

**Qualitätsbedingende Eigenschaften neuer  
Kakao-Genotypen und deren Verhalten im  
Nachernteverfahren –  
eine Analyse neuer Kakao-Selektionen  
aus Costa Rica**

**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. rer. nat.

des Fachbereichs Biologie

der Fakultät für Mathematik, Informatik und  
Naturwissenschaften

der Universität Hamburg

vorgelegt von  
Elsa C. Hegmann

Hamburg, 2015

Tag der Disputation: 17. Juli 2015

Folgende Gutachter empfehlen die Annahme der Dissertation:

1. Gutachter: **Prof. Dr. Reinhard Lieberei**  
Universität Hamburg
2. Gutachterin: **Prof. Dr. agr. Dr. h.c. Dipl. oec. troph Angelika Ploeger**  
Universität Kassel-Witzenhausen



# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Hintergrund</b> .....	<b>3</b>
2.1. Einblick in die Systematik und Biologie von <i>Theobroma cacao</i> L.....	3
2.2. Geographische Verbreitung von <i>Theobroma cacao</i> L.....	4
2.3. Historische Entwicklungen im globalen Rohkakaohandel .....	6
2.4. Kakao in Zentralamerika.....	8
2.5. Verbesserung der genetischen Kakaoqualität am CATIE, Costa Rica .....	10
2.6. Nacherntebehandlungen bei <i>Theobroma cacao</i> L.....	12
2.6.1. Fermentation .....	12
2.6.1.1. Bedeutung und Biochemie .....	12
2.6.1.2. Ablauf .....	14
2.6.1.3. Methoden.....	15
2.6.2. Trocknung .....	16
2.6.3. Waschung von Kakaosamen .....	18
<b>3. Material und Methoden</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1. Material</b> .....	<b>19</b>
3.1.1. PMCT-58.....	21
3.1.2. ICS-95 (T1) .....	23
3.1.3. CATIE-R1.....	25
3.1.4. CATIE-R4.....	27
3.1.5. CATIE-R6.....	29
3.1.6. CC-137.....	31
<b>3.2. Methoden</b> .....	<b>33</b>
3.2.1. Feinaromaanalytik.....	33
3.2.1.1. Probenvorbereitung .....	34
3.2.1.2. Probenvermessung.....	34
3.2.2. Monoklonale Mikrofermentationen in Costa Rica.....	37
3.2.2.1. Versuchsstandort .....	37
3.2.2.2. Versuchsaufbau Trockenzeit .....	39
3.2.2.3. Versuchsaufbau Regenzeit .....	40
3.2.2.3.1. Herstellung des testaassoziierten Schleims (TA-Schleim).....	41
3.2.2.3.2. Waschung von fermentierten Kakaosamen vor der Trocknung .....	42
3.2.2.3.3. Trocknung.....	42
3.2.3. Qualitätsanalysen der Rohkakaoproben .....	44

3.2.3.1. Feuchtegehalt.....	44
3.2.3.2. 100-Bohnengewicht .....	44
3.2.3.3. Schnitt-Test.....	44
3.2.3.4. Probenvorbereitung .....	46
3.2.3.5. Entfettung.....	47
3.2.3.6. HPLC-Analysen.....	47
3.2.3.6.1. Freie Aminosäuren .....	48
3.2.3.6.2. Polyphenole und Anthocyane .....	49
3.2.3.6.3. Reduzierende Zucker.....	51
3.2.3.6.4. Organische Säuren .....	51
3.2.3.7. Statistische Auswertung .....	53
3.2.3.8. Fotografische Dokumentation.....	53
<b>3.2.4. Herstellung und Blindverkostung von Probeschokoladen.....</b>	<b>53</b>
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>55</b>
<b>4.1. Aromagebende Kakaopulpa-Komponenten.....</b>	<b>55</b>
<b>4.1.1. Hauptkomponenten: Peakfläche der GCMSChr &lt; 7,0E+09 .....</b>	<b>56</b>
4.1.1.1. 2-Pentanolacetat .....	56
4.1.1.2. 2-Heptanolacetat.....	57
4.1.1.3. trans-Ocimen .....	58
<b>4.1.2. Hauptkomponenten: Peakfläche GCMSChr &lt; 1,0E+09 .....</b>	<b>59</b>
4.1.2.1. alpha-Ocimen .....	59
4.1.2.2. Linalool .....	60
4.1.2.3. Myrcen.....	62
<b>4.1.3. Minorkomponenten: Peakfläche GCMSChr &lt; 5,0E+08 .....</b>	<b>63</b>
4.1.3.1. 2-Methyl-3-buten-2-ol.....	63
4.1.3.2. 2-Nonanon.....	64
4.1.3.3. 2-Pentanon .....	65
4.1.3.4. 2-Heptanol.....	66
4.1.3.5. Styrallylacetat (1-Phenylethylacetat) .....	67
4.1.3.6. 2-Heptanon.....	68
4.1.3.7. 2-Pentanol .....	69
<b>4.1.4. Minorkomponenten: Peakfläche GCMSChr &lt; 1,0E+08 .....</b>	<b>70</b>
4.1.4.1. 2-Octanolacetat.....	70
4.1.4.2. 2-Nonanol.....	71
<b>4.1.5. Minorkomponenten Peakfläche GCMSChr &lt; 5,0E+07 .....</b>	<b>72</b>
4.1.5.1. 5-Methyl-3-heptanon .....	72
4.1.5.2. Linalylacetat.....	73

