



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 398 943

51 Int. Cl.:

A23G 1/00 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01) A23G 1/02 (2006.01) A23G 1/06 (2006.01) A61K 36/185 (2006.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 13.05.2009 E 09745750 (1)
   (97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 12.12.2012 EP 2299838
- (54) Título: Procedimiento de transformación de granos de cacao
- (30) Prioridad:

15.05.2008 EP 08156260 15.05.2008 EP 08156268 15.05.2008 EP 08156275 26.09.2008 EP 08165260 26.09.2008 EP 08165256

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 22.03.2013

(73) Titular/es:

BARRY CALLEBAUT AG (100.0%) Pfingstweidstrasse 60 8005 Zurich, CH

(72) Inventor/es:

BERNAERT, HERWIG; CAMU, NICHOLAS y LOHMUELLER, TOBIAS

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

# **DESCRIPCION**

Procedimiento de transformación de granos de cacao

#### Campo de la técnica

5

10

15

30

35

40

45

50

55

La presente invención se refiere a un procedimiento de transformación de granos de cacao recién recolectados, no fermentados y de preferencia no despulpados. La presente invención de manera ventajosa proporciona un procedimiento de transformación de granos de cacao como una alternativa al procedimiento de fermentación convencional. La presente invención se refiere a un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao que comprende la etapa de pre-tratamiento de los granos de cacao y posteriormente el someter dichos granos de cacao pre-tratados a un procedimiento de bioconversión. El pre-tratamiento de dichos granos de cacao permite abrir la testa de al menos una parte de dichos granos de cacao y mejorar una transformación posterior de los granos pre-tratados. El pre-tratamiento de de dichos granos de cacao permite igualmente inhibir la germinación de una parte predominante de dichos granos de cacao y mejorar una transformación posterior de los granos pre-tratados. La invención se refiere además a granos de cacao obtenidos u obtenibles mediante la realización de los procedimientos de la presente invención y usos de los mismos para la preparación de productos del cacao, incluyendo extractos de cacao, y usos de los mismos para la preparación de productos de cacao, incluyendo extractos de cacao, y usos de los mismos para la preparación de productos alimenticos. La invención se refiere igualmente a productos alimenticios preparados con granos de cacao y/o productos de cacao tal como se definen en la presente invención.

#### **Antecedentes**

Los granos de cacao son la materia prima principal para la producción de chocolate. Estos granos se obtienen de las vainas del fruto del árbol *Theobroma cacao*, el cual se cultiva en plantaciones en la zona ecuatorial, por ejemplo, en Costa de Marfil, Ghana, e Indonesia. Los granos de cacao están embebidos en una pulpa mucilaginosa dentro de las vainas. Los granos de cacao brutos tienen un sabor y aroma desagradable, astringente, y han de ser fermentados microbiológicamente, secados, y tostados para obtener el aroma y sabor de cacao característico deseado. El aroma del chocolate está influenciado por el origen de los granos de cacao, los cultivares de cacao, la fermentación en la explotación y el procedimiento de secado, y el tostado y posterior transformación realizada por el fabricante del chocolate.

Después de la separación de los granos de las vainas, la primera etapa en la transformación del cacao, por ejemplo, para la variedad de cacao forastero, es una fermentación espontánea de 6 a 10 días de los granos y pulpa en montones, cajas, cestas, o bandejas. Sin embargo, el procedimiento de fermentación espontánea del cacao es muy poco homogénea y conlleva grandes variaciones tanto en el recuento microbiano y en la composición de las especies, por tanto de metabolitos, como del comienzo de la fermentación del grano. Las variaciones parecen depender de muchos factores incluyendo país, explotación, maduración del grano, edad del grano post-recolección y almacenamiento, enfermedades de la vaina, tipo de cacao, variaciones en la relación pulpa/grano, el procedimiento de fermentación, tamaño del lote, temporada y condiciones climáticas, frecuencia de volteo o no volteo, tiempo de fermentación, etc., lo cual hace particularmente difícil la reproducibilidad de la fermentación.

El secado de los granos fermentados puede comprender, por ejemplo, el secado artificial en una corriente de aire caliente o el esparcido los granos de cacao al sol para secarlos. La etapa de tostado implica reacciones de Maillard entre azúcares reductores y productos de hidrólisis de proteínas, especialmente péptidos y aminoácidos libres. Desgraciadamente, las condiciones para el secado y el tostado no son siempre adecuadamente controladas. Además, los granos de cacao secos pueden igualmente dañarse durante el transporte a los países especializados en la transformación posterior de los granos. Por ello, la industria debe enfrentarse a una amplia variabilidad en la composición de una partida de granos de cacao.

En la técnica es sabido que la fermentación es un factor importante en el desarrollo del aroma en los granos de cacao. Por ello, se han realizado intentos en la técnica anterior para controlar los parámetros de fermentación. Igualmente, se han realizado intentos en la técnica anterior para preparar granos de cacao con una composición, aroma y/o propiedades organolépticas deseadas.

Por ejemplo, el Documento WO 2007/031186 divulga un procedimiento para regular la fermentación de materiales de plantas que consisten en granos y/o pulpa de cacao mediante la adición a dicho material de planta cultivos bacterianos específicos que contienen al menos una bacteria de ácido láctico y/o al menos una bacteria de ácido acético en diferentes momentos de tiempo durante el procedimiento de fermentación.

Por ejemplo, el Documento de EE.UU. 2002/0034579 divulga un procedimiento para obtener cacao reducido en aroma o bajo en aroma a partir de granos de cacao no fermentados. En este procedimiento, los granos de cacao recolectados son liberados de la pulpa que les rodea y opcionalmente son secados. El procedimiento divulgado comprende además la incubación de los granos no fermentados no secados en agua, el tratamiento posterior en un medio acuso ácido después del cual los granos tratados son sometidos a un tratamiento de oxidación. Sin embargo, este procedimiento suprime la formación de aroma y, en consecuencia, se obtiene cacao bajo en aroma.

El Documento WO 97/33484 divulga un procedimiento para la reducción de los niveles de acidez en granos fermentados antes del secado de los granos. Con el fin de mejorar y potenciar el aroma del cacao de dichos granos, los granos fermentados fueron al menos parcialmente descarcarillados antes del secado, por ejemplo, mediante secado por aire o secado al sol. Durante el secado, los ácidos en exceso se difunden desde los granos hacia las cáscaras en donde se pierden o bien por evaporación o mediante descomposición microbiana. Sin embargo, en este procedimiento, la etapa de secado debe ser suficientemente larga para que dé como resultado una reducción en el nivel de acidez en los granos. La temperatura del procedimiento no puede elevarse demasiado con el fin de no afectar la actividad de la enzima, responsable de las mejoras de aroma, en los granos.

No obstante, los parámetros de fermentación siguen siendo difíciles de controlar en los procedimientos de la técnica anterior y, por ello, la industria debe enfrentarse a una amplia variabilidad en la composición de una partida de granos de cacao transformada. Igualmente, sigue siendo una necesidad en la técnica el controlar adicionalmente los procedimientos de fermentación de los granos de cacao con el fin de obtener granos de cacao altamente aromatizados de buena calidad.

#### Sumario

5

10

20

35

40

45

50

15 La presente invención proporciona una solución a al menos algunos de los problemas anteriormente mencionados.

En particular, la invención proporciona un procedimiento para la transformación de granos de cacao en productos de cacao que tienen una composición, aroma y/o propiedades organolépticas deseadas. En particular la invención proporciona granos de cacao altamente aromatizados mediante un procedimiento más simple, más rápido, más controlable y reproducible, que da como resultado un producto de cacao que tiene una composición controlable y bien definida. Además, el presente procedimiento tiene la ventaja de proporcionar granos de cacao altamente aromatizados que tienen una composición bien definida sin haber sido sometidos dichos granos a una fermentación microbiana. El procedimiento desarrollado por los Solicitantes permite controlar la transformación de los granos de cacao con gran detalle. La capacidad para controlar y dirigir la transformación y el aroma desarrollado en los granos de cacao es de gran importancia económica para la industria del chocolate.

En particular, la presente invención está dirigida a un procedimiento para el pre-tratamiento de granos de cacao no fermentados, con o sin pulpa, con el fin de iniciar y controlar la apertura de la testa y/o inhibir la germinación de al menos parte de dichos granos de cacao, después de lo cual los granos de cacao pre-tratados son posteriormente transformados mediante un procedimiento de bioconversión. De acuerdo con ello, la presente invención proporciona un procedimiento que implica el pre-tratamiento controlado de granos de cacao no fermentados seguido de la transformación controlada mediante bioconversión de dichos granos de cacao pre-tratados. El pre-tratamiento tiene la ventaja importante de normalización del material de partida. Además, los Solicitantes han mostrado de manera sorprendente igualmente que el pre-tratamiento de granos de cacao facilita y acelera la posterior bioconversión de los granos de cacao pre-tratados.

En otras palabras, la presente invención está dirigida a un procedimiento para la transformación (igualmente denominada en la presente invención como bioconversión) de granos de cacao que comprende el pre-tratamiento de dichos granos de cacao con un tratamiento no químico seguido de la transformación (bioconversión) de los granos pre-tratados.

La presente invención proporciona la materia sujeto tal como se establece en una cualquiera y todas de (i) a (xvii) a continuación.

- (i) Procedimiento para la transformación de granos de cacao que comprende las etapas de:
  - i) someter dichos granos de cacao a un pre-tratamiento mecánico y/o a un pre-tratamiento físico, y
  - ii) someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5,

en el que los granos son incubados en la etapa ii) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.

- (ii) Procedimiento tal como se establece en (i) anterior, en el que los granos de cacao tratados en la etapa i) son granos de cacao no fermentados y no despulpados.
- (iii) Procedimiento tal como se establece en (i) o (ii) anteriores, en el que las etapas i) y ii) se realizan bajo condiciones aeróbicas.
- (iv) Procedimiento de acuerdo a tal como se establece en cualquiera de (i) a (iii) anteriores, que comprende la etapa de liberación de polifenoles de dichos granos de cacao a dicho medio dentro de los dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa ii), y/o que comprende la inhibición de la germinación de al menos 80% de dichos granos de cacao dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa i).

5

10

15

20

25

30

35

40

- (v) Procedimiento tal como se establece en cualquiera de (i) a (iv) anteriores, en el que dicho tratamiento mecánico está seleccionado entre el grupo que comprende despulpado, escariado, raspado, fisurado, triturado, prensado, frotado, centrifugado, cortado o perforado de los granos de cacao y cualquier combinación de los mismos, y/o en el que dicho tratamiento físico está seleccionado entre el grupo que comprende un tratamiento térmico, un tratamiento con microondas, un tratamiento bajo condiciones de saturación de agua, un tratamiento de ultrasonidos, un tratamiento de infrarrojos, un tratamiento de láser, un tratamiento a presión y cualquier combinación de los mismos. (vi) Procedimiento tal como se establece en (v) anterior, en el que dicho tratamiento físico comprende: someter dichos granos de cacao a una temperatura inferior a 15°C durante al menos 1 minuto, o someter dichos granos de cacao a una temperatura de más de 100°C durante al menos 1 minuto, o someter dichos granos de cacao a una radiación de microondas de 300 MHz a 300 GHz durante al menos 1 minuto, o exponer dichos granos de cacao a radiación infrarroja de una longitud de onda de entre 750 nm y 1 mm durante al menos 1 minuto. (vii) Procedimiento tal como se establece en una cualquiera de (i) a (vi) anteriores, en el que la etapa ii) comprende las etapas de: a) inmersión de los granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4,0 y 5,5, b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a), c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas, y d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c), opcionalmente comprendiendo además la atapa de secado de los granos de cacao obtenidos en la etapa c) o la etapa d). (viii) Procedimiento tal como se establece en cualquiera de (i) a (vi) anteriores, en el que la etapa ii) comprende las etapas de: a) inmersión de dichos granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que
  - a) inmersión de dichos granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5,
  - b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
  - c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y  $70^{\circ}$ C durante menos de 24 horas,
  - d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),
  - e) inmersión de los granos de cacao de la etapa c) o la etapa d) dentro de un medio ácido acuoso o alcalinización del medio ácido acuoso de la etapa a) hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4,5 y 6,5,
  - f) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa e),
  - g) incubación de los granos de cacao de la etapa e) o de la etapa f) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas,
  - h) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa g), y
  - i) opcionalmente secado de los granos de cacao de la etapa g) o h).
- (ix) Procedimiento tal como se establece en (vii) o (viii) anteriores, en el que dicho medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución que tiene un pH inferior de 5, y/o en el que los granos de cacao están sumergidos en la etapa a) en un medio ácido acuoso de al menos 0,1 molar (M) que contiene ácido acético.
- (x) Procedimiento tal como se establece en (viii) o (ix) anteriores, en el que dicho medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución que tiene un pH inferior de 6,5, y/o en el que los granos de cacao están sumergidos en la etapa e) en un medio ácido acuoso de al menos 0,1 molar (M) que contiene ácido acético.
- (xi) Procedimiento tal como se establece en cualquiera de (vii) a (x) anteriores, en el que la relación cuantitativa de granos de cacao (g de materia seca) al volumen del medio (ml) en las etapas a) y/o e) está entre 1:10 y 10:1.

