

^aCon.= Concentración

^bDes. Est.= Desviación estándar

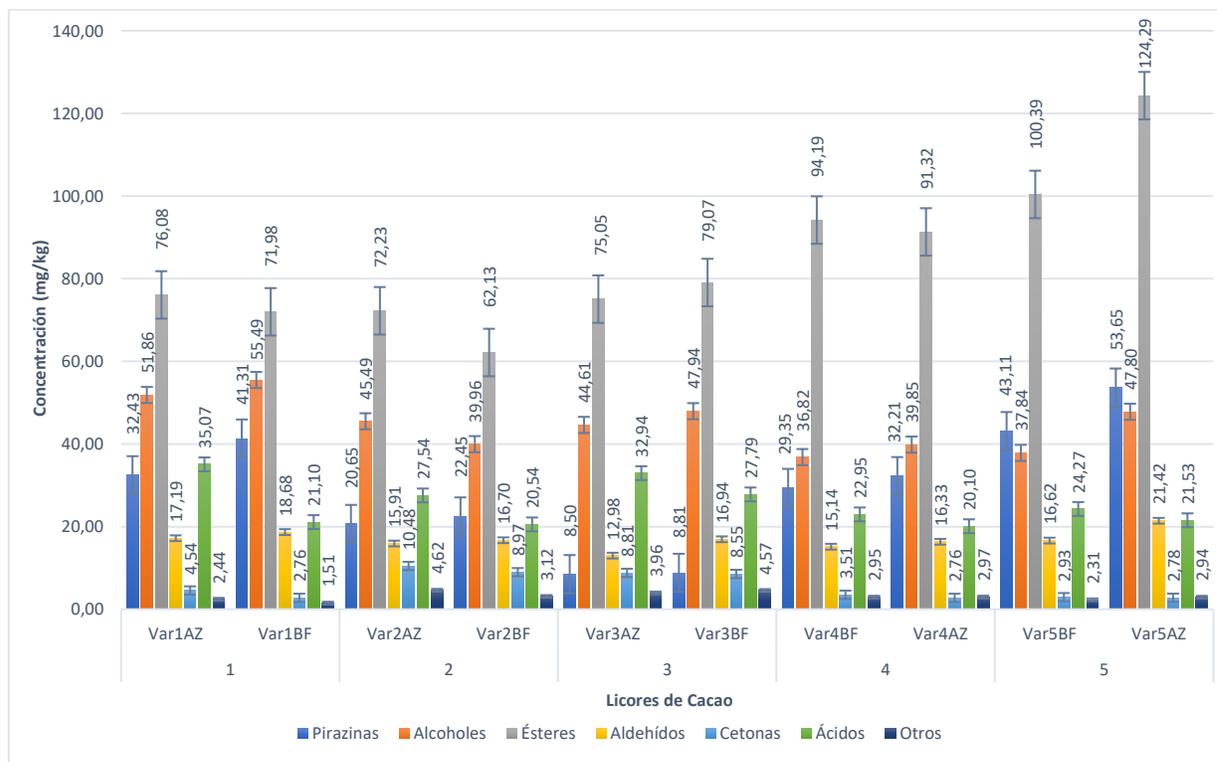


Figura 25. Concentraciones de cada familia de compuestos en cada licor de cacao (Var1, Var2, Var3, Var4, Var5).

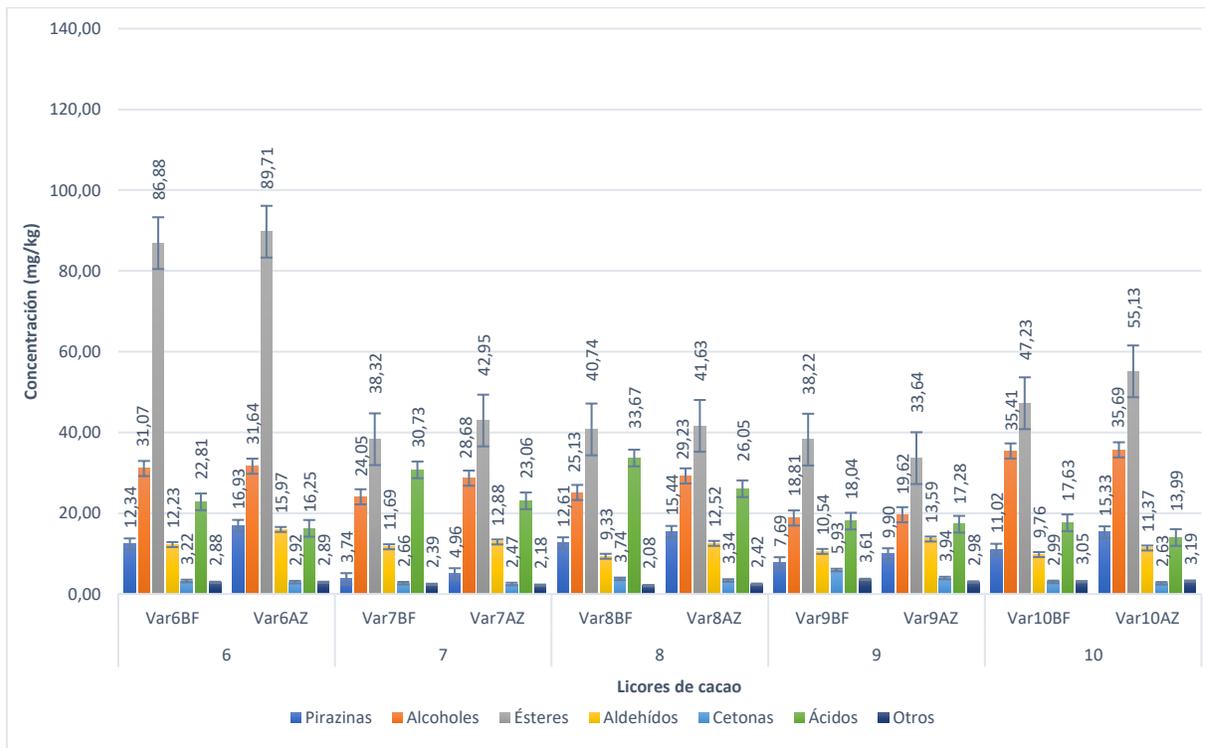


Figura 26. Concentraciones de cada familia de compuestos en cada licor de cacao (Var6, Var7, Var8, Var9, Var10).

Observando la tabla 13, se muestra un incremento de los compuestos tales como el acetato de 2-feniletilo, acetato de hexilo, acetato de 2-heptilo en los licores BF con respecto a los licores AZ de 10%, 62% y 5% respectivamente mientras que los compuestos como el acetato de 2-metilbutilo, acetato de 3-metilbutilo, benzoato de etilo y hexanoato de etilo tienen mayor concentración en los licores AZ con respecto a los licores BF de 30%, 9%, 10% y 12% respectivamente. De todos los ésteres identificados los de mayor concentración fueron el acetato de 2-feniletilo y el acetato de 2-heptilo con concentraciones promedio de 30 mg/kg y 9.7 mg/kg respectivamente, los cuales se asocian con propiedades sensoriales a frutal y dulce (Afoakwa et al., 2009; Moreira et al., 2018; Pallares-Pallares et al., 2016). Los compuestos como el acetato de 3-metilbutilo y acetato de 2-

metilbutilo que se encuentran asociados a aromas a frutas, relacionados con banana y pera (Batista et al., 2016; Chetschik et al., 2018), se reducen en un 8% y 30% respectivamente, en las muestras BF; esto debido a la reducción de sus ácidos 2-metilbutanoico y 3-metilbutanoico, compuestos precursores en las etapas fermentación y secado (Bonvehí, 2005; Van Praag, Stein, & Tibbetts, 1968). Compuestos como el 2-fenilacetato de metilo, acetato de hexilo, butanodiato de dietilo no aparecen en todas las muestras (tabla 13), y son poco nombrados en las matrices de cacao; sin embargo, aparecen en su mayoría en las muestras BF por lo que pueden mejorar la calidad aromática agradable de esos licores de cacao dado que ofrecen atributos frutales y dulces (Jetti et al., 2007; Zhao, Qian, He, Li, & Qian, 2017).

Con respecto a los alcoholes, según se observa en las figuras 25 y 26, existe un leve aumento en las concentraciones de alcoholes en comparación con los licores AZ de 8% aproximadamente. Teniendo en cuenta la tabla 13, los alcoholes con mayor concentración en los licores trabajados son el 2,3-butanodiol, 2-nonanol y 2-feniletanol con concentraciones promedio en licores BF y AZ de 7.8, 5, y 16.5 mg/kg y 6.5, 4.9, 14.7 mg/kg respectivamente. Estos compuestos están asociados con los aromas florales y herbales percibidos en los licores de cacao (Aprotosoai et al., 2016; Batista et al., 2016; Counet et al., 2002; Rodriguez-Campos et al., 2012; Tran et al., 2015), mejorando la calidad sensorial de los mismos. Se encontraron 2 estereoisómeros D-2,3-butanodiol y el L-2,3-butanodiol siendo el D-2,3-butanodiol el de mayor concentración y, además, el compuesto con percepción a floral, dulce.

Por otra parte, se encontraron pirazinas como la 2,5-dimetilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina y la 2,3,4,6-tetrametilpirazina típicamente encontradas en licores de cacao tostados las cuales ofrecen

aromas a nuez, tostado y frutos secos (Bonvehí, 2005; Buchbauer, Wailzer, Wolschann, Klocker, & Ecker, 2002; Cordero et al., 2019; Counet et al., 2002; Krings et al., 2006; Misnawi & Sari, 2011; Tran et al., 2015); los cuales son atributos claves para un licor de cacao agradable sensorialmente. En las gráficas 25 y 26 se observa que existe un aumento en la concentración de las pirazinas en todos los licores BF con respecto a los licores AZ del 43% en promedio. Las pirazinas con mayor concentración en los licores BF y AZ fueron la 2,3,5,6-tetrametilpirazina y la 2,3,5-trimetilpirazina con concentraciones promedio de 21 y 17 mg/kg y 1.2 y 0.9 mg/kg respectivamente la cual ofrecen aromas a nuez, tostado y frutos secos, siendo la 2,3,5,6-tetrametilpirazina uno de los compuestos más importantes en el sabor y aroma en los licores de cacao tostados (Aprotosoai et al., 2016; Ducki et al., 2008). Jinap et al., (1998), muestran que para granos de cacao con mejores índices de fermentación, las concentraciones de pirazinas aumentan al final del proceso de tostado, esto debido al aumento de compuestos que se desarrollan en la reacción de Maillard en la etapa de tostado (Ojeda, 2018; Reineccius, 2005; Tran et al., 2015).

Por otra parte, fueron identificados otros compuestos no pertenecientes a los seis grupos mencionados; algunos monoterpenos como β -pineno, β -mirceno, γ -terpineno, allo-ocimeno, β -ocimeno y el α -terpineol, que ofrecen características de aroma a florales y herbales (Kadow, Bohlmann, Phillips-Mora, & Lieberei, 2013; Krings et al., 2006; Niu et al., 2011; Ouyang et al., 2017; Pallares-Pallares et al., 2016; Tran et al., 2015), además, un pirrol encontrado en todas las muestras como el 2-acetilpirrol que ofrece aromas a cacao, chocolate, tostado (Cuellar et al., 2018; Noguera, 2014; Penza & Cassano, 2004; Thomsen et al., 2012) furanos como 2-furancarboxaldehído, dihidro-2(3H)furanona y el 2-furanmetanol y con aromas a dulce, caramelo y floral (Afoakwa et al., 2008; Batista et al., 2016; Chetschik et al., 2018; Vilanova et al., 2010).

Compuestos como el benzonitrilo y 2-fenilacetoni-trilo, piranos y oxanos como 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona y 6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol; sin embargo, ninguno de estos compuestos supera 0.5 mg/kg, siendo el compuesto con mayor concentración la dihidro-2(3H)furanona con 0.326 mg/kg. La concentración total de estos compuestos en los licores BF muestra una reducción en comparación con los licores AZ de 7.5%. Compuestos como el 2-furancarboxaldehído, dihidro-2(3H) furanona, γ -terpineno, β -mirceno, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona y el 2-acetilpirrol aparecen en todos los licores de cacao.

En la figura 27, se observan las concentraciones totales de los compuestos volátiles con aromas agradables en cada uno de los licores de cacao trabajados, teniendo en cuenta las diferentes familias de compuestos. Observamos que el licor Var5BF, es el licor que posee mayor concentración de volátiles con 250 mg/kg, siendo mayor un 23% que su homólogo Var5AZ que obtuvo 205 mg/kg. También se observa que los licores BF y AZ de las variedades 7, 8 y 9 obtienen la menor concentración total de compuestos agradables Var7BF 94.1, Var7AZ 82.8, Var8BF 104.6, Var8AZ 93.6, Var9BF 83.7, Var9AZ 84.8 mg/kg respectivamente; este resultado podría deberse por la cantidad de granos insuficientemente fermentados que se obtuvieron en la prueba de corte.

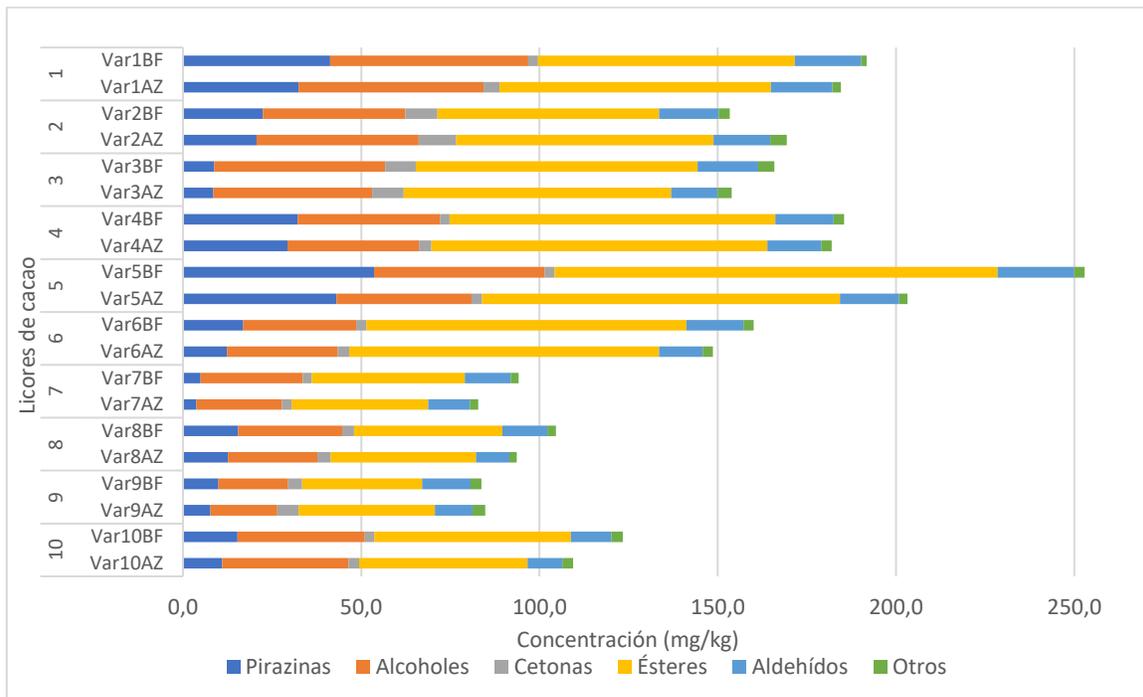


Figura 27. Concentración total de compuestos volátiles agradables en los 20 licores de cacao

Aunque se esperaba que en los licores BF fuera mayor la concentración de compuestos volátiles debido a la reducción de compuestos ácidos y al aumento de los compuestos agradables, no sucede con los licores Var2AZ y Var2BF que tuvieron concentraciones totales de 169.5 y 153.3 mg/kg, ni tampoco con los licores Var9AZ y Var9BF con concentraciones ya mencionadas anteriormente. Esto puede suceder debido a una regular selección de granos al momento de la prueba de corte o al alto grano de los granos insuficientemente fermentados obtenidos en la prueba de corte. Se puede observar que los licores como Var1AZ, Var1BF, Var2AZ, Var2BF, Var3AZ, Var3BF, Var4AZ, Var4BF, Var5AZ, Var5BF, Var5AZ superan la barrera de 150 mg/kg, obteniendo casi el doble de concentración de los licores Var7BF, Var7AZ, Var8BF, Var8AZ, Var9BF y Var9AZ, teniendo el mismo tiempo y temperatura de fermentación, secado, tostado, y las mismas condiciones ambientales; siendo el genotipo y las características de cada clon un factor crucial

para obtener mayores concentraciones de los compuestos volátiles asociados con aromas agradables.

4.3.1. Compuestos olor-activos. Se calcularon los valores olor-activos (OAV) de cada uno de los 77 compuestos identificados y cuantificados en los licores de cacao. En la tabla 14 se observan los OAV calculados mediante los umbrales de olor (odor threshold) obtenidos en la literatura.

Tabla 15.

Valores olor-activos de los compuestos volátiles encontrados en los licores de cacao BF y AZ.

Familia de compuestos	No.	Compuestos	Concentración promedio (mg/kg)		Odor threshold (mg/kg)	OAV	
			AZ	BF		AZ	BF
Ácidos	1	Ácido acético	18.12	13.74	33.00	0.55	0.42
	2	Ácido propanoico	0.29	0.31	8.10	0.04	0.04
	3	Ácido 2-metilpropanoico	1.87	1.85	2.30	0.81	0.81
	4	Ácido Butanoico	0.39	0.33	0.17	2.23	1.92
	5	Ácido 3-metilbutanoico	3.56	2.98	0.02	161.60	135.68
	6	Ácido 2-metilbutanoico	2.28	1.82	0.05	45.59	36.30
	7	Ácido hexanoico	0.06	0.06	3.00	0.02	0.02
	8	Ácido octanoico	0.16	0.15	0.50	0.33	0.31
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	0.18	0.13	3.00	0.06	0.04
	10	3-metilbutanol	0.19	0.18	30.00	0.01	0.01
	11	2-pentanol	0.40	0.40	4.00	0.10	0.10
	12	2,3-butanodiol	6.60	7.75	150.00	0.04	0.05
	13	2,3-butanodiol	4.79	5.17	150.00	0.03	0.03
	14	2-heptanol	2.59	2.14	0.26	9.86	8.13
	15	Fenilmetanol	0.30	0.28	20.00	0.02	0.01
	16	1-octanol	0.23	0.18	0.19	1.22	0.93
	17	β -linalool	0.24	0.18	0.01	39.23	29.49
	18	2-nonanol	5.02	4.78	0.08	66.89	63.72
	19	2-feniletanol	14.66	16.50	14.00	1.05	1.18

Aldehídos	20	3-metilbutanal	0.68	0.78	0.00	676.24	781.33	
	21	Benzaldehído	9.67	11.82	0.35	27.63	33.77	
	22	Fenilacetaldehído	1.37	1.50	0.00	341.51	374.10	
	23	Decanaldehído	0.28	0.26	0.01	28.38	26.14	
	24	4-etilbenzaldehido	0.21	0.37	0.13	1.71	3.00	
	25	2-fenil-2-butenal	0.52	0.64	1.70	0.30	0.38	
	26	4-metil-2-fenil-2-pental	0.39	0.37	0.07	5.86	5.53	
	27	5-metil-2-fenil-2-hexenal	0.24	0.23	0.07	3.41	3.34	
	Cetonas	28	2,3-Butanodiona	0.28	0.19	0.10	2.75	1.92
		29	3-hidroxy-2-butanona	1.54	1.18	150.00	0.01	0.01
30		2-heptanona	0.36	0.26	0.14	2.59	1.85	
31		3-hepten-2-ona	0.03	0.03	0.05	0.63	0.61	
32		2-octanona	0.06	0.05	0.05	1.26	1.03	
33		3-metil-2-ciclohexenona	0.26	0.20	N.E	-	-	
34		2,6-heptadiona	0.07	0.07	N.E	-	-	
35		1-feniletanona	0.48	0.43	0.07	7.38	6.54	
36		2-nonanona	1.90	1.77	0.20	9.48	8.87	
37		2-undecanona	0.04	0.03	0.01	5.22	4.62	
Ésteres	38	Acetato de 2-pentilo	0.61	0.56	0.01	121.58	112.86	
	39	Acetato de 3-metilbutilo	2.51	2.30	0.03	83.83	76.58	
	40	Acetato de 2-metilbutilo	0.86	0.60	0.02	57.14	40.04	
	41	Hexanoato de etilo	1.14	1.00	0.01	81.67	71.69	
	42	Acetato de hexilo	0.49	0.53	1.50	0.33	0.35	
	43	Acetato de 2-heptilo	9.49	10.66	N.E	-	-	
	44	2-butanodiol-diacetato	1.45	1.40	N.E	-	-	
	45	Acetato de benzilo	0.92	1.02	0.75	1.22	1.36	
	46	Benzoato de etilo	1.45	1.17	0.06	24.09	19.52	
	47	2-fenilacetato de metilo	0.00	0.48	0.06	0.00	8.08	
	48	Butandioato de dietilo	0.58	0.61	200.00	0.00	0.00	
	49	Octanoato de etilo	2.94	2.91	0.58	5.07	5.02	
	50	2-fenilacetato de etilo	2.96	2.97	0.65	4.55	4.58	
	51	Acetato de 2-feniletilo	31.12	34.27	1.80	17.29	19.04	
	52	3-fenilpropanoato de etilo	1.11	0.83	0.00	693.08	516.58	
	53	Decanoato de etilo	4.55	4.01	0.20	22.77	20.07	
	54	3-fenil-2-propenoato de etilo	0.40	0.42	0.00	360.36	383.12	
	55	Dodecanoato de etilo	3.38	2.59	1.50	2.26	1.72	
	56	Butanoato de 2-feniletilo	1.59	1.67	N.E	-	-	

Otros	57	2-furancarboxaldehido	0.23	0.22	3.00	0.08	0.07
	58	2-furanmetanol	0.15	0.14	2.00	0.08	0.07
	59	Dihidro-2(3H)Furanona	0.36	0.33	0.04	10.34	9.41
	60	β -pineno	0.21	0.15	0.14	1.47	1.05
	61	Benzonitrilo	0.19	0.19	N.E	-	-
	62	β -mircero	0.28	0.27	0.02	18.78	17.73
	63	3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno	0.06	0.06	0.03	1.73	1.70
	64	γ -Terpineno	0.17	0.29	1.00	0.17	0.29
	65	2-acetilpirrol	0.39	0.28	0.03	11.39	8.24
	66	2,4,6-octatrieno-2,6-dimetil (allo-ocymene)	0.08	0.17	N.E	-	-
	67	2-fenilacetoneitrilo	0.37	0.29	0.25	1.46	1.17
	68	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6- metil-4H-piran-4-ona	0.51	0.44	N.E	-	-
	69	6-etenil-2,2,6-trimetiloxan- 3-ol	0.15	0.13	0.33	0.46	0.39
	70	α -terpineol	0.12	0.21	N.E	-	-
71	2-piperidiona	0.23	0.27	170.00	0.00	0.00	
Pirazinas	72	2,3-dimetilpirazina	0.20	0.22	2.50	0.08	0.09
	73	2,3,5-trimetilpirazina	0.97	1.02	1.80	0.54	0.57
	74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	0.06	0.06	N.E	-	-
	75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	16.77	20.64	10.00	1.68	2.06
	76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	0.17	0.17	N.E	-	-
	77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	0.11	0.13	N.E	-	-

N.E: No Encontrado

En los licores AZ, 40 compuestos de aroma presentaron concentraciones por encima de sus umbrales del olor como se muestra en la tabla 14. Los compuestos con mayor OAV fueron ácido 3-metilbutanoico (185), ácido 2-metilbutanoico (52), 2-nonanol (65), 3-metilbutanal (650), fenilacetaldehído (338), benzaldehído (27), 2-nonanona (11), 3-fenilpropanoato de etilo (650), 3-fenil-2-propenoato de etilo (350), acetato de 2-pentilo (117), hexanoato de etilo (78), acetato de 3-metilbutilo (77), acetato de 2-metilbutilo (54), β -mirceno (23) y la 2,3,5,6-tetrametilpirazina (1.5). En los licores BF, compuestos similares a los obtenidos en los licores AZ superaron el umbral del olor; sin embargo, se obtuvieron valores de OAV menores en los ácidos, alcoholes, ésteres y otros compuestos, ácido 3-metilbutanoico (160), ácido 2-metilbutanoico (46), 2-nonanol (60), 2-

nonanona (10), 3-fenilpropanoato de etilo (490), acetato de 2-pentilo (113), hexanoato de etilo (66), acetato de 3-metilbutilo (76), acetato de 2-metilbutilo (38), β -mirceno (18), siendo éstas las familias que están asociadas con los aromas ácidos, florales, herbales y frutales; por lo tanto, los licores AZ podrían estar más correlacionados con estas percepciones. Sin embargo, los licores BF obtuvieron valores mayores de OAV con respecto a los licores AZ en los aldehídos y pirazinas, 3-metilbutanal (770), fenilacetaldehído (360), benzaldehído (32), 2,3,5,6-tetrametilpirazina (1.9), siendo estas las familias asociadas con aromas a dulce, caramelo, cacao, nuez, frutos secos y tostado; mostrando que estos licores pueden tener aromas más fuertes de este tipo de percepciones. Compuestos como el 2-feniletanol y el 2-fenilacetato de metilo no superaron el umbral (<1) en los licores AZ, mientras que en los licores BF, estos compuestos obtienen un OAV de 1.1 (floral, dulce) y 7.1 (frutal, dulce) respectivamente, contribuyendo en el aroma de los licores BF. A diferencia de los compuestos como el β -pineno (pino, floral) y el octanol (floral), que en los licores BF no superan el umbral y que en los licores AZ, superan el umbral con valores de 1.4 y 1.1, contribuyendo en el aroma de los licores AZ. Resultados similares a los obtenidos por Frauendorfer & Schieberle (2008), los cuales determinaron los OAV de 42 compuestos volátiles identificados y cuantificados en licores de cacao y tomaron en cuenta solamente los compuestos que obtuvieran concentraciones por encima de sus umbrales de olor; con el fin de conocer la contribución de estos compuestos al aroma. De los 42 compuestos, solo 27 compuestos superaron el OAV >1 los cuales fueron ácido acético, ácido 3-metilbutanoico, 2-feniletanol, 3-metilbutanal, fenilacetaldehído, 2-acetilpirrol, 2-etil-3,5-dimetilpirazina y la 2,3,5-trimetilpirazina, 2-heptanol, linalool, acetato de 2-feniletilo, entre los más importantes, observando compuestos similares a los obtenidos en esta tesis. Para otros tipos de matrices, Zhu et al., (2015), determinó los compuestos olor-activos por medio del cálculo de los valores OAV teniendo en cuenta solo los compuestos que superaran el

umbral del olor (OAV>1) en matrices de jugo de frutas y vinos. En sus resultados obtuvieron que, de los 38 y 43 compuestos identificados en los dos tipos de matrices, 11 y 15 compuestos obtuvieron OAV mayores a 1 tales como acetato de etilo, propanoato de metilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y 2,3 butanodiona, considerando importante la contribución de estos compuestos al aroma del vino y teniendo en cuenta las percepciones sensoriales a las cuales se encuentra asociado cada compuesto. Igualmente, Aznar et al., (2003), trabajó con diferentes matrices de vinos, encontrando e identificando 69 compuestos volátiles, de los cuales, determinó la contribución y la importancia de cada compuesto en el aroma mediante los OAV, reduciendo a 34 compuestos que, según los investigadores, eran los compuestos que en su mayoría aportaban al aroma de los vinos por obtener valores de OAV mayores a 1. Teniendo en cuenta lo anterior, en la tabla 15 se encuentran los 42 compuestos volátiles que superaron el umbral del olor en los licores de cacao; 3 ácidos, 5 alcoholes, 7 aldehídos, 6 cetonas, 14 ésteres, 1 pirazina y 6 otros compuestos, con OAV mayores a 1. Se observa que los 42 compuestos mencionados en la tabla 15 son los que más aportan al aroma en los licores de cacao.

Tabla 16.

Compuestos olor-activos identificados en los licores de cacao

Familia	#	Compuestos
	1	Ácido Butanoico
Ácidos	2	Ácido 3-metilbutanoico
	3	Ácido 2-metilbutanoico
	4	2-heptanol
	5	1-Octanol
Alcoholes	6	B-linalool
	7	2-nonanol
	8	2-feniletanol
	9	3-metilbutanal
Aldehídos	10	Benzaldehído
	11	Fenilacetaldehído

	12	Decanaldehído
	13	4-etilbenzaldehido
	14	4-metil-2-fenil-2-pental
	15	5-metil-2-fenil-2-hexenal
	16	2,3-Butanodiona
	17	2-heptanona
	18	2-octanona
Cetonas	19	1-feniletanona
	20	2-nonanona
	21	2-undecanona
	22	Acetato de 2-pentilo
	23	Acetato de 3-metilbutilo
	24	Acetato de 2-metilbutilo
	25	Hexanoato de etilo
	26	Acetato de benzilo
	27	Benzoato de etilo
	28	2-fenilacetato de metilo
Ésteres	29	Octanoato de etilo
	30	2-fenilacetato de etilo
	31	Acetato de 2-feniletilo
	32	3-fenilpropanoato de etilo
	33	Decanoato de etilo
	34	3-fenil-2-propenoato de etilo
	35	Dodecanoato de etilo
	36	Dihidro-2(3H)Furanona
	37	B-pineno
	38	7-metil-3-metileno-1,6-octadieno) B-mircero
Otros	39	3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (B-Ocimeno)
	40	2,4,6-octatrieno-2,6-dimetil (allo-ocymene)
	41	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona
Pirazinas	42	2,3,5,6-tetrametilpirazina

4.4. Análisis sensorial

Después de analizar los compuestos volátiles en los licores de cacao, se procedió a analizar los perfiles sensoriales obtenidos por los 4 catadores expertos. Se realizó un ANOVA de un factor con el fin de encontrar diferencias significativas entre los atributos sensoriales percibidos en los licores de cacao mediante las puntuaciones dados por cada catador.

Tabla 17.