4.1.5.3.	2-Undecanon .....	74
4.1.5.4.	trans-Linalooloxid .....	75
4.1.5.5.	Acetophenon .....	76
4.1.5.6.	Styrallylcohol (1-Phenylethanol) .....	77
4.1.5.7.	alpha-Bergamoten .....	78
4.1.5.8.	alpha-Copaen .....	79
<b>4.1.6.</b>	<b>Minorkomponenten Peakfläche GCMSChr &lt; 1,0E+07 .....</b>	<b>80</b>
4.1.6.1.	trans-beta-Farnesen .....	80
4.1.6.2.	2,3-Butandioldiacetat .....	81
<b>4.1.7.</b>	<b>Minorkomponenten Peakfläche GCMSChr &lt; 5,0E+06 .....</b>	<b>82</b>
4.1.7.1.	Epoxylinool .....	82
4.1.7.2.	cis-Linalooloxid .....	83
<b>4.1.8.</b>	<b>Andere volatile Aromastoffe (Minorkomponenten) in der Kakaopulpa .....</b>	<b>84</b>
<b>4.1.9.</b>	<b>Anteile der Aromagruppen an der Gesamtpeakfläche.....</b>	<b>86</b>
<b>4.1.10.</b>	<b>Aromaprofile der Fruchtpulpen der untersuchten Kakaoklone.....</b>	<b>88</b>
4.1.10.1.	PMCT-58 .....	88
4.1.10.1.1.	Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von PMCT-58: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit.....	88
4.1.10.1.2.	Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von PMCT-58.....	90
4.1.10.2.	ICS-95 (T1) .....	92
4.1.10.2.1.	Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von ICS-95 (T1): Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit.....	92
4.1.10.2.2.	Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von ICS-95 (T1) .....	94
4.1.10.3.	CATIE-R1 .....	96
4.1.10.3.1.	Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von CATIE-R1: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit.....	96
4.1.10.3.2.	Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von CATIE-R1 .....	98
4.1.10.4.	CATIE-R4 .....	100
4.1.10.4.1.	Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von CATIE-R4: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit.....	100
4.1.10.4.2.	Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von CATIE-R4.....	102
4.1.10.5.	CATIE-R6 .....	104

4.1.10.5.1. Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von CATIE-R6: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit.....	104
4.1.10.5.2. Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von CATIE-R6.....	106
<b>4.2. Monoklonale Mikrofermentationen .....</b>	<b>108</b>
<b>4.2.1. Trockenzeit.....</b>	<b>108</b>
4.2.1.1. Verläufe der Fermentationstemperatur .....	108
4.2.1.2. Zucker [°Brix] und pH-Wert der Kakaopulpa während der Fermentation .....	112
<b>4.2.2. Regenzeit .....</b>	<b>113</b>
4.2.2.1. Verläufe der Fermentationstemperatur, Beispiel Oktober.....	113
4.2.2.2. Zucker [°Brix] und pH-Wert der Pulpa und der Kotyledonen während der Fermentation.....	117
4.2.2.3. Waschung .....	118
<b>4.2.3. Allgemeine Beobachtungen .....</b>	<b>120</b>
<b>4.3. Qualitätsbestimmende Analysen.....</b>	<b>121</b>
<b>4.3.1. Schnitttest.....</b>	<b>121</b>
4.3.1.1. Trockenzeit .....	121
4.3.1.2. Regenzeit .....	125
4.3.1.2.1. 1. Fermentationszyklus .....	125
4.3.1.2.2. 2. Fermentationszyklus .....	129
<b>4.3.2. Epicatechin und Catechin.....</b>	<b>133</b>
4.3.2.1. Trockenzeit .....	133
4.3.2.2. Regenzeit .....	135
<b>4.3.3. Freie Aminosäuren .....</b>	<b>138</b>
4.3.3.1. Trockenzeit .....	139
4.3.3.2. Regenzeit .....	143
<b>4.3.4. Organische Säuren.....</b>	<b>150</b>
4.3.4.1. Trockenzeit .....	150
4.3.4.2. Regenzeit .....	152
<b>4.3.5. Reduzierende Zucker .....</b>	<b>159</b>
<b>4.3.6. Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Regenzeit-Proben .....</b>	<b>161</b>
<b>4.4. Misch-Fermentationen mit und ohne TA-Schleim.....</b>	<b>162</b>
<b>4.5. Aromaprofile monoklonaler Probeschokoladen .....</b>	<b>164</b>
4.5.1. Alle Klone im Vergleich.....	164
4.5.2. PMCT-58.....	165
4.5.3. ICS-95 (T1).....	166
4.5.4. CATIE-R1.....	167

4.5.5. CATIE-R4.....	168
4.5.6. CATIE-R6.....	169
4.5.7. CCN-51 .....	170
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>171</b>
5.1. Aromagebende Komponenten in Kakao .....	171
5.1.1. Mögliche Herkunft und Ausbildung der aromagebenden Komponenten .....	171
5.1.2. Reifespezifische Entwicklung der aromagebenden Komponenten in der Pulpa .....	172
5.1.3. Lokalisierung der Aromakomponenten im Gewebe .....	173
5.1.4. Der Einfluss des saisonalen Klimas auf das Pulpaaroma .....	175
5.1.5. Schlussfolgerungen und Ausblick .....	176
5.2. Mikrofermentationen mit klonalem Kakaomaterial .....	177
5.2.1. Biotische Faktoren in der Kakaofermentation.....	177
5.2.2. Abiotische Faktoren in der Kakaofermentation.....	181
5.2.3. Schlussfolgerungen und Ausblick .....	182
5.3. Qualitätsbestimmende Eigenschaften .....	183
5.3.1. Freie Aminosäuren .....	183
5.3.2. Phenolische Substanzen .....	186
5.3.3. Organische Säuren.....	189
5.3.4. Waschung.....	191
5.4. Aromaprofile der Schokoladen .....	192
5.4.1. Schlussfolgerungen und Ausblick .....	193
<b>6. Zusammenfassung .....</b>	<b>194</b>
<b>7. Abstract .....</b>	<b>197</b>
<b>8. Resumen .....</b>	<b>199</b>
<b>9. Verzeichnisse .....</b>	<b>202</b>
9.1. Abkürzungen .....	202
9.2. Abbildungen .....	205
9.3. Tabellen .....	210
9.4. Literatur .....	211
<b>10. Danksagung .....</b>	<b>222</b>