5

10

15

30

35

40

45

50

- (xii) Procedimiento tal como se establece en cualquiera de (i) a (xi) anteriores, en el que los granos de cacao obtenidos en la etapa b) tienen una cantidad de componentes seleccionados entre el grupo que comprende compuestos de aroma, precursor de aroma, precursores de ésteres, precursores de aminoácidos libres, aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, compuestos alcaloides, azúcares, carbohidratos, y enzimas la cual es al menos 10% superior o al menos 10% inferior que la cantidad en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días.
- (xiii) Granos de cacao obtenibles mediante un procedimiento tal como se establece en una cualquiera de (i) a (xii) anteriores.
- (xiv) Granos de cacao tal como se establece en (xiii) anterior, que no son ya capaces de germinar dos horas después de haber sido sometidos a un tratamiento mecánico y/o físico, y/o en el que dichos granos de cacao son granos de cacao no tostados.
- (xv) Granos de cacao que tienen una cantidad de feniletilamina (PEA) que es superior a 5 ppm, una cantidad de ácido gamma-aminobutírico (GABA) que es superior a 500 ppm, una cantidad de fenilalanina (PHE) que es superior a 2500 ppm, una cantidad de alanina (ALA) que es superior a 1200 ppm, una cantidad de triptófano (TRP) que es superior a 350 ppm, y una cantidad de epicatequina que es superior a 10.000 ppm.
- (xvi) Uso de granos de cacao tal como se establece en cualquiera de (xiii) a (xv) anteriores, para la preparación de productos de cacao seleccionados entre el grupo que comprende cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, manteca de cacao, y pastel de cacao, o para la preparación de productos alimenticios, de preferencia productos de chocolate.
- 20 (xvii) Producto de cacao seleccionado entre el grupo que comprende cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, manteca de cacao, y pastel de cacao, preparado con uno o más granos de cacao tal como se establece en cualquiera de (xiii) a (xv) anteriores, o un producto alimenticio, de preferencia un producto de chocolate, preparado con uno o más granos de cacao tal como se establece en cualquiera de (xiii) a (xv) y/o con uno o más de dichos productos de cacao.
- 25 En consecuencia, la materia sujeto proporcionada por la invención pertenece específicamente a la divulgación, descripción y exposición de la presente invención.

Igualmente, se describe un procedimiento para la transformación de granos de cacao que comprende las etapas de:

- i) someter dichos granos de cacao a un pre-tratamiento mecánico y/o un pre-tratamiento físico, y
- ii) someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5, de preferencia de entre 4,0 y 5,5,

en el que los granos son incubados en la etapa ii) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.

El presente procedimiento de transformación proporciona una alternativa a la fermentación natural de granos de cacao. El presente procedimiento proporciona una inmersión controlada de los granos de cacao en un medio ácido acuoso, para bajar el pH en los granos de cacao a un valor adecuado, seguido de incubación de los granos de cacao acidificados bajo condiciones de temperatura controlada y durante un periodo de tiempo definido, mediante el cual la formación de aroma en los granos de cacao puede controlarse y ajustarse.

El Solicitante ha mostrado de manera sorprendente que aunque la presente invención no implica el uso de fermentación microbiana de los granos de cacao, lo cual se estima que es importante para el desarrollo del aroma en los granos de cacao, el presente procedimiento permite obtener granos de cacao y productos altamente aromatizados.

La presente invención además tiene la importante ventaja de normalización de los granos de cacao obtenidos con la presente invención, facilitando y acelerando la posterior transformación de los granos de cacao, por ejemplo, su aplicación en posterior transformación en alimento.

Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga en la presente invención, en el que los granos de cacao tratados en la etapa i) son granos de cacao no fermentados y no despulpados.

Igualmente, se describe que las etapas i) y ii) del presente procedimiento pueden realizarse bajo condiciones aeróbicas. En otras palabras, el presente procedimiento se realiza bajo atmósfera oxigénica, es decir, en la presencia de oxígeno. De manera inesperada, aunque los primeros días durante un procedimiento de fermentación natural normalmente se llevan a cabo bajo condiciones anaeróbicas, se ha mostrado ahora que mediante la aplicación de un procedimiento de acuerdo con la invención, no es necesario eliminar oxígeno y/o trabajar bajo condiciones anaeróbicas, y que incluso bajo condiciones aeróbicas es posible proporcionar de acuerdo con el presente procedimiento granos de cacao de una buena calidad y aroma, e incluso con altas cantidades de polifenoles tal como epicatequina (véase más adelante). Esto es particularmente sorprendente, puesto que es de esperar que bajo condiciones de oxígeno normales se produciría oxidación, y esto reduciría las cantidades de polifenoles.

Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga en la presente invención, que comprende la liberación de polifenoles a partir de dichos granos de cacao a dicho medio dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa ii).

Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga en la presente invención, que comprende la inhibición de la germinación de al menos 80% de dichos granos de cacao dentro de las dos de someter dichos granos de cacao a la etapa i).

Igualmente, se describe dicho tratamiento mecánico seleccionado entre el grupo que comprende despulpado, escariado, raspado, fisurado, triturado, prensado, frotado, centrifugado, cortado o perforado de los granos de cacao y cualquier combinación de los mismos.

- 10 Igualmente, se describe dicho tratamiento físico seleccionado entre el grupo que comprende un tratamiento térmico, un tratamiento con microondas, un tratamiento bajo condiciones de saturación de agua, un tratamiento de ultrasonidos, un tratamiento de infrarrojos, un tratamiento de láser, un tratamiento a presión y cualquier combinación de los mismos.
- En un ejemplo, dicho tratamiento físico comprende someter dichos granos de cacao a una temperatura inferior a 15°C durante al menos 1 minuto. En otro ejemplo, dicho tratamiento físico comprende someter dichos granos de cacao a una temperatura de más de 100°C durante al menos 1 minuto. En otro ejemplo, dicho tratamiento físico comprende someter dichos granos de cacao a una radiación de microondas de 300 MHz a 300 GHz durante al menos 1 minuto. En otro ejemplo aún, dicho tratamiento físico comprende exponer dichos granos de cacao a radiación infrarroja de una longitud de onda de entre 750 mm y 1 mm durante al menos 1 minuto.
- 20 Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga en la presente invención, en el que la etapa ii) comprende las etapas de:
  - a) inmersión de los granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4.0 y 5.5.
  - b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
  - c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas, y
  - d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),

25

35

40

45

Igualmente, se describe este procedimiento que comprende además la etapa de secado de los granos de cacao obtenidos en la etapa c) o la etapa d).

- Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga en la presente invención, en el que la etapa ii) comprende las etapas de:
  - a) inmersión de dichos granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5,
  - b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
  - c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.
  - d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),
  - e) inmersión de los granos de cacao de la etapa c) o la etapa d) dentro de un medio ácido acuoso o alcalinización del medio ácido acuoso de la etapa a) hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4,5 y 6,5,
  - f) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa e),
  - g) incubación de los granos de cacao de la etapa e) o de la etapa f) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas,
  - h) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa g), y
  - i) opcionalmente secado de los granos de cacao de la etapa g) o h).

De preferencia, el medio ácido acuoso aplicado en la etapa a) de los procedimientos anteriores es una solución que tiene un pH inferior a 5, y de preferencia que tiene un pH inferior a 4 o inferior a 3. En una realización, la invención proporciona un procedimiento en el que los granos de cacao son sumergidos en la etapa a) en un medio ácido acuoso de al menos 0,1 molar (M) que contienen ácido acético.

Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga anteriormente, en el que el medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución que tiene un pH inferior a 6,5, y por ejemplo inferior a 6,0. En otra realización, la invención proporciona un procedimiento en el que los granos de cacao son sumergidos en la etapa e) en un medio ácido acuoso de al menos 0,1 molar (M) que contienen ácido acético. En un ejemplo, el medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución tampón que tiene un pH comprendido entre 5,5 y 6,5 y que contiene ácido acético.

5

10

25

40

45

50

55

Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga anteriormente, en el que la etapa c) comprende la incubación de los granos de cacao durante menos de 20 horas, y por ejemplo menos de 18 horas, menos de 16 horas, o menos de 12 horas. En otra realización, la invención proporciona un procedimiento en el que la etapa c) comprende la incubación de los granos de cacao a una temperatura que es superior a 40°C, y por ejemplo entre 41°C y 45°C.

Igualmente, se describe un procedimiento tal como se divulga anteriormente, en el que la etapa g) comprende la incubación de los granos de cacao durante menos de 16 horas, y por ejemplo menos de 14 horas. Igualmente, en otra realización, la invención proporciona un procedimiento en el que la etapa g) comprende la incubación de los granos de cacao a una temperatura que es inferior a 50°C, y por ejemplo inferior a 45°C.

Mediante la realización de un procedimiento de acuerdo con la invención, pueden obtenerse fácil y rápidamente granos de cacao, es decir, en menos de 48 horas, lo cual es considerablemente más rápido que cuando se aplica un procedimiento de fermentación convencional. Más aún, el presente procedimiento tiene la importante ventaja de proporcionar granos de cacao que son reproducibles. Igualmente, los Solicitantes han mostrado que pueden obtenerse granos de cacao que tienen un sabor y calidad aceptables sin haber sometido los granos de cacao a una fermentación microbiana. Esto es más bien sorprendente, puesto que la fermentación es generalmente aceptada en la técnica como un factor importante en el desarrollo del aroma en los granos de cacao.

Otra ventaja importante del procedimiento de acuerdo con la invención, es que pueden proporcionarse granos de cacao que están menos contaminados con bacterias. Esto tiene la ventaja particular de reducir la necesidad de desbacterizar los granos antes de la transformación posterior de los granos. Esta característica adicional permite además tostar los granos obtenidos bajo condiciones menos severas, por ejemplo, a temperaturas de tostación inferiores y durante tiempos de tostación más cortos, en comparación con granos fermentados convencionalmente. En consecuencia, el presente procedimiento para la transformación de granos de cacao facilita y acelera grandemente la transformación posterior de granos de cacao tal como se define en la presente invención, en productos de cacao tal como se define en la presente invención.

Otro aspecto beneficioso particular del presente procedimiento es que permite proporcionar granos de cacao que tienen niveles elevados de compuestos bioactivos, es decir, compuestos que pueden proporcionar efectos saludables. En particular, se describe también un procedimiento tal como se divulga en la presente invención, en el que los granos de cacao obtenidos en la etapa ii) tienen una cantidad de componentes seleccionados entre el grupo que comprende compuestos de aroma, precursores de aroma, precursores de ésteres, precursores de aminoácidos libres, aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, compuestos alcaloides, azúcares, carbohidratos, y enzimas que es al menos 10% superior o al menos 10% inferior que la cantidad en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de componentes que pueden ajustarse. Mediante la aplicación de un procedimiento de acuerdo con la invención, se obtienen productos de cacao altamente aromatizados que tienen una composición controlable, reproducible y ajustable. En particular, se describe igualmente granos de cacao obtenibles u obtenidos mediante un procedimiento de acuerdo con la invención, que tienen una cantidad de componentes seleccionados entre el grupo que comprende compuestos de aroma, precursores de aroma, precursores de ésteres, precursores de aminoácidos libres, aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, compuestos alcaloides, azúcares, carbohidratos, y enzimas que es al menos 10% superior o al menos 10% inferior que en los granos de cacao fermentados, es decir, granos que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días.

Igualmente, se describen granos de cacao que se han obtenido u obtenibles mediante un procedimiento de acuerdo con la invención.

Igualmente, se describen granos de cacao que no son ya capaces de germinar dos horas, y por ejemplo 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 minutos, después de haber sido sometidos a una tratamiento mecánico y/o físico.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una o más de las características siguientes.

En un ejemplo, los granos de cacao proporcionados de acuerdo con la invención son granos de cacao no tostados.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de teobromina que es superior o inferior a un valor comprendido entre 10.000 y 16.000 µg/g de granos de cacao. La teobromina tiene efectos diuréticos, estimulantes y relajantes.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de feniletilamina (PEA) que es superior o inferior a una cantidad comprendida entre 0,02-1,4 ppm. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de feniletilamina que es superior a 5 ppm. De manera inesperada, la presente invención permite proporcionar granos de cacao que tienen, en condición sin tostar, cantidades particularmente altas de feniletilamina, y en particular superiores a las cantidades a las cantidades encontradas en granos fermentados convencionalmente sin tostar. Las cantidades elevadas de PEA proporcionadas en los presentes granos de cacao permiten además de manera ventajosa tostar los presentes granos a unas temperaturas inferiores y/o durante tiempos de tostación más cortos, puesto que pueden obtenerse previamente altos niveles en granos sin tostar. Más aún, las concentraciones de PEA proporcionadas en los presentes granos de cacao son particularmente beneficiosas, puesto que la PEA es un componente importante de los productos del cacao, que es capaz de influir en el estado de ánimo y asociada con una sensación de satisfacción.

Igualmente, se describen granos de caco que tienen una cantidad de ácido gamma-aminobutírico (GABA) que es superior a 500 ppm. La presente invención permite proporcionar granos de cacao que tienen altas cantidades de GABA y, en particular, cantidades superiores a las encontradas en granos fermentados convencionalmente. Las elevadas concentraciones de GABA proporcionadas en los presentes granos de cacao son particularmente beneficiosas, puesto que el GABA es igualmente un componente importante de los materiales del cacao, que es capaz de influir en el estado de ánimo, reduciendo la ansiedad y el estrés.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen cantidades de aminoácidos, que son superiores a las encontradas en granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de fenilalanina (PHE) que es superior a 2500 ppm. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de alanina (ALA) que es superior a 1200 ppm. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de triptófano (TRP) que es superior a 350 ppm. Los presentes granos de cacao son particularmente beneficiosos, puesto que estos aminoácidos son conocidos por tener efectos antiestrés y que se estima que son capaces de influir en el estado de ánimo.