Prueba LSD de Fisher a los atributos sensoriales percibidos

Atributo	Datos	Media	Agrupación
Cacao	20	3,455	A
Ácido	20	3,264	A
Dulce	20	2,624	B
Nuez	20	2,301	B C
Frutal	20	2,025	C
Floral	20	0,741	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba LSD de Fisher arrojó un $p < 0,001$ y un $F = 16$ con un 95% de confianza para las características sensoriales observando que las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Según la tabla 16, existen 4 agrupaciones entre atributos que logran ser estadísticamente diferentes. Los atributos cacao y ácido logran ser diferentes con respecto a los demás, pero no entre ellos, al igual que las agrupaciones entre dulce y nuez, y nuez y frutal. El único atributo que logró ser estadísticamente diferente a los demás atributos fue el atributo floral. Esto se debe a que la media de las puntuaciones dadas por los catadores es muy diferente a los demás (la más baja); debido a que los catadores no percibieron en su mayoría este atributo. Estas diferencias entre atributos afirman que los catadores lograron discernir en su mayoría los diferentes

sabores y aromas percibidos en los licores de cacao. En el apéndice G se encuentran las puntuaciones promedio dadas por los catadores a los licores de cacao.

En la figura 28 se muestran los perfiles sensoriales de los licores de cacao AZ y BF. Según la figura 28a), los licores AZ muestran mayores puntuaciones para el atributo ácido y menores puntuaciones para el atributo floral. La mayoría de los licores poseen puntuaciones entre 3 y 5 con respecto al atributo ácido siendo el licor Var9AZ→5 el de mayor puntuación; lo cual lo señala como el licor más ácido entre los demás. Los otros licores se encuentran en puntuaciones de Var8AZ→4.5, Var7AZ→4, Var6AZ, Var3AZ, Var4AZ y Var1AZ→3.5, Var2AZ y Var10AZ→3 y el licor con menor puntuación fue el Var5AZ con 2; en este último licor resaltan más sus aromas a nuez y cacao. Con respecto al atributo floral, el rango de las puntuaciones oscila entre 0 a 2 (que en su mayoría las puntuaciones son 0), esto puede ser debido a la falta de aromas florales en las variedades de cacao de Colombia o a un enmascaramiento de los demás atributos que no logra ser percibidos por el panel de cata.

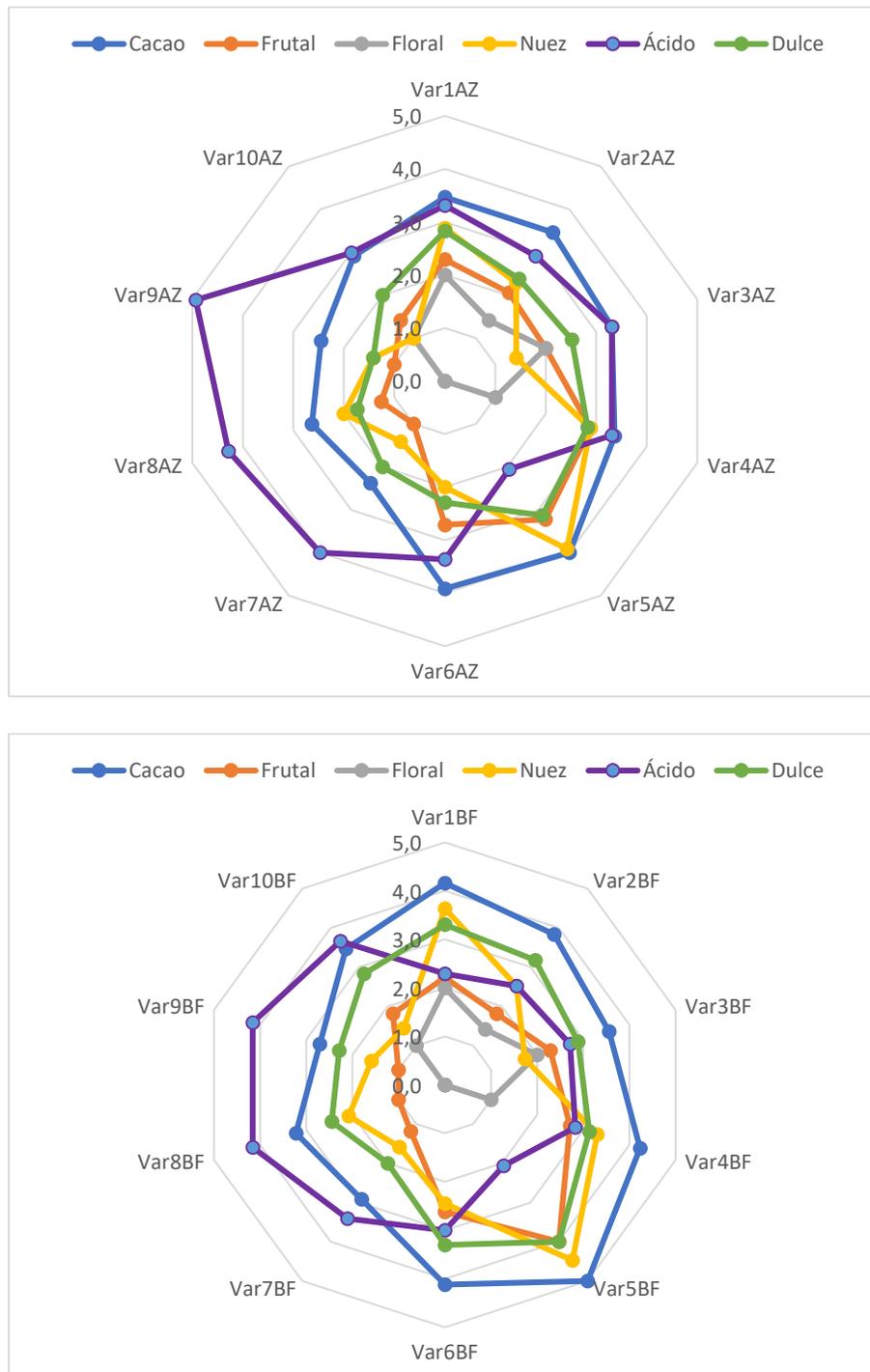


Figura 28. (a) Perfiles sensoriales de los licores AZ; (b) perfiles sensoriales de los licores BF.

Sin embargo, se conoce que las variedades producidas a nivel nacional tienen el reconocimiento de poseer aromas a frutales, nuez y cacao, pero con falencias en los aromas florales; lo cual sería de gran interés, cultivar variedades que tengan características florales, o realizar fermentaciones dirigidas a producir compuestos volátiles con aromas a florales inoculando microorganismos capaces de producirlos.

Por otra parte, se observa que la mayoría de los licores AZ muestran puntuaciones muy variadas del atributo nuez con un rango entre 1 a 4 (Var5AZ→4, Var2AZ→2, Var3AZ→1, Var8AZ→2.2, Var9AZ→0, Var1AZ→3), a diferencia del atributo cacao que presenta puntuaciones similares en estos licores con un rango entre 2.5 a 3.5 (Var9AZ→2.5, Var8AZ→2.8, Var2AZ→3.5, Var7AZ→2.4, Var1AZ→3.3, Var3AZ→3.4, Var4AZ→3.5), con dos puntuaciones altas en el licor Var5AZ y Var6AZ de 4 mostrando que en estos dos licores se percibe mejor los aromas de un cacao bien fermentado lo cual concuerda con la tabla 10. Los atributos frutales y dulces no sobresalen en estos licores debido a que en la mayoría no superan puntuaciones de 3, a excepción de los licores Var1AZ, Var4AZ y Var5AZ que toman puntuaciones de los atributos frutal y dulce de 3 aproximadamente. Este bajo nivel de puntuación de estos atributos puede estar asociado con las altas puntuaciones del atributo ácido que puede opacar todo el rango de aromas de los licores AZ.

Con respecto a la figura 28b), los licores BF muestran puntuaciones más altas para los atributos cacao, dulce y nuez con respecto a los licores AZ, y bajas para el atributo floral. Los licores Var1BF, Var2BF, Var4BF, Var5BF y Var6BF poseen puntuaciones entre 3 a 5 para el atributo de cacao, siendo el licor Var5BF el que posee la puntuación mayor (5); los licores restantes como

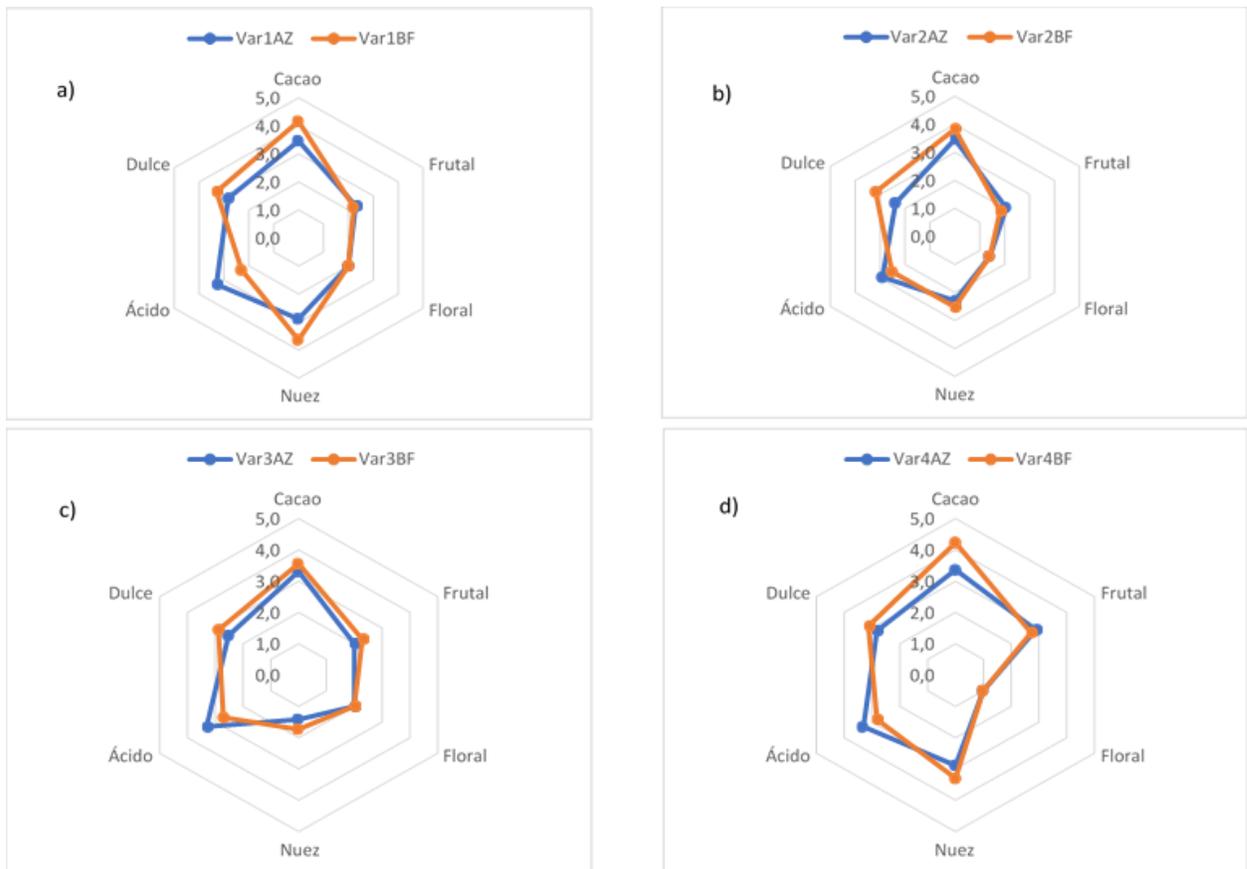


Figura 29. Perfiles sensoriales de cada variedad de cacao con su respectivo licor AZ y BF. a)

Var1, b) Var2, c) Var3, d) Var4

Var8BF, Var9BF, Var7BF, Var3BF, Var10BF tienen puntuaciones menores a 3.5. Con respecto al atributo frutal y dulce en los licores BF, la mayoría de estos obtienen puntuaciones mayores a 3 (Var5BF→4, Var6BF, Var4BF, Var2BF y Var1BF→3.5 y Var3BF→3.2) mientras que los licores Var7BF, Var8BF y Var9BF obtienen una puntuación menor a 3 en el atributo dulce y menor a 1 en el atributo frutal correspondiendo a los licores menos agradables sensorialmente. Además, si se comparan estos resultados con la figura 27, se puede observar que estos licores son los que desarrollan menos cantidad de compuestos volátiles agradables.

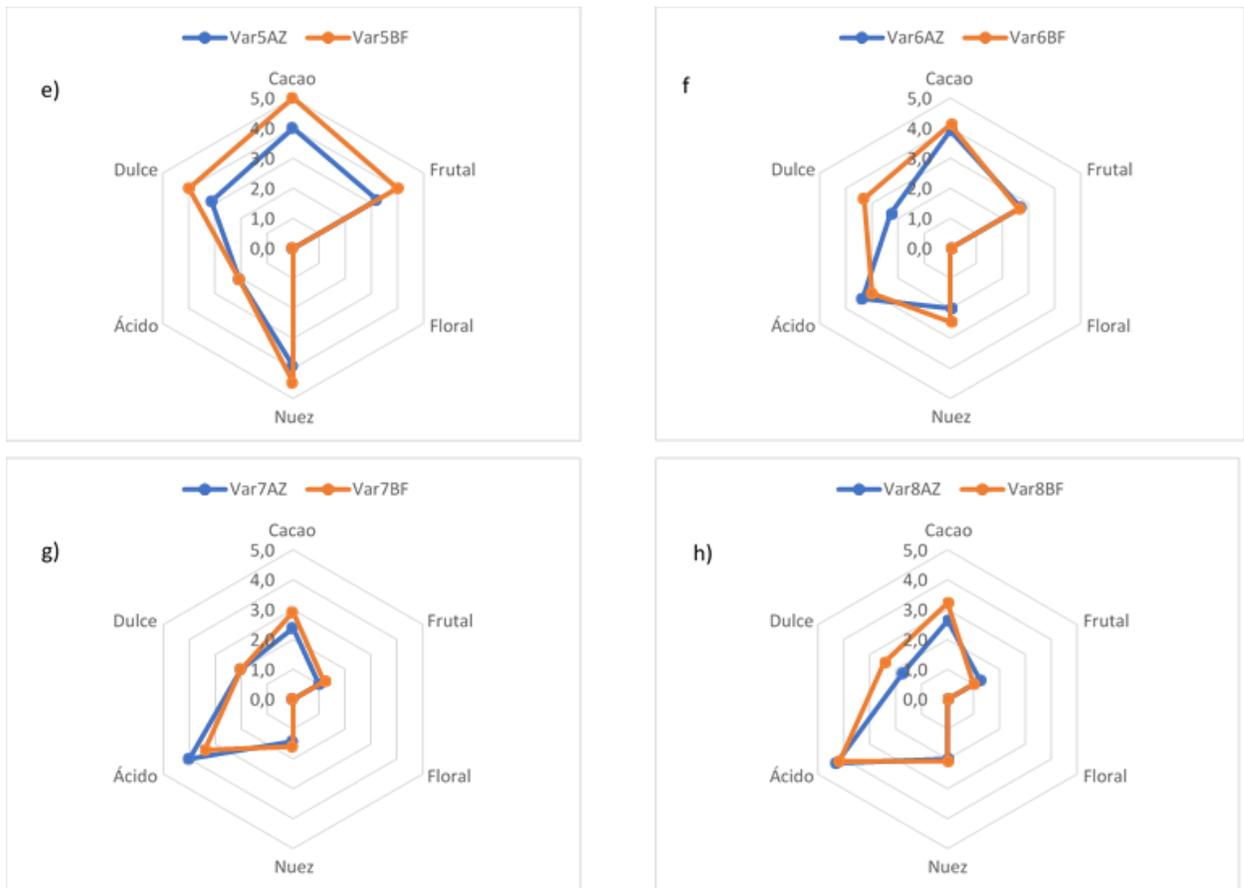


Figura 30. Perfiles sensoriales de cada variedad de cacao con su respectivo licor AZ y BF. e) Var5, f) Var6, g) Var7, h) Var8.

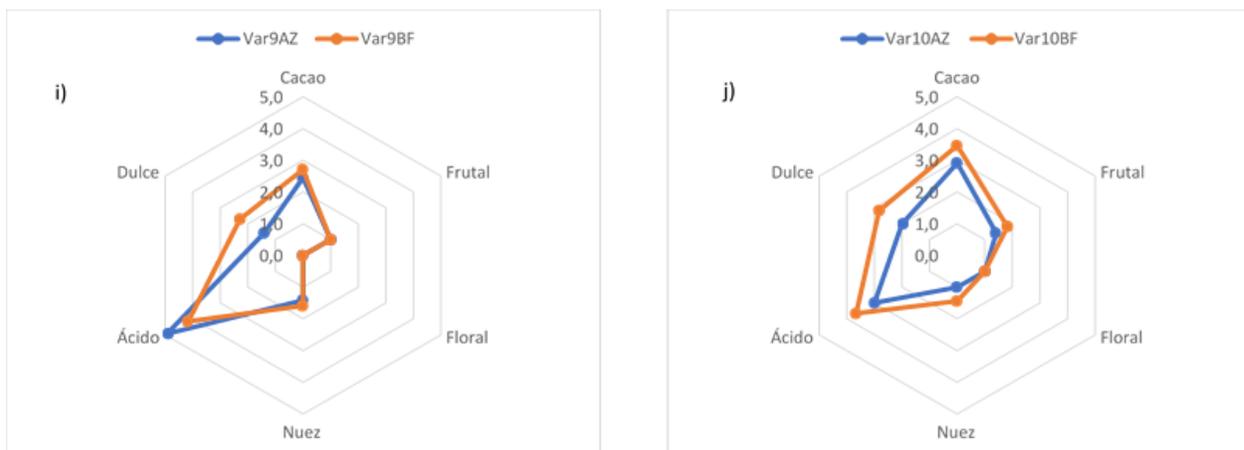


Figura 31. Perfiles sensoriales de cada variedad de cacao con su respectivo licor AZ y BF. i) Var9, j) Var10

Con respecto a los licores AZ, las puntuaciones del atributo floral no sobresalen, mostrando puntuaciones de un rango entre 0 a 2, en el cual, solamente los licores Var1BF, Var3BF y Var4BF superan la puntuación de 1.5. Para el atributo ácido, sobresalen los licores Var8BF, Var9BF y Var10BF con puntuaciones superiores a 4 siendo como anteriormente se mencionaron, los que menor puntuación de dulce y frutal posee; sin embargo, con respecto a este atributo, todos los licores BF obtienen puntuaciones menores comparadas con los licores AZ. Por último, las puntuaciones del atributo nuez, son mayores en los licores BF con respecto a los licores AZ, siendo los licores Var5BF→4.5 y Var1BF□4, los que mayor puntuación obtuvieron, mostrando que son los licores más agradables sensorialmente. En las figuras 29, 30 y 31, se observa la comparación de los perfiles sensoriales de los licores BF y AZ de la misma variedad de cacao. Se encuentran que las puntuaciones de los atributos cacao, dulce y nuez aumentan cuando se trabaja con los licores BF (color naranja) en comparación con su respectivo licor AZ (color azul). De igual manera, las puntuaciones del atributo ácido aumentan cuando se toman trabajan con licores AZ. Con respecto al atributo frutal, existe una variación de puntuaciones, debido a que algunas de estas son mayores para los licores AZ y en otras ocasiones para los licores BF. Una situación similar ocurre con el atributo floral en los licores AZ y BF, sin embargo, en la mayoría de los licores la puntuación de este atributo es 0.

4.5. Análisis de componentes principales

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) sobre las puntuaciones obtenidas por los catadores y sobre las concentraciones de los 42 compuestos volátiles olor-activos encontrados en los licores BF y AZ, con el fin de establecer las diferencias entre los 20 licores trabajados y,

además, encontrar los compuestos volátiles que contribuyen en mayor proporción a cada licor de cacao.

En la figura 32, se muestra el análisis de componentes principales de los seis atributos obtenidos en el análisis sensorial. Las observaciones (scores) fueron los 20 licores de cacao, y las cargas (loadings) los atributos sensoriales seleccionados. Las componentes PC1 y PC2 representaron en conjunto el 91% de la varianza total de los datos (71% y 20% respectivamente). En la figura 32a), se encuentran los atributos sensoriales (loadings); se observa que la componente 1 (PC1) está correlacionada positivamente con los atributos dulce, frutal y cacao; y negativamente con el atributo ácido, mientras que la componente 2 (PC2), está correlacionada positivamente con el atributo floral y negativamente con el atributo nuez.

En la figura 32b), se encuentran los licores de cacao; en esta figura se observa que la componente PC1 está correlacionada positivamente con los licores Var4AZ, Var4BF, Var6AZ, Var6BF, Var1AZ, Var1BF, Var2AZ y Var2BF que se encuentran en el cuadrante 1 y 4, y negativamente con los licores Var7AZ, Var7BF, Var8AZ, Var8BF, Var9AZ y Var9BF que se encuentran en el cuadrante 2 y 3. Debido a que el atributo ácido está correlacionado con el eje negativo de la PC1, estos licores mencionados que se encuentran al lado izquierdo del diagrama

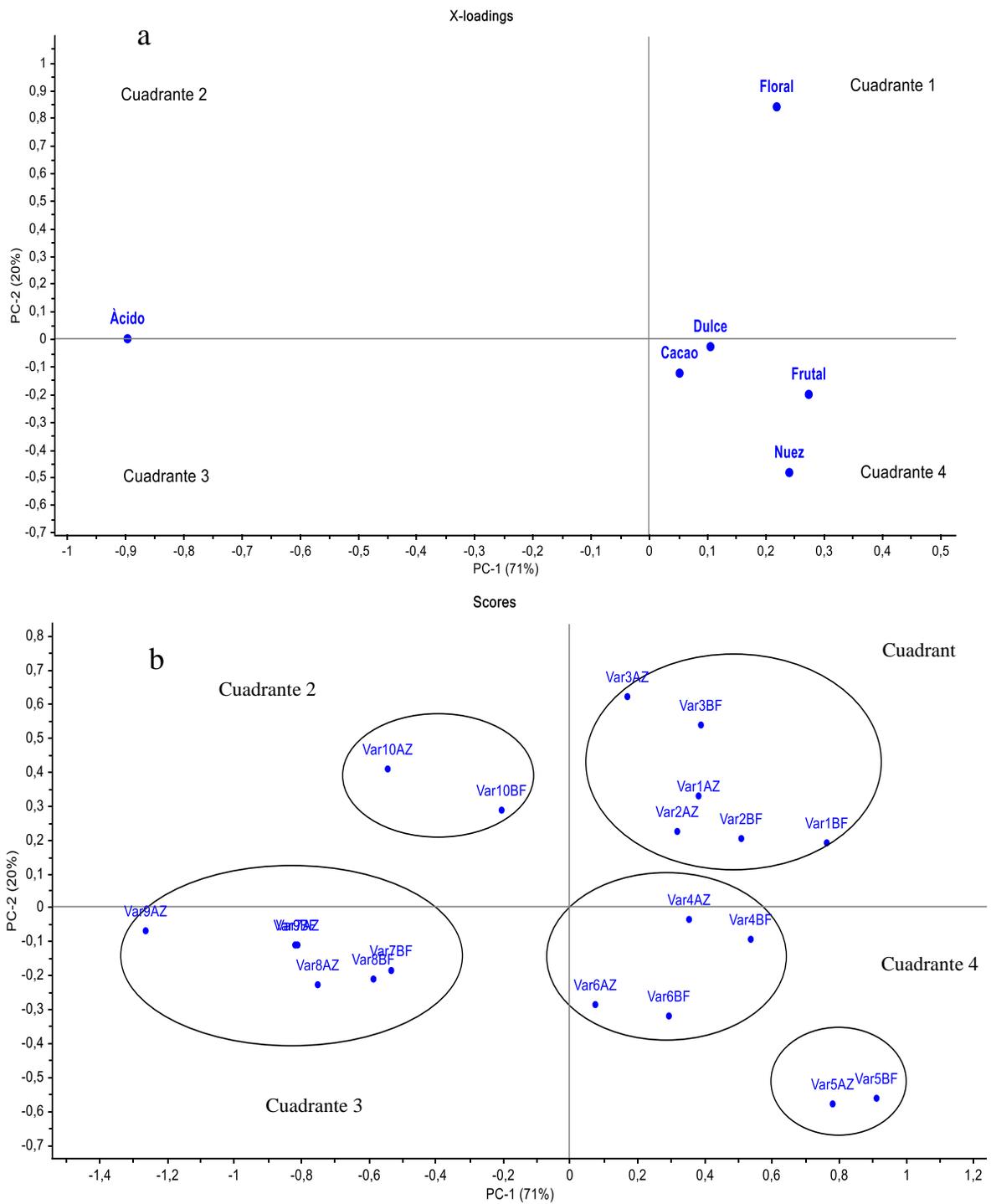


Figura 32. Análisis de componentes principales: a) atributos sensoriales como cargas (loadings) y b) licores de cacao como observaciones (scores)

(correlación negativa con la PC1), estarán descritos en su mayoría por este atributo y, por ende, serán descritos en menor proporción por los atributos que se encuentran en el eje positivo de la PC1 (dulce, frutal y cacao). Situación contraria ocurre con los licores Var4AZ, Var4BF, Var6AZ, Var6BF, Var1AZ, Var1BF, Var2AZ y Var2BF; estos licores se encuentran correlacionados positivamente con la PC1, al igual que los atributos dulce, frutal y cacao, por lo que estarán descritos mayoritariamente por estos atributos y serán muy poco descritos por el atributo ácido que se encuentra en el eje negativo de la PC1.

De la misma manera se explica la componente PC2. Esta componente está correlacionada positivamente con los licores que se encuentran en la parte superior de la figura (cuadrante 1 y 2) cerca del eje, y negativamente con los licores que están en la parte inferior de la figura (cuadrante 3 y 4). Los licores que se encuentran en la parte superior cerca del eje corresponden a Var3AZ y Var3BF al igual que el atributo floral mencionado anteriormente, por lo que estos licores serán descritos en su mayoría por este atributo, y de igual manera, serán descritos en menor proporción por el atributo nuez.

Por el contrario, los licores que se encuentran en la parte inferior cerca al eje son Var6AZ y Var6BF, correlacionados con el eje negativo de la PC2 y estarán descritos en su mayoría por el atributo sensorial nuez, sin embargo, serán descritos en menor proporción, por el atributo floral que se encuentra correlacionado positivamente con la PC2. Los licores Var10AZ Y Var10BF se encuentran entre el eje negativo de la PC1 y el eje positivo de la PC2; significa que estos licores son descritos en su mayoría por los atributos ácidos y florales (pueden describir aromas a flores cítricas). A diferencia de los licores Var5AZ y Var5BF que se encuentran en el eje positivo de la PC1 y negativo de la PC2, y, por ende, estarán altamente correlacionados con los atributos dulce, frutal, cacao. Sin embargo, se aclara que los licores Var4AZ, Var4BF, Var6AZ, Var6BF al estar

en el cuadrante 4 también serán descritos por el atributo a nuez y los licores Var1AZ, Var1BF, Var2AZ, Var2BF al estar en el cuadrante 1, estarán descritos también por el atributo floral, aunque en menor proporción.

También en la figura 32, se observa que los licores BF y AZ que corresponden a la misma variedad, están cerca el uno del otro; lo que significa que, aunque estos licores tengan algunas puntuaciones diferentes, tienden a describirse por los mismos atributos. Además de las agrupaciones mencionadas anteriormente, se observa que la PC1 correlaciona positivamente los aromas agradables y negativamente los aromas desagradables; en cambio la componente PC2, describe positivamente aromas a finos (flores) y negativamente con aromas fuertes (nuez, tostado). Por otra parte, aunque las variedades se hayan tratado de igual manera en el proceso del beneficio, cada licor será descrito por diferentes atributos sensoriales correspondiendo a la diferencia entre trinitarios acriollados o trinitarios forasteros.