## 1. Einleitung

Zur Verbesserung der Kakaokultur in Costa Rica wurden in intensiven Züchtungs- und Selektionsarbeiten mehrere, sogenannte „Eliteklone“ entwickelt. Sechs dieser Kakaoklone (CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137), wurden im Rahmen des Zentralamerikanischen Kakaoprojekts (span. *Proyecto Cacao Centroamerica*, PCC) an unterschiedlichen, landwirtschaftlichen Standorten geprüft und in kleinen Produktionsparzellen angebaut (PHILLIPS et al., 2013; SOMARRIBA, 2013). Seit 2012 sind Kleinbauern und Kooperativen in ganz Zentralamerika mit Pflanzmaterial dieser neuen Kakaogenotypen ausgestattet. Daten zur Feldqualität dieser Klone, wie Ertragspotential und Krankheitsresistenz, sind über mehrere Jahre hinweg erhoben worden und heute öffentlich zugänglich (PHILLIPS et al., 2013).

Dringend erforderlich sind nunmehr Aussagen zum Qualitätspotential des Handelsprodukts Rohkakao dieser Klone. Kakaosamen sind im frischen Zustand ungenießbar, sie müssen zunächst fermentiert und getrocknet werden, um ihre Bitterkeit und Adstringenz abbauen zu können. Zur Untersuchung des individuellen Qualitätspotentials ist es vorteilhaft, das Samenmaterial eines jeden Kakaogenotyps separat, also monoklonal zu fermentieren und in mehreren Ansätzen zu vergleichen. Dies erlaubt gleichzeitig, Feinkakaomerkmale dieser Klone zu identifizieren, denn einige der Kreuzungseltern waren klassifiziert als „Fine or Flavour cocoa“.

Die derzeitige Situation im globalen Kakaohandel ist gekennzeichnet durch eine wachsende Nachfrage nach diesen Feinkakaos, zusätzlich zu den Konsumkakaos („Bulk cocoa“). Feinkakaos sind charakterisiert durch das „normale“ Schokoladenaroma, weisen aber zusätzlich besondere Aromakomponenten auf, die auf sekundäre Pflanzenstoffe, wie Terpene, Alkohole, Ester, Aldehyde oder Methylketone zurückzuführen sind (ZIEGLER, 1990 a; ESKES et al., 2007; KADOW et al., 2013).

Eine Analyse der Rohkakaos aus diesen sechs Kakaoklonen umfasst die Klärung, welche Sekundärstoffe qualitätswirksam werden. Aus vorhergehenden Studien ist bekannt, dass die aromagebenden Komponenten überwiegend in der die Samen umgebenden Pulpa (Fruchtfleisch) lokalisiert sind und im Zuge der Nacherntebehandlung (Fermentation, Trocknung) aus der Pulpa in die Samen transportiert werden.

Bei Experimental-Ansätzen zur Fermentation ist zu prüfen, ob Genotyp-spezifische Fermentationsabläufe die Rohkakaobildung beeinflussen. Daher sind streng kontrollierte Fermentationsbedingungen einzuhalten bzw. muss der Verlauf über Parameter wie Temperatur und Pulpazuckergehalt erfasst werden.

In der Kakaokultur gibt es jährlich mehrere Perioden mit hoher Fruchtproduktion („peaks“), die in der Praxis als Haupt- und Nebenernte bezeichnet werden. Um Vergleiche zwischen den klonalen

Entwicklungen zu ermöglichen, ist geplant, Proben aus Samenmaterial von Kakaofrüchten dieser unterschiedlichen Erntepeaks in mehreren Fermentationsansätzen zu produzieren und in der kompletten Aromaanalytik zu erfassen.

Ziel dieser Arbeit ist festzustellen, ob die Kakaoklone ein Potential für eine hohe Rohkakaqualität aufweisen und welche Nacherntebehandlung empfehlenswert ist, um einen qualitativ hochwertigen organoleptischen Charakter des Endprodukts Schokolade zu erzielen. Zusätzlich sollen über die analytischen Daten grundsätzliche Fragen zur Bedeutung der sekundären Pflanzenstoffe in der Aromabildung von *Theobroma cacao* L. geklärt werden.