- 25 Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de polifenoles que es superior o inferior a una cantidad comprendida entre 2,5-4,5% en peso. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen cantidades potenciadas de flavonoides, incluyendo flavanoles tales como, por ejemplo, epicateguina y categuina. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de epicatequina que es superior a 10.000 ppm. Los granos de cacao presentes son particularmente beneficiosos, puesto que los flavonoides en general y la epicatequina en parti-30 cular son conocidos por ser antioxidantes, y para mejorar la salud del corazón. Más aún, de manera sorprendente los Solicitantes han mostrado incluso que mediante la aplicación de un procedimiento para la transformación de granos de cacao de acuerdo con la invención, la cantidad de esta epicatequina flavanol promotora de salud puede preservarse casi completamente, en tanto que, por el contrario, durante una fermentación espontánea se perderán usualmente más del 80% de la misma. Este hallazgo es sorprendente ya que los procedimientos tal como se divulgan en la presente invención se han llevado a cabo bajo condiciones de oxígeno normales, lo cual podría esperarse 35 que causara la oxidación de este compuesto. Sin embargo, los Solicitantes han mostrado ahora que los granos de cacao transformados con un procedimiento tal como se define en la presente invención, son capaces de retener altos niveles de flavonoles, tal como epicatequina, en los granos, al contrario de los granos fermentados, en el que dichos compuestos son generalmente degradados y perdidos.
- Igualmente, se describen granos de cacao obtenidos u obtenibles mediante la realización de los procedimientos de la presente invención y usos de los mismos, por ejemplo, para la preparación de productos de cacao tales como cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, manteca de cacao y pastel de cacao, y/o para la preparación de productos alimenticios, tales como productos de chocolate.
- Igualmente, se describe un producto de cacao seleccionado entre el grupo que comprende cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, manteca de cacao y pastel de cacao, preparado con uno o más granos de cacao de acuerdo con la invención, y usos de los mismos, por ejemplo, para la preparación de productos alimenticios, tales como productos de chocolate.
  - Igualmente, se describe un producto alimenticio, de preferencia un producto de chocolate, preparado con uno o más granos de cacao y/o con uno o más productos de cacao de acuerdo con la invención y a diversos usos de dicho producto alimenticio.

Con el fin de mostrar mejor las características de la invención, a continuación se describen algunas realizaciones y ejemplos preferidos con referencia a los dibujos adjuntos.

# Descripción de las figuras

5

10

15

20

50

55

La Figura 1 muestra la evolución del pH en función del tiempo de granos y líquidos de cacao de un experimento realizado tal como se describe en el Ejemplo 1.

La Figura 2 muestra los resultados de un panel de sabor llevado a cabo en el experimento descrito en el Ejemplo 1.

La Figura 3 muestra la evolución del pH en función del tiempo de granos de cacao de un experimento descrito en el Ejemplo 2.

La Figura 4 ilustra los resultados de un experimento de panel de sabor llevado a cabo sobre muestras de granos de cacao pre-tratados que han sido sometidos a una etapa de inmersión en un medio ácido de acuerdo con un procedimiento de la invención.

La Figura 5 ilustra los resultados de un experimento de panel de sabor llevado a cabo sobre muestras de granos de cacao pre-tratados que han sido sometidos a dos etapas de inmersión en un medio ácido de acuerdo con un procedimiento de la invención.

Las Figuras 6A a 6E ilustran los resultados de análisis analíticos realizados sobre granos de cacao no fermentados, sobre granos de cacao fermentados convencionalmente y sobre granos de cacao pre-tratados que han sido transformados de acuerdo con un procedimiento de la invención.

# Descripción detallada de la invención

# **PROCEDIMIENTO**

5

20

25

30

La presente invención está dirigida a un procedimiento para la transformación de granos de cacao no fermentados.

La presente invención está particularmente dirigida a un procedimiento para el pre-tratamiento de granos de cacao seguido posteriormente por la bioconversión de dichos granos de cacao pre-tratados. De preferencia, dichos granos son granos de cacao no fermentados.

En particular, la presente invención está dirigida a un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao que comprende el pre-tratamiento de dichos granos de cacao con un tratamiento no químico seguido de la bioconversión de los granos pre-tratados. El término pre-tratamiento "no químico" en el presente contexto se usa para indicar que los granos de cacao no han sido sometidos o sumergidos en un medio ácido acuoso (tal como se define en la presente invención) antes de ser bioconvertidos.

Aunque la presente invención se refiere fundamentalmente a la transformación de los granos de cacao de la especies de planta de cacao principal, *Theobroma cacao*, la invención no está limitada únicamente a esta especie e incluye además las subespecies *T. cacao cacao* y *T. cacao sphaerocarpum*. Por ejemplo, muchas variedades de cacaos son híbridos entre diferentes especies; un ejemplo de híbrido de este tipo es la variedad trinitario. De acuerdo con la presente invención, pueden usarse, de acuerdo con ello, los granos de cacao obtenidos a partir de diversas variedades tal como Criollo, Forastero o Trinitario.

El término "granos de cacao" tal como se usa en la presente invención pretende referirse a granos de cacao o semillas de cacao como tales, así como a partes de los mismas, e incluye trocitos de cacao sin cáscara.

Los granos de cacao consisten básicamente de dos partes: una parte exterior que comprende la testa o recubrimiento de la semilla que rodea al grano, y una parte interior que comprende dos cotiledones y el embrión o germen contenido dentro de la testa. En la presente memoria descriptiva, los términos "testa" o "cáscara" o "recubrimiento de la semilla" se usan como sinónimos.

- De acuerdo con el presente procedimiento, los granos de cacao no fermentados, con o sin pulpa, pueden ser pretratados; por ejemplo, con el fin de iniciar la apertura de la testa de al menos parte de dichos granos de cacao. En el presente contexto, el término granos de cacao "no fermentados" tal como se usa en la presente invención, está destinado a referirse a granos de cacao que han sido liberados de las vainas de cacao y que no han germinado aún.
- Por el contrario, el término "granos de cacao fermentados" pretende incluir granos de cacao que han experimentado un procedimiento de fermentación convencional, es decir, mientras están rodeados por su pulpa. En particular, "granos de cacao fermentados" tal como se usa en la presente invención, se refiere a granos de cacao que han sido fermentados durante al menos dos días. En consecuencia, el término "fermentación" se refiere a un procedimiento de fermentación de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica anterior durante una duración de al menos dos días.
- 45 En una realización, los granos de cacao usados como material de partida en el presente procedimiento son granos de cacao "no despulpados", en otras palabras, granos que no han sido liberados de su pulpa. En consecuencia, los granos de cacao usados como material de partida pueden ser granos de cacao tal como se presentan después de la eliminación de las vainas.
- En otra realización, los granos de cacao usados como material de partida en el presente procedimiento son granos de cacao "despulpados". El término granos de cacao "despulpados" se refiere a granos de cacao que han sido esencialmente liberados de su pulpa. De preferencia, "esencialmente liberados" se refiere a la eliminación de los granos de cacao de más del 60%, de preferencia más del 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, o 99% en peso de pulpa en base al peso combinado total original de granos y pulpa.

El término "bioconvertido" o "bioconversión" tal como se usa en la presente invención, se refiere al tratamiento de granos de cacao como una alternativa a una fermentación natural de granos de cacao. La bioconversión implica la inmersión(es) controlada de granos de cacao en al menos un medio ácido acuoso, para alterar el pH en los granos de cacao, de preferencia bajo condiciones de temperatura controlada. Los términos "bioconversión" y "transformación" pueden usarse en la presente invención como sinónimos.

5

50

55

El término medio ácido acuoso en el contexto de la presente invención pretende referirse a un medio acuoso que tiene un pH inferior a 7, inferior a 5, inferior a 4, inferior a 3, y por ejemplo a pH de s,6; 3,0; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; ó 6.5.

En particular, la invención proporciona un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao, en el que la etapa i) de pre-tratamiento de granos de cacao tal como se elaborarán más adelante, está seguida por la etapa ii) de someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso, y simultáneamente o posteriormente la incubación de dichos granos tratados con ácido a una temperatura de entre 25 y 70°C, de preferencia durante menos de 24 horas.

El pre-tratamiento de granos de cacao de acuerdo con la presente invención, tiene el efecto de iniciar la apertura de la testa de los granos de cacao. El término "apertura de la testa" tal como se usa en la presente invención, se refiere tanto al deterioro de las testas de granos de cacao, por ejemplo, para obtener testas que muestren fisuras o roturas, como también a una separación parcial o completa de las testas procedentes de granos de cacao. En algunos casos, puede ser deseable separar completamente las testas de los granos de cacao. Sin embargo, existe igualmente evidencia de mejora del aroma si las testas son simplemente rotas o deterioradas a fin de proporcionar una superficie de exposición del trocito de cacao sin cáscara. La "iniciación" de la apertura de las testas se pretende que coincida con el comienzo del pre-tratamiento aplicado sobre los granos de cacao para obtener la apertura de las testas.

En otra realización preferida, la presente invención, en consecuencia, proporciona un procedimiento en el que el pretratamiento implica la apertura de las testas de al menos el 50% y de preferencia de al menos el 60, 70, 80 ó 90% de los granos de cacao pre-tratados.

- La apertura de las testas puede medirse por vías diferentes. Una vía consiste en la medición de un cambio en el pH en los granos de cacao. Esto puede llevarse a cabo recogiendo granos de cacao, produciendo trocitos de cacao sin cáscara, poniendo dichos trocitos de cacao sin cáscara en agua e hirviendo el agua que contiene los granos durante 3, de preferencia más de 5 minutos a 100°C. A continuación, el agua que contiene los trocitos de cacao sin cáscara se filtra y se mide el pH del filtrado.
- Otra vía consiste en llevar a cabo mediciones de difusión. Por ejemplo, puede medirse la cantidad (% en peso o ppm) de componentes tales como, por ejemplo, polifenoles que han sido lixiviados de los granos de cacao durante un cierto período de tiempo. Esto puede realizarse colocando un cierto número X de granos de cacao pre-tratados durante Y minutos en Z litros de agua u otro disolvente a una cierta temperatura T (°C). Los Solicitantes indican que cuando pueden detectarse polifenoles en el medio que rodea a los granos, se ha iniciado la apertura de las testas.
- En otra realización, el pre-tratamiento de granos de cacao de acuerdo con la presente invención tiene el efecto de inhibir la germinación de los granos de cacao. Tal como es bien sabido en la técnica, la germinación es el desarrollo de una planta embriónica contenida dentro de una semilla, dando como resultado la formación de plántulas. El término "germinación de granos de cacao (semillas de cacao)" tal como se usa en la presente invención, se refiere a la germinación de una plántula de cacao a partir de una semilla de cacao. La "inhibición" de la germinación tal como se usa en la presente solicitud, pretende referirse al efecto de evitar que se inicie la germinación de las semillas de cacao pero, igualmente, al efecto de terminación (interrupción) de la germinación de las semillas de cacao si la germinación ha comenzado ya. La "iniciación" de la inhibición de la germinación en este contexto, pretende coincidir con el inicio del pre-tratamiento aplicado sobre los granos de cacao.
- En otra realización preferida, la presente invención, en consecuencia, proporciona un procedimiento en el que el pretratamiento implica la inhibición de al menos el 80% de dichos granos de cacao, y de preferencia, de al menos el 85, 90, 95% o incluso hasta el 100% de los granos de cacao dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao al pre-tratamiento y en consecuencia dentro de las dos horas de iniciar el pre-tratamiento.

La inhibición de la germinación puede medirse mediante la determinación de una proporción de germinación a través de un ensayo de germinación. La proporción de germinación es el número de semillas de cacao que germinan bajo condiciones apropiadas, y en particular, que germinan cuando se desarrollan las semillas de cacao sobre la tierra o algodón durante 7 días a 25-31°C bajo condiciones saturadas de humedad. La proporción de germinación se expresa como un porcentaje, por ejemplo, una proporción de germinación del 15% indica que aproximadamente germinan 15 de cada 100 semillas.

El presente procedimiento para la transformación de granos de cacao comprende las etapas de:

i) someter dichos granos de cacao a un tratamiento mecánico y/o a un tratamiento físico, y

(ii) someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5,

en el que los granos son incubados en la etapa ii) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.

De preferencia, las etapas i) a ii) de dicho procedimiento se realizan bajo condiciones aeróbicas.

En una realización, los granos aplicados en la etapa i) son granos no fermentados. En otra, los granos aplicados en la etapa i) pueden ser granos de cacao despulpados o no despulpados. De preferencia, los granos aplicados en la etapa i) son granos de cacao no fermentados y no despulpados.

La evolución del pH en los granos de cacao puede seguirse midiendo el pH interno de los granos de cacao a intervalos regulares, tal como se explica más adelante.

- 10 En una realización particular, la presente invención está dirigida a un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao que comprende las etapas de:
  - i) apertura de las testas de dichos granos de cacao mediante el pre-tratamiento de dichos granos de cacao por medio de un tratamiento no químico y, por ejemplo, mediante un tratamiento mecánico y/o un tratamiento físico, y
  - ii) someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso seguido de incubación de los granos de cacao a una temperatura de entre 25 y 70°C, de preferencia durante menos de menos de 24 horas.