En la figura 33 se muestra el análisis de componentes principales para las concentraciones de los 42 compuestos volátiles olor-activos encontrados en los licores de cacao. Las componentes PC1 y PC2 representaron en conjunto el 92% de la varianza total de los datos (85% y 7% respectivamente). En este análisis se observa que la componente PC2 solo describe el 7% de los datos analizados. A diferencia del análisis anterior, donde la PC2 describía el 20% de los datos; este resultado se da, debido a la cantidad de información que está correlacionada con la PC1. En la figura 33a), se observan los 42 compuestos volátiles que superaron el límite de OAV. Cada número corresponde a un compuesto volátil y su nombre se encuentra en la tabla 14. Además, se observa que la mayoría de los 42 compuestos se encuentran cerca del eje en la puntuación cero; significa que estos compuestos no tienen una fuerte correlación con ninguna de las dos

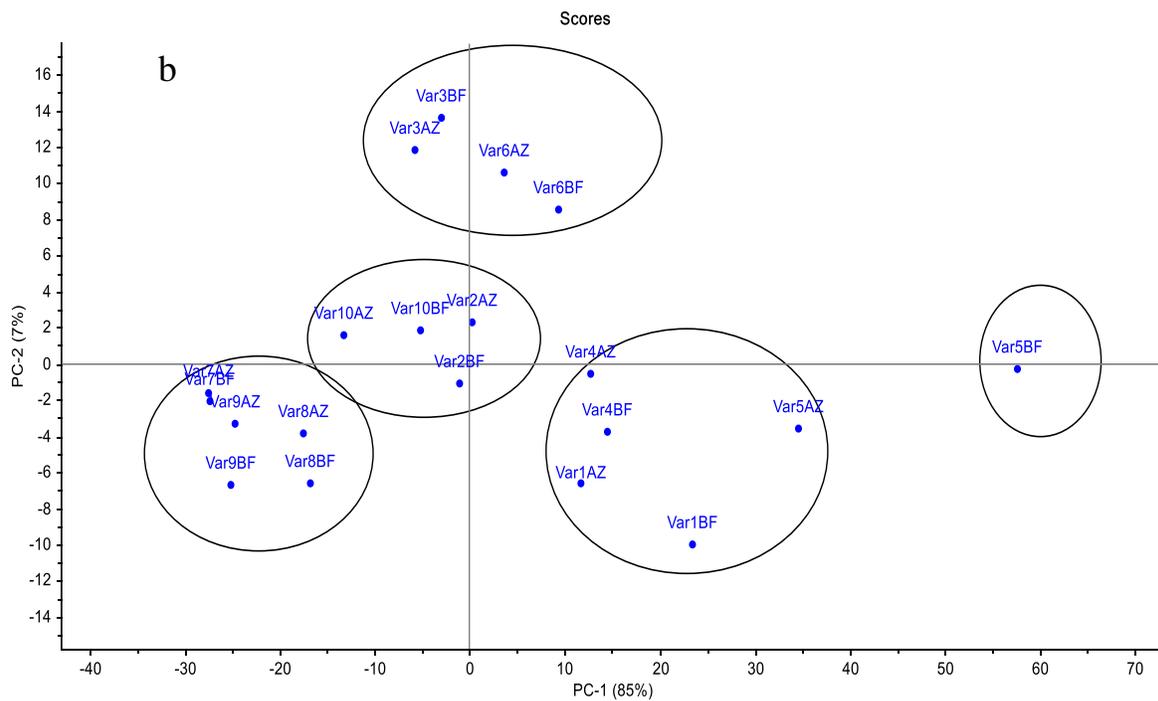
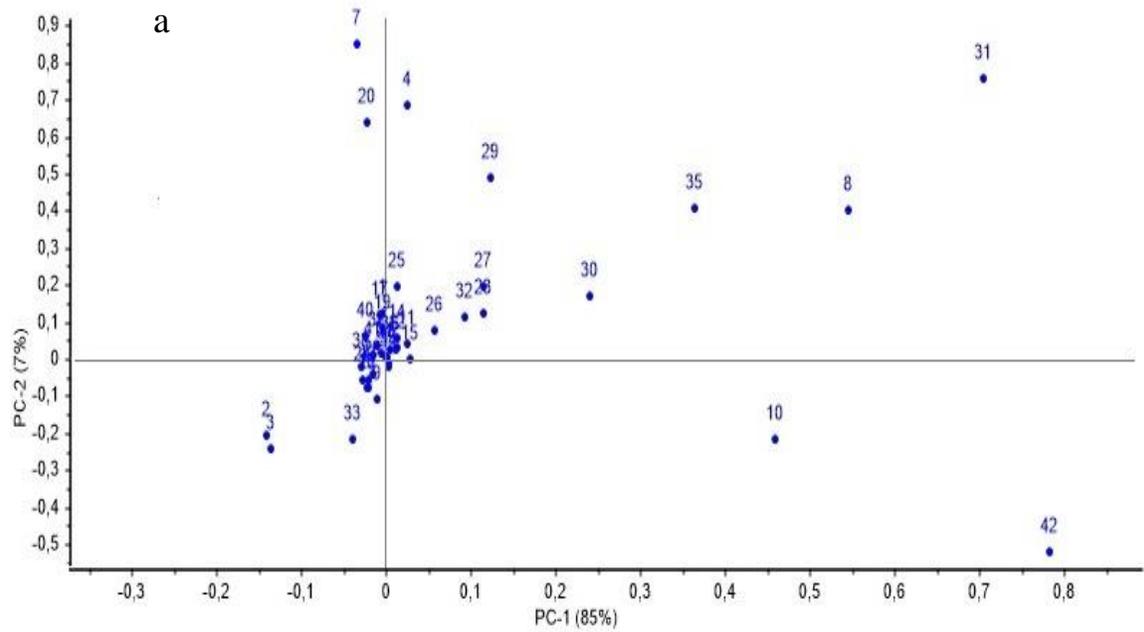


Figura 33. Análisis de componentes principales: a) Concentraciones de los compuestos volátiles como cargas (loadings) y b) licores de cacao como observaciones (scores)

componentes y, por consiguiente, describen en muy pequeña proporción a los licores y la varianza de los datos. Sin embargo, existen otros compuestos que se encuentran dispersos en las componentes logrando describir a los licores. Compuestos como 8, 10, 30 y 35 (correspondientes a 2-feniletanol, benzaldehído, 2-fenilacetato de etilo y dodecanoato de etilo) muestran una correlación positiva con la componente PC1, a diferencia de los compuestos 2 y 3 (correspondientes a ácido 2-metilbutanoico y ácido 3-metilbutanoico) mostrando una correlación negativa con la PC1. Se observa que cuando existen concentraciones mayores de estos dos ácidos, habrá una menor cantidad de concentración de los compuestos 8, 10, 30 y 35.

Por otra parte, los compuestos 7, 20 y 4 (2-nonanol, 2-nonanona, 2-heptanol respectivamente) se correlacionan positivamente con la PC2 mientras que compuestos como 33 y 42 (decanoato de etilo y 2,3,5,6-tetrametilpirazina) se correlacionan negativamente con la componente PC2. Además, se observa que en la diagonal del primer cuadrante otros compuestos que además de los ya mencionados (8, 35, 30) también sobresalen, como el 31, 29, 27, 28, 32 y 26 (acetato de 2-feniletilo, octanoato de etilo, benzoato de etilo, 2-fenilacetato de metilo, 3-fenilpropanoato de etilo y acetato de benzilo respectivamente), que están correlacionados positivamente con PC1 y PC2, aunque en menor proporción.

En la figura 33b), se observa la distribución de los 20 licores de cacao y su relación con los compuestos volátiles. Se aprecia que hay un conjunto de licores en el cuadrante 3 (Var7AZ, Var7BF, Var8AZ, Var8BF, Var9AZ y Var9BF) que tienen alta correlación negativa con la PC1. Estos licores son descritos en su mayoría por los compuestos 2 y 3 que corresponden al ácido 3-metilbutanoico y 2-metilbutanoico, que, de igual manera, están correlacionados negativamente con la PC1. Estos dos ácidos están asociados a percepciones sensoriales de ácido, rancio, agrio, por lo

que estos licores estarán descritos con este tipo de características sensoriales. A diferencia de los licores Var4AZ, Var4BF, Var5AZ, Var5BF, Var1AZ y Var1BF que están correlacionados positivamente con la PC1, al igual que los compuestos 8, 10, 30 y 35 (correspondientes a 2-feniletanol, benzaldehído, 2-fenilacetato de etilo y dodecanoato de etilo). Estos 4 compuestos están asociados con aromas a floral, frutal y dulce, por lo que los licores de las variedades 1, 4 y 5 (AZ y BF) serán descritos en gran proporción por este tipo de características sensoriales agradables.

Los licores que se encuentran cerca al 0, como Var10AZ, Var10BF, Var2AZ y Var2BF, son explicados por la mayoría de los compuestos que se encuentran cerca al 0; sin embargo, no hay compuestos con alta correlación con PC1 o PC2 que describan a estos 4 licores. Se observa que el licor Var5BF, se encuentra alejado de los demás en el lado derecho de la figura; esto muestra que está altamente correlacionado con otros dos compuestos adicionales, correspondiente a los compuestos 42 y 10 (2,3,5,6-tetrametilpirazina y benzaldehído respectivamente) que están asociados con atributos a nuez y dulce, catalogándose por el momento, como el licor con mejores descripciones químicas y sensoriales.

Con respecto a la PC2, los licores que se encuentran correlacionados positivamente con esta componente son Var3AZ, Var3BF, Var6AZ y Var6BF, al igual que los compuestos 7, 4, 20 y 29 (2-nonanol, 2-heptanol, 2-nonanona y octanoato de etilo respectivamente). Este resultado, sugiere que estos licores serán descritos por los aromas florales, herbales debido a que los compuestos anteriormente mencionados están asociados con estos tipos de aromas. Se podría deducir que, si estos compuestos se encontraran en mayor concentración en los licores de cacao, estos podrían obtener mejores puntuaciones con respecto al aroma floral, mejorando la calidad aromática de los

licores de cacao producidos en Colombia. Sin embargo, aunque estos licores sean descritos en gran parte por los compuestos que ofrecen los aromas a floral, son descritos en menor proporción por los compuestos 33 y 42 (dodecanoato de etilo y 2,3,5,6-tetrametilpirazina), que son los compuestos que se asocian con aromas a nuez, tostado y dulce. Este resultado se obtiene, debido a que estos dos compuestos muestran altas puntuaciones cuando se encuentran en el lado negativo de la PC2 (aumento de aromas a nuez, cacao y dulce), y por consiguiente tendrá bajas puntuaciones en el eje positivo de la PC2, refiriéndose a bajos aromas florales asociados con los compuestos 2-nonanol, 2-heptanol y 2-nonanona.

Investigaciones con compuestos similares fueron encontrados y relacionados con licores de cacao y atributos sensoriales por medio del análisis PCA. Algunos de ellos se nombran en la sección 1.11 de esta tesis. Otros como Qin et al., (2017), relacionaron compuestos volátiles con respecto a 3 diferentes variedades de cacao (criollo, forastero y trinitario) mediante PCA explicando un total de 60% varianza; logrando encontrar que compuestos como 2-feniletanol, 2,3-butanodiol, 2-pentanol, 2-heptanol, acetato de benzilo, 1-feniletanona, 2-nonanona, 2-acetilpirrol, se encuentran y se correlacionan en mayor proporción en licores de cacao provenientes de cacaos trinitarios; compuestos como β -mirceno, acetato de 2-feniletilo, β -linalool, 2-fenilacetato de etilo, 2-furancaboxaldehído, α -limoneno, 2-etilhexanol se correlacionan más con los cacaos criollos, mientras que los compuestos ácido 3-metilbutanoico, ácido 2-metilbutanoico y 2,3-pentanediol se correlacionan mayoritariamente con la variedad forastero.

Moreira et al., (2016), realizaron un análisis PCA para relacionar los atributos sensoriales percibidos en licores de cacao con compuestos volátiles encontrados en granos de cacao

fermentados, y obtuvieron un 91% de varianza total explicada por las dos componentes. Ellos muestran que los 3 materiales trinitarios que trabajaron se correlacionan positivamente con los atributos caramelo, chocolate, dulce y frutal, al igual que los compuestos como acetato de 2-feniletlio (al igual que los resultados obtenidos en esta tesis) y butanoato de propilo que se asocian con aromas a dulce, frutal y miel. Por otra parte, se correlacionaron negativamente con atributos sensoriales como astringencia, amargor, y acidez, con compuestos como el ácido 3-metilbutanoico y ácido propanoico que se encuentran asociados con aromas desagradables que disminuyen la calidad del cacao. Además, se encontraron correlaciones entre 2-feniletanol y acetato de 2-propilo con atributos sensoriales florales.

Por otra parte, Cuellar et al., (2018), realizaron caracterizaciones de cacaos producidos en Huila (departamento de Colombia), donde aplicaron PCA para encontrar relaciones entre compuestos volátiles, parámetros evaluados del análisis bromatológico y atributos sensoriales percibidos, provenientes de los licores de cacao. Los resultados mostraron que compuestos como β -linalool y óxido de linalol, se correlacionan positivamente con el atributo floral y los metabolitos como la cafeína y la teobromina se correlacionaron con el atributo amargo. Ellos encontraron compuestos como benzaldehído, fenilacetaldehído, 1-feniletanona, 2,3-butanodiol, 2-fenietanol, benzoato de etilo, acetato de 2-feniletilo, ácido acético, 2,3,5-trimetilpirazina y 2,3,5,6-tetrametilpirazina en los licores de cacao; compuestos similares a los identificados en los licores de cacao trabajados en esta tesis.

4.6. Regresión de mínimos cuadrados parciales

Se observaron relaciones lineales entre los compuestos volátiles y las puntuaciones de los atributos dadas por el panel de cata. En este caso las variables independientes o predictoras fueron los compuestos volátiles (concentraciones) que más describían a los licores y las variables dependientes fueron los 6 atributos sensoriales percibidos (puntuaciones).

En la figura 34, se observa el gráfico de cargas de correlación entre los compuestos volátiles y los atributos sensoriales. Esta gráfica muestra que el modelo explica el 90% de la varianza total de la matriz de compuestos químicos y el 82% de la varianza total de la matriz de los atributos sensoriales. El gráfico de cargas de correlación describe la explicación de varianza que cada variable (compuesto volátil y atributo) ofrece a los modelos. La elipse menor o interna explica desde el 50% de la varianza total y la elipse mayor o externa hasta el 100%. Por este motivo, los compuestos y atributos que se encuentran entre la elipse menor y la elipse mayor son las variables que serán explicados satisfactoriamente por los modelos. Los demás puntos, serán despreciados. Este tipo de aproximación ya había sido empleada por Zhu et al., (2015), los cuales realizan el análisis de cargas de correlación para determinar los compuestos y atributos encontrados en las matrices de vinos que son explicados por los modelos obtenidos por PLS. Ellos mencionan que solamente se toman en cuenta las variables que se encuentren entre la elipse menor y la elipse mayor (50%-100%, respectivamente), esto con el fin de que el modelo no tenga gran número de variables que, de uno u otro modo, no aportaran ni a la varianza del modelo ni a un aumento de precisión en la predicción. Así mismo, González-Álvarez et al., (2013), Niu et al., (2011), Shi et al., (2013), Xiao et al., (2018), mencionan que las variables (dependientes o independientes) que

se encuentren antes de la elipse interna (<50%), no son tenidos en cuenta para el modelo por falta de aporte a la varianza y, además, porque no ayudan a la precisión de los modelos. Así las cosas, se tomaron en cuenta solamente los compuestos y los atributos que se encuentran entre el 50-100% de la varianza explicada.

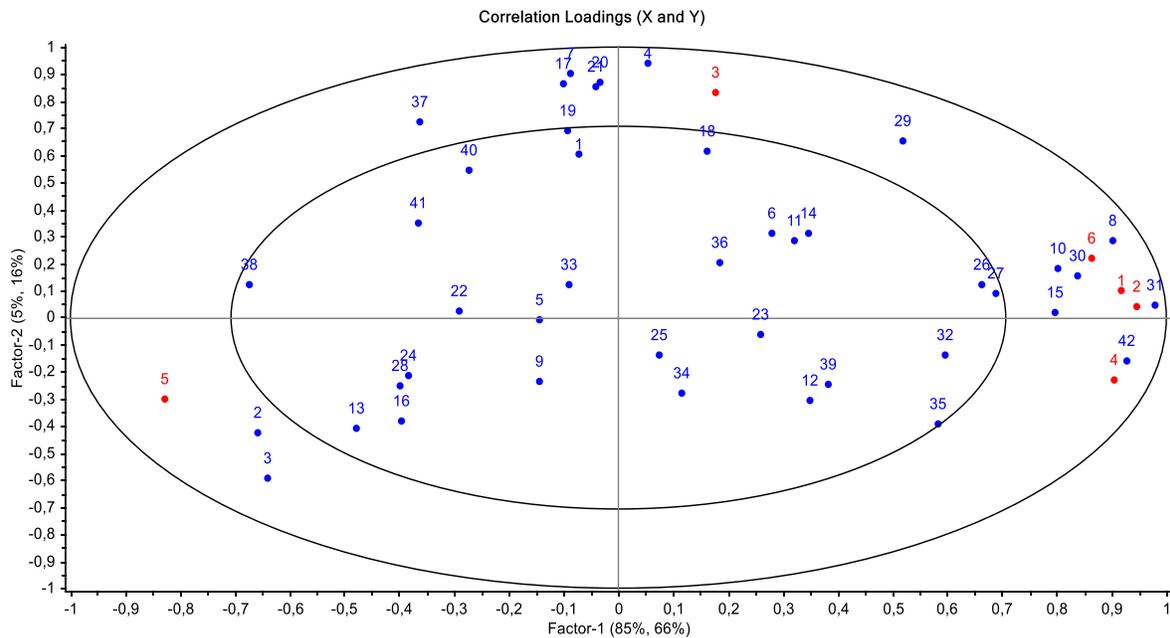


Figura 34. Vista general de la variación encontrada en los datos a partir de las cargas de correlación. Compuestos volátiles (azul) y atributos sensoriales (rojo)

En la figura 34, se observa la relación entre los atributos sensoriales (puntos rojos) con los compuestos volátiles (puntos azules). Los atributos 1, 2, 4 y 6 (correspondientes a los atributos cacao, frutal, nuez y dulce) se encuentran al lado derecho de la figura, el atributo 5 (ácido) se encuentra al lado izquierdo de la misma, y el atributo 3 (floral), se encuentra en la parte superior de la figura. Se observa que los atributos 1 y 2 están cerca, lo que infiere que estos dos atributos son sensorialmente similares. Esto debe ser, a que posiblemente se esté describiendo el atributo 2

(frutal) como frutas dulces; por consiguiente, habrá un alto grado de relación entre estas dos variables dependientes. A diferencia del atributo 5 (ácido) que se encuentra al otro lado de la figura, mostrando que son inversamente proporcionales los atributos 1, 2, 4 y 6 con el atributo 5. Un aumento en las puntuaciones del atributo 5 mostrará una reducción en la puntuación de los atributos 1, 2, 4 y 6 (y viceversa). Los puntos azules (compuestos) que se encuentran alrededor de los puntos rojos (atributos), son las variables descriptoras de su correspondiente variable dependiente. Así las cosas, los compuestos 10, 30, 15, 8 y 31 (benzaldehído, 2-fenilacetato de etilo, 5-metil-2-fenil-2-hexenal, 2-feniletanol y acetato de 2-feniletilo) describirán en mayor proporción, a los atributos 1, 2 y 6 y los compuestos 35, 42 y 15 (dodecanoato de etilo, 2,3,5,6-tetrametilpirazina y 5-metil-2-fenil-2-hexenal) describirán en mayor proporción al atributo 4.

El atributo 5 (ácido) es explicado por los compuestos 2 y 3 (ácido 3-metilbutanoico y 2-metilbutanoico, respectivamente) y el atributo 3 es explicado por los compuestos 37, 17, 7, 20, 21 y 4 (β -pineno, 2-nonanol, 2-heptanona, 2-nonanona, 2-undecanona y 2-heptanol, respectivamente). Estas correlaciones muestran similitudes con las descripciones de aromas de cada compuesto encontradas en la literatura mostradas en la tabla 12 y además de las investigaciones ya mencionadas en las secciones 1.10, 1.11 y 1.12. De esta manera, los compuestos que se utilizaron para realizar las regresiones de cada atributo sensorial fueron los que superaron la explicación de la varianza del 50%, siendo mostrados en la tabla 17. Con estos 16 compuestos y los 6 atributos sensoriales, se estructuraron los modelos de regresión y se calcularon los diferentes parámetros estadísticos.

Tabla 18.

Compuestos volátiles para la estructuración de los modelos de aroma

Familia de compuestos	No.	Compuesto
Ácidos	1	Ácido 3-metilbutanoico
	2	Ácido 2-metilbutanoico
Alcoholes	3	2-heptanol
	4	2-nonanol
	5	2-feniletanol
Aldehídos	6	Benzaldehído
	7	5-metil-2-fenil-2-hexenal
Cetonas	8	2-nonanona
	9	2-heptanona
	10	2-undecanona
Ésteres	11	Octanoato de etilo
	12	2-fenilacetato de etilo
	13	Acetato de 2-feniletilo
	14	Dodecanoato de etilo
Pirazina	15	2,3,5,6-tetrametilpirazina
Otro	16	B-pineno

4.7. Estructuración de modelos de aroma

Teniendo en cuenta los datos obtenidos por el software Unscrambler X, se estructuraron los siguientes modelos mostrados en las ecuaciones Eq8-Eq13 para cada uno de los atributos sensoriales trabajados:

$$\begin{aligned}
 Cacao (X_n) = & 2,224 - 0,006X_1 - 0,008X_2 + 0,005X_3 + 0,008X_4 + 0,014X_5 + 0,005X_6 \\
 & + 0,005X_8 + 0,001X_9 + 0,002X_{11} + 0,001X_{12} + 0,021X_{13} - 0,001X_{14} \\
 & + 0,013X_{15}
 \end{aligned}$$

Ecuación Eq-8. Modelo de regresión de atributo Cacao

$$\begin{aligned} \text{Floral } (X) = & -0,317 - 0,035X_1 - 0,048X_2 + 0,044X_3 + 0,076X_4 + 0,061X_5 + 0,017X_6 \\ & + 0,041X_8 + 0,005X_9 + 0,014X_{11} + 0,001X_{13} - 0,036X_{14} - 0,020X_{15} \\ & + 0,002X_{16} \end{aligned}$$

Ecuación Eq-9. Modelo de regresión de atributo Floral

$$\begin{aligned} \text{Frutal } (X) = & 0,538 - 0,005X_1 - 0,006X_2 + 0,002X_3 + 0,003X_4 + 0,013X_5 + 0,005X_6 \\ & + 0,002X_8 + 0,001X_{11} + 0,001X_{12} + 0,027X_{13} + 0,002X_{14} + 0,019X_{15} \end{aligned}$$

Ecuación Eq-10. Modelo de regresión de atributo Frutal

$$\begin{aligned} \text{Nuez } (X) = & 0,962 + 0,007X_1 + 0,012X_2 - 0,014X_3 - 0,026X_4 - 0,008X_5 - 0,001X_6 \\ & - 0,014X_8 - 0,002X_9 - 0,004X_{11} + 0,002X_{12} + 0,028X_{13} + 0,016X_{14} \\ & + 0,031X_{15} - 0,001X_{16} \end{aligned}$$

Ecuación Eq-11. Modelo de regresión de atributo Nuez

$$\begin{aligned} \text{Dulce } (X) = & 1,458 - 0,009X_1 - 0,012X_2 + 0,009X_3 + 0,015X_4 + 0,019X_5 + 0,006X_6 \\ & + 0,008X_8 + 0,001X_9 + 0,003X_{11} + 0,001X_{12} + 0,017X_{13} - 0,005X_{14} \\ & + 0,009X_{15} \end{aligned}$$

Ecuación Eq-12. Modelo de regresión de atributo Dulce

$$\begin{aligned} \text{Ácido } (X) = & 4,840 + 0,015X_1 + 0,020X_2 - 0,016X_3 - 0,027X_4 - 0,030X_5 - 0,009X_6 \\ & - 0,015X_8 - 0,002X_9 - 0,005X_{11} - 0,001X_{12} - 0,021X_{13} + 0,010X_{14} \\ & - 0,009X_{15} - 0,001X_{16} \end{aligned}$$

Ecuación Eq-13. Modelo de regresión de atributo Ácido

Cada uno de los predictores se encuentran en la tabla 18.

Tabla 19.

Variables predictoras en el modelamiento de los atributos sensoriales

Variable	Compuesto volátil
X_1	Ácido 3-metilbutanoico
X_2	Ácido 2-metilbutanoico
X_3	2-heptanol
X_4	2-nonanol
X_5	2-feniletanol
X_6	Benzaldehído
X_7	5-metil-2-fenil-2-hexenal
X_8	2-nonanona
X_9	2-heptanona
X_{10}	2-undecanona
X_{11}	Octanoato de etilo
X_{12}	2-fenilacetato de etilo
X_{13}	Acetato de 2-feniletilo
X_{14}	Dodecanoato de etilo
X_{15}	2,3,5,6-tetrametilpirazina
X_{16}	β -pineno

Algunas consideraciones que se deben tener en cuenta son:

1. Los modelos solo aplican para cacaos de variedad trinitario
2. Las concentraciones de cada compuesto volátil (X_n) se deben introducir en mg/kg (unidades).
3. La escala de las puntuaciones sensoriales se encuentra entre 1-10. Sin embargo, las puntuaciones con las que se realizaron los modelos no superaron el valor de 5, por lo que los resultados de las puntuaciones se encontraran en el orden de 1-5

4.8. Validación de los modelos de aroma

En las figuras 35 a 40, se observan los valores de los licores de cacao con los datos de calibración y validación (validación cruzada: dejando uno afuera) teniendo en cuenta las variables de respuesta con los valores de Y reales (reference) y Y estimados (predicted) obtenidos por PLSR, con el fin de conocer qué tan ajustados se obtuvieron los modelos.

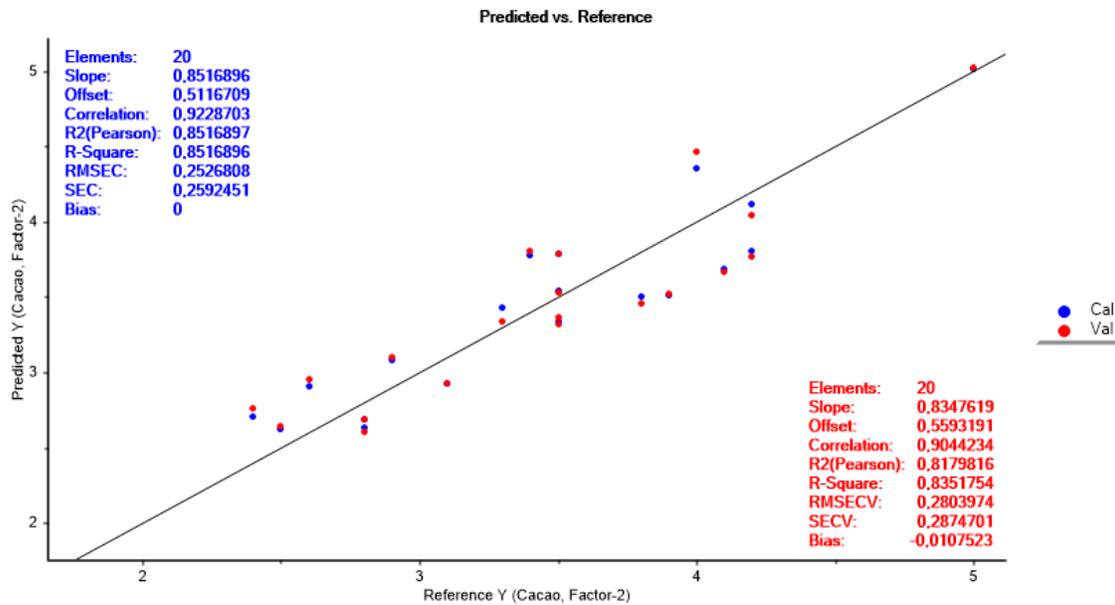


Figura 35. Regresión del atributo Cacao con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao.

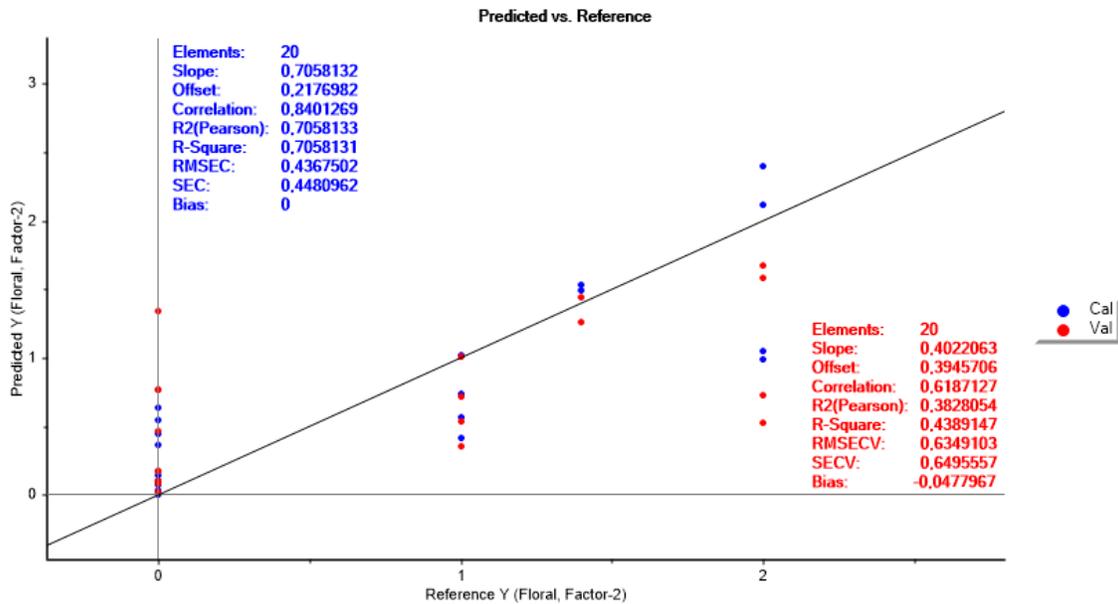


Figura 36. Regresión del atributo Floral con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao.

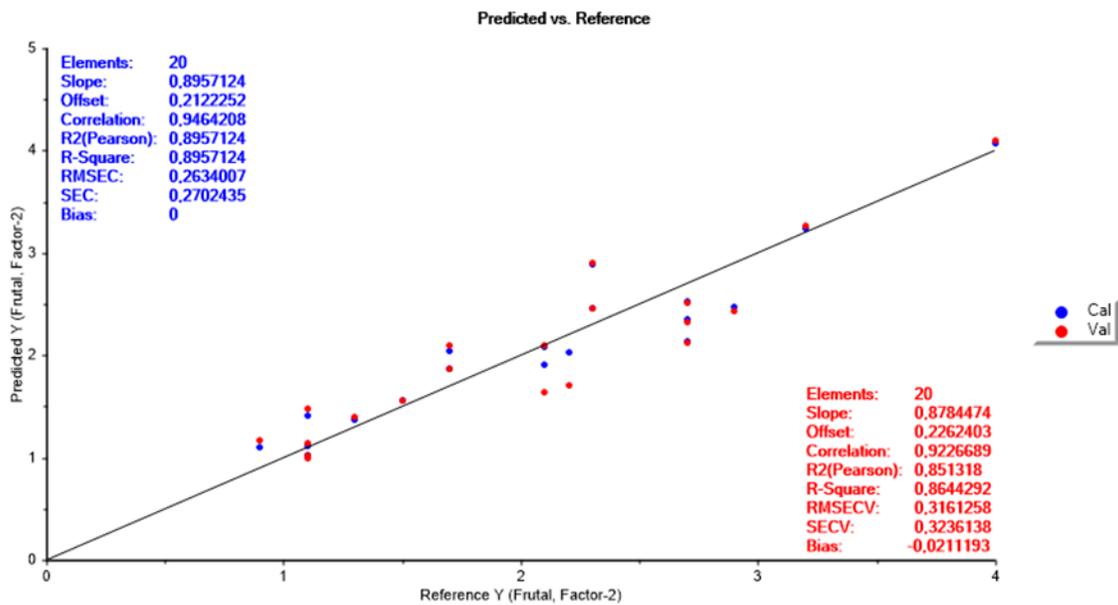


Figura 37. Regresión del atributo Frutal con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao.