## 2. Hintergrund

### 2.1. Einblick in die Systematik und Biologie von *Theobroma cacao* L.

Kakao, *Theobroma cacao* L., bildet mit weiteren 21 Arten die Gattung *Theobroma* der Familie der Malvengewächse (Malvaceae) (LOPES und PIRES, 2014). *Theobroma cacao* L. repräsentiert weltwirtschaftlich gesehen die bedeutendste Art dieser Familie (MOTAMAYOR et al., 2008), da nur sie den zentralen Rohstoff für die Herstellung von Schokoladenprodukten liefert: Rohkakao. Dabei handelt es sich um fermentierte und getrocknete Samen (Kotyledonen) mit Samenschale (Testa) der reifen Kakaofrucht, die botanisch als Trockenbeere zu bezeichnen ist (LIEBEREI und REISDORFF, 2012). Im Handel werden Kakaosamen auch „Kakaobohnen“ genannt (LIEBEREI und REISDORFF, 2012). Nach Rohsius (2007) sind die Früchte im Mittel zwischen 10-30 cm lang und 5-12 cm breit. *Theobroma cacao* L. weist jedoch eine bedeutende Variabilität auf, so dass Fruchtform, -farbe, -größe und -beschaffenheit in Abhängigkeit des vorliegenden Genotyps und Reifegrades sehr unterschiedlich sind. Eine Auswahl heute gängiger Begriffe zur phänotypischen Beschreibung von Kakaofrüchten ist mit entsprechenden Abbildungen in Kapitel 3.1. dargestellt. Die Fruchtschale, bestehend aus Exokarp, Mesokarp und Endokarp, umgibt die in weiß-gelbliches Fruchtfleisch (Pulpa = modifiziertes Mesokarp und Endokarp) eingebetteten 6-50 Samen mit ihrer ledrig anhaftenden Testa (ROHSIUS, 2007; LIEBEREI und REISDORFF, 2012; BAHMANN 2014), deren Anzahl, Größe und Form ebenfalls je nach Varietät stark schwanken. Allen gemein ist jedoch die fünfreihe Anordnung entlang des zentralen Placentastranges. Die Pulpa besteht aus 84,4 % Wasser und 15,6 % Trockenmasse (VOIGT und LIEBEREI, 2014). In dem Übersichtsartikel werden weiterhin folgende Angaben zu den Inhaltsstoffen der Pulpa genannt: 11 % Zucker (mit 4,8 % Fructose und 4,5 % Glucose), 1,6 % Fett, 0,2 % Proteine, 1,3 % Citronensäure, 1-1,5 % Pektine sowie 2-3 % Hemicellulosen (Pentosane) (VOIGT und LIEBEREI, 2014). Frische Kakaokotyledonen enthalten je nach Genotyp 40-60 % Fett (auch „Kakaobutter“ genannt), 14-20 % phenolische Substanzen (Catechin ca. 37 %, Anthocyane ca. 4 %, Proanthocyanidine ca. 58 %) und Alkaloide (0,9-2,3 % Theobromin, 0,2-1,3 % Coffein, ca. 0,4 % Theophyllin) sowie 13-16 % Eiweiße und 6 % Zucker (FRANKE, 1994; SOTELO und ALVAREZ, 2002; PIRES et al., 1998; LOCKWOOD und ESKES, 1996; RUSCONI und CONTI, 2010; VOIGT und LIEBEREI, 2014). In der die Kotyledonen umgebenden Testa ist eine Schicht aus epidermalen Schleimkavernen angeordnet, deren physiko-chemische Eigenschaften von BAHMANN (2014) detailliert untersucht und beschrieben wurden. Der testaassoziierte Schleim (nachfolgend TA-Schleim) enthält neben anderen Eiweißen und Zuckern 3 Proteine mit Schlüsselfunktionen in der Abwehr von phytopathogenen Pilzen: Osmotin, Chitinase und Glucanase (BAHMANN, 2014; FAHRURROZI, 2015). Liegt der TA-Schleim nach pektinolytischem Pulpaabbau frei, weist er unter Zugabe von Wasser ein großes Quellpotential auf und kann durch eine physiko-chemischen Eigenschaften einen drastischen Einfluss auf den Fermentationsverlauf, insbesondere die mikrobielle Aktivität haben.

## 2.2. Geographische Verbreitung von *Theobroma cacao* L.

Seinen Ursprung hat *Theobroma cacao* L. entlang der Ufer der oberen Flussläufe von Orinoco und Amazonas, zwischen Ecuador, Peru, Kolumbien und Venezuela. Noch heute zeichnet sich diese Region durch eine hohe genetische Diversität aus (MOTAMAYOR et al., 2008). Der Kakaobaum wächst rund um den Globus zwischen 18° nördlicher und 15° südlicher Breite (LOPES und PIRES, 2014) und ist ein Unterholzgewächs des tropischen Stockwerkbbaus. Demzufolge gedeiht *Theobroma cacao* L. am besten im Schatten größerer Bäume, die vor intensiver Sonneneinstrahlung und Winden schützen. Durch die saisonal bedingten Klimaschwankungen und die Herkunft in Flussnähe, musste sich der Kakaobaum an ein dynamisches System anpassen, in dem eine Vielzahl anderer Pflanzenarten parallel existiert und der Eintrag organischer Masse das ganze Jahr über hoch ist. Dementsprechend limitieren die Standort- und Klimaansprüche von *Theobroma cacao* L. seinen Anbau auf die Tropen und Subtropen, idealerweise in einem Agroforstsystem mit 1500-2000 mm a<sup>-1</sup> Niederschlag und durchgehend warmen Temperaturen (möglichst 24-28 °C) (LIEBEREI und REISDORFF, 2012; ICCO, 2013). WOOD und LASS (2001) zitieren verschiedene Studien, welche die Auswirkung kühler Temperaturen auf den Flächenertrag untersucht haben. Je nach Region gibt es unterschiedliche Angaben zu Minimumtemperaturen. Allen gemein ist jedoch, dass nur wenige Tage von 10 °C den Flächenertrag signifikant verringern.

Im Handel und in der Industrie wird Rohkakao bis heute entsprechend seiner Herkunft in 4 Guppen eingeteilt (Tab.1). Aufgrund der Studien zur genetischen Differenzierung von *Theobroma cacao* L. (MOTAMAYOR et al., 2008) ist diese Einteilung allerdings wissenschaftlich gesehen nicht mehr tragbar.