En otra realización particular, la presente invención está dirigida a un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao que comprende las etapas de:

- i) inhibición de la germinación de dichos granos de cacao mediante el pre-tratamiento de dichos granos de cacao por medio de un tratamiento no químico y, por ejemplo, mediante un tratamiento mecánico y/o un tratamiento físico, y
- ii) someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso seguido de incubación de los granos de cacao a una temperatura de entre 25 y 70°C, de preferencia durante menos de menos de 24 horas.

De acuerdo con ello, la invención proporciona un procedimiento en el que los granos de cacao son pre-tratados de manera tal que dentro de las dos horas posteriores a someter dichos granos de cacao a la etapa ii) se libera cantidad detectable de polifenoles a partir de dichos granos en el medio que les rodea. Igualmente, la invención se refiere a un procedimiento para el pre-tratamiento de granos de cacao, recién recolectados, no fermentados, en el que al menos parte de los granos de cacao pre-tratados no son capaces ya de germinar, y en el que dentro de las dos horas de dicho pre-tratamiento al menos el 80% de los granos de cacao no pueden ya germinar.

# **Pre-tratamientos**

15

20

25

30

35

50

Los granos de cacao de acuerdo con la invención son sometidos a un pre-tratamiento antes de ser sumergidos en al menos un medio ácido. De acuerdo con la presente invención, pueden aplicarse varios pre-tratamientos y combinaciones de los mismos.

En una realización preferida, dicho tratamiento mecánico está seleccionado entre el grupo que comprende despulpado, escariado, raspado, fisurado, triturado, prensado, frotado, centrifugado, cortado o perforado de los granos de cacao y cualquier combinación de los mismos.

En otra realización preferida, dicho tratamiento físico está seleccionado entre el grupo que comprende un tratamiento to térmico, un tratamiento con microondas, un tratamiento bajo condiciones de saturación de agua, un tratamiento de ultrasonidos, un tratamiento de infrarrojos, un tratamiento de láser, un tratamiento a presión y cualquier combinación de los mismos.

En un ejemplo, dicho tratamiento físico comprende someter dichos granos de cacao durante al menos 1 minuto a una temperatura inferior a 15°C o inferior a 10°C o inferior a 0°C.

45 En otro ejemplo, dicho tratamiento físico comprende someter dichos granos de cacao a una temperatura de más de 100°C durante al menos 1 minuto.

En otro ejemplo, dicho tratamiento físico comprende someter dichos granos de cacao a una radiación de microondas a un campo substancialmente homogéneo de 300 MHz a 300 GHz durante al menos 1 minuto.

En otro ejemplo aún, dicho tratamiento físico comprende exponer dichos granos de cacao a radiación infrarroja de una longitud de onda de entre 750 nm y 1 mm durante al menos 1 minuto.

Los Solicitantes han mostrado que sometiendo los granos de cacao a un pre-tratamiento se facilita grandemente la retención por los granos de cacao del medio ácido acuoso aplicado en la etapa ii) del procedimiento anterior, por ejemplo, se acelera la difusión de ácidos en los granos de cacao, y como una consecuencia de ello, se mejora y acelera la conversión de metabolitos en los granos. Además, puede reducirse la concentración de ácido usada para tratar los granos de cacao, y/o el lavado de los granos de cacao después del tratamiento ácido, si es que se realiza, se facilita grandemente, por ejemplo, se requiere menos lavado o en el caso de lavado se necesita percollar menos agua a través de los granos de cacao bioconvertidos.

Además, el presente procedimiento permite normalizar (regular, controlar) el tiempo de comienzo para el procedimiento de bioconversión, y de este modo, regular el procedimiento de bioconversión, y para dirigir e influir en el desarrollo del sabor en los granos. La regulación del sabor llega a hacerse posible, es decir, puede influirse o seleccionarse el desarrollo de ciertos aromas (por ejemplo, afrutado), lo cual da como resultado un sabor más homogéneo. Esto facilita y mejora (rapidez) el tratamiento posterior de los granos de cacao, por ejemplo, reduciendo el tiempo de mezclado y disminuyendo la necesidad de amasado del cacao.

10

20

35

40

45

50

55

En otra realización, la invención proporciona un procedimiento que comprende la etapa de liberación de polifenoles a partir de dichos granos de cacao a dicho medio dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa ii).

En particular, el presente procedimiento permite liberar una cantidad detectable de polifenoles a partir de dichos granos de cacao a dicho medio dentro de las dos horas de someter dichos granos ce cacao a la etapa ii). El término "cantidad detectable" en el contexto de la presente invención, se usa para referirse a aquella cantidad que puede detectarse de manera significativa cuando se usa equipo de detección apropiado, tal como, por ejemplo, equipo para la realización de análisis de HPLC o RHPLC. Dicha cantidad detectable puede ser determinada y medida por una persona experta en la técnica. En un ejemplo, por ejemplo, el procedimiento permite liberar al menos 0,01 mg/g (al menos 10 ppm) de polifenoles a partir de dichos granos de cacao dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa ii).

El pre-tratamiento controlado seguido de bioconversión controlada además, da como resultado efectos beneficiosos sobre el desarrollo del aroma del cacao. Los pre-tratamientos anteriormente indicados tienen el efecto beneficioso de abrir la testa de una cantidad predominante de granos de cacao tratados, pero de manera sorprendente, no tiene un efecto negativo sobre la bioconversión, y sobre la producción y desarrollo del aroma en los granos de cacao pre-tratados. En consecuencia, el presente procedimiento permite también la formación de aroma excelente en los granos de cacao y permite obtener productos de cacao altamente aromatizados que tienen propiedades organolépticas excelentes.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de polifenoles dos horas después de haber sido sometidos a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso seguido de la incubación de los granos de cacao a una temperatura de entre 25 y 70°C, que es inferior a la cantidad total de polifenoles antes de ser sometidos a dicho tratamiento. En una realización preferida, los granos de cacao tienen una cantidad de polifenoles dos horas después de haber sido sometidos a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso seguido de incubación de los granos de cacao a una temperatura de entre 25 y 70°C, que es significativamente inferior a la cantidad total de polifenoles antes de ser sometidos a dicho tratamiento. El término "significativamente inferior" tal como se usa en el contexto de la presente invención, pretende referirse a aquella cantidad que difiere significativamente de la cantidad detectada para los granos de cacao antes de haber sido sometidos a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso. Dicha cantidad detectable puede ser determinada y medida por una persona experta en la técnica cuando se usa equipo de detección apropiado, tal como, por ejemplo, equipo para realizar análisis de HPLC o RHPLC.

En otra realización, la invención proporciona un procedimiento que comprende la inhibición de la germinación de al menos el 80%, y de preferencia al menos el 85%, 90%, 95%, e incluso hasta el 100% de dichos granos de cacao dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa i).

En consecuencia, la presente invención proporciona procedimientos que implican el pre-tratamiento controlado de granos de cacao no fermentados seguido de la transformación controlada por bioconversión, de dichos granos de cacao pre-tratados. El pre-tratamiento tiene la ventaja importante de la normalización del material de partida. Además, los Solicitantes han mostrado igualmente de manera sorprendente que el pre-tratamiento de granos de cacao facilita y acelera la bioconversión de los granos de cacao pre-tratados.

Igualmente, los Solicitantes han mostrado que sometiendo los granos de cacao a un pre-tratamiento tal como se describe en la presente invención, una parte predominante de los granos de cacao tratados pierden la capacidad para germinar. Sin embargo, de manera sorprendente, esta pérdida de capacidad de germinación no tiene efecto significativo sobre la capacidad de los granos de cacao para desarrollar actividades enzimáticas y/o desarrollar una conversión del aroma y otros metabolitos sobre los granos. En consecuencia, de manera sorprendente, los Solicitantes han mostrado que una pérdida de la capacidad de germinación no afecta de manera significativa al desarrollo de buenas características de aroma en los granos de cacao. Por el contrario, los Solicitantes han demostrado que un pre-tratamiento controlado seguido de bioconversión controlada da como resultado efectos beneficiosos sobre el desarrollo de aroma del cacao. El pre-tratamiento de los granos de cacao tal como se define en la presente inven-

ción, mejora de manera significativa la conversión de metabolitos y precursores en los granos de cacao, mejora la formación de compuestos de aroma, por ejemplo, compuestos de ésteres y precursores de ésteres, precursores de aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, etc. En consecuencia, el presente procedimiento permite igualmente una excelente formación de aroma en los granos de cacao y permite obtener productos de cacao altamente aromatizados que tienen excelentes propiedades organolépticas. De manera inesperada, la inhibición de la germinación de los granos de cacao permite detener el consumo de fuente de energía interna y mantener los granos de cacao en un estado específico hasta el comienzo de un procedimiento de conversión posterior.

En particular, la invención proporciona un procedimiento en el que los granos de cacao bioconvertidos tienen una cantidad de componentes seleccionados entre el grupo que comprende compuestos de aroma, precursores de aroma, precursores de ésteres, precursores de aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, compuestos alcaloides, azúcares, carbohidratos, y enzimas la cual es al menos 10% superior o al menos 10% inferior que la cantidad en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días.

# **Bioconversión**

5

10

20

30

35

40

45

- Después del pre-tratamiento, los granos de cacao son bioconvertidos. En una realización opcional, los granos de cacao pre-tratados son primeramente lavados después del pre-tratamiento antes de ser sometidos al procedimiento de bioconversión. Básicamente, se proporcionan tres realizaciones diferentes de procedimientos para la bioconversión de granos de cacao de acuerdo con la presente invención; en particular:
  - un procedimiento que comprende una etapa de inmersión de los granos de cacao pre-tratados en un medio ácido acuoso;
  - un procedimiento que comprende dos etapas de inmersión de los granos de cacao en un medio ácido acuoso, y
  - un procedimiento que comprende una etapa de inmersión de los granos de cacao pre-tratados en un medio ácido acuoso y una etapa de alcalinización del medio ácido acuoso usado en una etapa previa.
- 25 Estas realizaciones se elaborarán en la presente invención más adelante.

En una primera realización, se proporciona un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao, en el que los granos de cacao son sometidos en la etapa i) a un pre-tratamiento por medio de un tratamiento mecánico y/o un tratamiento físico tal como se han definido anteriormente y, en la etapa ii) los granos de cacao pre-tratados son tratados mediante las etapas de:

- a) inmersión de los granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4,0 y 5,5,
- b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
- c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas, y
- d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),

La realización anterior del procedimiento puede comprender además la atapa de secado de los granos de cacao obtenidos en la etapa c) o la etapa d).

En la etapa de inmersión del procedimiento de bioconversión, la inmersión de los granos de cacao se ejecuta hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 4,0 y 5,5, y por ejemplo un valor de pH de entre 4,8 y 5,5 o entre 5,0 y 5,5.

En una segunda realización, se proporciona un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao, en el que los granos de cacao son sometidos en la etapa i) a un pre-tratamiento por medio de un tratamiento mecánico y/o un tratamiento físico tal como se han definido anteriormente y, en la etapa ii) los granos de cacao pre-tratados son tratados mediante las etapas de:

- a) inmersión dichos granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 3,6 y 5,5,
- b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
- c) incubación de los granos de cacao de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.
- d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),

- e) inmersión de los granos de cacao de la etapa d) dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 4,5 y 6,5,
- f) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa e),
- g) incubación de los granos de cacao de la etapa f) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas,
- h) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa g), y
- i) opcionalmente secado de los granos de cacao de la etapa h).

5

10

15

25

30

35

40

45

En una primera etapa de inmersión de este procedimiento (etapa a), la inmersión de los granos de cacao se ejecuta hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 3,6 y 5,5. En una realización preferida, dicha etapa comprende la inmersión de los granos de cacao dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de pH inferior a 5,5 y por ejemplo un pH de entre 3,8 y 5,0 o entre 4,0 y 4,8.

En una segunda etapa de inmersión de este procedimiento (etapa e), la inmersión de los granos de cacao se ejecuta hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 4,5 y 6,5. En una realización preferida, la presente etapa comprende la inmersión de los granos de cacao dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de pH inferior a 6,0 y por ejemplo un pH de entre 4,8 y 5,8 o entre 5,0 y 5,5 o entr

Opcionalmente, después de la primera incubación los granos de cacao no se lavan con agua, sino que se sumergen directamente dentro de dicho segundo medio ácido acuoso hasta que el pH de los granos de cacao alcanza un valor de entre 4,5 y 6,5. Esto dará como resultado al menos la eliminación parcial del ácido de los granos.

20 En una tercera realización aún, se proporciona un procedimiento para la bioconversión de granos de cacao, en el que los granos de cacao son sometidos en la etapa i) a un pre-tratamiento por medio de un tratamiento mecánico y/o un tratamiento físico tal como se han definido anteriormente, y, en la etapa ii) los granos de cacao pre-tratados son tratados mediante las etapas de:

- a) inmersión dichos granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 3,6 y 5,5,
- b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
- c) incubación de los granos de cacao de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas,
- d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),
- e) alcalinización del medio ácido acuoso de la etapa a) hasta que el pH de dichos granos de cacao alcanza un valor de entre 4,5 y 6,5,
- f) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa e),
- g) incubación de los granos de cacao de la etapa f) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas,
- h) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa g), y
- i) opcionalmente secado de los granos de cacao de la etapa h).