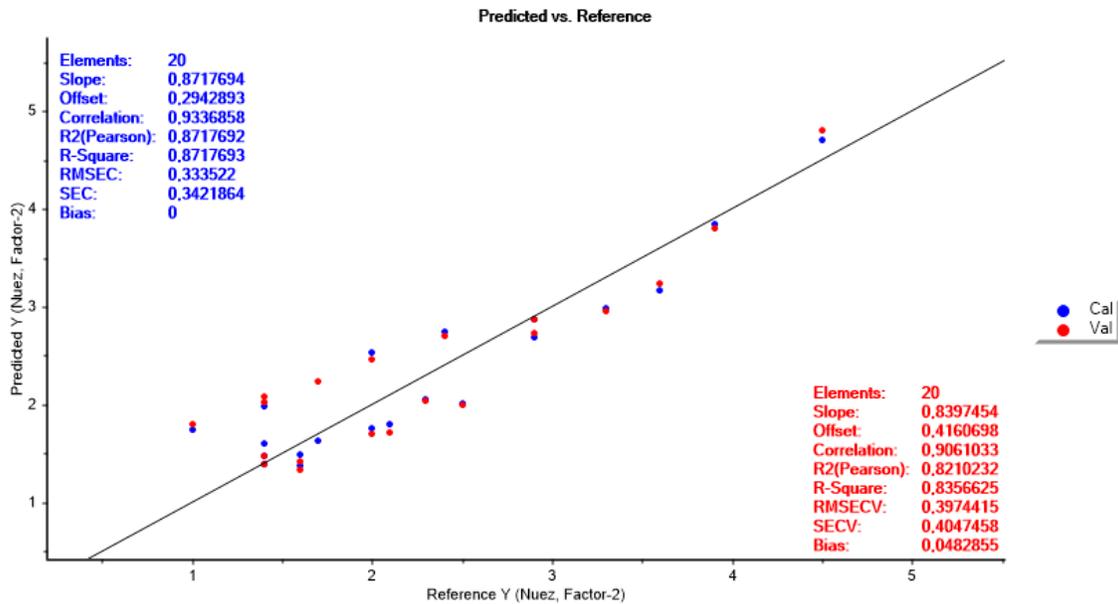


Figura 38. Regresión del atributo Nuez con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao.

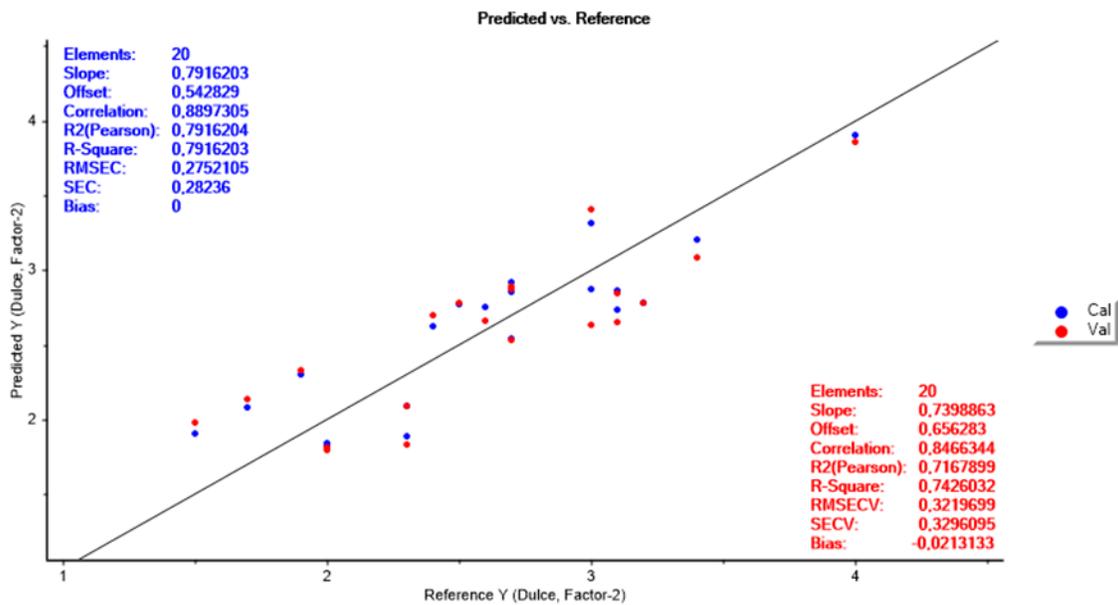


Figura 39. Regresión del atributo Dulce con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao.

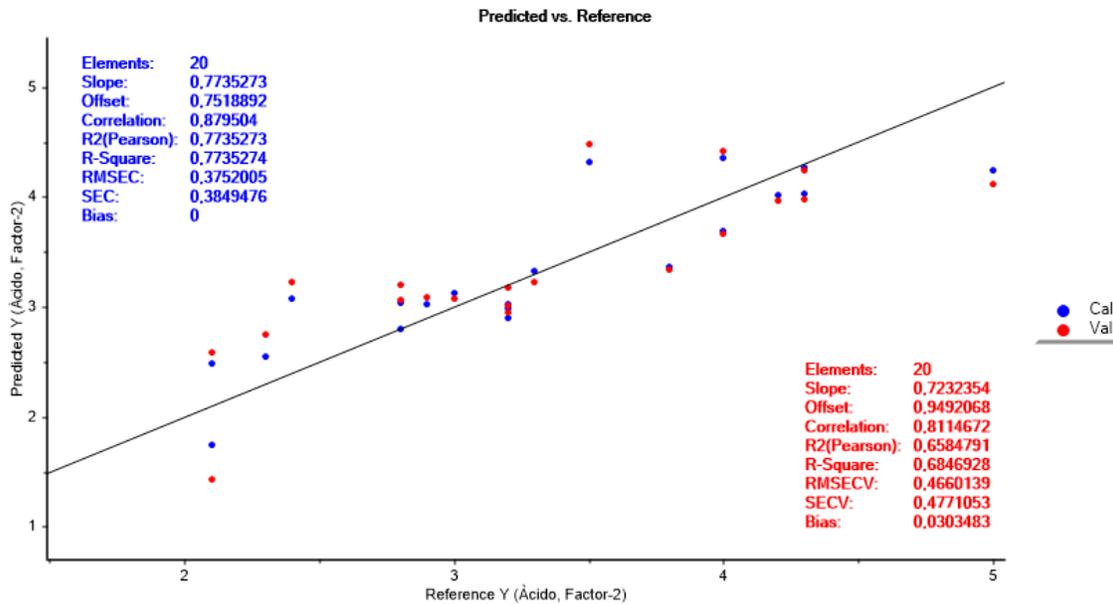


Figura 40. Regresión del atributo Ácido con los valores de Y reales y Y estimados en la calibración (azul) y en la validación cruzada (rojo) a partir de los 20 licores de cacao.

Se evaluó la regresión de cada atributo mediante los parámetros del error cuadrado medio (RMSE), sesgo (bias), coeficiente de determinación (R-square, R2), correlación (correlation), compensación (offset) y pendiente (slope). Se observa en las figuras 35, 37 y 38 un R2 de 0.85, 0.89 y 0.87 para la calibración y 0.83, 0.86 y 0.83 para la validación obtenidos por el modelamiento de los atributos cacao, frutal y nuez respectivamente; mientras que en las figuras 36, 39 y 40 un R2 de 0.70, 0.79 y 0.77 para la calibración y 0.43, 0.74 y 0.68 para la validación de los atributos floral, dulce y ácido respectivamente. Es importante tener en cuenta que el resultado del coeficiente de determinación oscila entre 0 y 1. Cuanto más cerca de 1 se sitúe su valor, mayor será el ajuste y la precisión del modelo con las variables que estamos intentando explicar. Por esto, los datos de la variable de repuesta de los atributos cacao, frutal y nuez se ajustan mejor y explican en mayor proporción la varianza de los datos que los valores obtenidos para los atributos floral, dulce y

ácido. Sin embargo, en comparación con el atributo floral, los atributos dulce y ácido son explicados en mayor proporción por los modelos de calibración y validación (dulce 0.79 y 0.74; ácido 0.77 y 0.68 respectivamente) que los obtenidos por el atributo floral 0.7 y 0.43 respectivamente. Esto significa que los datos se ajustan muy poco a la línea de regresión obtenida. Además, se observa en la figura 36 cómo se sobreponen las puntuaciones de los datos sensoriales en la regresión del atributo floral, debido a la falta de puntuación de este atributo en los licores de cacao trabajados. Ribeiro et al., (2012), aplicó PLS para construir modelos predictivos de análisis sensorial a partir de concentraciones de compuestos volátiles de matrices de café y obtuvo valores de RMSEV (validación cruzada, L-O-O) y R², para las características de sabor, aroma, limpieza y calidad general de 0.39, 0.18, 0.32, 0.38 y 0.89, 0.88, 0.91 y 0.91 respectivamente. Según Ribeiro et al., (2012), los errores relativos tienden a ser altos para las muestras con bajas puntuaciones, y disminuye, cuando se obtienen altas puntuaciones sensoriales.

Uno de los principales indicadores de rendimiento para un modelo predictivo de regresión son los errores cuadráticos medios. Estos miden la diferencia media entre los valores estimados por el modelo y los valores reales. Además, proporcionan una estimación de la capacidad del modelo predictivo para predecir el valor destino (precisión). Cuanto menor sea el valor de RMSE (C o V), más preciso será el modelo de regresión. Un modelo predictivo perfecto (modelo predictivo hipotético que siempre predeciría el valor esperado exacto) tendría un valor de raíz de error cuadrado medio de 0. En otras palabras, estos errores son la desviación estándar de la variable dependiente y se encuentra en las mismas unidades. Cuando mayor sea estos errores, menor será la precisión del modelo. Para el RMSEC (error de calibración) se obtuvieron valores de 0.25, 0.43, 0.26, 0.33, 0.27, 0.37 (cacao, frutal, flora, nuez, dulce y ácido respectivamente) y para el RMSEV (error de validación) se obtuvieron valores de 0.28, 0.63, 0.31, 0.39, 0.32, 0.46 respectivamente.

Se observa que los atributos cacao, frutal y nuez poseen los valores de RMSEC Y RMSEV más pequeños con respecto a los atributos floral, dulce y ácido. De igual manera, el atributo floral es el atributo que posee mayor error de calibración y de validación de los datos; esto ocurre debido a la falta de datos obtenidos en las pruebas de cata. Es claro que los licores de cacao en Colombia poseen atributos fuertes a frutales, cacao y nuez por lo que los datos de cata son más preciso y concisos; a diferencia del atributo floral que, al no ser característicos de los licores de cacao de Colombia, estas puntuaciones no logran estar bien descritas por los catadores incurriendo en errores de percepción sensorial.

Otra característica de un buen ajuste se observa cuando se encuentran datos cercanos a la línea de regresión que pasa a través del origen (offset) y obtiene un valor de pendiente (slope) de 1. Esta es una buena manera de verificar la calidad del modelo de regresión. Teniendo en cuenta lo anterior, se observa que los valores de la regresión de floral, frutal y nuez son cercanos a cero con offset de 0.21, 0.21 y 0.29 respectivamente; a diferencia de la regresión de cacao, dulce y ácido que son 0.51, 0.54 y 0.75, lo cual son valores más alejados. Sin embargo, como este valor va en unión con la pendiente (slope=1), los atributos como floral (slope=0.7), ácido (slope= 0.77) y dulce (slope= 0.79), son los atributos que obtuvieron las pendientes más alejadas de 1. Esto demuestra una calidad menor con respecto a los atributos cacao, frutal y nuez. Por otra parte, los atributos cacao, frutal y nuez poseen una pendiente (slope) de 0.85, 0.89, y 0.87 respectivamente con bajos valores de offset, asegurando buena calidad de explicación de varianza de estos tres modelos de regresión.

Uno de los parámetros más importantes a la hora de encontrar las correlaciones entre las variables predictoras y las variables dependientes, es el coeficiente de correlación de Pearson. Este coeficiente oscila entre valores de -1 a 1, indicando que tan correlacionados están los valores reales y estimados en cada uno de los modelos. Además, mide la fuerza y el sentido de la relación lineal entre dos variables. Se observa que para las regresiones de los atributos cacao, frutal, y nuez, la fuerza lineal es significativa para los valores de calibración 0.85, 0.89 y 0.87 y validación 0.81, 0.85 y 0.82; a diferencia de la fuerza lineal de las regresiones floral, dulce y ácido que son más bajas con valores de calibración de 0.70, 0.79 y 0.77 y de validación de 0.38, 0.71 y 0.68. Aunque para los últimos 3 atributos exista una correlación más débil, es el atributo floral el que posee una muy baja relación (casi sin explicación de los datos) entre los datos reales y estimados, entendiéndose que el modelo puede arrojar valores muy dispersos, mostrando baja confiabilidad en ese modelo de regresión.

Por último, se calculó el sesgo (Bias.) Este valor es la diferencia entre la media observada y un valor real. El sesgo indica cuál es la exactitud del sistema de medición cuando se compara con un valor real. Un valor cercano a cero indica una distribución aleatoria de puntos sobre la línea de regresión generando bajos errores. Se puede observar que en los datos de calibración todos los valores de bias (sesgo) son cero, por lo que existe buena precisión de los datos con su media. A diferencia de los datos de validación, que, aunque el bias promedio oscila entre 0 y 0.05, las regresiones de nuez y ácido tienen bias positivo, mostrando una leve inexactitud de los datos con la media. Este dato muestra que a mayores valores de bias cada vez que aumenta la regresión existirá un problema de linealidad.

Teniendo en cuenta los resultados de las regresiones obtenidas anteriormente, en las figuras 41 a 46 se muestran los coeficientes de regresión de cada variable independiente con sus respectivos pesos, observando cómo cada una afecta o no significativamente a cada atributo (variables de respuesta). El atributo nuez estuvo correlacionado y explicado positivamente por los compuestos ácido 2-metilbutanoico y ácido 3-metilbutanoico, acetato de 2-feniletilo, dodecanoato de etilo y por 2,3,5,6-tetrametilpirazina y negativamente por 2-heptanol, 2-nonanol, 2-feniletanol y 2-nonanona. Sin embargo, es claro que los compuestos como acetato de 2-feniletilo y la 2,3,5,6-tetrametilpirazina explican en su mayoría este atributo según el modelo. Con respecto al atributo floral, es correlacionado y explicado positivamente por los compuestos 2-heptanol, 2-nonanol, 2-feniletanol y 2-nonanona y negativamente por los compuestos ácido 2-metilbutanoico, ácido 3-metilbutanoico, dodecanoato de etilo y por 2,3,5,6-tetrametilpirazina. Para el atributo frutal, los compuestos que lo explican positivamente son acetato de 2-feniletilo, 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 2-feniletanol y el benzaldehído en menor proporción, y explicado negativamente por los ácidos 2-metilbutanoico y 3-metilbutanoico.

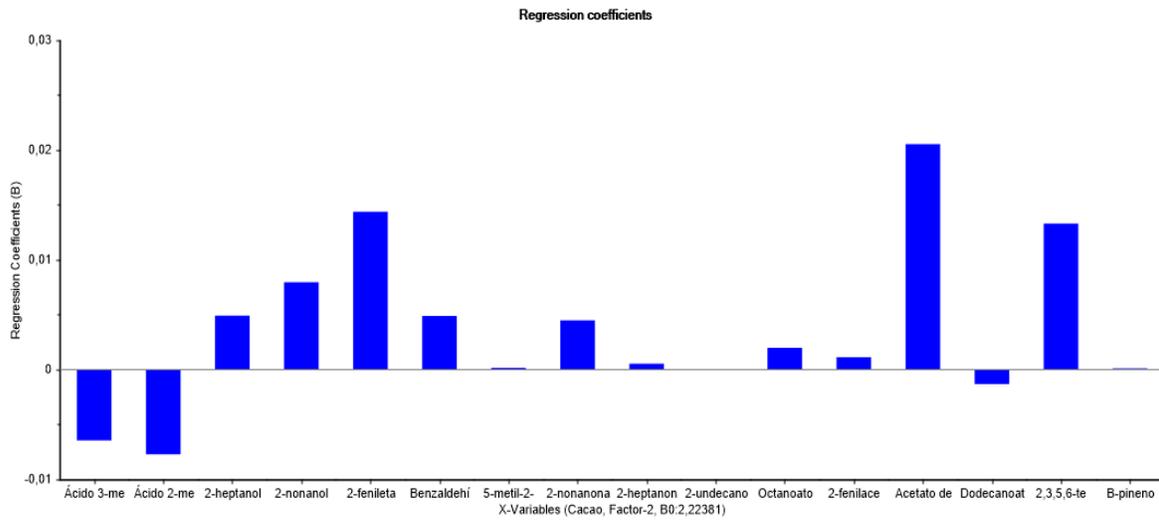


Figura 41. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Cacao

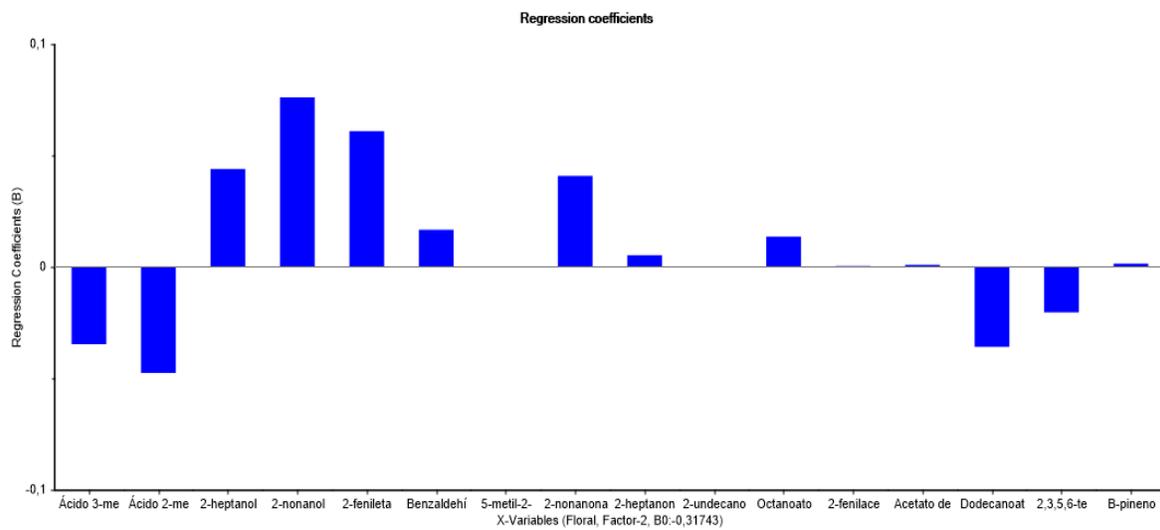


Figura 42. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Floral

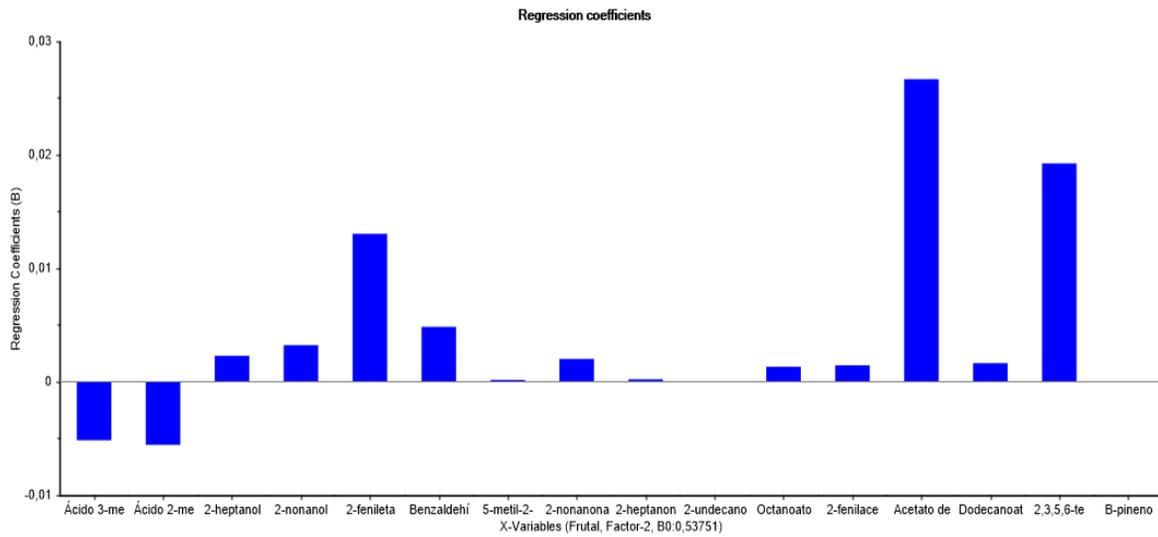


Figura 43. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Frutal

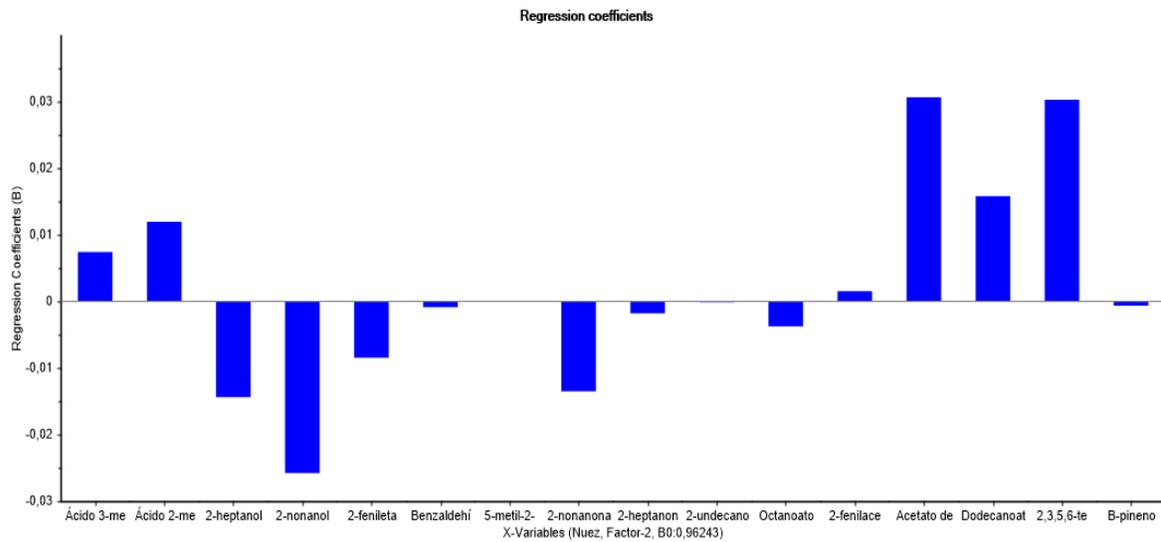


Figura 44. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Nuez

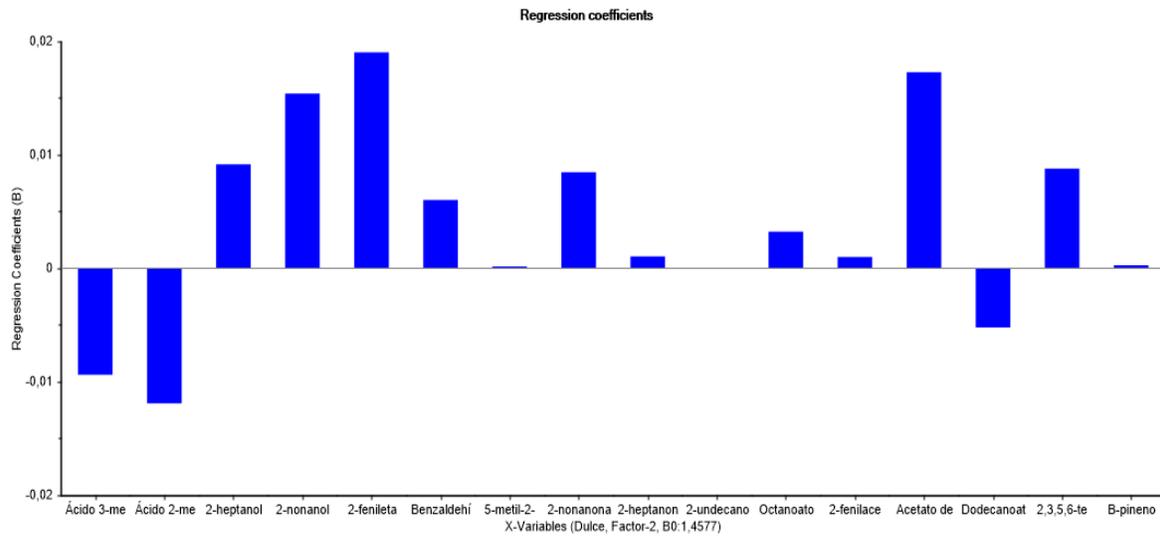


Figura 45. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Dulce

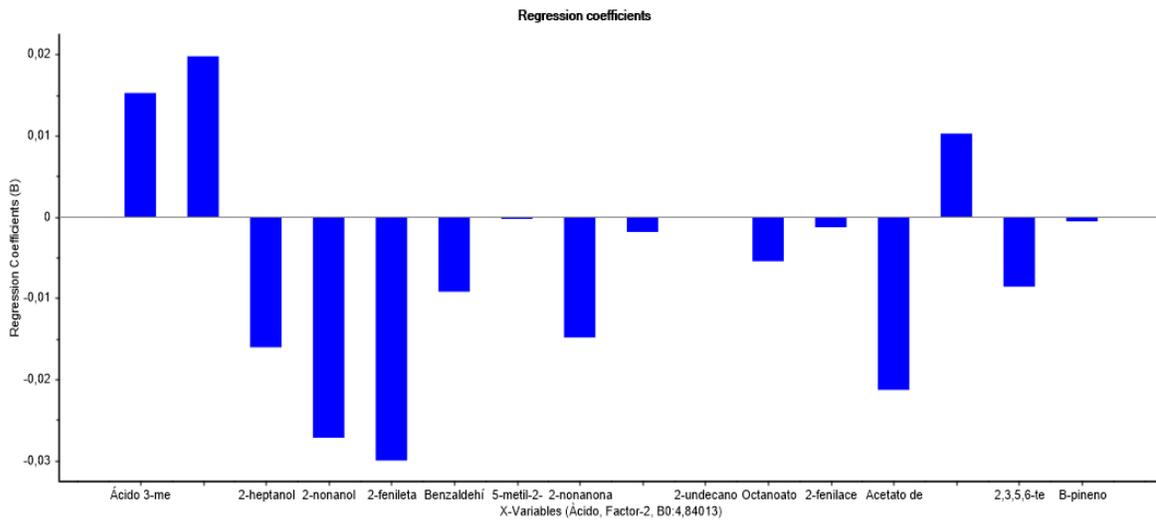


Figura 46. Valores de los coeficientes de regresión del atributo Ácido

Con respecto al atributo cacao y dulce, los compuestos que se relacionan positivamente con el modelo son 2-heptanol, 2-nonanol, 2-feniletanol, 2-nonanona, benzaldehído, acetato de 2-

feniletilo y 2,3,5,6-tetrametilpirazina y negativamente los ácidos 2-metilbutanoico y 3-metilbutanoico.

Sin embargo, los alcoholes ejercen una mayor fuerza positiva y los ácidos una mayor fuerza negativa en el atributo dulce que al atributo cacao. Esto significa que cuanto mayor sea las concentraciones de los ácidos y de los alcoholes mencionados habrá una mayor variación de la puntuación en el atributo dulce. Por último, en el atributo ácido, solamente explican positivamente al modelo los compuestos ácidos como el 2-metilbutanoico y 3-metilbutanoico con el dodecanoato de etilo y negativamente con los compuestos 2-heptanol, 2-nonanol, 2-feniletanol, 2-nonanona, benzaldehído, acetato de 2-feniletilo y 2,3,5,6-tetrametilpirazina.

5. Conclusiones

Las técnicas SPME, GC-MS, GC-FID y análisis sensorial fueron implementadas para estudiar las características de aroma de 10 variedades de cacao promisorias del departamento de Santander. Se observó el efecto de la temperatura y tiempo de extracción de los compuestos volátiles asociados con características de aroma, encontrando una temperatura de 60°C y 40 minutos como puntos óptimos para extraer los volátiles de los licores de cacao; estos valores fueron similares a los encontrados en otras investigaciones. Además, por medio de las técnicas de cromatografía y análisis sensorial se lograron identificar y cuantificar 77 compuestos volátiles en los 20 licores de cacao y 6 atributos sensoriales percibidos en ellos. Estos resultados permitieron determinar el perfil químico y el perfil sensorial de cada uno de los licores.

El método PLSR logró modelar matemáticamente los 6 atributos sensoriales a partir del perfil químico de compuestos volátiles obtenido. Se lograron reducir las variables predictoras (compuestos volátiles) que contribuyen en el modelamiento de los atributos sensoriales, de 77 compuestos a 16 compuestos volátiles. Aunque la precisión de predicción (R^2) de los modelos se reduce, en promedio, de 87% a 81% estos se vuelven más asequibles y manipulables con 16 variables. Sin embargo, la precisión de la predicción obtenida por los modelos propuestos en este trabajo ($R^2=81\%$) estuvo en órdenes de magnitud similares a los obtenidos en otras matrices como quesos ($R^2=81\%$), vinos ($R^2=75\%$), carnes ($R^2=72\%$), café ($R^2=84\%$) y jugos (R^2); infiriéndose que los modelos propuestos describen en gran proporción los datos analizados y predicen con un buen nivel de confianza las percepciones sensoriales estudiadas.

Referencias bibliográficas

- Abdi, H. (2010). Partial least squares regression and projection on latent structure regression (PLS Regression). *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(1), 97–106. <https://doi.org/10.4135/9781412952644>
- Aculey, P. C., Snitkjaer, P., Owusu, M., Bassompierre, M., Takrama, J., Nørgaard, L., ... Nielsen, D. S. (2010). Ghanaian cocoa bean fermentation characterized by spectroscopic and chromatographic methods and chemometrics. *Journal of Food Science*, 75(6), S300-S307. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01710.x>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 840–857. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2009). Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC-mass spectrometry and GC-olfactometry. *Food Chemistry*, 113(1), 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.088>
- Afoakwa, E. O., Quao, J., Takrama, J., Budu, A. S., & Saalia, F. K. (2013). Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1097–1105. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0446-5>
- Aguirre, A. (2007). *La viabilidad económica del cultivo del cacao en México a través de una economía sostenible*. Universidad de las Américas Puebla.
- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., Sánchez, P., Girón, C., & De Farias, A. (2010).

- Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *Revista Científica UDO Agrícola*, 10(1), 76–87. <https://doi.org/10.1039/c2cc16027g>
- Amores, F., Espín, S., Jiménez, J., & Saltos, A. (2002). La aplicación de la relación Theobromina/Cafeína para diferenciar las almendras de cacao nacional, CCN-51 y Ghana (cacao ordinario). INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue, Programa Nacional de Cacao y Café. Quevedo, Ecuador.
- Aprotosoiaie, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2700–2707. <https://doi.org/10.1021/jf026115z>
- Babushok, V. I., Linstrom, P. J., & Zenkevich, I. G. (2011). Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40(4), 043101. <https://doi.org/10.1063/1.3653552>
- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E., & Sikora, M. (2015). Cocoa Agronomy, Quality, Nutritional, and Health Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5), 620–659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.669428>
- Bainbridge, J., & Davies, S. (1912). The essential oil of cocoa. *Journal of the Chemical Society*, 101, 2209–2221.
- Baños, E., & Urrutia, E. (2014). *Análisis sensorial*. Retrieved from https://investigacion.upaep.mx/micrositios/assets/analisis-sensorial_final.pdf

- Batista, N. N., Ramos, C. L., Dias, D. R., Pinheiro, A. C. M., & Schwan, R. F. (2016). The impact of yeast starter cultures on the microbial communities and volatile compounds in cocoa fermentation and the resulting sensory attributes of chocolate. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 1101–1110. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2132-5>
- Beckett, S. T. (2009). Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition* (Fourth Edi). <https://doi.org/10.1002/9781444301588>
- Bianchi, F., Careri, M., Mangia, A., & Musci, M. (2007). Retention indices in the analysis of food aroma volatile compounds in temperature-programmed gas chromatography: Database creation and evaluation of precision and robustness. *Journal of Separation Science*, 30(4), 563–572. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600393>
- Bonvehí, J. S. (2005). Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *European Food Research and Technology*, 221(1–2), 19–29. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-1147-y>
- Buchbauer, G., Wailzer, B., Wolschann, P., Klocker, J., & Ecker, G. (2002). Prediction of the Aroma Quality and the Threshold Values of Some Pyrazines Using Artificial Neural Networks § . *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(17), 2805–2813. <https://doi.org/10.1021/jm001129m>
- Bugaud, C., & Alter, P. (2016). Volatile and non-volatile compounds as odour and aroma predictors in dessert banana (*Musa* spp.). *Postharvest Biology and Technology*, 112, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.10.003>
- CAOBISCO/AEC/FCC, C. biscuits & confectionery of E. E. C. A. ;Federation of C. C. (2015). Cacao en grano: Requisitos de calidad de la industria del chocolate y del cacao. In *Revista*

Brasileira de Medicina (Vol. 69).

- Cevallos-Cevallos, J. M., Gysel, L., Maridueña-Zavala, M. G., & Molina-Miranda, M. J. (2018). Time-Related Changes in Volatile Compounds during Fermentation of Bulk and Fine-Flavor Cocoa (Theobroma cacao) Beans. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1758381>
- Chetschik, I., Kneubühl, M., Chatelain, K., Schlüter, A., Bernath, K., & Hühn, T. (2018). Investigations on the Aroma of Cocoa Pulp (Theobroma cacao L.) and Its Influence on the Odor of Fermented Cocoa Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(10), 2467–2472. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05008>
- Choy, A. (2007). Programa de formación de catadores de cacao, y talleres de capacitación a personal de asociaciones de productores. Retrieved from https://www.mincetur.gob.pe/wp-content/uploads/documentos/comercio_exterior/Sites/ueperu/licitacion/pdfs/Informes/22.pdf
- Compañía Nacional de Chocolate. (2018). El grano de cacao y su calidad. Retrieved from <https://www.chocolates.com.co/wp-content/uploads/2018/05/el-grano-del-cacao-y-su-calidad.pdf>
- Contreras Pedraza, C. A. (2017). Análisis de la cadena de valor del cacao en Colombia: generación de estrategias tecnológicas en operaciones de cosecha y poscosecha, organizativas, de capacidad instalada y de mercado. *Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería.*, 221 páginas. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/59141/1/1032373448-2017.pdf>
- Cordero-Bueso, G. (2013). Aplicación Del Análisis Sensorial De Los Alimentos En La Cocina Y En La Industria Alimentaria. In *Cursos de Verano*.

<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3548.4003>

- Cordero, C., Guglielmetti, A., Sgorbini, B., Bicchi, C., Allegrucci, E., Gobino, G., ... Merle, P. (2019). Odorants quantitation in high-quality cocoa by multiple headspace solid phase micro-extraction: Adoption of FID-predicted response factors to extend method capabilities and information potential. *Analytica Chimica Acta*, *1052*, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.11.043>
- Counet, C., Callemien, D., Ouwerx, C., & Collin, S. (2002). Use of Gas Chromatography–Olfactometry To Identify Key Odorant Compounds in Dark Chocolate. Comparison of Samples before and after Conching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 2385–2391.
- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Saerens, S., Blennow, A., ... Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, *63*, 306–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.032>
- Cubillos, G., Merizalde, G., & Correa, E. (2008). Manual de Beneficio del Cacao. *Secretaria De Agricultura De Antioquia*, 13. Retrieved from <http://venezuelacacao.org/wp-content/uploads/2015/04/manual-beneficio-cacao-2013.pdf>
- Cuellar, L. M., Espinosa, C. M. O., Sánchez, Y. K. A., Cruz, L. G., & Salazar, J. C. S. (2018). Organoleptic quality assessment of *Theobroma cacao* L. in cocoa farms in northern Huila, Colombia. *Acta Agronomica*, *67*(1), 46–52. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n1.66572>
- Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vazquez, E., Sauri-Duch, E., & Pino, J. (2013). Characterization of aroma-active compounds in sugar apple (*Annona squamosa* L.) . *Acta Alimentaria*, *42*(1), 102–108. <https://doi.org/10.1556/aalim.42.2013.1.10>

- Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Gas Chromatography-Olfactometry and Chemical Quantitative Study of the Aroma of Six Premium Quality Spanish Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1653–1660. <https://doi.org/10.1021/jf0350820>
- Czerny, M., Christlbauer, M., Christlbauer, M., Fischer, A., Granvogl, M., Hammer, M., ... Schieberle, P. (2008). Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *European Food Research and Technology*, 228(2), 265–273. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0931-x>
- De Brito, E., Pezoa, N., Gallao, M., Cortelazzo, A., Fevereiro, P., & Braga, M. (2000). *Structural and chemical changes in cocoa (Theobroma cacao L) during fermentation , drying and roasting*. 81, 281–288. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81)
- De la cruz, J., Vargas, M., & Del Angel, A. (2013). *CACAO: Operaciones Poscosecha*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-au995s.pdf>
- Diaz, S., & Pinoargote, M. (2012). “*Análisis de las Características Organolépticas del Chocolate a partir de Cacao CCN51 Tratado Enzimáticamente y Tostado a Diferentes Temperaturas.*” 102. Retrieved from <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/21432>
- Domenech, J. (2011). Validación cruzada. Retrieved from https://es.wikipedia.org/wiki/Validación_cruzada#/media/Archivo:Esquema_castellà.jpg
- Ducki, S., Miralles-Garcia, J., Zumbé, A., Tornero, A., & Storey, D. M. (2008). Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. *Talanta*, 74(5), 1166–1174. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.08.034>

- Economipedia. (2012). Coeficiente de determinación. Retrieved from <https://economipedia.com/definiciones/r-cuadrado-coeficiente-determinacion.html>
- Fedecacao. (2019). Economía internacional del cacao. Retrieved from <https://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-02-12-17-20-59/internacionales>
- Fedecacao, F. N. D. C. (2004). *El beneficio y características físico químicas del cacao (Theobroma cacao L.)*. Retrieved from <http://www.fedecacao.com.co/site/index.php/1pub-publicaciones>
- Feng, Y., Cai, Y., Fu, X., Zheng, L., Xiao, Z., & Zhao, M. (2018). Comparison of aroma-active compounds in broiler broth and native chicken broth by aroma extract dilution analysis (AEDA), odor activity value (OAV) and omission experiment. *Food Chemistry*, 265(April), 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.043>
- Frauendorfer, F., & Schieberle, P. (2008). Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10244–10251. <https://doi.org/10.1021/jf802098f>
- Gawel, R., Smith, P. A., Cicerale, S., & Keast, R. (2018). The mouthfeel of white wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(17), 2939–2956. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1346584>
- Gemperline, P. (2006). Measurement error and measures of prediction error. In *Practical Guide To Chemometrics* (p. 114). CRC press.
- González-Álvarez, M., Noguero-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2013). Multivariate statistical techniques for the analysis of instrumental and sensorial datasets : the case of aromas and their perception in wines. *AgroLife Scientific Journal*, 2(1), 9–21.
- González, M. (2016). *Características sensoriales y composición no volátil de vinos tintos: avances*

en la exploración de la calidad (Universidad de la Rioja). Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=46984>

González, Y., Pérez, E., & Palomino, C. (2012). Factores que inciden en la calidad sensorial del chocolate. *Nutrición*, *13*(N° 4), 1–11. Retrieved from http://www.revistasan.org.ar/pdf_files/trabajos/vol_13/num_4/RSAN_13_4_314.pdf

Gualdrón, M., & Guarín, M. (2017). *Relación entre compuestos volátiles precursores de aroma y notas sensoriales en variedades de cacao del departamento de Santander por medio de análisis de componentes principales PCA*. Tesis de pregrado. Universidad Industrial de Santander, Santander, Colombia.

Guzmán, J., & Gómez, S. (2014). Evaluación sensorial de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivado en la región del sur del departamento de Bolívar (Colombia). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *5*(2), 221–236. Retrieved from <http://oaji.net/articles/2017/5565-1508813663.pdf>

Hernandez, E. (2005). Análisis Sensorial. *Universidad Nacional Abierta Y A Distancia – Unad*, 11–18. Retrieved from [http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m evaluacion sensorial.pdf](http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf)

ICCO. (2012). Harvesting & Post-harvest processing. Retrieved from <https://icco.org/about-cocoa/harvesting-and-post-harvest.html>

ICCO. (2013). Growing Cocoa. Retrieved from <https://www.icco.org/about-cocoa/growing-cocoa.html>

ICCO. (2019). Fine or Flavour Cocoa. Retrieved from What is Fine or Flavour Cocoa? website: <https://icco.org/about-cocoa/fine-or-flavour-cocoa.html>

ICONTEC. *GTC 165. Análisis sensorial. Metodología. Guía general.* , (2007).

ICONTEC. *Análisis Sensorial. Métodos Del Perfil Del Sabor.* , (2009).

ICONTEC. *Cacao en grano.* , (2012).

ISO. *Cocoa beans-Specification and quality requirements.* , 2017 § (2017).

Jaimes, Y., & Aranzazu Hernández, F. (2010). Manejo de las enfermedades del cacao, con énfasis en monilia. In *Union temporal de cacao.* Retrieved from https://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_04A.pdf

Jetti, R. R., Yang, E., Kurnianta, A., Finn, C., & Qian, M. C. (2007). Quantification of selected aroma-active compounds in strawberries by headspace solid-phase microextraction gas chromatography and correlation with sensory descriptive analysis. *Journal of Food Science*, 72(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00445.x>

Jinap, S., Rosli, W. W., Russly, A. R., & Nordin, L. M. (1998). Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4), 441–448.

Jumtee, K., Komura, H., Bamba, T., & Fukusaki, E. (2011). Predication of Japanese green tea (Sen-cha) ranking by volatile profiling using gas chromatography mass spectrometry and multivariate analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 112(3), 252–255. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.05.008>

Kadow, D., Bohlmann, J., Phillips-Mora, W., & Lieberei, R. (2013). Identification of main fine or flavour components in two genotypes of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86, 90–98. <https://doi.org/10.5073/Jabfq.2013.086.013>

Khandelwal, R. (2018). Cross-validation techniques. Retrieved from <https://medium.com/datadriveninvestor/k-fold-and-other-cross-validation-techniques-6c03a2563f1e>

- Kongor, J. E., Hinneh, M., de Walle, D. Van, Afoakwa, E. O., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - A review. *Food Research International*, 82, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Krings, U., Zelena, K., Wu, S., & Berger, R. G. (2006). Thin-layer high-vacuum distillation to isolate volatile flavour compounds of cocoa powder. *European Food Research and Technology*, 223(5), 675–681. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0252-x>
- Lares, M., Gutiérrez, R., Pérez, E., & Álvarez, C. (2012). *ácidos grasos de la manteca de granos de cacao del estado Miranda, Venezuela*. 12(2), 439–446.
- Liu, T., Feng, T., & Chen, W. (2017). Identification of volatile flavour components of *Tuber melanosporum* using simultaneous distillation-extraction. *Czech Journal of Food Sciences*, 35(No. 6), 483–487. <https://doi.org/10.17221/31/2017-cjfs>
- Lozano, A. P., Vega, V., & Jhanory, Lady. (2017). Desarrollo regional sostenible en zonas rurales: Una aproximación al cultivo de cacao en el departamento de santander. *Repository.Ucatolica.Edu.Co*, 1–46.
- Lozano, J., Santos, J. P., Arroyo, T., Aznar, M., Cabellos, J. M., Gil, M., & Horrillo, M. del C. (2007). Correlating e-nose responses to wine sensorial descriptors and gas chromatography-mass spectrometry profiles using partial least squares regression analysis. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 127(1), 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.07.053>
- Lucero, M., Estell, R., Tellez, M., & Fredrickson, E. (2009). A retention index calculator simplifies identification of plant volatile organic compounds. *Phytochemical Analysis*, 20(5), 378–384. <https://doi.org/10.1002/pca.1137>
- Maier, H. R., & Dandy, G. C. (1996). The use of artificial neural networks for the prediction of

- water quality parameters. *Water Resources Research*, 32(4), 1013–1022. <https://doi.org/10.1029/96WR03529>
- Merkle, S., Kleeberg, K., & Fritsche, J. (2015). Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. *Chromatography*, 2(3), 293–381. <https://doi.org/10.3390/chromatography2030293>
- Misnawi, & Ariza, B. T. S. (2011). Use of gas Chromatography-Olfactometry in combination with solid phase micro extraction for cocoa liquor aroma analysis. *International Food Research Journal*, 18(2), 829–835.
- Misnawi, J., & Sari, A. B. (2011). Analysis of Pyrazine and Volatile Compounds in Cocoa Beans Using Solid Phase Microextraction. *Pelita Perkebunan*, 27(1), 24–35.
- Moreira, I., Cruz, M., Lacerda, M., Ferreira, W., Efraim, P., & Freitas, R. (2016). Influence of Cocoa Hybrids on Volatile Compounds of Fermented Beans, Microbial Diversity during Fermentation and Sensory Characteristics and Acceptance of Chocolates. *Journal of Food Quality*, 39(6), 839–849. <https://doi.org/10.1111/jfq.12238>
- Moreira, I., Vilela, L. de F., Santos, C., Lima, N., & Schwan, R. F. (2018). Volatile compounds and protein profiles analyses of fermented cocoa beans and chocolates from different hybrids cultivated in Brazil. *Food Research International*, 109(April), 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.012>
- Moreno, M. (2012). INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS Y PROCESADO DEL GRANO DE CACAO EN LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y PROPIEDADES SENSORIALES DEL CHOCOLATE NEGRO. Universitat Rovira I Virgili.
- Nielsen, D. S., Jakobsen, M., & Jespersen, L. (2010). *Candida halmiae* sp. nov., *Geotrichum ghanense* sp. nov. and *Candida awuainii* sp. nov., isolated from Ghanaian cocoa fermentations.

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(6), 1460–1465.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.016006-0>
- NIST. (2018). Libro del Web de Química del NIST, SRD 69. Retrieved from National Institute of Standards and Technology website: <https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>
- Niu, Y., Zhang, X., Xiao, Z., Song, S., Eric, K., Jia, C., ... Zhu, J. (2011). Characterization of odor-active compounds of various cherry wines by gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-olfactometry and their correlation with sensory attributes. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879(23), 2287–2293. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.06.015>
- Noguera, L. (2014). *Caracterización de materiales regionales promisorios de cacao colombiano: Física, química, funcional y organoléptica*.
- Ojeda, Y. (2018). *Efecto de la temperatura y tiempo de tostado y conchado sobre los compuestos de aroma en la elaboración de chocolate en la empresa Macoex Ltda*. Tesis de pregrado. Universidad Industrial de Santander, Santander, Colombia.
- Ouyang, X., Yuan, G., Ren, J., Wang, L., Wang, M., Li, Y., ... Zhu, B. (2017). Aromatic compounds and organoleptic features of fermented wolfberry wine: Effects of maceration time. *International Journal of Food Properties*, 20(10), 2234–2248.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1233435>
- Owusu, M., Petersen, M. A., & Heimdal, H. (2013). Relationship of sensory and instrumental aroma measurements of dark chocolate as influenced by fermentation method, roasting and conching conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 50(5), 909–917.
<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0420-2>
- Palencia, G. (2016). *Cacaos especiales: plan de mejoramiento genético*. Corpoica. Santander,

Colombia.

Palencia, G. (2017). *Cacaos especiales bajo sistemas agroforestales*. Bucaramanga, Colombia.

Pallares-Pallares, A., Perea-Villamil, J. A., & López-Giraldo, L. J. (2016). *Impacto de las condiciones de beneficio sobre los compuestos precursores de aroma en granos de cacao (Theobroma cacao L.) del clon CCN-51*. 21(1), 0–1. <https://doi.org/10.1109/IMTC.2002.1006808>

Pang, X., Guo, X., Qin, Z., Yao, Y., Hu, X., & Wu, J. (2012). Identification of aroma-active compounds in Jiashi Muskmelon juice by GC-O-MS and OAV Calculation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(17), 4179–4185. <https://doi.org/10.1021/jf300149m>

Pedroza, H., & Dicoovskyi, L. (2007). *Sistema de Análisis estadísticos con SPSS*. IICA INTA.

Peña, D. (2002). *Análisis de Datos Multivariantes*. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Peña%2C+D.+%282002%29+“Análisis+de+Datos+Multivariantes”.+Madrid%2C+España&btnG=

Penza, M., & Cassano, G. (2004). Chemometric characterization of Italian wines by thin-film multisensors array and artificial neural networks. *Food Chemistry*, 86(2), 283–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.027>

Perea-Villamil, J. A., Cadena-cala, T., & Herrera-ardila, J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes : Efecto del procesamiento. *Salud UIS*, 41, 128–134.

Perea-Villamil, J. A., Cadena-Cala, T., & Herrera-Ardila, J. (2009). The cocoa and its products as antioxidant source: Processing effect. *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41(2), 128–134. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-08072009000200003&script=sci_abstract&tlng=es%0Ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072009000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=es

- Pérez-Burillo, S., Giménez, R., Rufián-Henares, J. A., & Pastoriza, S. (2018). Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties. *Food Chemistry*, 248(July 2017), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.056>
- Pini, G. F., De Brito, E. S., García, N. H. P., Valente, A. L. P., & Augusto, F. (2004). A Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) method for the chromatographic determination of alkylpyrazines in cocoa samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15(2), 267–271. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532004000200017>
- Qian, M. C., & Wang, Y. (2005). Seasonal variation of volatile composition and odor activity value of “Marion” (*Rubus* spp. *hyb*) and “Thornless Evergreen” (*R. laciniatus* L.) blackberries. *Journal of Food Science*, 70(1), 13–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09013.x>
- Qin, X. W., Lai, J. X., Tan, L. H., Hao, C. Y., Li, F. P., He, S. Z., & Song, Y. H. (2017). Characterization of volatile compounds in Criollo, Forastero, and Trinitario cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) in China. *International Journal of Food Properties*, 20(10), 2261–2275. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1236270>
- Ramos, G., González, N., Zambrano, A., & Gómez, Á. (2013). Olores y sabores de cacao (Theobroma cacao L.) venezolanos obtenidos usando un panel de catación entrenado. *Revista Científica UDO Agrícola*, 13(1), 114–127. Retrieved from <http://www.bioline.org.br/pdf?cg13014>
- Reineccius, G. (2005). *Flavor chemistry and technology*. CRC press.
- Ribeiro, J. S., Augusto, F., Salva, T. J. G., & Ferreira, M. M. C. (2012). Prediction models for Arabica coffee beverage quality based on aroma analyses and chemometrics. *Talanta*, 101,

253–260. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.09.022>

- Ribeiro, J. S., Augusto, F., Salva, T. J. G., Thomaziello, R. A., & Ferreira, M. M. C. (2009). Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by headspace solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares. *Analytica Chimica Acta*, 634(2), 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.028>
- Rivera, R. D., Barrera Álvarez, A. E., Guzmán Cedeño, Á. M., Medina Quinteros, H. N., Casanova Ferrín, L. M., Peña Galeas, M. M., & Nivelá Morante, P. E. (2012). Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo Nacional. *Ciencia y Tecnología*, 5(1), 7–12. <https://doi.org/10.18779/cyt.v5i1.77>
- Rizzuto, L. Q., & Díaz, K. (2004). El mercado mundial de cacao. *Agroalimentaria*, 10(18), 48–60.
- Rodríguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H. B., Contreras-Ramos, S. M., Orozco-Avila, I., Jaramillo-Flores, E., & Lugo-Cervantes, E. (2012). Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry*, 132(1), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.078>
- Rodríguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H. B., Orozco-Avila, I., Lugo-Cervantes, E., & Jaramillo-Flores, M. E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International*, 44(1), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.028>
- Rodríguez, L. (2019). *Etapas del beneficio de cacao*. Rionegro, Santander, Colombia.
- Sánchez, V. (2007). *Caracterización organoléptica del cacao (Theobroma cacao L.) , para la selección de árboles con perfiles de sabor de interés comercial* . 93. <https://doi.org/10.1039/C5EE02555A>

- Scheu, J., Dand, R., & Wagner, B. (2001). *Cacao: Guía de prácticas comerciales*. Retrieved from <http://www.intracen.org/uploadedFiles/intracenorg/Content/Publications/Cocoa - A Guide to Trade Practices English.pdf>
- Schneider, A., Hommel, G., & Blettner, M. (2010). Linear regression analysis. *Deutsches Arzteblatt*, *107*(44), 776–782. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0776>
- Schnermann, P., & Schieberle, P. (1997). Evaluation of Key Odorants in Milk Chocolate and Cocoa Mass by Aroma Extract Dilution Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*, 867–872. <https://doi.org/10.1093/nq/CL.jan02.11-c>
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *44*(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Singh, K. P., Malik, A., Basant, N., & Saxena, P. (2007). Multi-way partial least squares modeling of water quality data. *Analytica Chimica Acta*, *584*(2), 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.11.038>
- Sociedad de Agricultores de Colombia (SAC). (2019). Cacao colombiano, nuevamente entre los mejores del mundo en París. Retrieved from Agricultura website: <https://sac.org.co/cacao-colombiano-nuevamente-entre-los-mejores-del-mundo-en-paris/>
- Solórzano Chavez, E., Nicklin, C., Amores Puyutaxi, F., Jiménez Barragan, J., & Barzola Miranda, S. (2015). Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, *8*(1), 37. <https://doi.org/10.18779/cyt.v8i1.198>
- Song, S., Zhang, X., Hayat, K., Huang, M., Liu, P., Karangwa, E., ... Niu, Y. (2010). Contribution of beef base to aroma characteristics of beeflike process flavour assessed by descriptive

- sensory analysis and gas chromatography olfactometry and partial least squares regression. *Journal of Chromatography A*, 1217(49), 7788–7799. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.10.046>
- Song, S., Zhang, X., Xiao, Z., Niu, Y., Hayat, K., & Eric, K. (2012). Contribution of oxidized tallow to aroma characteristics of beeflike process flavour assessed by gas chromatography-mass spectrometry and partial least squares regression. *Journal of Chromatography A*, 1254, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.07.056>
- Stoler, M. (2012). *El justo sabor del cacao: Desafíos y ventajas del comercio justo del cacao* (Vol. 5). Universidad Andina Simón Bolívar.
- Superintendencia Industria y Comercio. (2011). Cadena productiva del cacao: Diagnostico de libre competencia. Superintendencia Industria y Comercio. Retrieved from http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/promocion_competencia/Estudios_Economicos/Cacao.pdf
- Teye, E., Huang, X., Sam-Amoah, L. K., Takrama, J., Boison, D., Botchway, F., & Kumi, F. (2015). Estimating cocoa bean parameters by FT-NIRS and chemometrics analysis. *Food Chemistry*, 176, 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.042>
- Thompson, S., Miller, K., Lopez, A., & Camu, N. (2013). Cocoa and coffee. In *In Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (Fourth Edi, pp. 881–899). <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch35>
- Thomsen, M., Martin, C., Mercier, F., Tournayre, P., Berdagué, J. L., Thomas-Danguin, T., & Guichard, E. (2012). Investigating semi-hard cheese aroma: Relationship between sensory profiles and gas chromatography-olfactometry data. *International Dairy Journal*, 26(1), 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.04.009>

- Tobias, R. (1995). An Introduction to Partial Least Squares Regression. In *Proceedings of the twentieth annual SAS users group international conference*.
<https://doi.org/10.1159/000018947>
- Trade Cocoa. (2017). Licor de Cacao. Retrieved from <https://www.tradecacao.com/licor-de-cacao>
- Tran, P. D., Van de Walle, D., De Clercq, N., De Winne, A., Kadow, D., Lieberei, R., ... Van Durme, J. (2015). Assessing cocoa aroma quality by multiple analytical approaches. *Food Research International*, 77, 657–669. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.019>
- UNCTAD. (2017). *Conferencia De Las Naciones Unidas Sobre Comercio Y Desarrollo*. 50839, 1–46. Retrieved from https://icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/2-icco-agreements-and-their-history/4-2001-international-cocoa-agreement.html
- Valenzuela, J., Fernández, J., Puerta, A., & Mejía, R. (2012). El cultivo de cacao. Retrieved from http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2016/12/paquete_tecnologico_cacao_cnch_enero_2012.pdf
- Van Praag, M., Stein, H., & Tibbetts, M. (1968). Steam volatile aroma constituents of roasted cocoa beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 1005–1008.
- Vilanova, M., Genisheva, Z., Masa, A., & Oliveira, J. M. (2010). Correlation between volatile composition and sensory properties in Spanish Albariño wines. *Microchemical Journal*, 95(2), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.12.007>
- Wacher, M. del carme. (2011). Microorganismos y chocolate. *Revista Digital Universitaria*, 12(4), 1067–6079.
- Wehrens, R. (2011). *Chemometrics with R: multivariate data analysis in the natural sciences and life sciences*. Springer Science & Business Media.
- Wehrens, R., & Mevik, B.-H. (2007). The pls package: principal component and partial least

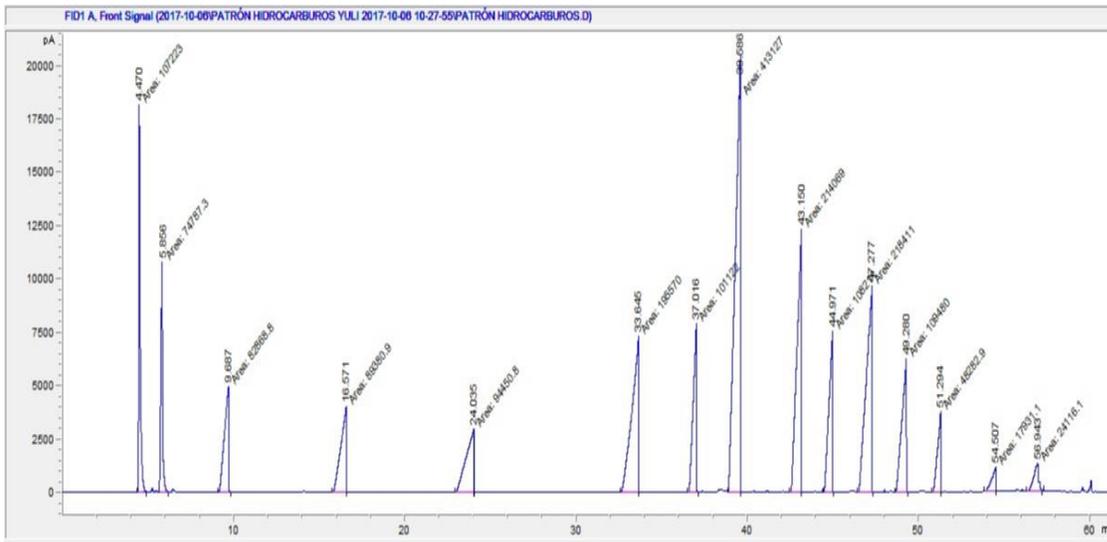
- squares regression in R. *Journal of Statistical Software*, 18(2). Retrieved from <https://repository.ubn.ru.nl/bitstream/handle/2066/36604/36604.pdf>
- Xiao, Z., Luo, J., Niu, Y., & Wu, M. (2018). Characterization of key aroma compounds from different rose essential oils using gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-olfactometry and partial least squares regression. *Natural Product Research*, 32(13), 1567–1572. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1389933>
- Yang, Y., Qin, P., Zhang, X., Niu, J., Tian, S., Lu, M., ... Cai, Z. (2018). Layer-by-layer fabrication of g-C₃N₄ coating for headspace solid-phase microextraction of food additives *Analytical Methods*, 10(3), 322–329. <https://doi.org/10.1039/c7ay02515g>
- Yu, H., Xie, T., Xie, J., Ai, L., & Tian, H. (2019). Characterization of key aroma compounds in Chinese rice wine using gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry. *Food Chemistry*, 293, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.071>
- Zambrano, A., Romero, C., Gómez, Á., Ramos, G., & Lacruz, C. (2010). *Evaluación Química De Precursores De Aroma Y Sabor*. 60(2), 211–219.
- Zhao, P., Qian, Y., He, F., Li, H., & Qian, M. (2017). Comparative Characterization of Aroma Compounds in Merlot Wine by LiChrolut-EN-Based Aroma Extract Dilution Analysis and Odor Activity Value. *Chemosensory Perception*, 10(4), 149–160. <https://doi.org/10.1007/s12078-017-9236-4>
- Zhu, J., Chen, F., Wang, L., Niu, Y., Shu, C., Chen, H., & Xiao, Z. (2015). Comparison of aroma-active compounds and sensory characteristics of durian (*Durio zibethinus* L.) Wines using strains of *saccharomyces cerevisiae* with odor activity values and partial least-squares regression. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(7), 1939–1947. <https://doi.org/10.1021/jf505666y>

Apéndices

Apéndice A. Patrón de n-alcenos para la identificación de los compuestos volátiles

Para la determinación de los índices de retención se inyectó una muestra de hidrocarburos alifáticos por el cromatógrafo de gases (CG-FID), a las mismas condiciones de inyección de los licores de cacao.