**Tab. 1: Handelsübliche Gruppierungen von Rohkakao (basierend auf ROHSIUS, 2007 und AFOAKWA, 2014):**

➤ <i>Criollo</i>	kaum noch existent besonderes Feinaroma mit nussigen Noten weiße/hellbrechende Samen (keine Flavonoide) anfällig für Pathogenbefall geringe Produktivität hoher Coffeingehalt „Porcelana“ und „Pentagona“ (reinerbige Criollos aus Venezuela)
➤ <i>Forastero</i>	weltweit am meisten angebaut, „Konsumkakao“ ertragreich hohe Krankheitsresistenz keine Feinaromen, dafür ausgeprägtes Schokoladenaroma („kakaobetont“) hoher Theobromingehalt je nach Herkunft teilweise Unterscheidung zwischen Lower Amazon Forastero (LAF), Upper Amazon Forastero (UAF), West African Amelonado (WAA)
➤ <i>Trinitario</i>	Hybrid aus <i>Criollo</i> und <i>Forastero</i> ; heute gängigster Feinkakao kann sowohl weiße, rosa, als auch violette Samen aufweisen hohe Produktivität hohes Resistenzpotential Feinaromen vorhanden, insbesondere fruchtig-blumige Noten

- *Nacional*<sup>1</sup> Genotyppopulation in Ecuador  
besonderes Feinaroma, blumig  
erhöhtes Samengewicht

Die ICCO (*International Cocoa Organization*), mit Sitz in London, veröffentlicht im sogenannten „Annex C“ des Internationalen Kakao-Übereinkommens (*International Cocoa Agreement*) eine Liste mit den Ländern, die offiziell als Feinkakaoproduzenten anerkannt sind. Der Anteil von Feinkakao an der gesamten Kakaoproduktion eines jeweiligen Landes, wird im Abstand weniger Jahre aktualisiert. Für den Handel ist diese Liste von zentraler Bedeutung, da Hersteller Schokoladenprodukte nur als „Edel“ bezeichnen dürfen, wenn sie Feinkakao aus diesen international festgelegten Ländern enthalten (ICCO, 2015; KAUFMANN-HORLACHER, 2008).

Die historische und geographische Verbreitung von *Theobroma cacao* L. aus dem Ursprungsgebiet in andere Kontinente und tropische Länder wurde detailliert von ROHSIUS et al. (2010) zusammengefasst.

Es wird vermutet, dass der erste Verbreitungsweg durch Menschen in Richtung Mittelamerika erfolgte und die Selektion auf dem (Fein-)Aroma der Kakaopulpen basierte – und nicht auf den Eigenschaften der Kotyledonen (YOUNG, 2007). Dementsprechend sind zunächst einzelne Früchte aromatischer Criollokakaos in Richtung Norden bis nach Mexiko verbreitet- und dort von Urvölkern domestiziert worden. Erst mit der zunehmenden Kolonialisierung Lateinamerikas durch die Spanier dehnte sich der Kakaoanbau in Richtung Süden aus. Da Kakaosamen rekazitnant sind, d.h. keine Samenruhe besitzen und bei Austrocknung ihre Keimfähigkeit verlieren, ist die Verbreitung über größere Distanzen hinweg wahrscheinlich durch Jungpflanzen erfolgt (CHEESMAN, 1944).

Im 17. Jahrhundert kam es zu einem zweiten wichtigen Verbreitungsschritt in der Geschichte von *Theobroma cacao* L., der wahrscheinlich auf natürlichem Wege erfolgte (LIEBEREI, 2013). Dabei gelangen robuste und ertragreiche „Forastero“-Kakaos aus dem ursprünglichen Genzentrum in Richtung Nord-Brasilien und die Guayanas, von woaus sie im 18. Jahrhundert mit Schiffen in Richtung Westafrika transportiert wurden und sich so aus ursprünglichen LAFs u.a. die Gruppe der heutigen WAAs bildete (ROHSIUS, 2007).

Von Mittelamerika und Venezuela aus gelangen Criollokakaos auf die karibischen Inseln und in diesem Zusammenhang auch nach Trinidad, wo erstmals aromatische Criollokakaos mit selektierten LAFs gekreuzt wurden und Trinitario-Varietäten entstanden. Letztere wurden zunehmend im zentralamerikanischen Raum verbreitet und von dort aus über den Pazifik nach Südostasien bis nach Madagaskar verschifft, so dass sich mit den Jahrzehnten ein Anbau aromatischer Feinkakaos in

---

<sup>1</sup> wird häufig auch als „Arriba“ oder „Arriba-Nacional“ bezeichnet

diesen Regionen etablierte (ROHSIUS, 2007). Noch heute zeichnet sich Rohkakao aus Java<sup>2</sup> oder Madagaskar durch ein besonderes Aroma aus.

Durch ihre hohe Anfälligkeit sind Criollos mit den Jahren zunehmend durch produktivere und robustere Sorten verdrängt worden, so dass gegenwärtig kaum noch reine Criollos mit weißen Kotyledonen zu finden sind. Ausnahmen stellen „Porcelana“ und „Pentagona“ aus Venezuela (Tab.1) sowie einzelne wilde Kakaotypen in Mittelamerika dar.