De acuerdo con ello, en esta tercera realización del presente procedimiento para la transformación de los granos de cacao, la etapa e) implica la etapa de alcalinización del medio ácido acuoso de la etapa a) hasta que el pH de los granos de cacao alcanza un valor de entre 4,5 y 6,5. La alcalinización del medio ácido acuso en la etapa e) puede realizarse, por ejemplo, agregando una base o una solución básica al medio ácido de la etapa a), por ejemplo, una solución de NaOH. Esto se ilustra adicionalmente en el Ejemplo 3.

Las características siguientes son de aplicación para cualquiera de los procedimientos de bioconversión divulgados anteriores.

De acuerdo con cualquiera de los procedimientos para la bioconversión explicados anteriormente, los granos de cacao aplicados en la etapa a) de los procedimientos anteriores puede usarse justamente tal como tiene lugar después del pre-tratamiento o pueden en primer ligar secarse.

Si se usan granos de cacao secos, dichos granos pueden tratarse con agua antes del tratamiento posterior. Para ello, los granos de cacao secos son incubados en agua a una temperatura no superior a 70°C, de preferencia 55°C o

menor, particularmente 45°C o menor, por ejemplo, 40°C, hasta que el contenido en agua original, por ejemplo, aproximadamente 30 a 35% en peso, ha sido esencialmente restaurado.

Como alternativa, si se usan granos de cacao secos, estos pueden sumergirse inmediatamente dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor adecuado, tal como se ha indicado anteriormente en la etapa a) de los procedimientos anteriores.

5

35

40

45

Los diferentes procedimientos de bioconversión explicados anteriormente comprenden la inmersión de los granos de cacao en la etapa a) de los procedimientos y en la etapa e) del segundo procedimiento dentro de un medio ácido acuoso a una temperatura superior a 30°C y, de preferencia, superior a 35°C y, por ejemplo, entre 40 y 65°C.

La duración de la etapa a) de los diferentes procedimientos y de la etapa e) del segundo o tercer procedimiento debería ser suficientemente larga como para lograr una penetración casi completa del ácido de los granos de cacao. En otra realización, el procedimiento comprende, en consecuencia, la inmersión de los granos de cacao dentro de un medio ácido acuoso durante un período de tiempo menor de 40 horas, y por ejemplo, menor de 35, 30, 25, 20, 15 horas.

Un medio ácido acuoso usado en el presente procedimiento es un medio que tiene un pH inferior a 7, de preferencia inferior a 5, más preferentemente inferior a 3. Dicho medio ácido acuoso puede comprender bien ácidos inorgánicos o bien orgánicos, con preferencia ácidos anfifílicos. Cuando se seleccionan los ácidos, debería tenerse en mente que no deberían deteriorar el aroma de los granos de cacao, sino penetrar realmente dentro de los granos de cacao. Los ácidos monocarboxílicos alifáticos de cadena corta han demostrado ser especialmente adecuados. El ácido o sistemas de tampón ácido que pueden usarse incluyen ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido clorhídrico, ácido fosfórico. Se lograron resultados particularmente buenos usando, por ejemplo, ácido acético. Se da por supuesto que el ácido acético es especialmente adecuado ya que, debido a sus propiedades hidrófobas, puede penetrar los componentes altamente grasos en los granos de cacao y ocupar las membranas biológicas cuando la concentración es suficiente.

Con el fin de acelerar el cambio de pH en los granos de cacao mediante la inmersión en dicha solución ácida, son importantes tanto la concentración de ácido en el medio como la relación cuantitativa de ácido en el medio a granos de cacao. La concentración de ácido en el medio no debería caer de manera crítica durante la absorción del ácido dentro de los granos de cacao, y los granos de cacao individuales deberían estar en libre contacto con el medio. A tal fin, se usa de preferencia una solución ácida al menos 0,1 molar (M) como un medio, y el uso de una solución de ácido 0,2 a 0,6 M es preferentemente adecuada. La relación cuantitativa de granos de cacao (g de materia seca) al volumen de medio (ml) debería estar comprendida de manera ventajosa entre 10:1 a 1:10, o entre 1:5 y 5:1, y por ejemplo ser 1:4, 1:3, 1.2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1. Opcionalmente, la absorción de ácido de los granos de cacao puede promoverse mediante el pre-secado ligero de granos individuales, o mediante el mezclado de los granos de cacao y/o el medio.

De preferencia, el medio ácido acuoso aplicado en la etapa a) de los procedimientos anteriores es una solución que tiene un pH inferior a 5, y de preferencia que tiene un pH inferior a 4 o inferior a 3. En una realización preferida, se proporciona un procedimiento en el que dicho medio ácido acuoso aplicado en la etapa a) de los presentes procedimientos es una solución de ácido acético. De acuerdo con ello, se proporciona un procedimiento en el que dicho medio ácido acuoso aplicado en la etapa a) es o contiene una solución de ácido acético. Durante los procedimientos de fermentación natural, usualmente se observará en la pulpa del cacao primeramente una descomposición del ácido cítrico, después de lo cual usualmente se observa la producción de ácidos orgánicos, incluyendo ácido acético. A pesar de lo expuesto, los Solicitantes han mostrado ahora de manera inesperada que incluso cuando se usa ácido acético, lo cual de hecho refleja la fase posterior de un procedimiento de fermentación natural, durante una primera fase del presente procedimiento, pueden obtenerse granos de cacao con una buena calidad y aroma. En consecuencia, de manera sorprendente, y contrariamente a lo preceptuado en la técnica anterior, la aplicación del ácido acético durante la (primera) etapa de inmersión del presente procedimiento, es adecuada para obtener granos de cacao con una buena calidad y aroma.

En otra realización, el medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución que tiene un pH inferior a 6,5, y por ejemplo inferior a 6,0. En una realización preferida, el medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución tampón que tiene un pH comprendido entre 5,5 y 6,5 y que contiene ácido acético.

Después de la inmersión de los granos de cacao dentro de un medio ácido acuso hasta que el pH de los granos de cacao alcanza un valor adecuado en la etapa a) de los tres procedimientos y/o en la etapa e) del segundo o tercer procedimiento, los granos que tienen el valor de pH interno tal como se ha indicado, son incubados a una temperatura de entre 25 y 70°C y, por ejemplo, de entre 30 y 65°C o entre 40 y 55°C, y de preferencia durante menos de 24 horas, y por ejemplo durante 3, 5, 8, 10, 12, 15, 18, 20, 22 horas. Durante estas etapas de incubación, se producen las conversiones enzimáticas dentro de los granos, mediante las cuales son estimuladas de manera eficaz la formación de precursores de aroma o de compuestos de aroma.

Por ejemplo, en un ejemplo, la invención proporciona un procedimiento en el que la etapa c) comprende la incubación de los granos de cacao durante menos de 20 horas, y por ejemplo durante menos de 18 horas, menos de 16

horas, o menos de 12 horas. En otra realización, la invención proporciona un procedimiento en el que la etapa c) comprende la incubación de los granos de cacao a una temperatura que es superior a 40°C, y por ejemplo entre 41°C y 45°C.

En otra realización aún, la invención proporciona un procedimiento en el que la etapa g) comprende la incubación de los granos de cacao durante menos de 16 horas, y por ejemplo durante menos de 14 horas. Igualmente, en otra realización, la invención proporciona un procedimiento en el que la etapa g) comprende la incubación de los granos de cacao a una temperatura que es inferior a 50°C, y por ejemplo inferior a 45°C.

Opcionalmente, en una realización adicional, el medio ácido acuoso usado en la etapa de inmersión se separa antes de la incubación de dichos granos de cacao bajo las condiciones anteriormente indicadas.

En otra realización opcional, los granos de cacao son incubados durante su inmersión dentro de los medios indicados, después los medios son retirados y, después de ello, los granos pueden ser incubados adicionalmente bajo las condiciones anteriormente indicadas. En un ejemplo, los granos son incubados en los medios de inmersión a una temperatura de entre 25 y 50°C y durante menos de 10 horas, y por ejemplo a una temperatura de entre 30 y 45°C durante 2 a 4 horas. Después de esto, los medios son separados y los granos pueden ser incubados adicionalmente bajo las condiciones anteriormente indicadas.

En otra realización aún, después de haber sido incubado, puede reducirse el ácido difundido dentro de los granos de cacao y la concentración del ácido. A continuación, el ácido puede separarse de los granos de cacao por varias vías. Por ejemplo, para este fin, los granos de cacao pueden lavarse con agua después de incubación. Esto puede realizarse mediante la inmersión de los granos de cacao en agua, dentro de la cual el ácido se difunde desde los granos de cacao. El agua se cambia muchas veces a fin de mantener la concentración de ácido baja. Como alternativa, se percola agua pura a través de la partida de granos de cacao.

Como alternativa, después de la primera incubación, los granos de cacao no se lavan con agua sino que son sumergidos directamente dentro de dicho segundo medio ácido acuoso hasta que el pH de los granos alcanza un valor de entre 4,5 y 6,5. Esto da lugar igualmente a una separación al menos parcial del ácido de los granos.

Después de la primera y segunda etapas de incubación, el ácido puede separarse de los granos de cacao de preferencia dentro de menos de 24 horas.

De acuerdo con otra realización, los granos de cacao que han sido bioconvertidos de acuerdo con los procedimientos tal como se han divulgado anteriormente pueden secarse o no. Si se secan, de preferincia dicho secado se realiza mediante técnicas de secado convencionales tales como, por ejemplo, sol, microondas, aire caliente, comúnmente conocidas en la técnica. De preferencia, en dichos casos los granos de cacao se secan hasta un contenido en humedad inferior al 10%, especialmente hasta alcanzar un contenido en humedad de 9.8, 7, 6, 6 5%.

# GRANOS DE CACAO Y PRODUCTOS DE CACAO

En otro aspecto aún, la invención se refiere a granos de cacao que se han obtenido u obtenibles mediante la realización de un procedimiento de acuerdo con la invención.

- La invención proporciona un procedimiento en el que los granos de cacao bioconvertidos tienen una cantidad de componentes seleccionados entre el grupo que comprende compuestos de aroma, precursor de aroma, precursores de ésteres, aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, compuestos alcaloides, azúcares, carbohidratos, y enzimas que es al menos 10% superior o al menos 10% inferior que la cantidad en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días.
- 40 El término "procedimiento de fermentación convencional" tal como se usa en la presente invención, se refiere a un procedimiento de fermentación de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica y durante una duración de al menos dos días, y no implica un pre-tratamiento de los granos de cacao tal como se define en la presente invención.

Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de uno o más componentes seleccionados entre el grupo que comprende:

- compuestos de aroma, tales como alcoholes y ésteres de azúcares;
- precursores de aroma, tales como azúcares reducidos, pirazinas, aminoácidos, péptidos;
- compuestos tales como ácido gamma-aminobutírico (GABA) o feniletilamina (PEA);
- aminoácidos libres tales como fenilalanina, tirosina, alanina, triptófano;
- moléculas bioactivas aromáticas tales como polifenoles, linalol, anandamina, cicloartenol;
- compuestos alcaloides tales como teobromina, cafeína;

45

20

- polifenoles tales como epicatequina, catequina;
- azúcares tales como sacarosa, fructosa, sacárido;
- enzimas tales como proteasas;

5

10

15

30

35

40

50

- enzimas de conversión de azúcares, tal como invertasa; y
- enzimas de conversión de carbohidratos, tal como amilasa;

cuya cantidad es particularmente superior o inferior que en los granos de cacao fermentados, y de preferencia al menos 10, 15, 20, 25% superior o al menos 10, 15, 20, 25% inferior que en los granos de cacao fermentados.

La expresión "granos de cacao fermentados" en el contexto de la presente invención, se refiere a granos de cacao que han experimentado un procedimiento de fermentación convencional, es decir, mientras estaban rodeados por su pulpa. En particular, "granos de cacao fermentados" tal como se usa en la presente invención, se refiere a granos de cacao que han sido fermentados durante al menos dos días.

En consecuencia, los granos de cacao divulgados en la presente invención son ricos o están desprovistos de ingredientes tales como compuestos de aroma y precursor de aroma, precursores de ésteres, aminoácido libres, y moléculas bioactivas aromáticas tales como polifenoles, linalool, anandamida, cicloartenol y compuestos alcaloides tales como cafeína, teobromina, y azúcares tales como sacarosa, fructosa y carbohidrato tal como almidón.

Además, la invención se refiere a granos de cacao que tienen una cantidad ajustable de componentes tales como los enumerados anteriormente. El término "cantidad ajustable" tal como se usa en la presente invención, pretende referirse a la posibilidad, cuando se realiza el presente procedimiento, para obtener una cantidad bien definida, es decir, concentración o cantidad, de componentes en dichos granos de cacao.

Los granos de cacao de acuerdo con la invención tienen composición, aroma y/o propiedades organolépticas bien definidas y controlables, y en particular son productos de cacao altamente aromatizados. El aroma de cacao puede clasificarse de acuerdo con las categorías siguientes: aroma de cacao, ácido/acre, astringente, amargo, crudo/verde, fragante/floral, fruto pardo, agrio tardío y sabor espeso. Las puntuaciones para granos de cacao de acuerdo con la invención pueden evaluarse en base a un sistema de puntos y una alta puntuación en una categoría indica una fuerte intensidad para un aroma particular.