Patrón de hidrocarburos (C5-C20)



Tiempos de retención en GC-FID del patrón de hidrocarburos

Tiempo (min)	Alcano	n (# carbonos)	Tiempo (min)	Alcano	n (# carbonos)
4,471	Pentano	5	41,362	Tridecano	13
5,856	Hexano	6	43,143	Tetradecano	14
9,683	Heptano	7	44,964	Pentadecano	15
16,566	Octano	8	47,27	Hexadecano	16
24,032	Nonano	9	49,273	Heptadecano	17
33,64	Decano	10	51,288	Octadecano	18
37,012	Undecano	11	54,503	Nonadecano	19
39,58	Dodecano	12	56,947	Eicosano	20

Para el cálculo de los índices de Kovats se utilizó la ecuación Eq-1, y se tuvo en cuenta los tiempos de los compuestos y los tiempos del patrón de hidrocarburos en cromatografía de GC-FID.

Cálculo de Indices de Kovats

Familia de compuestos	#	Compuestos volátiles	Tiempo MS	Tiempos de FID				IK calculado	IK Referencia	Referencia
				t _{Rx}	t _{Rn}	t _{RN}	n			
Ácidos	1	Ácido acético	2.85	6.803	5.856	9.683	6	625	622	<u>Himanen, Vuorinen, et al., 2005</u>
	2	Ácido propanoico	4.65	10.376	9.683	16.566	7	710	702	<u>Timón, Ventanas, et al., 1998</u>
	3	Ácido 2-metilpropanoico	7.45	15.143	9.683	16.566	7	779	785	<u>Pino, Mesa, et al., 2005</u>
	4	Ácido Butanoico	9.32	16.495	9.683	16.566	7	799	795	<u>Quijano, Salamanca, et al., 2007</u>
	5	Ácido 3-metilbutanoico	14.31	20.622	16.566	24.032	8	854	848	<u>Ansorena, Astiasarán, et al., 2000</u>
	6	Ácido 2-metilbutanoico	14.75	21.318	16.566	24.032	8	864	858	<u>Ansorena, Astiasarán, et al., 2000</u>
	7	Ácido hexanoico	24.67	33.32	24.032	33.64	9	997	999	<u>Ansorena, Astiasarán, et al., 2000</u>
	8	Ácido octanoico	36.79	39.359	37.012	39.58	11	1191	1201	<u>Zhao, Li, et al., 2008</u>
	9	3-metil-2-butanol	3.80	9.622	5.856	9.683	6	698	700	<u>Larsen and Frisvad, 1995</u>
	10	3-metilbutanol	5.11	11.953	9.683	16.566	7	733	730	<u>Siegmund and Murkovic, 2004</u>
	11	2-pentanol	6.07	12.181	9.683	16.566	7	736	706	<u>Jordán, Goodner, et al., 2002</u>
Alcoholes	12	2,3-butanodiol	8.05	15.308	9.683	16.566	7	782	782	<u>Jordán, Goodner, et al., 2002</u>
	13	2,3-butanodiol	8.12	15.982	9.683	16.566	7	792	793	<u>Alissandrakis, Kibaris, et al., 2005</u>
	14	2-heptanol	16.44	23.584	16.566	24.032	8	894	894	<u>Jordán, Goodner, et al., 2002</u>
	15	Fenilmetanol	26.50	34.464	33.64	37.012	10	1024	1030	<u>Ghannadi and Zolfaghari, 2003</u>
	16	1-octanol	30.98	35.906	33.64	37.012	10	1067	1068	<u>Kukic J., Petrovic S., et al., 2006</u>
	17	β-linalool	32.77	36.674	33.64	37.012	10	1090	1092	<u>Mahmood, Kaul, et al., 2004</u>

	18	2-nonanol	32.98	36.807	33.64	37.012	10	1094	1098	<u>Demetzos, Angelopoulou, et al., 2002</u>
	19	2-feniletanol	33.32	37.226	37.012	39.58	11	1108	1110	<u>Zhao, Wang X.Y., et al., 2006</u>
	20	3-metilbutanal	3.18	7.471	5.856	9.683	6	642	648	<u>Siegmund and Murkovic, 2004</u>
	21	Benzaldehído	19.72	29.269	24.032	33.64	9	955	959	<u>Javidnia, Miri, et al., 2005</u>
	22	Fenilacetaldehído	26.98	34.619	33.64	37.012	10	1029	1029	<u>Campeol, Flamini, et al., 2003</u>
	23	Decanaldehído	36.20	39.072	37.012	39.58	11	1180	1188	<u>Mahmood, Kaul, et al., 2004</u>
Aldehídos	24	4-etilbenzaldehido	36.72	39.228	37.012	39.58	11	1186	1094	<u>Xian Q., Chen H., et al., 2006</u>
	25	2-fenil-2-butenal	37.91	40.481	39.58	41.361 5	12	1251	1281	<u>Alissandrakis E., Tarantilis P.A., et al., 2007</u>
	26	4-metil-2-fenil-2-pental	39.81	41.127	39.58	41.361 5	12	1287	1383	<u>Splivallo, Bossi, et al., 2007</u>
	27	5-metil-2-fenil-2-hexenal	41.72	42.864	41.361 5	43.143	13	1384	1483	<u>Alissandrakis E., Tarantilis P.A., et al., 2007</u>
	28	2,3-Butanodiona	2.68	5.713	4.471	5.856	5	590	591	<u>Fang, Pu, et al., 2012</u>
	29	3-hidroxy-2-butanona	4.11	10.044	9.683	16.566	7	705	710	<u>Jordán, Margaria, et al., 2003</u>
	30	2-heptanona	15.55	22.673	16.566	24.032	8	882	889	<u>Zhao, Li, et al., 2008</u>
	31	3-hepten-2-ona	18.61	26.842	24.032	33.64	9	929	942	<u>Pino, Sauri-Duch, et al., 2006</u>
Cetonas	32	2-octanona	22.58	32.385	24.032	33.64	9	987	985	<u>Ghannadi and Zolfaghari, 2003</u>
	33	3-metil-2-ciclohexenona	28.20	35.202	33.64	37.012	10	1046	1039	Pubchmem
	34	2,6-heptadiona	28.66	35.286	33.64	37.012	10	1049	N.E	-
	35	1-feniletanona	29.58	35.651	33.64	37.012	10	1060	1062	<u>Kim, Thuy, et al., 2000</u>
	36	2-nonanona	32.37	36.565	33.64	37.012	10	1087	1087	<u>Xie, Sun, et al., 2008</u>
	37	2-undecanona	38.23	40.611	39.58	41.361 5	12	1258	1292	<u>Celik, Gokturk, et al., 2005</u>
	38	Acetato de 2-pentilo	12.49	19.732	16.566	24.032	8	842	843	Pubchmem
Ésteres	39	Acetato de 3-metilbutilo	15.11	21.599	16.566	24.032	8	867	867	<u>Isidorov, Krajewska, et al., 2001</u>
	40	Acetato de 2-metilbutilo	16.03	22.984	16.566	24.032	8	886	883	<u>Singh, Singh, et al., 2003</u>

	41	Hexanoato de etilo	23.11	32.807	24.032	33.64	9	991	997	<u>Jordán, Margaría, et al., 2003</u>
	42	Acetato de hexilo	24.70	33.631	33.64	37.012	10	1000	1008	<u>Isidorov, Purzynska, et al., 2006</u>
	43	Acetato de 2-heptilo	27.74	34.933	33.64	37.012	10	1038	1043	<u>Bertoli, Lepnardi, et al., 2011</u>
	44	2-butanodiol-diacetato	30.50	35.863	33.64	37.012	10	1066	1066	<u>Andriamaharavo, 2014</u>
	45	Acetato de benzilo	35.24	38.392	37.012	39.58	11	1154	1161	<u>Jordán, Margaría, et al., 2003</u>
	46	Benzoato de etilo	35.43	38.594	37.012	39.58	11	1162	1168	<u>Lazari, Skaltsa, et al., 2000</u>
	47	2-fenilacetato de metilo	35.67	38.622	37.012	39.58	11	1163	1177	<u>Flamini, Luigi Cioni, et al., 2003</u>
	48	Butandioato de dietilo	35.91	38.664	37.012	39.58	11	1164	1167	<u>Jordán, Margaría, et al., 2002</u>
	49	Octanoato de etilo	36.15	38.823	37.012	39.58	11	1171	1192	<u>Mahattanat awee, Goodner, et al., 2005</u>
	50	2-fenilacetato de etilo	37.27	39.807	39.58	41.361 5	12	1213	1255	<u>Raffo, Kelderer, et al., 2009</u>
	51	Acetato de 2-feniletilo	37.50		39.58	41.361 5	12	-1022	1264	<u>Jordán, Margaría, et al., 2003</u>
	52	3-fenilpropanoato de etilo	39.27	40.946	39.58	41.361 5	12	1277	1353	<u>Zhao, Li, et al., 2008</u>
	53	Decanoato de etilo	39.99	42.254	41.361 5	43.143	13	1350	1392	<u>Quijano, Salamanca, et al., 2007</u>
	54	3-fenil-2-propenoato de etilo	41.26	42.757	41.361 5	43.143	13	1378	1462	<u>Bicalho, Pereira, et al., 2000</u>
	55	Dodecanoato de etilo	43.92	44.066	43.143	44.964	14	1451	1591	<u>Skaltsa, Demetzos, et al., 2003</u>
	56	Butanoato de 2-feniletilo	44.66	44.514	43.143	44.964	14	1475	N.E	-
	57	2-furancarboxaldehido	9.66	17.224	16.566	24.032	8	809	820	<u>Rodrigues, Hanson, et al., 2012</u>
	58	2-furanmetanol	11.92	19.077	16.566	24.032	8	834	850	<u>Ansorena, Astiasarán, et al., 2000</u>
	59	Dihidro-2(3H)Furanona	17.01	24.62	24.032	33.64	9	906	910	<u>Jordán, Goodner, et al., 2002</u>
Otros	60	β-pineno	20.57	30.183	24.032	33.64	9	964	968	<u>Özcan, Tzakou, et al., 2003</u>
	61	Benzonitrilo	22.15	31.987	24.032	33.64	9	983	989	<u>Radulovic, Blagojevic, et al., 2010</u>
	62	β-mircero	22.29	32.286	24.032	33.64	9	986	983	<u>Özcan, Tzakou, et al., 2003</u>
	63	3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno	26.96	34.518	33.64	37.012	10	1026	1028	<u>Zhao C.X., Li, et al., 2006</u>

	64	γ -Terpineno	29.12	35.325	33.64	37.012	10	1050	1050	<u>Özcan, Tzakou, et al., 2003</u>
	65	2-acetilpirrol	30.17	35.733	33.64	37.012	10	1062	1060	<u>Siegmund and Murkovic, 2004</u>
	66	2,4,6-octatrieno-2,6-dimetil (allo-ocymene)	33.75	37.665	37.012	39.58	11	1125	1128	<u>Javidnia, Miri, et al., 2005</u>
	67	2-fenilacetoniitrilo	33.96	37.849	37.012	39.58	11	1133	1140	<u>Pino, Mesa, et al., 2005</u>
	68	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	34.56	37.962	37.012	39.58	11	1137	1149	<u>Alissandrakis, Kibaris, et al., 2005</u>
	69	6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol	35.57	38.683	37.012	39.58	11	1165	1173	<u>Bertrand, Comte, et al., 2006</u>
	70	α -terpineol	35.96	38.752	37.012	39.58	11	1168	1179	<u>Kundakovi c, Fokialakis, et al., 2007</u>
	71	2-piperidiona	36.45	39.191	37.012	39.58	11	1185	1082	<u>Andriamaharavo, 2014</u>
	72	2,3-dimetilpirazina	17.43	24.883	24.032	33.64	9	909	911	<u>Miyazawa, Marumoto, et al., 2011</u>
	73	2,3,5-trimetilpirazina	23.31	32.977	24.032	33.64	9	993	991	<u>Characterization of Pyrazines in Some Chinese Liquors and Their Approximate Concentrations, 2007</u>
Pirazinas	74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	31.56	36.088	33.64	37.012	10	1073	1079	<u>Siegmund and Murkovic, 2004</u>
	75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	31.86	36.355	33.64	37.012	10	1081	1086	<u>Ansorena, Astiasarán, et al., 2000</u>
	76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	35.21	38.208	37.012	39.58	11	1147	1155	<u>Leffingwell and Alford, 2005</u>
	77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	35.93	38.712	37.012	39.58	11	1166	N.E	-

Apéndice B. Cálculo de factores de respuesta

Se preparó una solución stock que obtuviera una concentración definida de tolueno y del compuesto representativo, usando etanol como solvente. Para la preparación de cada una de las soluciones se toman los datos que en la siguiente tabla:

Concentraciones de compuestos representativos adicionados

Familia de compuestos	Compuesto Representativo	Concentración del compuesto	Volumen del compuesto	Concentración tolueno	Volumen de tolueno
Ácidos	Ácido acético	2070 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL
Cetonas	Acetofenona	3040 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL
Ésteres	Acetato de etilo	2070 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL
Aldehídos	Fenilacetaldehído	9300 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL
Pirazinas	Trimetilpirazina	2580 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL
Alcoholes	Linalool	2680 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL
Otros	Acetilpirrol	2500 mg/L	12.5 µL	4200 mg/L	25 µL

*Todas estas soluciones fueron preparadas usando etanol como solvente aforado a 5 mL.

➤ Cálculos

Factor de respuesta de pirazinas

Para determinar el factor de respuesta en las pirazinas, se usó el compuesto 2,3,5-trimetilpirazina. La solución stock de pirazina y tolueno se preparó de la siguiente manera:

- I. Se tomó 12,5 µL de un estándar de 2,3,5-trimetilpirazina y se pesó en una balanza, el cual corresponde 12.9 mg en peso.
- II. Se tomó 25 µL de tolueno de grado HPLC; se pesó en balanza y se obtuvo un valor de 21 mg.

- III. Se agregó cada compuesto a un balón aforado diferente de 5 mL y se aforaron con etanol como solvente.
- IV. Se colocó en el agitador Vortex durante un minuto aproximadamente.

La concentración del tolueno C_T y la trimetilpirazina C_p en cada solución serán:

$$C_T = \frac{21 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 4200 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

*Esta concentración varía dependiendo del compuesto

$$C_P = \frac{12,9 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 2580 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

*Esta concentración varía dependiendo del compuesto

- V. Se toman 20 μL de la solución anterior y se agregan a dos gramos de licor de cacao. La densidad del licor de cacao es: 1.0134 g/mL (aproximadamente 1g/mL). Entonces se toma que 2 gramos de licor de cacao corresponden a 2 mL de este.

$$(C_{P_2})(2 \text{ mL}) = \left[2580 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] (0.02 \text{ mL})$$

$$C_{P_2} = 25.8 \text{ mg/L}$$

$$(C_{T_2})(2 \text{ mL}) = \left[4200 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] (0.02 \text{ mL})$$

$$C_{T_2} = 42 \text{ mg/L}$$

Donde C_{P_2} y C_{T_2} corresponden a las concentraciones de pirazina y tolueno en el licor de cacao.

- VI. Después de este cálculo, se realiza el procedimiento de extracción de los compuestos por medio de HS-SPME y se hace la posterior inyección en el cromatógrafo.
- VII. Ya obtenido el cromatograma se procede a tomar las áreas del tolueno y de la 2,3,5-trimetilpirazina y se introducen en la ecuación Eq-2, despejando la variable FR (factor de respuesta).

Experimentos	Área tolueno	Concentración de tolueno (mg/L)	Área pirazina	Concentración de pirazina (mg/L)	Factor de respuesta
Exp. 1	621.5	42	422.6	25.8	0.903
Exp. 2	712	42	526.3	25.8	0.831
Exp. 3	710.2	42	485.2	25.8	0.899
Promedio:					
0.880					

Del promedio de los datos, se calcula el factor de respuesta para todos los compuestos de la familia pirazina.

Para los demás compuestos de cada familia se realizó de la misma manera, obteniendo los siguientes resultados:

Factor de respuesta de ésteres

Experimentos	Área tolueno	Concentración		Concentración de éster (mg/L)	Factor de respuesta
		de tolueno (mg/L)	Área éster		
Exp. 1	849.08	42	69.051	20.7	6.0604
Exp. 2	964.012	42	70.4	20.7	6.75
Exp. 3	584.9	42	45.6	20.7	6.32
Promedio:					6.38

Factor de respuesta de alcoholes

Experimentos	Área tolueno	Concentración		Concentración de alcohol (mg/L)	Factor de respuesta
		de tolueno (mg/L)	Área alcohol		
Exp. 1	681.211	42	388.388	53.6	2.238
Exp. 2	656.124	42	359.457	53.6	2.329
Exp. 3	752.351	42	502.068	53.6	1.912
Promedio:					2.160

Factor de respuesta de otros

Experimentos	Área tolueno	Concentración de tolueno (mg/L)	Área otros	Concentración de otros (mg/L)	Factor de respuesta
Exp. 1	404.7	42	216.2	25	1.11
Exp. 2	313.1	42	173.2	25	1.076
Exp. 3	399	42	213	25	1.11
					Promedio:
					1.10

Factor de respuesta de ácidos

Experimentos	Área tolueno	Concentración de tolueno (mg/L)	Área ácido	Concentración de ácido (mg/L)	Factor de respuesta
Exp. 1	818.9	42	351.3	20.7	1.148
Exp. 2	818.9	42	366.1	20.7	0.969
Exp. 3	818.9	42	233.9	20.7	0.937
					Promedio:
					1.02

Factor de respuesta de cetona

Experimentos	Área tolueno	Concentración de tolueno (mg/L)	Área cetona	Concentración de cetona (mg/L)	Factor de respuesta
Exp. 1	648.1	42	1196.8	30.4	0.392
Exp. 2	739.3	42	1353.6	30.4	0.395
Exp. 3	673.8	42	1341.5	30.4	0.364
					Promedio:
					0.38

Factor de respuesta de aldehídos

Experimentos	Área tolueno	Concentración de tolueno (mg/L)	Área aldehído	Concentración de aldehídos (mg/L)	Factor de respuesta
Exp. 1	323.9	42	253.1	93	2.83
Exp. 2	433.9	42	332.3	93	2.89
Exp. 3	370.5	42	293.2	93	2.80
					Promedio:
					2.84

Apéndice C. Formato de análisis sensorial

En la siguiente figura se muestra el formato que utilizaron los catadores para puntuar cada uno de los licores de cacao.

FICHA DE ANALISIS SENSORIAL DE CACAO																		
	NOMBRE DEL CATADOR				FECHA	CODIGO DE MUESTRA												
					INTENSIDAD			CALIDAD										
AROMA					ALTA	MEDIA	BAJA	AGARADABLE	DESAGRADABLE									
COLOR	VIOLETA	MARRON	CAFÉ	NEGRO	CLARO	MEDIA	OCSURO											
FUIDEZ	CON GRUMOS	ESPESA			LIQUIDO													
CONTENIDO DE GRAS	ALTO	MEDIO			BAJO													
VALORES ESCALA	AUSENTE 0		BAJO 1 A 2			MEDIO 3 A 5			ALTO 6 A 8			MUY FUERTE 9 A 10						
PUNTOS		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	INTENSIDAD		CALIDAD			
SABORES BASICOS	AMARGO													ALTA	MEDIA	BAJA	AGARADABLE	DESAGRADABLE
	ASTRINGENTE													ALTA	MEDIA	BAJA	AGARADABLE	DESAGRADABLE
	ACIDO													ALTA	MEDIA	BAJA	AGARADABLE	DESAGRADABLE
														TIPO DE ACIDEZ	ACIDEZ LACTICA	ACIDEZ CITRICA	ACIDO ACETICO	OTRO
SABORES POSITIVOS	CACAO																	
	FRUTAL													FRUTOS CITRICOS	FRUTOS ROJOS	UVAS PASAS	FRUTOS SOBREMADUROS	
	FLORAL													FLOR DE CITRICOS	ROSAS			
	DULCE													MIEL	PANELA	CARAMELO		
	NUJZ													ALMENDRAS	MANI			
	LACTEOS													QUESO	YOGURT	RANCIO		
	MADERA													SECA	VIEJA	HUMEDA		
	HERBAL													FRESCA	MENTOLADO	SECA		
	ESPECIAS													CLAWO	CANELA	FIMIENTA		
OTROS																		
RADIAL O COMPORTAMIENTO DE LA MUESTRA																		
SABORES NEGATIVOS	TIERRA																	
	SOBREFERMENTADO																	
	MOHO																	
	HUMEDAD																	
	ANIMAL																	
	DESCOMPOCION																	
	CUERO																	
	COMBUSTIBLE																	
	HUMO																	
	QUEMADO																	
	PIZARROSO																	
VIOLETA																		
VERDE																		
OTROS : Picante																		
PUNTAJE GLOBAL DE LA MUESTRA																		
CALIDAD GLOBAL	EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA														
COMENTARIOS												FIRMA DEL CATADOR						

Se especificó la escala y los diferentes atributos básicos, positivos y negativos. Además, se incluyó otros tipos de calidad sensorial como tipo de acidez, frutas, cítricos, entre otros; con el fin de obtener una caracterización completa de cada licor. Por último, se adicionó una casilla de comentarios en donde cada catador resumió características que encontró en los licores, pero no se encontraban en el formato sensorial.

Apéndice D. Matrices: Licores de cacao vs Compuestos volátiles; Licores de cacao vs Análisis sensorial.

En siguiente tabla se muestran las concentraciones de los 77 compuestos volátiles identificados vs licores de cacao trabajados. Cada número corresponde al nombre de un compuesto y se puede identificar en la tabla 13.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
VAR1AZ	26.41	0.00	2.76	0.16	3.42	2.18	0.00	0.14	0.21	0.33	0.41	16.31	4.35	3.51	0.08	0.44	0.12
VAR1BF	15.99	0.00	1.84	0.11	1.98	1.04	0.00	0.14	0.09	0.21	0.37	16.02	6.06	1.62	0.12	0.00	0.15
VAR2AZ	19.45	0.53	2.79	0.43	2.84	1.31	0.00	0.19	0.00	0.14	0.47	10.46	3.80	4.56	0.13	0.54	0.79
VAR2BF	14.70	0.00	1.64	0.50	2.49	1.05	0.00	0.16	0.08	0.11	0.43	6.42	3.70	3.64	0.10	0.14	0.22
VAR3AZ	25.15	0.00	2.09	0.66	3.21	1.72	0.00	0.10	0.12	0.25	0.44	4.31	2.28	6.70	0.20	0.10	0.18
VAR3BF	20.42	0.00	2.77	0.65	2.64	1.20	0.00	0.10	0.13	0.32	0.50	4.65	2.19	7.02	0.37	0.05	0.18
VAR4AZ	14.24	0.05	1.63	0.36	4.02	2.44	0.05	0.17	0.00	0.18	0.37	6.02	3.26	3.56	0.21	0.11	0.14
VAR4BF	11.46	0.00	2.58	0.30	3.60	1.99	0.00	0.16	0.00	0.12	0.31	10.20	4.39	2.26	0.23	0.07	0.12
VAR5AZ	17.13	0.04	2.00	0.30	2.70	1.89	0.04	0.16	0.00	0.13	0.34	4.11	5.46	1.15	0.41	0.15	0.29
VAR5BF	16.08	0.00	1.63	0.21	2.32	1.14	0.00	0.15	0.00	0.17	0.37	7.37	7.94	0.79	0.57	0.00	0.33
VAR6AZ	14.60	0.05	1.85	0.43	3.32	2.03	0.00	0.53	0.00	0.10	0.31	3.98	4.16	1.39	0.46	0.24	0.14
VAR6BF	8.18	0.05	3.22	0.34	2.23	1.72	0.06	0.45	0.00	0.12	0.36	4.51	4.54	1.44	0.65	0.57	0.27
VAR7AZ	21.70	0.63	0.25	0.17	4.48	3.46	0.00	0.06	0.33	0.17	0.38	5.77	8.41	0.83	0.30	0.24	0.07
VAR7BF	15.46	0.00	0.00	0.13	4.12	3.24	0.05	0.05	0.00	0.15	0.44	7.26	10.83	0.92	0.07	0.26	0.07
VAR8AZ	24.25	0.44	2.25	0.16	3.75	2.71	0.00	0.11	0.12	0.25	0.42	6.84	4.13	1.01	0.25	0.19	0.10
VAR8BF	18.66	0.57	0.42	0.20	3.61	2.44	0.00	0.15	0.14	0.18	0.53	11.17	4.21	0.89	0.13	0.12	0.11
VAR9AZ	8.10	0.00	1.49	0.25	4.78	3.30	0.08	0.05	0.00	0.16	0.40	4.27	2.75	0.80	0.42	0.20	0.16
VAR9BF	8.22	0.00	1.27	0.17	4.35	3.17	0.00	0.09	0.15	0.11	0.30	5.53	3.67	0.52	0.13	0.06	0.10
VAR10AZ	10.18	0.00	1.58	0.95	3.03	1.77	0.00	0.12	0.12	0.23	0.45	3.89	9.31	2.41	0.59	0.12	0.36
VAR10BF	8.24	0.00	1.28	0.70	2.50	1.16	0.00	0.09	0.19	0.27	0.43	4.37	4.15	2.27	0.41	0.13	0.22

➤ **Continuación de la matriz de compuestos**

	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
VAR1AZ	4.34	21.76	0.91	12.62	1.92	0.21	0.00	0.92	0.44	0.16	0.29	2.55	0.33	0.02	0.00	0.06	0.00
VAR1BF	3.13	27.72	0.78	14.30	1.69	0.22	0.00	1.10	0.34	0.25	0.20	1.52	0.13	0.00	0.00	0.04	0.00
VAR2AZ	12.05	12.55	0.63	12.90	1.23	0.21	0.00	0.54	0.25	0.13	0.13	1.82	1.01	0.03	0.00	0.22	0.00
VAR2BF	12.02	13.10	0.66	13.53	1.35	0.19	0.00	0.61	0.22	0.16	0.09	0.96	0.59	0.03	0.02	0.21	0.00
VAR3AZ	10.40	19.63	0.63	9.11	1.69	0.19	0.00	0.66	0.52	0.17	0.07	0.75	0.90	0.04	0.06	0.22	0.00
VAR3BF	11.04	21.49	0.64	12.40	1.86	0.17	0.00	1.03	0.69	0.15	0.11	0.73	0.78	0.03	0.09	0.24	0.00
VAR4AZ	4.64	18.35	0.46	10.96	1.67	0.47	0.00	0.79	0.45	0.34	0.19	0.97	0.32	0.02	0.00	0.38	0.07
VAR4BF	4.13	18.02	0.53	12.69	1.49	0.23	0.00	0.51	0.53	0.36	0.14	0.80	0.18	0.02	0.00	0.27	0.00
VAR5AZ	1.44	24.37	0.63	12.57	1.30	0.33	0.16	0.71	0.48	0.46	0.13	1.31	0.11	0.00	0.00	0.17	0.00
VAR5BF	1.89	28.37	0.85	17.52	1.47	0.32	0.00	0.51	0.44	0.30	0.14	1.23	0.10	0.00	0.06	0.07	0.08

VAR6AZ	2.94	17.33	0.42	8.23	1.55	0.60	0.00	0.56	0.67	0.19	0.24	0.92	0.14	0.04	0.00	0.58	0.00
VAR6BF	2.05	17.12	0.73	12.08	1.65	0.58	0.00	0.52	0.19	0.23	0.13	1.06	0.17	0.03	0.00	0.45	0.07
VAR7AZ	1.79	5.75	0.59	9.08	1.10	0.26	0.00	0.33	0.32	0.00	0.20	1.23	0.20	0.00	0.00	0.12	0.00
VAR7BF	2.51	6.15	0.86	8.38	1.66	0.19	0.65	0.77	0.38	0.00	0.18	1.08	0.18	0.00	0.00	0.05	0.00
VAR8AZ	3.17	8.66	1.30	5.95	1.20	0.21	0.18	0.20	0.28	0.00	0.35	1.90	0.14	0.00	0.00	0.15	0.00
VAR8BF	2.88	8.87	1.54	8.15	1.46	0.32	0.18	0.36	0.35	0.16	0.34	1.52	0.13	0.00	0.00	0.19	0.00
VAR9AZ	2.64	7.01	0.57	7.87	1.26	0.11	0.31	0.20	0.22	0.00	1.05	3.06	0.29	0.00	0.00	0.25	0.00
VAR9BF	2.41	6.65	0.73	10.56	1.27	0.14	0.29	0.43	0.17	0.00	0.50	2.23	0.14	0.00	0.00	0.13	0.00
VAR10AZ	6.76	11.18	0.63	7.40	0.73	0.24	0.00	0.25	0.29	0.22	0.10	0.88	0.19	0.00	0.07	0.43	0.00
VAR10BF	5.71	17.55	0.50	8.58	1.07	0.00	0.00	0.56	0.39	0.28	0.09	0.66	0.20	0.04	0.03	0.38	0.00