Nach MOTAMAYOR et al. (2008) lassen sich genetisch nur noch die ursprünglichen reinerbigen Criollos eindeutig von den anderen Kakaos abgrenzen. Mittels molekularer Marker konnten die Autoren aufzeigen, wie es durch natürliche Hybridisierung zu einer großen Vermischung genetischer Merkmale gekommen ist, so dass eine Einteilung von Kakaotypen nach ihrem geographischem Ursprung aus wissenschaftlicher Sicht nicht mehr zulässig ist. Die Autoren nennen insgesamt 10 Cluster in die sich Kakaotypen in Mittel- und Südamerika einordnen lassen: Amelonado, Contamana, Criollo, Curaray, Guiana, Iquitos, Marañon, Nacional, Nanay, Purús (MOTAMAYOR et al., 2008). VAN DER KOOIJ (2013) diskutiert im Zusammenhang mit einer Marktstudie zu Feinaromakakao durch das *Royal Tropical Institute (KIT)* und die russische Handelsgesellschaft *Inforum*, die Bedeutung der Gruppierungen nach MOTAMAYOR et al. (2008) für die Definierung von Feinkakao im Handel.

### **2.3. Historische Entwicklungen im globalen Rohkakaohandel**

Der internationale Rohkakaohandel begann im 16. Jahrhundert, mit der Eroberung des Aztekenimperiums durch die Spanier und der zunehmenden Kolonialisierung Lateinamerikas (YOUNG, 2007; PRABHAKARAN NAIR, 2010). 1530 führte Hernán Cortés dem spanischen Königshof das bittere Kakaogetränk der Azteken „*chocolatl*“ vor, welches er bei seinen Eroberungsreisen in Mexiko kennengelernt und mitgenommen hatte. Erst ein Jahrhundert später gewann Kakao auch in anderen Ländern Europas an Beliebtheit und der Handel mit Kakaobohnen nahm stetig zu. Aufgrund hoher Importsteuern war Kakao bis ins 19. Jahrhundert ein Luxusgut und stand lediglich den reichen Bevölkerungsschichten zur Verfügung. Erst nachdem die Steuern reduziert und Arbeitsprozesse zunehmend mechanisiert wurden, entwickelte sich Kakao zu einem Rohstoff für die gesamte Bevölkerung (YOUNG 2007). Wegweisend für die Herstellung essbarer Schokolade war der holländische Chemiker van Houten, als er 1828 eine hydraulische Presse zur Gewinnung von Kakaobutter aus gerösteten Kakaobohnen entwickelte (BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009; YOUNG, 2007). Aus Rohkakaomasse, Zucker und Kakaobutter entstand so 1848 die erste essbare Bitterschokolade und 1875 die erste Milkschokolade, hergestellt durch Schweizer Chocolatiers (YOUNG 2007).

---

<sup>2</sup> Rohkakao mit „Java-A“ Qualität ist besonders fein, da er 80 % hellbrechende und nur 20% dunkle Samen enthält.

Mit steigender Nachfrage dehnten sich auch die Kakaoanbauggebiete innerhalb des 10. nördlichen und südlichen Breitengrads (ICCO, 2013) zunehmend aus, im 19. und 20. Jahrhundert entwickelte sich Kakao zu einem wichtigen Cash Crop auf dem Weltmarkt. FAOSTAT (2015) zufolge, belief sich die globale Rohkakaoproduktion im Jahr 2013 auf ca. 4,6 Mio. t (Abb.1). Zwischen 1993 und 2013 kamen durchschnittlich 65,6 % des Rohkakaos aus Afrika, 17,9 % aus Asien, 15,2 % aus Lateinamerika und 1,3 % aus Ozeanien.

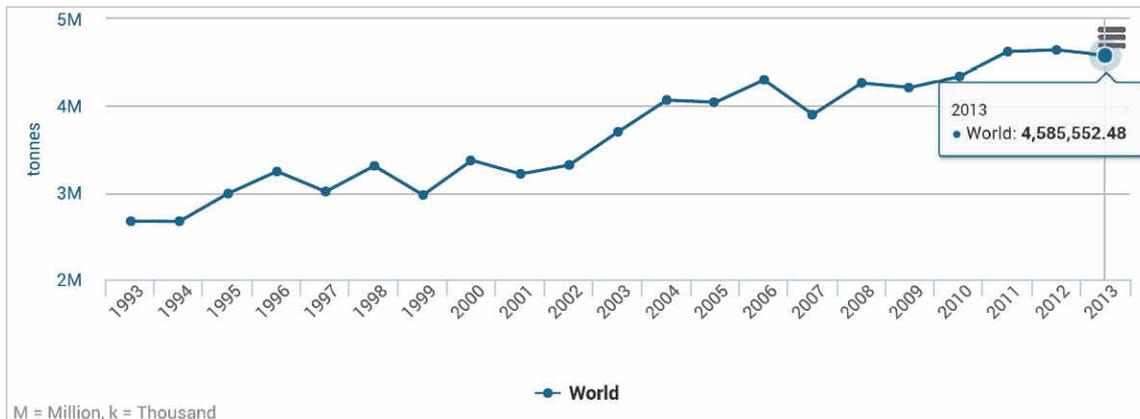


Abb. 1: Durchschnittliche globale Kakaoproduktion in Tonnen (1993-2013) (FAOSTAT, 2015)

Neben Herstellern von Schokoladen in Europa und den USA zeigen heute auch Unternehmen der BRIC Staaten (Brasilien, Russland, Indien und China) und Japan zunehmendes Interesse an Rohkakao, auch Feinkakao (AFOAKWA, 2014; ICCO, 2015). Gründe für die Entwicklung sieht AFOAKWA (2014) in schnellem wirtschaftlichen Wachstum, innovativen Produktentwicklungen und einer wachsenden Mittelschicht, die Wert auf qualitativ hochwertige Produkte legt. Die zur Verfügung stehende Rohkakaomenge zur Weiterverarbeitung variiert in Abhängigkeit von der weltweiten Produktion stark (Abb.2). Spekulationen zu Angebot und Nachfrage an der New Yorker und Londoner Börse, u.a. basierend auf Ernteprognosen und politischen Entwicklungen in den Anbauländern, bewirken teils drastische Schwankungen im Rohkakaopreis: US\$ 1,534 im Erntejahr 2003/2004 und US\$ 3,246 im Erntejahr 2009/2010 (AFOAKWA (2014).