Igualmente, se describe granos de cacao, en particular granos de cacao no tostados, que tiene uno o más de las características siguientes.

Se describe granos de cacao que tienen una cantidad de aminoácidos libres (FAA) seleccionados entre el grupo que comprende alanina, fenilalanina, triptófano, leucina, y valina, y de preferencia seleccionados entre el grupo que comprende alanina, fenilalanina y triptófano, la cual es al menos 10% superior que en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación de al menos dos días. El término "libre" en el contexto de la presente invención, se refiere a aminoácidos que no están covalentemente unidos a otro resto.

Igualmente, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de fenilalanina que es superior a 2500 ppm, y por ejemplo superior a 3000 ppm o superior a 3500 ppm. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de alanina que es superior a 1200 ppm, y por ejemplo superior a 2200 ppm, y por ejemplo superior a 2400 ppm o superior a 3000 ppm. Igualmente, se describen granos de cacao que tienen una cantidad de triptófano que es superior a 350 ppm, y de preferencia superior a 500 ppm o superior a 900 ppm.

Igualmente, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de aminoácidos descarboxilados tales como feniletilamina (PEA) (es decir, fenilalanina descarboxilada) y/o ácido gamma-aminobutírico (GABA) (es decir, ácido glutámico descarboxilado), que es al menos 10% superior que en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación de al menos dos días.

Igualmente, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de feniletilamina que es superior o inferior, y de preferencia superior, a una cantidad comprendida entre 0,02-1,4 ppm. Igualmente, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de feniletilamina que es superior a 5 ppm, y por ejemplo superior a 10, 15, 20, 25, ó 30 ppm.

45 Igualmente, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de ácido gamma-aminobutírico que es superior a 500 ppm, y por ejemplo superior a 1000, o superior a 1500 ppm.

Igualmente, se describe granos de cacao que tienen cantidades elevadas de alcaloides. Igualmente se describe granos de cacao, que tienen una cantidad de teobromina que es superior o inferior a un valor entre 10.000 y 16.000 µg/g de granos de cacao, y de preferencia que es superior o inferior a un valor entre 10.404 y 15.606 µg/g de granos de cacao, y por ejemplo que es superior o inferior a un valor entre 10.000 y 16.850 µg/g de granos de cacao.

Igualmente, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de polifenoles que es superior o inferior a una cantidad de entre 2,5-4,5% en peso. De preferencia, dichos polifenoles incluyen epicatequina y categuina. Igualmen-

te, se describe granos de cacao que tienen una cantidad de epicatequina que es superior a 10.000 ppm, y de preferencia se proporcionan superior a 12.500 ppm.

La invención se refiere en particular a granos de cacao que son obtenibles u obtenidos mediante un procedimiento de acuerdo con la presente invención.

En otro aspecto, la invención se refiere igualmente a productos de cacao preparados con uno o más granos de cacao tal como se definen en la presente invención. "Productos de cacao" de acuerdo con la presente invención, se definen como productos que pueden prepararse usando granos de cacao, y pueden estar seleccionados entre el grupo que comprende cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, pastel de cacao, y manteca de cacao. Los productos de cacao pueden estar en una forma líquida o en una forma seca o liofilizada, tal como en la forma de gránulos, bolas, o un polvo.

Un producto de cacao de acuerdo con la invención puede prepararse en una forma para ser directamente administrado a un individuo, y de preferencia están formulados para consumo oral. A modo de ejemplo, un producto de cacao de acuerdo con la invención puede prepararse en la forma de comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas, y jarabe líquido.

Los productos de cacao de acuerdo con la invención pueden igualmente introducirse en productos alimenticios. Los granos de cacao altamente aromatizados de acuerdo con la invención son particularmente adecuados para la producción de productos alimenticios altamente aromatizados.

De manera ventajosa, la presente invención permite proporcionar granos de cacao altamente aromatizados y productos de cacao altamente aromatizados obtenidos a partir de los mismos, tales como por ejemplo, licor de cacao, masa de cacao, pastel de cacao, cacao en polvo, extracto de cacao, manteca de cacao.

Más aún, los granos de cacao que han sido pre-tratados y bioconvertidos de acuerdo con los presentes procedimientos obtienen propiedades inesperadas. Más en particular, los granos de cacao obtenidos u obtenibles de acuerdo con el presente procedimiento son sorprendentemente fáciles de transformar, por ejemplo los granos pueden fácilmente separarse en componentes de cacao, es decir, masa, licor, polvo, etc. Además, los granos de cacao obtenidos u obtenibles de acuerdo con el presente procedimiento retienen su aroma y propiedades organolépticas durante un tiempo prolongado.

# PRODUCTOS Y EXTRACTOS ALIMENTICIOS

20

25

30

45

50

55

En otro aspecto aún, la invención se refiere al uso de granos de cacao tal como se define en la presente invención y/o de productos de cacao tal como se define en la presente invención, para la preparación de productos alimenticios, de preferencia productos de chocolate.

La invención se refiere igualmente a un producto alimenticio preparado con uno o más granos de cacao tal como se definen en la presente invención y/o con uno o más productos de cacao tal como se definen en la presente invención.

El término "producto alimentico" se usa en la presente invención en un sentido amplio, y cubre alimentos para humanos así como alimentos para animales (es decir, un pienso). En un aspecto preferido, el alimento es para consumo humano. El alimento puede estar en la forma de una solución o como un sólido, dependiendo del uso y/o el modo de aplicación y/o el modo de administración. Los ejemplos no limitativos de productos alimenticios que pueden obtenerse usando granos de cacao de acuerdo con la presente invención, incluyen por ejemplo productos de chocolate, bebidas de chocolate, bebidas nutritivas, polvos para bebidas, productos a base de leche, helado, dulces, productos de panadería tales como pasteles y mezcla para pasteles, rellenos, glaseado para pasteles, relleno de panadería de chocolate, buñuelos, y productos lácteos.

Los productos alimenticios particularmente preferidos incluyen "productos de chocolate". De preferencia, los productos de chocolate comprenden uno o más componentes seleccionados entre el grupo que comprende granos de cacao o productos de cacao de acuerdo con la invención, azúcares, substitutos de azúcares, polvos para leche, grasa, emulsionante, agentes aromatizantes y mezclas de los mismos. De preferencia, los dichos productos de cacao están seleccionados entre cacao en polvo, masa de cacao, licor de cacao, y mezclas de los mismos, tal como se definen en la presente invención. Los polvos para leche incluyen, por ejemplo, leche desnatada en polvo, suero en polvo y derivados de los mismos, leche entera en polvo y mezclas de las mismas. Los azúcares adecuados incluyen sacarosa, fructosa, glucosa y dextrosa y mezcla de los mismos (siendo preferida la sacarosa). De preferencia, los substitutos de azúcares incluyen inulina, dextrina, isomaltulosa, polidextrosa y maltitol y mezclas de los mismos. Las grasas incluyen grasa de manteca o fracciones de la misma, aceite de palma o fracciones del mismo, aceite de pepita de palma o fracciones del mismo, aceite se líquidos (por ejemplo, aceite de girasol y/o aceite de colza), mezclas interesterificadas de las grasas o fracciones anteriores o componentes hidrogenados de las mismas, o mezclas de las mismas. Los emulsionantes incluyen lecitina, lecitina fraccionada y PGPR o mezclas de los mismos. Los agentes aromatizantes incluyen vainilla y caramelo o mezclas de los mismos.

Los productos alimenticios, por ejemplo, productos de chocolate, que comprenden granos de cacao o productos de cacao obtenidos de los mismos tal como se definen en la presente invención, tienen características mejoradas, incluyendo, por ejemplo, estabilidad mejorada al almacenamiento, propiedades organolépticas mejoradas, tales como, por ejemplo, un mejor perfil de aroma, mejor liberación de aroma, retención prolongada de aroma y aspecto mejorado, que los productos equivalentes fabricados a partir de granos de cacao que no han sido pre-tratados de acuerdo con la presente invención.

En otra realización, la invención abarca el uso de granos de cacao de acuerdo con la invención para la preparación de extractos de cacao, y a extractos de cacao obtenidos con ellos. Para ello, los granos de cacao de acuerdo con la invención pueden transformarse de manera convencional en extractos de cacao de acuerdo con las técnicas conocidas en la técnica.

La presente invención se describirá con mayor detalle más adelante con la ayuda de los ejemplos que siguen. No obstante, No obstante, no hay que decir que estos ejemplos se dan a modo de ilustración de la invención y no constituyen de ninguna manera una limitación de la misma.

#### **Ejemplos**

#### 15 Ejemplo 1

5

10

20

25

30

35

40

45

Se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron. Los granos se despulparon.

Se colocó en un recipiente 1 kg de granos de cacao recién despulpados. Los granos se trataron con ácido acético 600 mM (pH 2,6) y la temperatura se elevó a 41°C. El intervalo de pH se monitorizó y controló hasta que el valor de pH interno del grano alcanzó aproximadamente 4,4 (duración aproximada, 3 horas). Durante un primer período de incubación, el pH se mantuvo a aproximadamente 4,4. Después de 23 horas, se separó la solución acuosa. Durante un segundo período de incubación, los granos se trataron con ácido acético 600 mM (pH 5,5) durante aproximadamente 2 horas. El pH interno del grano se mantuvo a aproximadamente 5,5.

Las mediciones de pH se realizaron tal como sigue: a intervalos regulares durante el procedimiento se recogieron 10 g de granos. Una mezcla de 5 g de granos se puso en 20 ml de agua y se hirvió durante 3 minutos a 100°C. El agua se filtró y se midió el pH. La Figura 1 muestra la evolución del pH de los granos y del líquido durante el procedimiento de la invención.

A continuación, los granos preparados tal como se ha descrito anteriormente, se secaron por evaporación del agua bajo vacío durante calentamiento suave, a una temperatura por debajo de 60°C, hasta que el contenido de humedad fue inferior al 10%. A continuación, los granos se tostaron en un horno a 120°C durante 30 minutos. A continuación, los aromas generados por la tostación fueron evaluados por un panel de individuos usado para la evaluación de dichos aromas. Las puntuaciones se evaluaron sobre un sistema de puntos. Una alta puntuación en una categoría indicó una fuerte intensidad de un aroma particular. La Tabla 1 y la Figura 2 muestran los resultados de un panel de sabor para los granos preparados de acuerdo con este ejemplo.

Cada muestra se evaluó para las siguientes sensaciones "aroma de cacao" (obtenido de granos de Ghana), "acidez" (califica el sabor básico generado por soluciones acuosas diluidas de la mayoría de los ácidos), "amargor" (califica el sabor básico generado por soluciones diluidas de diversos substancias tales como quinina, percibido sobre la parte superior de la lengua y en la parte posterior del paladar), "astringencia" (el término ha sido ampliado a las acciones enteras de polifenoles que dan como resultado sensaciones de una naturaleza física, desde la supresión de la untuosidad hasta la astringencia en el sentido médico que abarca la contracción y/o crispación de los tejidos), "afrutado" (nota de sabor que pertenece al buqué y que evoca un fruto que ha alcanzado la madurez: manzana, plátano, pera y similares), "floreado" (corresponde a una sensación olfatoria que evoca flores en general: rosa, jazmín, jacinto, lila, y similares), "ahumado" (sabor y olor de jamón ahumado; defecto resultante en general del secado de los granos de cacao después de fermentación mediante un fuego de madera), "mohoso" y "crudo" (característica de cacaos insuficientemente tostados en los cuales el aroma no se ha desarrollado; ligado a la astringencia y acidez); "terroso" (corresponde a una sensación olfativa que evoca cacahuetes crudos).

Tabla 1. Sabor Africa Occidental

Descripciones/Jueces	1	2	3	4	5	Promedio	Desviación estándar		
Acidez	1	4	1	1	1	1,6	1,34		
Astringencia	1	3	2	2	0	1,6	1,14		
Amargor	2	3	2	3	1	2,2	0,83		
Alcalinidad	0	0	0	1	0	0,2	0,44		
Cacao	1	1	2	0	1	1	0,7		

Tabla 1. (Cont.)

Descripciones/Jueces	1	2	3	4	5	Promedio	Desviación estándar
Asado/Tostado	1	1	3	3	2	2	1
Afrutado	1	0	0	0	0	0,2	0,44
Floreado	0	1	0	2	0	0,6	0,89
Regaliz	0	0	0	0	0	0	1
Terroso	0	2	0	0	0	0,4	0,89
Mohoso/Crudo	0	0	0	0	0	0	1
Ahumado	0	0	0	0	0	0	1
Heno/Madera/Inmaduro	0	0	0	0	1	0,2	0,44

# Ejemplo 2

El Ejemplo 2 ilustra el uso de un ácido fuerte tal como HCl para el control del pH. Se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron y despulparon. Se colocó en un recipiente 1 kg de granos de cacao recién despulpados. Los granos se trataron con HCl 1 M (pH±1) y la temperatura se elevó a 41°C. El cambio de pH se observó hasta que el valor de pH interno del grano alcanzó un pH±3,6. Este nivel de pH se alcanzó después de aproximadamente 3 horas. La Figura 3 muestra la evolución de los granos y del líquido durante el procedimiento de la invención. Los granos A y los granos B se refieren a dos muestras diferentes que ilustran la reproducibilidad del presente procedimiento.