	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
VAR1AZ	0.33	0.94	0.03	1.19	5.13	1.15	1.24	0.00	11.94	0.72	0.91	1.40	0.00	0.81	3.83	3.21	36.40
VAR1BF	0.22	0.63	0.02	0.43	1.44	0.35	0.87	0.00	9.56	0.73	0.99	1.13	0.00	0.52	2.80	2.87	42.81
VAR2AZ	0.82	6.38	0.06	0.72	1.40	1.03	0.58	0.62	12.83	2.27	1.36	1.88	0.00	0.38	2.68	3.43	33.74
VAR2BF	0.61	6.39	0.06	0.51	0.78	0.59	0.30	0.43	14.19	0.95	1.01	1.02	0.00	0.30	2.38	3.22	30.34
VAR3AZ	0.89	5.81	0.06	0.55	2.24	0.68	0.78	0.70	17.38	2.25	1.01	1.33	0.00	0.38	4.32	3.31	32.40
VAR3BF	0.61	5.90	0.07	0.51	2.21	0.31	0.60	0.74	18.60	1.01	1.07	1.57	0.00	0.55	5.06	3.49	35.01
VAR4AZ	0.36	1.16	0.03	1.00	5.50	0.46	1.55	0.00	12.89	0.54	0.92	1.98	0.00	0.95	3.24	2.74	41.63
VAR4BF	0.39	0.93	0.02	0.42	6.38	0.33	1.50	0.42	11.32	0.81	1.33	1.60	0.00	0.92	2.86	2.63	41.36
VAR5AZ	0.39	0.79	0.03	0.28	0.95	0.73	0.76	0.00	9.64	0.82	1.20	1.92	0.00	0.37	3.12	5.19	57.45
VAR5BF	0.43	0.65	0.03	0.27	1.94	0.69	0.38	0.37	10.14	2.34	1.56	2.02	0.00	1.19	4.01	5.96	78.30
VAR6AZ	0.46	0.80	0.04	0.32	2.32	0.49	2.49	0.00	9.15	1.31	1.22	2.11	0.00	0.62	3.00	2.46	41.80
VAR6BF	0.38	0.60	0.03	0.44	4.67	0.69	2.40	0.00	11.56	2.84	1.33	1.97	0.00	0.86	3.03	3.19	46.11
VAR7AZ	0.41	0.47	0.03	0.51	1.97	1.21	0.51	0.29	4.48	1.48	0.87	1.02	0.00	0.53	2.02	2.36	12.28
VAR7BF	0.53	0.43	0.02	0.99	1.76	0.95	0.52	0.00	9.20	1.92	0.81	0.69	0.40	0.32	2.20	2.11	11.99
VAR8AZ	0.41	0.77	0.02	0.52	1.77	0.77	0.83	0.00	5.47	1.88	0.54	0.73	0.00	0.00	1.85	2.87	18.49
VAR8BF	0.42	0.73	0.02	1.15	1.25	0.75	0.86	0.00	8.30	1.41	0.47	0.56	0.00	0.29	1.70	2.15	17.23
VAR9AZ	0.36	0.90	0.02	0.50	1.91	0.91	0.72	0.00	5.30	2.43	0.37	0.64	0.00	0.00	2.16	1.53	13.24
VAR9BF	0.26	0.65	0.02	0.44	0.57	0.67	0.64	0.41	6.72	1.07	1.10	0.70	0.57	0.00	1.71	1.23	10.75
VAR10AZ	0.34	0.93	0.05	0.49	1.96	1.14	1.98	0.35	5.78	0.79	0.78	0.00	0.00	0.00	3.18	2.49	23.80
VAR10BF	0.39	0.82	0.04	0.48	1.98	0.67	1.96	0.81	7.01	0.94	0.55	0.44	0.00	0.51	3.35	2.89	28.83

	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68
VAR1AZ	0.80	5.20	0.35	0.71	1.08	0.19	0.00	0.35	0.10	0.13	0.18	0.00	0.25	0.13	0.00	0.38	0.52
VAR1BF	0.76	4.62	0.39	0.69	1.02	0.11	0.00	0.31	0.07	0.00	0.09	0.00	0.22	0.12	0.00	0.14	0.25
VAR2AZ	1.28	5.76	0.34	0.91	1.00	0.27	0.00	0.28	0.37	0.29	0.30	0.00	0.22	1.41	0.00	0.44	0.32
VAR2BF	0.35	3.74	0.37	0.76	0.88	0.29	0.00	0.22	0.22	0.29	0.35	0.00	0.07	0.62	0.00	0.40	0.33
VAR3AZ	0.74	5.41	0.29	0.68	0.60	0.36	0.00	0.40	0.40	0.36	0.42	0.00	0.10	0.62	0.00	0.69	0.34
VAR3BF	0.91	5.37	0.38	0.60	1.09	0.38	0.00	0.41	0.29	0.26	0.40	0.00	0.64	0.66	0.00	0.30	0.48

VAR4AZ	2.05	6.44	0.57	8.38	3.36	0.22	0.25	0.38	0.16	0.23	0.23	0.07	0.07	0.30	0.00	0.17	0.82
VAR4BF	1.69	5.79	0.67	8.05	3.24	0.19	0.16	0.35	0.11	0.21	0.20	0.06	0.16	0.27	0.00	0.22	0.73
VAR5AZ	2.10	3.79	0.46	8.28	3.32	0.12	0.00	0.33	0.00	0.05	0.08	0.05	0.13	0.09	0.00	0.40	0.93
VAR5BF	1.13	3.62	0.37	6.67	3.31	0.16	0.22	0.39	0.10	0.09	0.14	0.00	0.50	0.06	0.00	0.06	0.81
VAR6AZ	2.09	3.31	0.39	10.48	3.32	0.25	0.06	0.42	0.08	0.18	0.06	0.00	0.09	0.12	0.00	0.30	0.80
VAR6BF	1.09	1.75	0.37	5.34	2.07	0.20	0.04	0.32	0.09	0.22	0.10	0.00	0.56	0.06	0.00	0.22	0.74
VAR7AZ	0.40	5.62	0.56	1.33	0.87	0.23	0.00	0.30	0.19	0.20	0.29	0.00	0.22	0.40	0.00	0.17	0.27
VAR7BF	0.43	5.57	0.52	1.19	1.36	0.17	0.00	0.21	0.15	0.18	0.37	0.00	0.26	0.34	0.00	0.12	0.19
VAR8AZ	0.50	2.93	0.29	0.77	0.55	0.14	0.00	0.27	0.08	0.13	0.38	0.00	0.14	0.08	0.00	0.40	0.35
VAR8BF	0.50	2.95	0.32	0.86	0.88	0.17	0.00	0.39	0.05	0.12	0.34	0.00	0.17	0.09	0.00	0.60	0.38
VAR9AZ	0.52	5.97	0.30	1.07	0.63	0.17	0.00	0.29	0.27	0.24	0.67	0.00	0.34	0.62	0.00	0.34	0.26
VAR9BF	0.60	5.43	0.34	0.69	0.00	0.11	0.00	0.17	0.17	0.14	0.56	0.00	0.23	0.47	0.00	0.49	0.43
VAR10AZ	0.59	1.09	0.41	1.21	1.18	0.37	0.00	0.61	0.19	0.09	0.21	0.00	0.13	0.11	0.08	0.38	0.00
VAR10BF	0.79	1.29	0.48	1.00	1.15	0.38	0.00	0.53	0.21	0.20	0.11	0.00	0.13	0.12	0.17	0.37	0.06

	69	70	71	72	73	74	75	76	77
VAR1AZ	0.11	0.00	0.12	0.29	0.98	0.00	30.97	0.19	0.00
VAR1BF	0.05	0.00	0.15	0.30	0.90	0.00	39.91	0.21	0.00
VAR2AZ	0.21	0.00	0.50	0.20	1.01	0.00	19.30	0.14	0.00
VAR2BF	0.16	0.00	0.17	0.22	0.81	0.00	21.27	0.14	0.00
VAR3AZ	0.15	0.00	0.13	0.20	0.67	0.00	7.51	0.12	0.00
VAR3BF	0.19	0.00	0.58	0.16	1.00	0.00	7.56	0.09	0.00
VAR4AZ	0.00	0.00	0.06	0.24	1.85	0.06	26.75	0.24	0.22
VAR4BF	0.00	0.00	0.33	0.21	1.56	0.00	30.04	0.22	0.18
VAR5AZ	0.00	0.00	0.13	0.22	1.79	0.00	40.74	0.29	0.07
VAR5BF	0.00	0.00	0.41	0.37	1.85	0.00	50.83	0.46	0.13
VAR6AZ	0.21	0.00	0.31	0.16	0.70	0.00	11.27	0.21	0.00
VAR6BF	0.16	0.00	0.16	0.22	0.77	0.04	15.76	0.15	0.00
VAR7AZ	0.06	0.00	0.07	0.24	0.40	0.00	3.00	0.10	0.00
VAR7BF	0.07	0.00	0.12	0.21	0.91	0.00	3.76	0.09	0.00
VAR8AZ	0.00	0.00	0.11	0.13	0.85	0.04	11.46	0.08	0.06
VAR8BF	0.00	0.00	0.11	0.18	0.86	0.06	14.10	0.16	0.07
VAR9AZ	0.14	0.00	0.27	0.16	0.87	0.10	6.44	0.12	0.00
VAR9BF	0.13	0.00	0.08	0.16	0.76	0.07	8.82	0.09	0.00
VAR10AZ	0.19	0.12	0.58	0.20	0.58	0.00	10.24	0.00	0.00
VAR10BF	0.14	0.21	0.58	0.18	0.76	0.00	14.33	0.06	0.00

En la siguiente tabla se muestran las puntuaciones promedio de los 6 atributos sensoriales percibidos vs licores de cacao trabajados.

Matriz de los 6 atributos sensoriales

	CACAO	FRUTAL	FLORAL	NUEZ	ÁCIDO	DULCE
VAR1AZ	3.5	2.3	2.0	2.9	3.2	2.7
VAR1BF	4.2	2.3	2.0	3.6	2.3	3.4
VAR2AZ	3.5	2.1	1.4	2.3	2.9	2.5
VAR2BF	3.8	1.7	1.4	2.5	2.4	3.1
VAR3AZ	3.3	2.1	2.0	1.4	3.2	2.6
VAR3BF	3.5	2.2	2.0	1.7	2.8	3.0
VAR4AZ	3.4	2.9	1.0	2.9	3.2	2.7
VAR4BF	4.2	2.7	1.0	3.3	2.8	3.1
VAR5AZ	4.0	3.2	0.0	3.9	2.1	3.0
VAR5BF	5.0	4.0	0.0	4.5	2.1	4.0
VAR6AZ	3.9	2.7	0.0	2.0	3.3	2.4
VAR6BF	4.1	2.7	0.0	2.4	3.0	3.2
VAR7AZ	2.5	1.1	0.0	1.4	4.0	2.0
VAR7BF	2.8	1.1	0.0	1.6	3.5	2.0
VAR8AZ	2.6	1.3	0.0	2.0	4.3	1.7
VAR8BF	3.1	1.1	0.0	2.1	4.2	2.3
VAR9AZ	2.4	1.1	0.0	1.4	5.0	1.5
VAR9BF	2.8	0.9	0.0	1.6	4.3	2.3
VAR10AZ	2.9	1.5	1.0	1.0	4.0	1.9
VAR10BF	3.5	1.7	1.0	1.4	3.8	2.7

En la siguiente tabla se muestran los 42 compuestos volátiles olor-activos que pasaron el umbral del olor vs licores de cacao. Cada número corresponde al nombre de un compuesto y se puede identificar en la tabla 15.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
VARIAZ	0.16	3.42	2.18	3.51	0.44	0.12	4.34	21.76	0.91	12.62	1.92	0.21	0.00	0.44	0.16	0.29	0.33
VAR1BF	0.11	1.98	1.04	1.62	0.00	0.15	3.13	27.72	0.78	14.30	1.69	0.22	0.00	0.34	0.25	0.20	0.13

VAR2AZ	0.43	2.84	1.31	4.56	0.54	0.79	12.06	12.55	0.63	12.90	1.23	0.22	0.00	0.25	0.13	0.13	1.01
VAR2BF	0.50	2.49	1.05	3.64	0.14	0.22	12.02	13.10	0.65	13.53	1.35	0.19	0.00	0.22	0.16	0.09	0.59
VAR3AZ	0.66	3.21	1.72	6.70	0.10	0.18	10.40	19.63	0.63	9.11	1.69	0.19	0.00	0.52	0.17	0.07	0.90
VAR3BF	0.65	2.64	1.20	7.02	0.05	0.18	11.04	21.49	0.64	12.40	1.86	0.17	0.00	0.69	0.15	0.11	0.78
VAR4AZ	0.36	4.02	2.44	3.56	0.11	0.14	4.64	18.35	0.46	10.96	1.67	0.47	0.00	0.44	0.34	0.19	0.32
VAR4BF	0.30	3.60	1.99	2.26	0.07	0.13	4.13	18.02	0.53	12.69	1.49	0.23	0.00	0.53	0.36	0.14	0.18
VAR5AZ	0.30	2.70	1.89	1.15	0.15	0.29	1.44	24.37	0.63	12.57	1.30	0.33	0.16	0.48	0.46	0.13	0.11
VAR5BF	0.21	2.32	1.14	0.79	0.00	0.32	1.89	28.37	0.85	17.52	1.47	0.32	0.00	0.44	0.30	0.14	0.10
VAR6AZ	0.43	3.32	2.03	1.39	0.25	0.14	2.94	17.33	0.42	8.23	1.55	0.60	0.00	0.67	0.19	0.24	0.14
VAR6BF	0.34	2.23	1.72	1.44	0.57	0.27	2.05	17.12	0.73	12.08	1.65	0.58	0.00	0.19	0.23	0.13	0.17
VAR7AZ	0.17	4.48	3.46	0.83	0.24	0.07	1.78	5.75	0.59	9.08	1.10	0.26	0.00	0.32	0.00	0.20	0.20
VAR7BF	0.14	4.12	3.24	0.92	0.26	0.07	2.51	6.15	0.86	8.38	1.66	0.19	0.65	0.38	0.00	0.18	0.18
VAR8AZ	0.16	3.75	2.71	1.01	0.19	0.10	3.16	8.66	1.30	5.95	1.20	0.21	0.18	0.28	0.00	0.35	0.14
VAR8BF	0.20	3.61	2.44	0.89	0.12	0.11	2.88	8.87	1.54	8.15	1.46	0.32	0.18	0.35	0.16	0.34	0.13
VAR9AZ	0.25	4.78	3.30	0.80	0.20	0.16	2.64	7.01	0.57	7.87	1.26	0.11	0.31	0.22	0.00	1.05	0.29
VAR9BF	0.17	4.35	3.17	0.52	0.06	0.10	2.41	6.65	0.73	10.56	1.27	0.14	0.29	0.17	0.00	0.50	0.14
VAR10AZ	0.95	3.03	1.77	2.41	0.12	0.36	6.76	11.18	0.63	7.40	0.73	0.23	0.00	0.29	0.22	0.10	0.19
VAR10BF	0.70	2.50	1.16	2.27	0.13	0.22	5.71	17.55	0.50	8.58	1.07	0.00	0.00	0.39	0.28	0.09	0.19

	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
VAR1AZ	0.00	0.34	0.94	0.03	1.19	5.13	1.15	1.24	0.91	1.40	0.00	3.83	3.21	36.40	0.80	5.20	0.35
VAR1BF	0.00	0.22	0.63	0.02	0.44	1.44	0.35	0.87	0.99	1.13	0.00	2.80	2.87	42.81	0.76	4.62	0.39
VAR2AZ	0.00	0.82	6.38	0.06	0.72	1.40	1.03	0.58	1.36	1.88	0.00	2.68	3.43	33.74	1.28	5.76	0.34
VAR2BF	0.02	0.61	6.39	0.06	0.51	0.77	0.59	0.30	1.01	1.02	0.00	2.38	3.22	30.34	0.35	3.74	0.37
VAR3AZ	0.06	0.89	5.81	0.06	0.55	2.24	0.68	0.78	1.01	1.33	0.00	4.32	3.31	32.40	0.75	5.41	0.29
VAR3BF	0.09	0.61	5.90	0.07	0.51	2.21	0.31	0.60	1.07	1.57	0.00	5.06	3.49	35.01	0.91	5.37	0.38
VAR4AZ	0.00	0.36	1.16	0.03	1.00	5.50	0.46	1.55	0.92	1.98	0.00	3.24	2.74	41.63	2.05	6.44	0.57
VAR4BF	0.00	0.39	0.93	0.02	0.42	6.38	0.33	1.50	1.33	1.60	0.00	2.86	2.63	41.36	1.69	5.79	0.67
VAR5AZ	0.00	0.39	0.79	0.03	0.28	0.95	0.73	0.76	1.20	1.92	0.00	3.12	5.19	57.45	2.10	3.79	0.46
VAR5BF	0.06	0.43	0.65	0.03	0.27	1.94	0.69	0.38	1.56	2.02	0.00	4.01	5.95	78.30	1.13	3.62	0.37
VAR6AZ	0.00	0.46	0.80	0.04	0.31	2.32	0.49	2.48	1.22	2.11	0.00	3.00	2.46	41.80	2.09	3.31	0.39
VAR6BF	0.00	0.38	0.60	0.03	0.44	4.67	0.69	2.40	1.33	1.97	0.00	3.03	3.19	46.11	1.09	1.75	0.37
VAR7AZ	0.00	0.41	0.47	0.03	0.50	1.97	1.21	0.50	0.87	1.02	0.00	2.02	2.36	12.28	0.40	5.62	0.56
VAR7BF	0.00	0.53	0.43	0.02	0.99	1.76	0.95	0.52	0.81	0.69	0.40	2.20	2.11	11.99	0.43	5.57	0.52
VAR8AZ	0.00	0.41	0.77	0.02	0.52	1.77	0.77	0.83	0.54	0.73	0.00	1.85	2.87	18.49	0.50	2.93	0.29
VAR8BF	0.00	0.42	0.73	0.02	1.15	1.25	0.75	0.86	0.47	0.56	0.00	1.70	2.15	17.24	0.50	2.94	0.32
VAR9AZ	0.00	0.36	0.90	0.02	0.50	1.91	0.91	0.72	0.37	0.64	0.00	2.16	1.53	13.24	0.52	5.97	0.30
VAR9BF	0.00	0.26	0.65	0.02	0.44	0.57	0.67	0.64	1.10	0.70	0.57	1.71	1.23	10.75	0.61	5.43	0.34
VAR10AZ	0.07	0.34	0.93	0.05	0.49	1.96	1.14	1.98	0.78	0.00	0.00	3.18	2.49	23.80	0.59	1.09	0.41
VAR10BF	0.03	0.39	0.82	0.04	0.48	1.98	0.67	1.96	0.55	0.44	0.00	3.35	2.89	28.83	0.79	1.29	0.48

	35	36	37	38	39	40	41	42
VAR1AZ	0.71	0.35	0.10	0.18	0.00	0.13	0.38	30.97
VAR1BF	0.69	0.31	0.07	0.09	0.00	0.12	0.14	39.90
VAR2AZ	0.91	0.28	0.37	0.30	0.00	1.41	0.44	19.30
VAR2BF	0.76	0.22	0.22	0.35	0.00	0.62	0.40	21.27
VAR3AZ	0.68	0.40	0.40	0.42	0.00	0.62	0.69	7.51
VAR3BF	0.60	0.41	0.29	0.40	0.00	0.65	0.30	7.56
VAR4AZ	8.38	0.38	0.17	0.23	0.07	0.30	0.17	26.75
VAR4BF	8.05	0.35	0.11	0.20	0.06	0.27	0.22	30.04
VAR5AZ	8.28	0.33	0.00	0.08	0.05	0.09	0.40	40.74
VAR5BF	6.67	0.39	0.10	0.14	0.00	0.06	0.06	50.83
VAR6AZ	10.48	0.42	0.09	0.06	0.00	0.12	0.30	11.27
VAR6BF	5.34	0.32	0.09	0.10	0.00	0.06	0.22	15.76
VAR7AZ	1.33	0.30	0.19	0.28	0.00	0.40	0.17	3.00
VAR7BF	1.19	0.21	0.15	0.38	0.00	0.34	0.12	3.76
VAR8AZ	0.77	0.27	0.08	0.38	0.00	0.08	0.40	11.46
VAR8BF	0.86	0.39	0.05	0.34	0.00	0.09	0.60	14.10
VAR9AZ	1.07	0.29	0.27	0.67	0.00	0.62	0.34	6.44
VAR9BF	0.69	0.17	0.17	0.56	0.00	0.47	0.49	8.82
VAR10AZ	1.21	0.61	0.19	0.21	0.00	0.11	0.38	10.24
VAR10BF	1.00	0.53	0.21	0.11	0.00	0.12	0.37	14.33

En la siguiente tabla se muestran los 16 compuestos volátiles olor-activos que explicaron la mayor varianza de los datos vs licores de cacao. Cada número corresponde al nombre de un compuesto y se puede identificar en la tabla 17.

Matriz de los 16 compuestos volátiles olor-activos que explican la mayor cantidad de varianza

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
VAR1AZ	3.42	2.18	3.51	4.34	21.76	12.62	0.16	0.94	0.33	0.03	3.83	3.21	36.40	0.71	30.97	0.10
VAR1BF	1.98	1.04	1.62	3.13	27.72	14.30	0.25	0.63	0.13	0.02	2.80	2.87	42.81	0.69	39.91	0.07
VAR2AZ	2.84	1.31	4.56	12.05	12.55	12.90	0.13	6.38	1.01	0.06	2.68	3.43	33.74	0.91	19.30	0.37
VAR2BF	2.49	1.05	3.64	12.02	13.10	13.53	0.16	6.39	0.59	0.06	2.38	3.22	30.34	0.76	21.27	0.22
VAR3AZ	3.21	1.72	6.70	10.40	19.63	9.11	0.17	5.81	0.90	0.06	4.32	3.31	32.40	0.68	7.51	0.40
VAR3BF	2.64	1.20	7.02	11.04	21.49	12.40	0.15	5.90	0.78	0.07	5.06	3.49	35.01	0.60	7.56	0.29
VAR4AZ	4.02	2.44	3.56	4.64	18.35	10.96	0.34	1.16	0.32	0.03	3.24	2.74	41.63	8.38	26.75	0.16

VAR4BF	3.60	1.99	2.26	4.13	18.02	12.69	0.36	0.93	0.18	0.02	2.86	2.63	41.36	8.05	30.04	0.11
VAR5AZ	2.70	1.89	1.15	1.44	24.37	12.57	0.46	0.79	0.11	0.03	3.12	5.19	57.45	8.28	40.74	0.00
VAR5BF	2.32	1.14	0.79	1.89	28.37	17.52	0.30	0.65	0.10	0.03	4.01	5.96	78.30	6.67	50.83	0.10
VAR6AZ	3.32	2.03	1.39	2.94	17.33	8.23	0.19	0.80	0.14	0.04	3.00	2.46	41.80	10.48	11.27	0.08
VAR6BF	2.23	1.72	1.44	2.05	17.12	12.08	0.23	0.60	0.17	0.03	3.03	3.19	46.11	5.34	15.76	0.09
VAR7AZ	4.48	3.46	0.83	1.79	5.75	9.08	0.00	0.47	0.20	0.03	2.02	2.36	12.28	1.33	3.00	0.19
VAR7BF	4.12	3.24	0.92	2.51	6.15	8.38	0.00	0.43	0.18	0.02	2.20	2.11	11.99	1.19	3.76	0.15
VAR8AZ	3.75	2.71	1.01	3.17	8.66	5.95	0.00	0.77	0.14	0.02	1.85	2.87	18.49	0.77	11.46	0.08
VAR8BF	3.61	2.44	0.89	2.88	8.87	8.15	0.16	0.73	0.13	0.02	1.70	2.15	17.23	0.86	14.10	0.05
VAR9AZ	4.78	3.30	0.80	2.64	7.01	7.87	0.00	0.90	0.29	0.02	2.16	1.53	13.24	1.07	6.44	0.27
VAR9BF	4.35	3.17	0.52	2.41	6.65	10.56	0.00	0.65	0.14	0.02	1.71	1.23	10.75	0.69	8.82	0.17
VAR10AZ	3.03	1.77	2.41	6.76	11.18	7.40	0.22	0.93	0.19	0.05	3.18	2.49	23.80	1.21	10.24	0.19
VAR10BF	2.50	1.16	2.27	5.71	17.55	8.58	0.28	0.82	0.20	0.04	3.35	2.89	28.83	1.00	14.33	0.21

Apéndice E. Continuación de tabla 13 de concentraciones para los 20 licores (AZ y BF)

Concentraciones de las variedades 3 y 4 AZ y BF.

Grupo funcional	No	Compuestos volátiles	Var3AZ		Var3AZ		Var4AZ		Var4BF	
			Con. ^a (mg/kg)	Con. ^a (mg/kg)	Con. ^a (mg/kg)	Des. Est. ^p .	Con. (mg/kg)	Des. Est.	Con. (mg/kg)	Des. Est.
Ácidos	1	Ácido acético	25.153	25.153	20.419	1.967	14.243	0.319	11.464	0.014
	2	Ácido propanoico	N/D	N/D	N/D	N/D	0.045	0.001	N/D	N/D
	3	Ácido 2-metilpropanoico	2.092	2.092	2.772	0.034	1.627	0.065	2.585	0.210
	4	Ácido Butanoico	0.661	0.661	0.653	0.044	0.362	0.013	0.301	0.013
	5	Ácido 3-metilbutanoico	3.209	3.209	2.638	0.196	4.024	0.150	3.603	0.062
	6	Ácido 2-metilbutanoico	1.720	1.720	1.203	0.066	2.436	0.020	1.986	0.183
	7	Ácido hexanoico	N/D	N/D	N/D	N/D	0.047	0.004	N/D	N/D
	8	Ácido octanoico	0.103	0.103	0.102	0.004	0.168	0.001	0.160	0.002
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	0.124	0.124	0.125	0.006	N/D	N/D	N/D	N/D
	10	3-metilbutanol	0.245	0.245	0.321	0.021	0.177	0.004	0.122	0.009
	11	2-pentanol	0.438	0.438	0.502	0.015	0.366	0.005	0.313	0.018
	12	2,3-butanodiol	4.306	4.306	4.646	0.290	6.016	0.037	10.196	0.045
	13	2,3-butanodiol	2.281	2.281	2.193	0.114	3.263	0.110	4.390	0.367
	14	2-heptanol	6.696	6.696	7.017	0.328	3.560	0.015	2.264	0.001
	15	Fenilmetanol	0.202	0.202	0.371	0.024	0.205	0.006	0.227	0.007
	16	1-Octanol	0.096	0.096	0.055	0.003	0.108	0.108	0.071	0.071
	17	B-linalool	0.184	0.184	0.180	0.016	0.140	0.005	0.125	0.002
18	2-nonanol	10.404	10.404	11.040	0.715	4.638	0.191	4.130	0.170	
19	2-feniletanol	19.632	19.632	21.486	1.649	18.349	0.281	18.016	0.713	
Aldehídos	20	3-metilbutanal	0.634	0.634	0.639	0.030	0.457	0.004	0.530	0.036
	21	Benzaldehído	9.108	9.108	12.405	0.607	10.962	0.166	12.694	0.330
	22	Fenilacetaldehído	1.692	1.692	1.855	0.113	1.673	0.009	1.488	0.022
	23	Decanaldehído	0.190	0.190	0.169	0.005	0.472	0.042	0.228	0.012
	24	4-etilbenzaldehido	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	25	2-fenil-2-butenal	0.663	0.663	1.032	0.009	0.791	0.060	0.510	0.008
	26	4-metil-2-fenil-2-pentenal	0.521	0.521	0.693	0.029	0.445	0.035	0.526	0.001
27	5-metil-2-fenil-2-hexenal	0.173	0.173	0.147	0.006	0.341	0.001	0.356	0.007	
Cetonas	28	2,3-Butanodiona	0.071	0.071	0.110	0.001	0.188	0.011	0.138	0.009
	29	3-hidroxy-2-butanona	0.748	0.748	0.727	0.042	0.971	0.026	0.801	0.011
	30	2-heptanona	0.901	0.901	0.778	0.044	0.324	0.012	0.176	0.006
	31	3-hepten-2-ona	0.044	0.044	0.029	0.002	0.024	0.001	0.023	0.001
	32	2-octanona	0.057	0.057	0.089	0.005	N/D	N/D	N/D	N/D
	33	3-metil-2-ciclohexenona	0.219	0.219	0.238	0.013	0.380	0.010	0.270	0.005
	34	2,6-heptadiona	N/D	N/D	N/D	N/D	0.066	0.002	N/D	N/D

	67	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	0.688	0.688	0.304	0.018	0.172	0.001	0.217	0.011
	68	6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol	0.338	0.338	0.482	0.018	0.818	0.008	0.730	0.070
	69	Alfa-terpineol	0.151	0.151	0.188	0.008	N/D	N/D	N/D	N/D
	70	2-piperidiona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	71	2-acetilpirrol	0.131	0.131	0.576	0.030	0.060	0.000	0.329	0.012
Pirazinas	72	2,3-dimetilpirazina	0.203	0.203	0.162	0.003	0.241	0.003	0.211	0.000
	73	2,3,5-trimetilpirazina	0.675	0.675	1.000	0.134	1.846	0.031	1.565	0.110
	74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	0.060	0.005	N/D	N/D
	75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	7.507	7.507	7.560	0.457	26.751	0.221	30.040	1.279
	76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	0.116	0.116	0.090	0.006	0.241	0.008	0.216	0.007
	77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	0.217	0.003	0.176	0.008

Apéndice F. Continuación de tabla 13 de concentraciones para los 20 licores (AZ y BF)

Concentraciones de las variedades 5 y 6 AZ y BF.