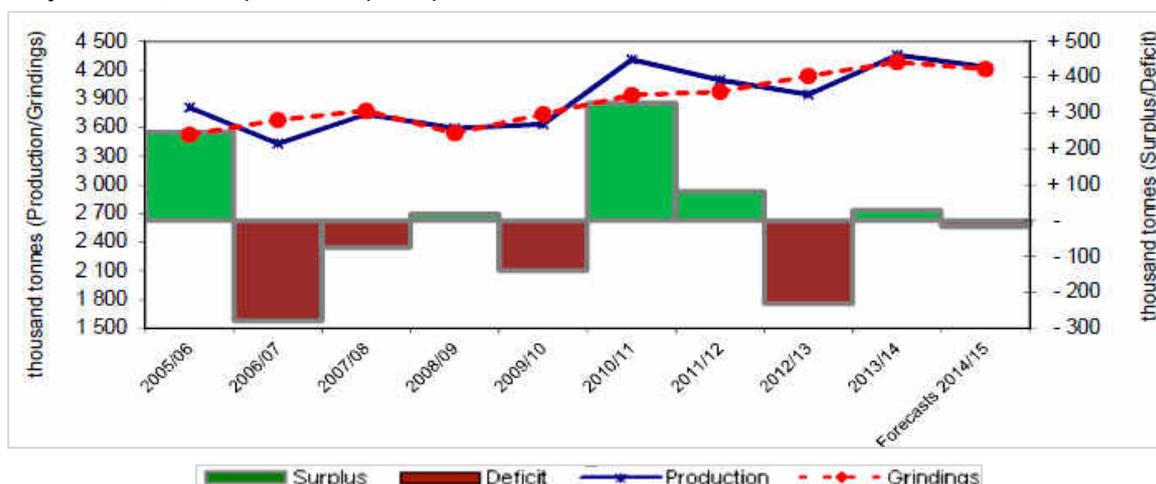


Abb. 2: Dynamik des Angebots und der Verarbeitung von Rohkakao (ICCO, 2015c)

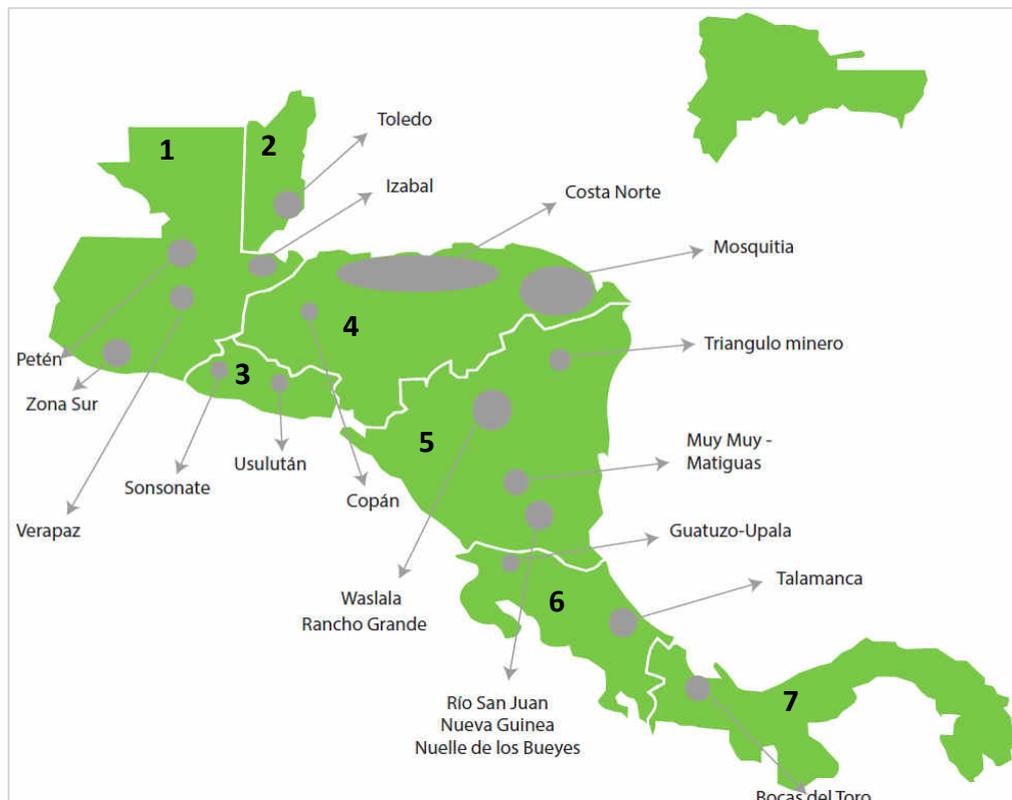
Zu Beginn des 20. Jahrhunderts machten aromatische Feinkakaos (siehe Kapitel 3.2.) noch 40-50 % der damaligen Welternte aus. Gegenwärtig beläuft sich durch Zunahme der Produktion von Massenkakao (Konsumkakao) ihr Anteil lediglich auf 5% (Icoco, 2015). Erst seit einigen Jahren steigt die Nachfrage nach Feinkakaos und qualitativ hochwertigen Produkten stark an (Icoco, 2015; ESKEs et al., 2007). Der Handel mit Feinkakao hat seine eigene Dynamik, da Produzenten und Abnehmer häufig direkt im Ursprung verhandeln. Anders als bei Konsumkakao, dient die Börse hier lediglich zur Preisorientierung. Feinkakaoproduzenten erhalten einen Zuschlag je Tonne Rohkakao. Dieser schwankt je nach Angebot und Nachfrage für die jeweilige Region und die dort angebaute Feinkakaotypen (Icoco, 2015). Diese Prämien werden in London verhandelt und festgelegt.