Este ejemplo ilustra las etapas a) a c) del presente procedimiento e ilustra que una solución de HCl puede usarse de manera ventajosa para la preparación de un medio ácido acuoso en el cual pueden sumergirse los granos de cacao hasta que su pH interno alcance un valor de entre 3,6 y 5,5. Este ejemplo ilustra además que usando un ácido fuerte tal como HCl es posible rebajar más rápidamente el pH de los granos de cacao que, por ejemplo, usando un ácido más débil tal como ácido acético.

# Ejemplo 3

15

20

25

En este experimento, se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron y despulparon. Se colocó en un recipiente 1 kg de granos de cacao recién despulpados. Los granos se trataron con ácido acético 400 mm (pH 2,6) a 41°C. El cambio de pH se monitorizó mediante toma de muestras regularmente y se midió tal como se ha indicado. Después de aproximadamente 4 horas el pH alcanzó un valor de aproximadamente 4,6. En un primer período de incubación, el pH se mantuvo a aproximadamente 4,6 a 41°C. Después de 20 horas, se cambió el tampón. Para el segundo período de incubación el medio previo se reemplazó por solución de NaOH 1 M. La solución acuosa y los granos se mezclaron. En menos de 1 hora se alcanzó un pH de 5,5. El pH interno del grano se mantuvo a aproximadamente pH 5-5,5.

Este ejemplo ilustra que mediante la adición de una base fuerte, es decir una solución de NaOH 1 M, al primer medio de incubación, el valor del pH dentro de los granos de cacao puede incrementarse hasta un valor adecuado, y en este caso, llevarlo desde pH 4,6 hasta pH 5 a 5,5.

# Ejemplo 4

En este experimento, se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron y despulparon. Se colocó en un recipiente 1 kg de granos de cacao recién despulpados. Los granos se trataron con un tampón de ácido acético 600 mM (pH 2,6) a 41°C. El cambio de pH se monitorizó mediante toma de muestras regularmente y se midió tal como se ha indicado en el Ejemplo 1. Después de aproximadamente 3 horas el pH interno del grano alcanzó aproximadamente 4,4. El tampón se retiró. En un primer período de incubación, el pH se mantuvo a aproximadamente 4,4 a 41°C bajo condiciones saturadas en agua. Después de 23 horas, se cambió el tampón. Se indujo un segundo período de incubación usando ácido acético 600 mM (pH 5,5) durante aproximadamente 2 horas. El pH interno del grano se mantuvo a aproximadamente pH 5,5 bajo condiciones saturadas en agua.

# Ejemplo 5

Se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron. Se sometieron 1 kg de granos de cacao recientes a una temperatura inferior a 10°C durante al menos 1 minuto. Esto puede realizarse, por ejemplo, manteniendo los granos en un frigorífico.

A continuación, los granos se colocaron en un recipiente. Los granos se trataron con ácido acético 600 mM (pH 2,6) y la temperatura se subió a 41°C. El cambio de pH puede monitorizarse y controlarse hasta que el valor de pH interno del grano alcance aproximadamente 4,4 (duración aproximadamente 3 horas). Durante un primer período de incubación, el pH se mantuvo a aproximadamente 4,4. Después de 23 horas puede separarse la solución acuosa. Durante un segundo período de incubación los granos se trataron con ácido acético 600 mM (pH 5,5) durante aproximadamente 2 horas. El pH interno del grano se mantuvo a aproximadamente pH 5,5. Las mediciones de pH de los granos se realizaron tal como se ha explicado en el Ejemplo 1.

A continuación, los granos pueden secarse por evaporación del agua bajo vacío durante calentamiento suave, a una temperatura inferior a 60°C, hasta que el contenido en humedad sea inferior al 10%. A continuación, los granos se tostaron en un horno a 120°C durante 30 minutos. Los aromas que pueden generase mediante la tostación pueden evaluarse, a continuación, por un panel de individuos usado para la evaluación de dichos aromas. Las puntuaciones se evalúan usualmente sobre un sistema de puntos. Una alta puntuación en una categoría indica una fuerte intensidad de un aroma particular. Cada muestra puede evaluarse para diferentes sensaciones, tal como se ha explicado en el Eiemplo 1.

### 15 Ejemplo 6

10

20

Se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron. Se sometieron 1 kg de granos de cacao recientes a radiación infrarroja de una longitud de onda entre 750 nm y 1 mm durante al menos 1 minuto.

A continuación, los granos se colocaron en un recipiente. Los granos se trataron con ácido acético 400 mM (pH 2,6) a 41°C. El cambio de pH puede monitorizarse mediante toma de muestras regularse y medirse tal como se ha descrito anteriormente. Después de aproximadamente 4 horas el pH puede alcanzar un valor de aproximadamente 4,6. En un primer período de incubación, el pH se mantuvo a aproximadamente 4,6 a 41°C. Después de 20 horas se cambió el tampón. Para el segundo período de incubación el medio previo se reemplazó por solución de NaOH 1 M. A continuación, la solución acuosa y los granos se mezclaron. En menos de 1 hora puede alcanzarse un pH de 5,5. A continuación, el pH interno del grano se mantiene a aproximadamente pH 5-5,5.

A continuación, los granos pueden secarse por evaporación del agua bajo vacío durante calentamiento suave, a una temperatura inferior a 60°C, hasta que el contenido en humedad sea inferior al 10%. A continuación, los granos se tostaron en un horno a 120°C durante 30 minutos. Los aromas que pueden generase mediante la tostación pueden evaluarse, a continuación, por un panel de individuos tal como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

#### Ejemplo 7

30 Este ejemplo ilustra las características de granos de cacao que han sido tratados usando un procedimiento para bioconversión de acuerdo con la invención que comprende una etapa de inmersión en un medio ácido.

Se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron. Los granos de cacao recientes recuperados se trataron mecánicamente pasándolos a través de una despulpadora. Mediante el uso de esta despulpadora, la pulpa se separó de los granos de cacao y los granos despulpados se recuperaron.

- Los granos despulpados se trataron primeramente con ácido acético 300 mM (pH 2,6) a una temperatura de 41°C durante 16 horas. El tratamiento se llevó a cabo bajo atmósfera de oxígeno. El intervalo de pH se monitorizó y controló hasta que el pH interno del grano fue de 4,5. Las mediciones de pH se realizaron tal como se ha explicado en el Ejemplo 1. Después de 16 horas se retiró la solución acuosa y los granos obtenidos se secaron al sol, hasta que su contenido en humedad fue inferior al 10%.
- A continuación, los granos se tostaron en un horno a 120°C durante 30 minutos. Los granos tostados se molieron y con ellos se preparó un licor. A continuación, los aromas generados mediante la tostación fueron evaluados por un panel de cinco individuos usado para la evaluación de dichos aromas. Las puntuaciones se evaluaron sobre un sistema de puntos desde 0 hasta 5. Una alta puntuación en una categoría indicó una fuerte intensidad de un aroma particular. Cada muestra se evaluó para las siguientes sensaciones: "acidez", "amargor", "astringencia", "chocolate", "afrutado", "aromático", "vino", "terroso", "mohoso", "ahumado", "flojo" (es decir, sin aromas). Con fines comparativos, el panel de sabor también probó licor que había sido preparado a partir de granos fermentados convencionalmente de una manera similar que para los granos de cacao obtenidos en el presente ejemplo.

La Figura 4 muestra los resultados del experimento del panel de sabor, e indica que los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de bioconversión de acuerdo con la invención proporcionan licor de cacao con un sabor bueno y adecuado. Comparado con los granos fermentados convencionalmente, el sabor del licor de acuerdo con la invención fue claramente menos amargo y menos astringente.

# Ejemplo 8

50

Este ejemplo ilustra las características de granos de cacao que han sido tratados usando un procedimiento para bioconversión de acuerdo con la invención que comprende dos etapas de inmersión en un medio ácido.

Se abrieron vainas maduras recién recolectadas y los granos se separaron. Los granos de cacao recientes recuperados se pre-trataron mecánicamente pasándolos a través de una despulpadora. Mediante el uso de esta despulpadora, la pulpa se separó de los granos de cacao y los granos despulpados se recuperaron. Los granos despulpados se trataron primeramente con ácido acético 600 mM (pH 2,6) a una temperatura de 41°C durante 24 horas. El tratamiento se llevó a cabo bajo atmósfera de oxígeno. El intervalo de pH se monitorizó y controló hasta que el pH interno del grano fue de 4,5. Después de 24 horas se separó la solución acuosa. A continuación, los granos se sumergieron nuevamente en una solución que contenía tampón de ácido acético 600 mM y se incubaron a 41C durante 12 horas. El pH interno del grano aumentó a un pH de 5,3. Las mediciones de pH se realizaron tal como se ha explicado en el Ejemplo 1. Después de los tratamientos anteriores, los granos obtenidos se secaron al sol, hasta que su contenido en humedad fue inferior al 10%.

A continuación, los granos de cacao se tostaron en un horno a 120°C durante 30 minutos. Los granos tostados se molieron y con ellos se preparó un licor. A continuación, los aromas generados mediante la tostación fueron evaluados por un panel de cinco individuos usado para la evaluación de dichos aromas. Las puntuaciones se evaluaron sobre un sistema de puntos desde 0 hasta 5 para los mismos aromas tal como se ha descrito en el Ejemplo 7.

15 De acuerdo con el panel de sabor objetivo, los granos obtenidos tenían un "Sabor de Africa Occidental".

La Figura 5 muestra los resultados del experimento del panel de sabor, e indica que los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de bioconversión obtuvieron un buen sabor, el cual está dentro de los intervalos de sabor de cacao máximo y mínimo aceptables.

Los Ejemplos 7 y 8 indican que los granos de cacao obtenidos cuando se lleva a cabo un procedimiento de acuerdo con la invención tuvieron una calidad buena y reproducible, y que de manera inesperada pudo obtenerse un sabor y calidad aceptables sin haber sometido los granos a una fermentación microbiana. Más aún, los presentes granos de cacao se obtuvieron fácil y rápidamente, es decir, en menos de 48 horas, lo cual es considerablemente más rápido que cuando se aplica un procedimiento de fermentación convencional.

#### Ejemplo 9

5

10

- Granos de cacao no fermentados que habían sido pre-tratados y sometidos a una bioconversión endógena tal como se describe en el Ejemplo 7, se analizaron y compararon a (A) granos de cacao no fermentados; y/o (B) granos de cacao que habían sido fermentados convencionalmente durante 5 días y posteriormente secados. Los resultados de estos experimentos están representados en las FIGURAS 6A a 6E. Los valores ilustrados representan los resultados de análisis efectuados sobre granos no tostados.
- Las FIGURAS 6A a 6E ilustran respectivamente que la cantidad de GABA, fenilalanina, alanina, y triptófano son muy superiores en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de acuerdo con la invención que en granos de cacao no fermentados o granos de cacao que han sido fermentados convencionalmente durante 5 días.
  - En particular, los niveles de GABA obtenidos en los granos bioconvertidos fueron más de tres veces superiores a los obtenidos en los granos no fermentados o en los fermentados. Los niveles de fenilalanina obtenidos en los granos bioconvertidos fueron más de siete veces superiores a los obtenidos en los granos fermentados y más de 55 veces superiores a los obtenidos en los granos no fermentados. Los niveles de alanina obtenidos en los granos bioconvertidos fueron más de tres veces superiores a los obtenidos en los granos no fermentados o en los fermentados. Los niveles de triptófano obtenidos en los granos bioconvertidos fueron más de 4 veces superiores a los obtenidos en los granos no fermentados o en los fermentados.
- La FIGURA 6E ilustra que la cantidad del polifenol epicatequina es muy superior en los granos de cacao que han experimentado el procedimiento de bioconversión de acuerdo con la bioconversión de la invención que en los granos de cacao que han sido fermentados convencionalmente durante 5 días. Los niveles de epicatequina obtenidos en los granos bioconvertidos fueron más de 22 veces superiores a los obtenidos en los granos fermentados. Este resultado indica además que mediante la aplicación de un procedimiento para la transformación de granos de cacao de acuerdo con la invención, la cantidad de este flavonol promotor de salud puede preservarse casi completamente, puesto que no se produce disminución substancial en comparación con un grano de cacao reciente (no fermentado), en tanto que durante una fermentación espontánea se perdería más del 80% del mismo. Por ello, el presente procedimiento permite mantener altos niveles de flavonoles, tal como epicatequina, en los granos, en contraste con los granos fermentados, en los que dichos compuestos generalmente se degradarán.
- Además, la cantidad de bacterias que permanecen sobre los granos de cacao secos que fueron transformados de acuerdo con el presente ejemplo se comparó con la cantidad de bacterias sobre granos de cacao fermentados (fermentados durante 5 días) que se secaron de una forma similar. Se ha mostrado que la cantidad de bacterias sobre los granos que fueron transformados de acuerdo con la invención fue de aproximadamente 100-550 TPC (recuento total en placa); lo cual es muy inferior a la cantidad de 5000 TPC que usualmente se considera como aceptable. Por el contrario, la cantidad de bacterias sobre los granos de cacao fermentados fue mucho mayor que el estándar aceptable o aproximadamente 5000 TPC, y estos últimos granos necesitaron someterse a una des-bacterización para eliminar la contaminación bacteriana antes de ser transformados posteriormente y/o tostarse severamente.