Grupo funcional	N o	Compuestos volátiles	Var5AZ		Var5BF		Var6AZ		Var6BF	
			Con. (mg/kg)	Des. Est.						
Ácidos	1	Ácido acético	17.125	0.142	16.077	1.329	14.603	0.453	8.179	0.465
	2	Ácido propanoico	0.045	0.002	N/D	N/D	0.054	0.001	0.053	0.002
	3	Ácido 2-metilpropanoico	2.005	0.035	1.633	0.021	1.852	0.046	3.220	0.033
	4	Ácido Butanoico	0.297	0.007	0.208	0.014	0.425	0.031	0.339	0.007
	5	Ácido 3-metilbutanoico	2.704	0.048	2.323	0.088	3.320	0.162	2.235	0.021
	6	Ácido 2-metilbutanoico	1.887	0.053	1.144	0.075	2.031	0.026	1.716	0.027
	7	Ácido hexanoico	0.045	0.002	N/D	N/D	N/D	N/D	0.062	0.004
	8	Ácido octanoico	0.160	0.015	0.149	0.005	0.528	0.048	0.447	0.005
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	10	3-metilbutanol	0.125	0.006	0.166	0.010	0.105	0.009	0.123	0.010
	11	2-pentanol	0.338	0.032	0.367	0.006	0.314	0.026	0.361	0.003
	12	2,3-butanodiol	4.108	0.025	7.374	0.381	3.977	0.023	4.511	0.043
	13	2,3-butanodiol	5.457	0.177	7.940	0.647	4.162	0.081	4.537	0.091
	14	2-heptanol	1.149	0.018	0.788	0.032	1.389	0.087	1.439	0.019
	15	Fenilmetanol	0.411	0.039	0.570	0.031	0.462	0.018	0.651	0.017
	16	1-Octanol	0.146	0.146	N/D	N/D	0.245	0.245	0.572	0.572
	17	B-linalool	0.292	0.026	0.325	0.002	0.140	0.011	0.273	0.010
18	2-nonanol	1.440	0.118	1.894	0.047	2.943	0.067	2.052	0.004	
19	2-feniletanol	24.372	1.979	28.371	0.458	17.328	0.143	17.117	0.835	
Aldehídos	20	3-metilbutanal	0.625	0.046	0.854	0.079	0.421	0.004	0.728	0.015
	21	Benzaldehído	12.572	0.046	17.523	1.043	8.233	0.383	12.080	0.649
	22	Fenilacetaldéhido	1.299	0.130	1.474	0.037	1.554	0.092	1.649	0.086
	23	Decanaldehído	0.326	0.027	0.319	0.016	0.601	0.009	0.579	0.054
	24	4-etilbenzaldehido	0.158	0.006	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	25	2-fenil-2-butenal	0.707	0.052	0.515	0.020	0.561	0.048	0.523	0.010
	26	4-metil-2-fenil-2-pental	0.478	0.040	0.439	0.012	0.668	0.053	0.190	0.003
27	5-metil-2-fenil-2-hexenal	0.458	0.083	0.296	0.018	0.191	0.011	0.227	0.009	
Cetonas	28	2,3-Butanodiona	0.134	0.013	0.137	0.009	0.239	0.002	0.133	0.003
	29	3-hidroxy-2-butanona	1.310	0.092	1.226	0.061	0.916	0.031	1.060	0.009
	30	2-heptanona	0.107	0.006	0.097	0.010	0.137	0.008	0.168	0.007
	31	3-hepten-2-ona	N/D	N/D	N/D	N/D	0.037	0.002	0.033	0.003
	32	2-octanona	N/D	N/D	0.063	0.002	N/D	N/D	N/D	N/D
	33	3-metil-2-ciclohexenona	0.172	0.015	0.072	0.007	0.581	0.048	0.454	0.014
	34	2,6-heptadiona	N/D	N/D	0.080	0.004	N/D	N/D	0.066	0.003

	67	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	0.398	0.011	0.060	0.005	0.298	0.017	0.224	0.020
	68	6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol	0.931	0.075	0.806	0.073	0.801	0.020	0.737	0.026
	69	Alfa-terpineol	N/D	N/D	N/D	N/D	0.206	0.011	0.164	0.005
	70	2-piperidiona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	71	2-acetilpirrol	0.126	0.009	0.415	0.023	0.310	0.011	0.158	0.003
Pirazinas	72	2,3-dimetilpirazina	0.222	0.011	0.369	0.027	0.158	0.013	0.215	0.015
	73	2,3,5-trimetilpirazina	1.786	0.134	1.852	0.010	0.703	0.015	0.766	0.028
	74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0.041	0.000
	75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	40.743	2.934	50.832	1.677	11.273	0.123	15.764	0.478
	76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	0.290	0.006	0.459	0.013	0.210	0.011	0.147	0.000
	77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	0.071	0.004	0.135	0.009	N/D	1.000	N/D	N/D

- Concentraciones de las variedades 7 y 8 AZ y BF.

Grupo funcional	No.	Compuestos volátiles	Var7AZ		Var7BF		Var8AZ		Var8BF	
			Con. (mg/kg)	Des. Est.						
Ácidos	1	Ácido acético	21.696	1.931	15.456	1.042	24.247	1.979	18.661	0.097
	2	Ácido propanoico	0.634	0.009	N/D	N/D	0.438	0.014	0.568	0.044
	3	Ácido 2-metilpropanoico	0.248	0.019	N/D	N/D	2.253	0.173	0.420	0.011
	4	Ácido Butanoico	0.166	0.011	0.135	0.012	0.158	0.015	0.203	0.010
	5	Ácido 3-metilbutanoico	4.476	0.196	4.121	0.156	3.753	0.017	3.606	0.160
	6	Ácido 2-metilbutanoico	3.456	0.141	3.243	0.099	2.713	0.045	2.443	0.014
	7	Ácido hexanoico	N/D	N/D	0.049	0.002	N/D	N/D	N/D	N/D
	8	Ácido octanoico	0.057	0.006	0.053	0.002	0.109	0.003	0.151	0.014
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	0.334	0.022	N/D	1.000	0.117	0.008	0.143	0.003
	10	3-metilbutanol	0.167	0.007	0.154	0.013	0.252	0.019	0.181	0.012
	11	2-pentanol	0.377	0.029	0.438	0.039	0.421	0.004	0.527	0.010
	12	2,3-butanodiol	5.773	0.787	7.263	0.057	6.843	1.120	11.171	0.333
	13	2,3-butanodiol	8.411	0.073	10.830	0.697	4.129	0.103	4.207	0.400
	14	2-heptanol	0.835	0.043	0.923	0.004	1.015	0.014	0.893	0.086
	15	Fenilmetanol	0.304	0.018	0.074	0.006	0.246	0.019	0.130	0.001
	16	1-Octanol	0.242	0.242	0.259	0.259	0.187	0.187	0.120	0.120
	17	B-linalool	0.073	0.004	0.074	0.006	0.099	0.005	0.110	0.007
	18	2-nonanol	1.785	0.135	2.514	0.038	3.165	0.004	2.881	0.093
	19	2-feniletanol	5.753	0.112	6.147	0.024	8.656	0.251	8.871	0.506
Aldehídos	20	3-metilbutanal	0.590	0.038	0.857	0.015	1.300	0.105	1.545	0.145

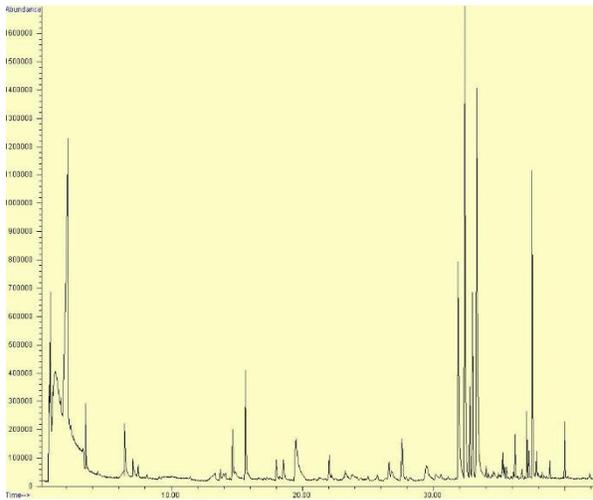
	59	Dihidro-2(3H)Furanona	0.303	0.030	0.211	0.016	0.267	0.015	0.394	0.030
	60	B-pineno	0.188	0.013	0.149	0.006	0.084	0.003	0.051	0.001
	61	Benzonitrilo	0.196	0.002	0.176	0.014	0.128	0.001	0.118	0.009
	62	7-metil-3-metileno-1,6-octadieno) B-mircero	0.285	0.010	0.375	0.019	0.378	0.004	0.342	0.026
	63	3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (B-Ocimeno)	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	64	1-metil-4-(1-metil etil)- 1,4-ciclohexadieno - Gama-Terpineno	0.216	0.002	0.256	0.000	0.143	0.004	0.167	0.013
	65	2,4,6-octatrieno-2,6-dimetil (allo-ocymene)	0.398	0.035	0.337	0.019	0.084	0.002	0.088	0.005
	66	2-fenilacetoneitrilo	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	67	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	0.168	0.013	0.124	0.006	0.399	0.025	0.603	0.031
	68	6-etenil-2,2,6-trimetiloxan-3-ol	0.273	0.027	0.195	0.011	0.346	0.006	0.385	0.022
	69	Alfa-terpineol	0.063	0.005	0.069	0.001	N/D	N/D	N/D	N/D
	70	2-piperidona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	71	2-acetilpirrol	0.067	0.005	0.121	0.003	0.113	0.000	0.111	0.010
Pirazinas	72	2,3-dimetilpirazina	0.237	0.019	0.208	0.014	0.126	0.001	0.183	0.015
	73	2,3,5-trimetilpirazina	0.399	0.006	0.907	0.027	0.853	0.064	0.862	0.079
	74	2,5-dimetil-3-etilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	0.039	0.001	0.058	0.000
	75	2,3,5,6-tetrametilpirazina	3.001	0.024	3.762	0.055	11.462	0.114	14.103	0.382
	76	2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	0.103	0.007	0.087	0.006	0.076	0.005	0.162	0.001
	77	2-butil-3,5-dimetilpirazina	N/D	N/D	N/D	N/D	0.057	0.001	0.068	0.005

Concentración de la variedad 9 y 10 AZ y BF.

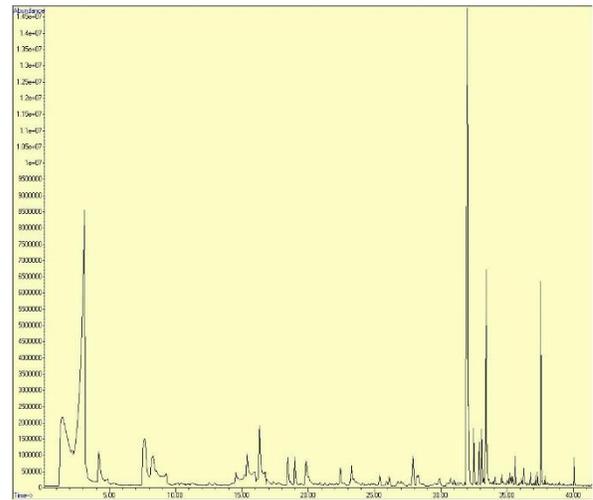
Grupo funcional	No.	Compuestos volátiles	Var9AZ		Var9BF		Var10AZ		Var10BF	
			Con. (mg/kg)	Des. Est.						
Ácidos	1	Ácido acético	8.098	0.408	8.219	0.017	10.177	0.865	8.245	0.592
	2	Ácido propanoico	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	3	Ácido 2-metilpropanoico	1.485	0.035	1.274	0.053	1.580	0.081	1.284	0.099
	4	Ácido Butanoico	0.248	0.002	0.170	0.004	0.953	0.011	0.703	0.026
	5	Ácido 3-metilbutanoico	4.779	0.281	4.352	0.117	3.029	0.099	2.502	0.115
	6	Ácido 2-metilbutanoico	3.301	0.423	3.170	0.052	1.766	0.024	1.160	0.087
	7	Ácido hexanoico	0.076	0.006	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	8	Ácido octanoico	0.054	0.001	0.091	0.001	0.123	0.011	0.093	0.007
Alcoholes	9	3-metil-2-butanol	N/D	N/D	0.154	0.014	0.120	0.006	0.186	0.016
	10	3-metilbutanol	0.164	0.010	0.108	0.003	0.225	0.005	0.271	0.015

	11	2-pentanol	0.400	0.037	0.300	0.018	0.451	0.011	0.428	0.042
	12	2,3-butanodiol	4.270	0.071	5.528	0.027	3.894	0.054	4.368	0.262
	13	2,3-butanodiol	2.755	0.039	3.670	0.247	9.308	0.025	4.147	0.302
	14	2-heptanol	0.798	0.042	0.516	0.045	2.408	0.057	2.269	0.198
	15	Fenilmetanol	0.418	0.026	0.126	0.012	0.586	0.045	0.412	0.035
	16	1-Octanol	0.201	0.201	0.060	0.060	0.120	0.006	0.134	0.002
	17	B-linalool	0.157	0.007	0.099	0.003	0.359	0.022	0.221	0.004
	18	2-nonanol	2.641	0.193	2.410	0.107	6.762	0.193	5.712	0.377
	19	2-feniletanol	7.007	0.550	6.651	1.322	11.179	0.139	17.547	0.946
Aldehidos	20	3-metilbutanal	0.566	0.024	0.726	0.038	0.626	0.002	0.499	0.032
	21	Benzaldehído	7.874	0.085	10.558	0.359	7.404	0.642	8.578	0.469
	22	Fenilacetaldehído	1.257	0.030	1.272	0.103	0.732	0.069	1.069	0.070
	23	Decanaldehído	0.109	0.005	0.137	0.005	0.235	0.021	N/D	N/D
	24	4-etilbenzaldehido	0.306	0.015	0.295	0.009	N/D	N/D	N/D	N/D
	25	2-fenil-2-butenal	0.203	0.003	0.432	0.014	0.246	0.020	0.559	0.054
	26	4-metil-2-fenil-2-pental	0.223	0.017	0.174	0.010	0.294	0.011	0.389	0.033
	27	5-metil-2-fenil-2-hexenal	N/D	N/D	N/D	N/D	0.219	0.014	0.280	0.027
Cetonas	28	2,3-Butanodiona	1.053	0.050	0.500	0.003	0.099	0.003	0.093	0.006
	29	3-hidroxy-2-butanona	3.056	0.052	2.228	0.030	0.884	0.029	0.656	0.057
	30	2-heptanona	0.286	0.013	0.145	0.012	0.188	0.003	0.195	0.010
	31	3-hepten-2-ona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0.036	0.003
	32	2-octanona	N/D	N/D	N/D	N/D	0.069	0.002	0.032	0.003
	33	3-metil-2-ciclohexenona	0.251	0.019	0.129	0.012	0.426	0.008	0.376	0.022
	34	2,6-heptadiona	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	35	1-feniletanona	0.363	0.028	0.264	0.026	0.344	0.010	0.393	0.029
	36	2-nonanona	0.904	0.025	0.654	0.029	0.928	0.039	0.817	0.051
	37	2-undecanona	0.016	0.001	0.022	0.001	0.050	0.004	0.037	0.004
Ésteres	38	Acetato de 2-pentilo	0.502	0.028	0.438	0.019	0.492	0.031	0.480	0.046
	39	Acetato de 3-metilbutilo	1.913	0.187	0.568	0.027	1.956	0.177	1.984	0.024
	40	Acetato de 2-metilbutilo	0.910	0.078	0.674	0.036	1.141	0.073	0.665	0.060
	41	Hexanoato de etilo	0.723	0.049	0.638	0.055	1.984	0.006	1.959	0.094
	42	Acetato de hexilo	N/D	N/D	0.414	0.021	0.349	0.003	0.813	0.058
	43	Acetato de 2-heptilo	5.299	0.143	6.724	0.442	5.782	0.024	7.009	0.581
	44	2-butanodiol-diacetato	2.428	0.010	1.065	0.025	0.792	0.070	0.936	0.057
	45	Acetato de benzilo	0.373	0.024	1.103	0.028	0.781	0.020	0.554	0.045
	46	Benzoato de etilo	0.642	0.002	0.698	0.034	N/D	N/D	0.444	0.029
	47	2-fenilacetato de metilo	N/D	N/D	0.569	0.007	N/D	N/D	N/D	N/D
	48	Butandioato de dietilo	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0.505	0.045
	49	Octanoato de etilo	2.160	0.033	1.712	0.163	3.184	0.094	3.352	0.057
	50	2-fenilacetato de etilo	1.529	0.014	1.229	0.080	2.488	0.019	2.895	0.256
	51	Acetato de 2-feniletilo	13.236	0.291	10.746	0.557	23.801	0.135	28.826	2.349

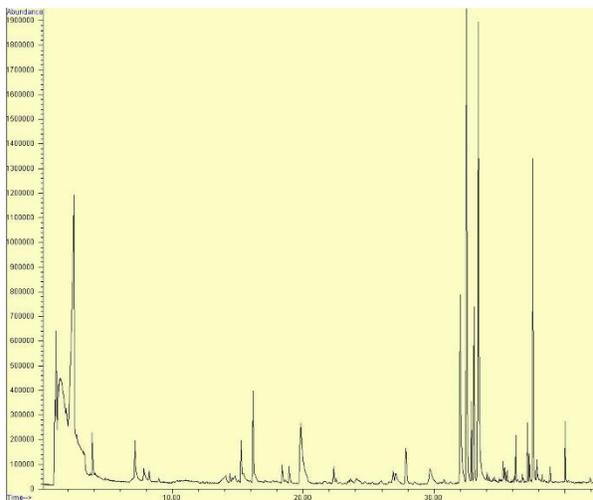
Apéndice G. Cromatogramas de los 20 licores de cacao



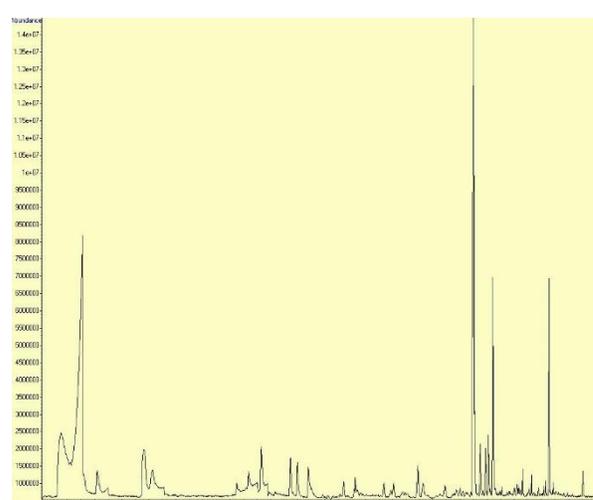
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var3AZ*



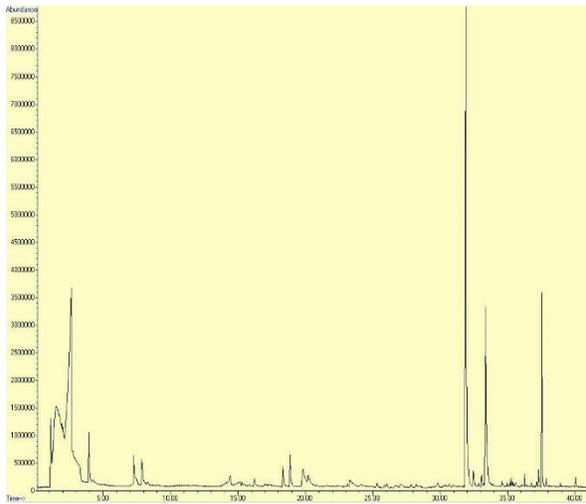
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var4AZ*



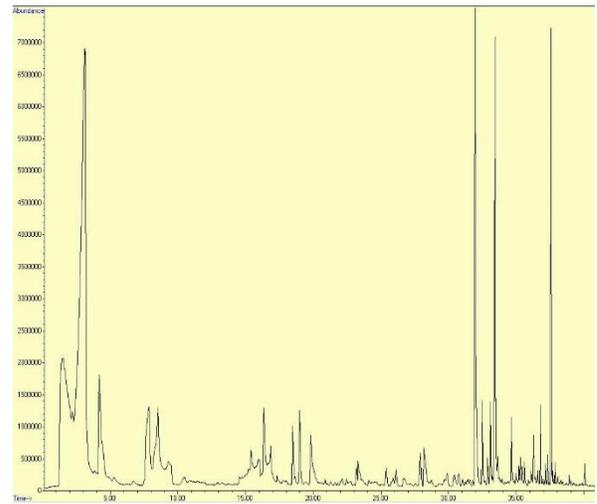
*. Cromatograma (GC-MS) del licor
Var3BF*



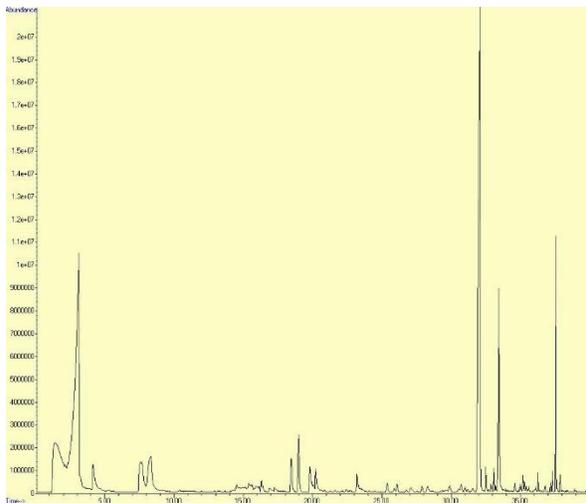
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var4BF*



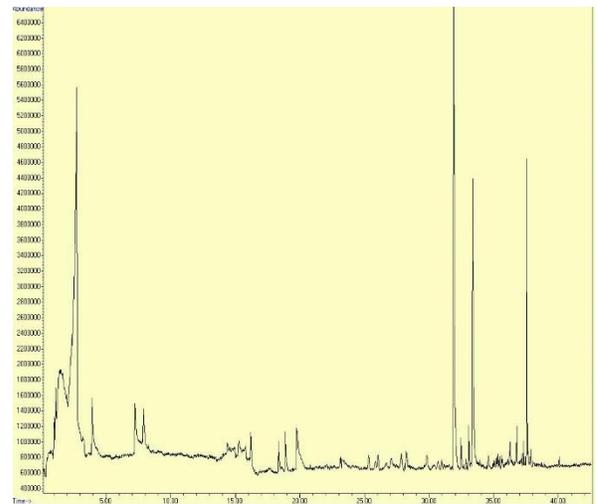
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var5AZ*



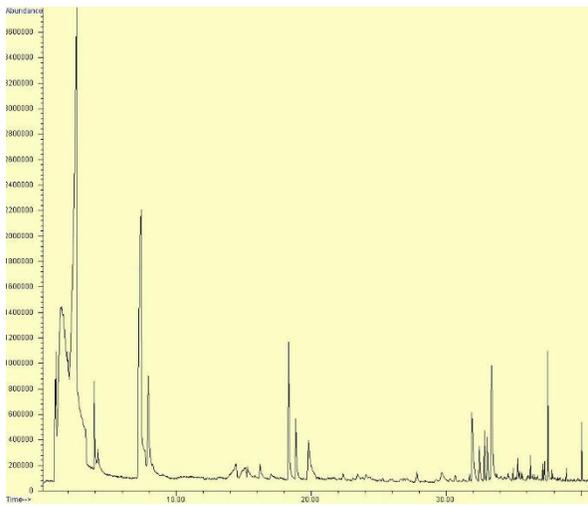
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var6AZ*



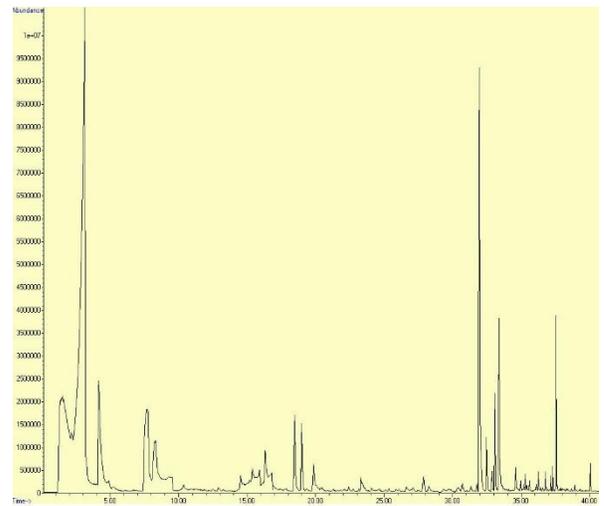
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var5BF*



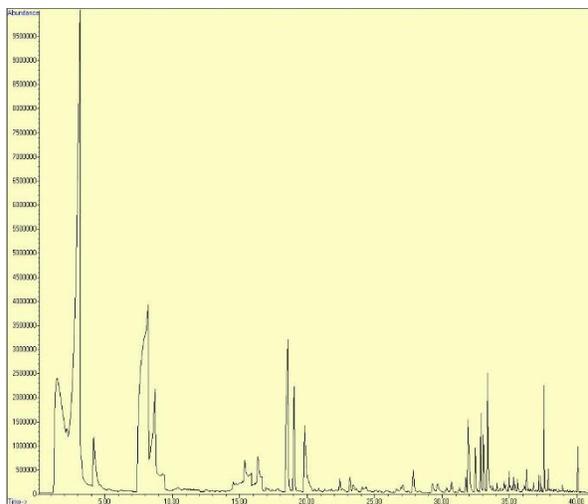
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var6BF*



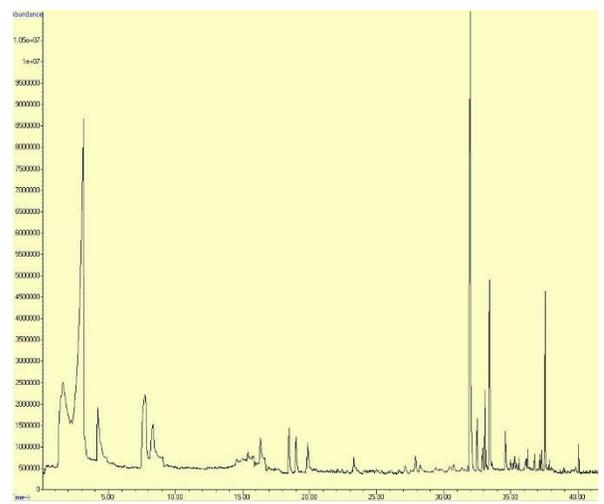
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var7AZ*



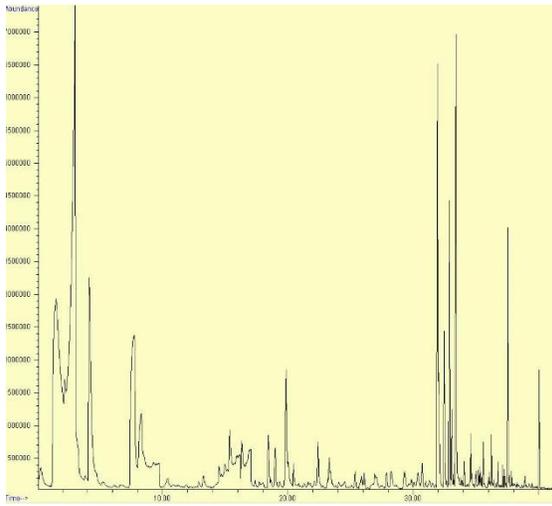
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var8AZ*



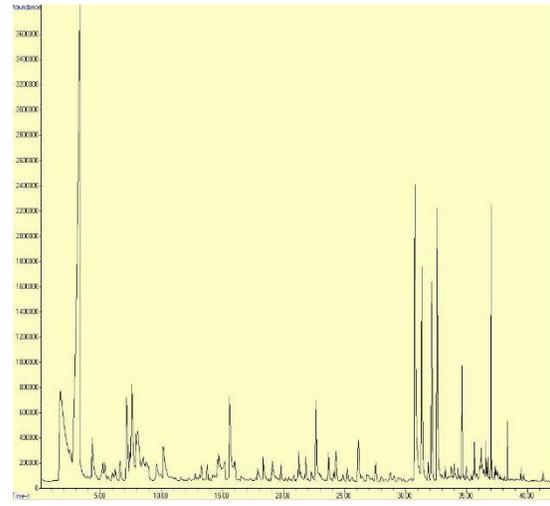
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var7BF*



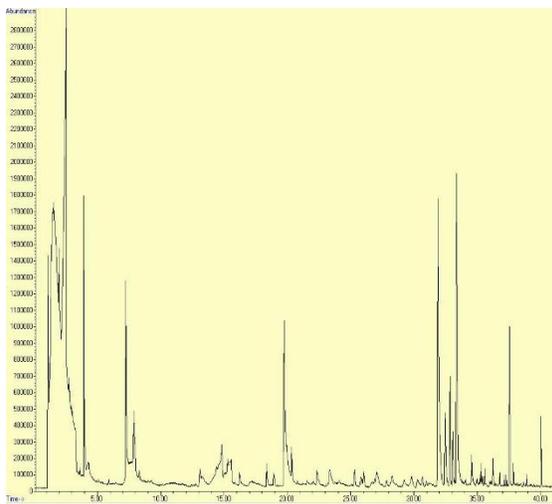
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var8BF*



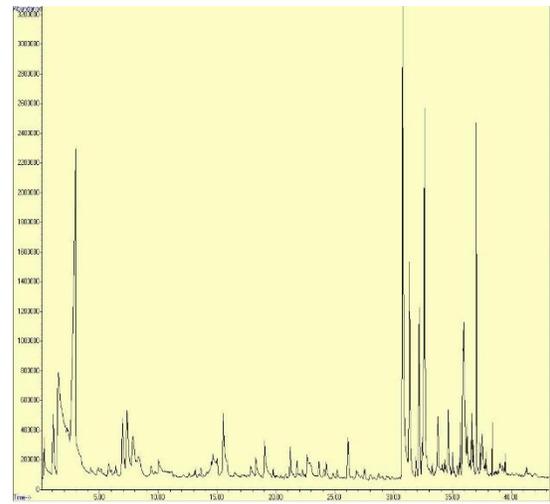
*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var9AZ*



*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var10AZ*



*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var9BF*



*Cromatograma (GC-MS) del licor
Var10BF*

Apéndice H. Puntuaciones promedio de los catadores a los licores de cacao

	CACAO	FRUTAL	FLORAL	NUEZ	ÁCIDO	DULCE
VAR1AZ	3.5	2.3	2.0	2.9	3.2	2.7
VAR1BF	4.2	2.3	2.0	3.6	2.3	3.4
VAR2AZ	3.5	2.1	1.4	2.3	2.9	2.5
VAR2BF	3.8	1.7	1.4	2.5	2.4	3.1
VAR3AZ	3.3	2.1	2.0	1.4	3.2	2.6
VAR3BF	3.5	2.2	2.0	1.7	2.8	3.0
VAR4AZ	3.4	2.9	1.0	2.9	3.2	2.7
VAR4BF	4.2	2.7	1.0	3.3	2.8	3.1
VAR5AZ	4.0	3.2	0.0	3.9	2.1	3.0
VAR5BF	5.0	4.0	0.0	4.5	2.1	4.0
VAR6AZ	3.9	2.7	0.0	2.0	3.3	2.4
VAR6BF	4.1	2.7	0.0	2.4	3.0	3.2
VAR7AZ	2.5	1.1	0.0	1.4	4.0	2.0
VAR7BF	2.8	1.1	0.0	1.6	3.5	2.0
VAR8AZ	2.6	1.3	0.0	2.0	4.3	1.7
VAR8BF	3.1	1.1	0.0	2.1	4.2	2.3
VAR9AZ	2.4	1.1	0.0	1.4	5.0	1.5
VAR9BF	2.8	0.9	0.0	1.6	4.3	2.3
VAR10AZ	2.9	1.5	1.0	1.0	4.0	1.9
VAR10BF	3.5	1.7	1.0	1.4	3.8	2.7