Este resultado indica que el presente procedimiento para la bioconversión de granos no fermentados permite obtener menos contaminación bacteriana de los granos y, en consecuencia, reduce e incluso puede suprimir en algunos casos la necesidad de someter los granos de cacao a un tratamiento de des-bacterización antes del tratamiento posterior de los granos. Igualmente, el presente procedimiento para la bioconversión de granos no fermentados permite tostar los granos bajo condiciones menos severas, por ejemplo, a temperaturas de tostación inferiores y durante tiempos de tostación más cortos, en comparación con los granos fermentados convencionalmente.

# Ejemplo 10

5

10

Se pre-trataron mecánicamente granos de cacao no fermentados (despulpados) y, a continuación, se enfriaron durante 10 minutos a 4°C. Después de enfriamiento, los granos se colocaron en un recipiente y se trataron con ácido acético 600 mM (pH 2,6) y la temperatura se subió a 41°C. El intervalo de pH se monitorizó y controló hasta que el valor del pH interno del grano alcanzó aproximadamente 4,4. Las mediciones de pH de los granos se realizaron tal como se ha explicado en el Ejemplo 1. Después de 2 horas se separó la solución acuosa y los granos se recuperaron.

Los granos obtenidos se analizaron para determinar la presencia de diferentes componentes usando técnicas de HPLC (Columna: LiChroCART 250-4 (Lichrospher 100 RP-18, 5 µm - Detección con un detector de fluorescencia, Ex 334 nm, Em 425 nm, temperatura de columna 30°C). Es de indicar que los granos no estaban tostados antes de someterlos a los análisis de HPLC.

En la Tabla 2 se dan los resultados de los análisis de HPLC.

Tabla 2

Componente	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	Gly	Thr	Ala	Tyr	GABA	PEA
Cantidad (ppm)	526	1015	1316	447	421	150	236	1220	696	1734	31

# **REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento de transformación de granos de cacao que comprende las etapas de:

5

25

30

40

- i) someter dichos granos de cacao a un pre-tratamiento mecánico y/o a un pre-tratamiento físico, y
- ii) someter dichos granos de cacao pre-tratados a al menos un tratamiento con un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5,

en el que los granos son incubados en la etapa ii) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.

- 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los granos de cacao tratados en la etapa i) son granos de cacao no fermentados y no despulpados.
- 3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que las etapas i) y ii) se realizan bajo condiciones aeróbicas.
  - **4.** Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende la etapa de liberación de polifenoles de dichos granos de cacao a dicho medio dentro de los dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa ii), y/o que comprende la inhibición de la germinación de al menos 80% de dichos granos de cacao dentro de las dos horas de someter dichos granos de cacao a la etapa i).
- 5. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho tratamiento mecánico está seleccionado entre el grupo que comprende despulpado, escariado, raspado, fisurado, triturado, prensado, frotado, centrifugado, cortado o perforado de los granos de cacao y cualquier combinación de los mismos, y/o en el que dicho tratamiento físico está seleccionado entre el grupo que comprende un tratamiento térmico, un tratamiento con microondas, un tratamiento bajo condiciones de saturación de agua, un tratamiento de ultrasonidos, un tratamiento de infrarrojos, un tratamiento de láser, un tratamiento a presión y cualquier combinación de los mismos.
  - 6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicho tratamiento físico comprende:

someter dichos granos de cacao a una temperatura inferior a 15°C durante al menos 1 minuto, o someter dichos granos de cacao a una temperatura de más de 100°C durante al menos 1 minuto, o someter dichos granos de cacao a una radiación de microondas de 300 MHz a 300 GHz durante al menos 1 minuto, o exposición de dichos granos de cacao a radiación infrarroja de una longitud de onda de entre 750 nm y 1 mm durante al menos 1 minuto.

- 7. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la etapa ii) comprende las etapas de:
  - a) inmersión de los granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4.0 y 5.5.
  - b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a).
  - c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas, y
  - d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),
- opcionalmente comprendiendo además la atapa de secado los granos de cacao obtenidos en la etapa c) o la etapa d).
  - 8. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la etapa ii) comprende las etapas de:
    - a) inmersión de dichos granos de cacao pre-tratados dentro de un medio ácido acuoso hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 3,6 y 5,5,
    - b) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa a),
    - c) incubación de los granos de cacao de la etapa a) o de la etapa b) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.
    - d) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa c),
- e) inmersión de los granos de cacao de la etapa c) o la etapa d) dentro de un medio ácido acuoso o alcalinización del medio ácido acuoso de la etapa a) hasta que el pH de dichos granos de cacao alcance un valor de entre 4,5 y 6,5,

- f) opcionalmente separación del medio ácido acuoso de la etapa e),
- g) incubación de los granos de cacao de la etapa e) o de la etapa f) a una temperatura de entre 25 y 70°C durante menos de 24 horas.
- h) opcionalmente lavado de los granos de cacao de la etapa g), y

5

30

- i) opcionalmente secado de los granos de cacao de la etapa g) o h).
- **9.** Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 ó 8, en el que dicho medio ácido acuoso aplicado en la etapa a) es una solución que tiene un pH inferior a 5, y/o en el que los granos de cacao están sumergidos en la etapa a) en un medio ácido acuoso de al menos 0,1 molar (M) que contiene ácido acético.
- **10.** Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 ó 9, en el que dicho medio ácido acuoso aplicado en la etapa e) es una solución que tiene un pH inferior a 6,5, y/o en el que los granos de cacao están sumergidos en la etapa e) en un medio ácido acuoso de al menos 0,1 molar (M) que contiene ácido acético.
  - **11.** Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en el que la relación cuantitativa de granos de cacao (g de materia seca) al volumen del medio (ml) en las etapas a) y/o e) está entre 1:10 y 10:1.
- 12. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el que los granos de cacao obtenidos en la etapa ii) tienen una cantidad de componentes seleccionados entre el grupo que comprende compuestos de aroma, precursor de aroma, precursores de ésteres, precursores de aminoácidos libres, aminoácidos libres, moléculas bioactivas aromáticas, compuestos alcaloides, azúcares, carbohidratos, y enzimas la cual es al menos 10% superior o al menos 10% inferior que la cantidad en los granos de cacao que han sido sometidos a un procedimiento de fermentación convencional durante al menos dos días.
- 20 13. Granos de cacao obtenibles mediante un procedimiento con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
  - **14.** Granos de cacao de acuerdo con la reivindicación 13, los cuales no son ya capaces de germinar dos horas después de haber sido sometidos a un tratamiento mecánico y/o físico, y/o en el que dichos granos de cacao son granos de cacao no tostados.
- **15.** Granos de cacao que tienen una cantidad de feniletilamina (PEA) que es superior a 5 ppm, una cantidad de ácido gamma-aminobutírico (GABA) que es superior a 500 ppm, una cantidad de fenilalanina (PHE) que es superior a 2500 ppm, una cantidad de alanina (ALA) que es superior a 1200 ppm, una cantidad de triptófano (TRP) que es superior a 350 ppm, y una cantidad de epicatequina que es superior a 10.000 ppm.
  - **16.** Uso de granos de cacao de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, para la preparación de productos de cacao seleccionados entre el grupo que comprende cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, manteca de cacao, y pastel de cacao, o para la preparación de productos alimenticios, de preferencia productos de chocolate.
  - 17. Producto de cacao seleccionado entre el grupo que comprende cacao en polvo, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, manteca de cacao y pastel de cacao, preparado con uno o más granos de cacao de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, o un producto alimenticio, de preferencia un producto de chocolate, preparado con uno o más granos de cacao de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16 y/o con uno o más de dichos productos de cacao.

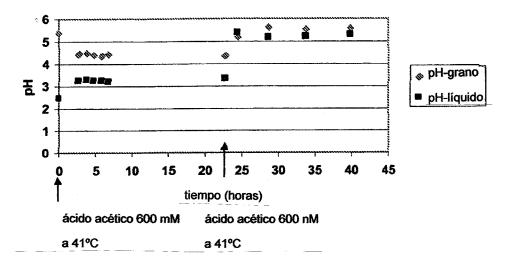


FIG. 1

# Descripciones/Jueces Acidez

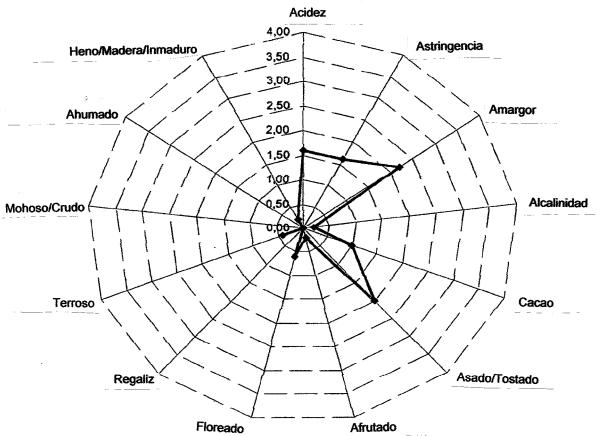


FIG. 2

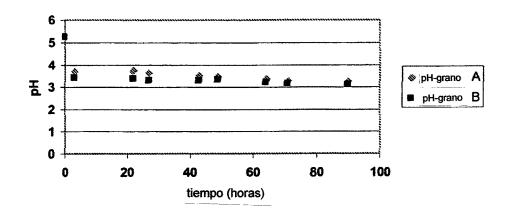


FIG. 3

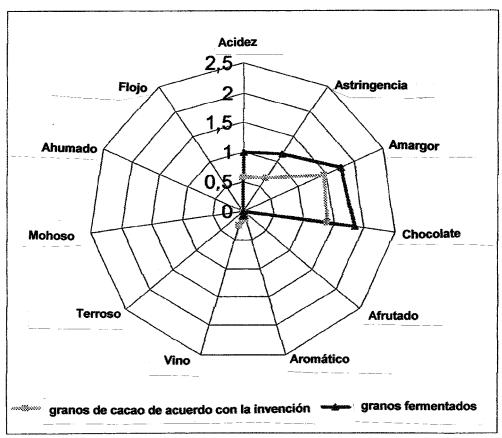


FIG. 4

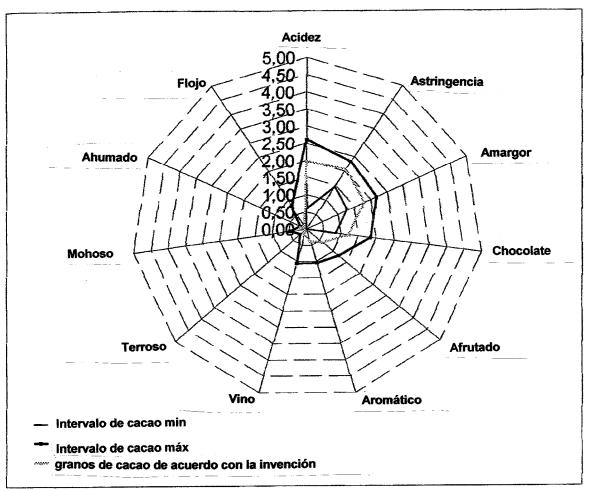


FIG. 5

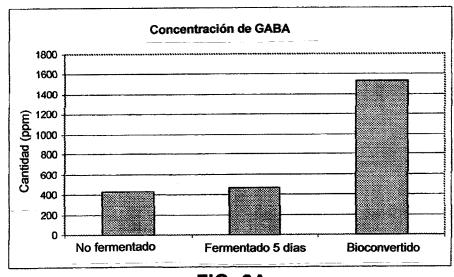


FIG. 6A

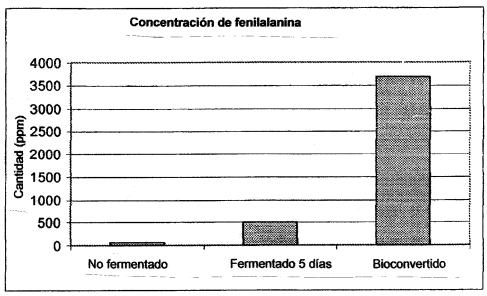


FIG. 6B

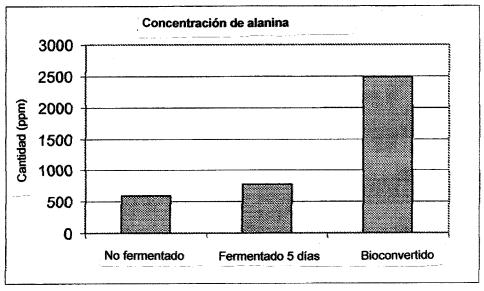


FIG. 6C

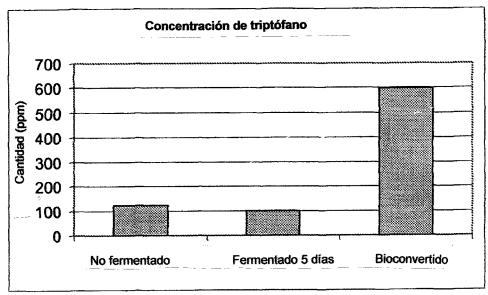


FIG. 6D

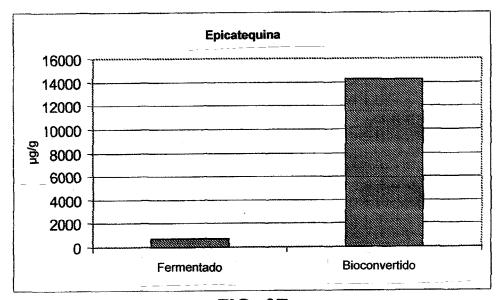


FIG. 6E