### 2.4. Kakao in Zentralamerika

Die mittelamerikanische Landbrücke nimmt in der Geschichte von *Theobroma cacao* L. eine wichtige Rolle ein, da hier erstmalig Kakao außerhalb des Ursprungsgebietes angebaut wurde und somit ein wesentlicher Schritt der Domestizierung liegt (WOLTERS, 2006) (s. Kapitel 2.2.). Aufgrund der geringen Landesgrößen und der nutzbaren Kakaoanbauflächen von insgesamt nur 20.000 ha sowie der geringen Flächenerträge ( $150-300 \text{ kg ha}^{-1}\text{a}^{-1}$ ), ist die gegenwärtige gesamte zentralamerikanische Kakaoproduktion (ohne Mexiko) mit ca. 5000 t pro Jahr (SOMARRIBA, 2013) für die Weltwirtschaft mengenmäßig nicht von großer Bedeutung (SOMARRIBA, 2013). Kakao wird zwischen Panama und Guatemala (Abb.3) vorrangig von Kleinbauernfamilien und indigenen Gruppen auf durchschnittlich 0,5-2,4 ha (je nach Land) angebaut (CERDA et al., 2014). Meist handelt es sich um Mischkulturen, in denen Kakao lediglich eine Komponente eines diversen Anbausystems darstellt, das neben stärkehaltigen Nutzpflanzen, wie Reis (*Oryza sativa*), Mais (*Zea mays*), Cassava (*Manihot esculenta*), Süßkartoffel (*Ipomoea batatas*), auch eine Vielzahl an Leguminosen, Holz- und Obstbäumen sowie Gewürzpflanzen enthält (CERDA et al., 2014, SOMARRIBA, 2013). Seit den 1960er Jahren findet man auf den Kakaoplantagen vor allem Trinitario-Varietäten (siehe Kapitel 3.2.), die oft direkt als Sämlinge gepflanzt wurden und damit schnell an Wuchskraft und Resistenz gegenüber verheerenden Krankheiten, insbesondere „Frosty Pod“ (*Moniliophthora roreri*), verloren (SOMARRIBA, 2013).

In zahlreichen Studien wurde der Verbreitungsweg des Pilzes *Moniliophthora roreri* erforscht und von PHILLIPS-MORA und WILKINSON (2007) übersichtlich zusammengefasst. 1956 tauchte der Erreger der „Frosty Pod“-Krankheit erstmals in Panama auf, 1978 in Costa Rica und bereits 2 Jahre später in Nicaragua. In Honduras fand man die ersten befallenen Bäume 1997 und in Guatemala 2002 (Übersichtsartikel PHILLIPS-MORA und WILKINSON, 2007). Mittlerweile hat sich „Frosty pod“ bis nach Belize (2004) und Mexiko (2005) ausgebreitet (PHILLIPS-MORA et al., 2006 a, b).

Die Auswirkungen von „Frosty Pod“ auf den Anbau sind mit 10-100 % Ertragsausfällen verheerend und gefährden die Existenz tausender Kakaoplantagen und damit das Einkommen vieler Kleinbauernfamilien (Übersichtsartikel PHILLIPS-MORA und WILKINSON, 2007).

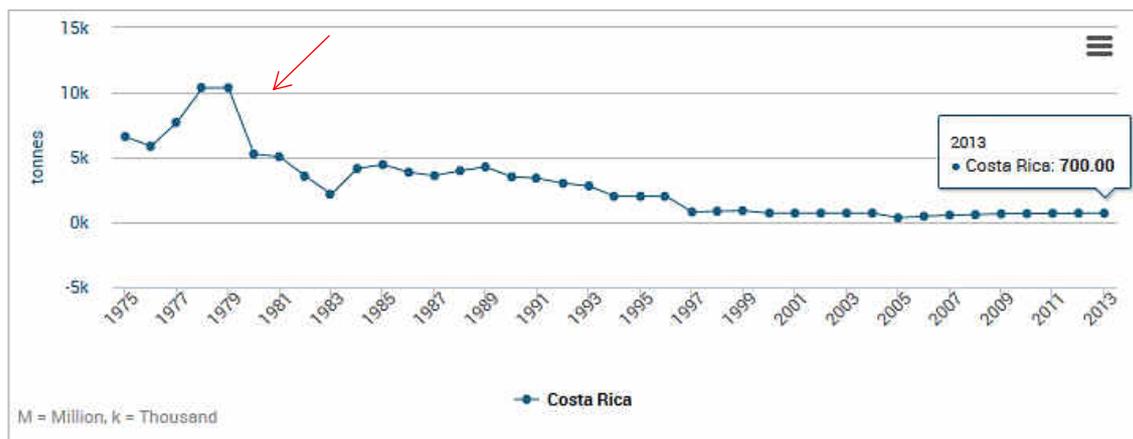


**Abb. 3: Kakaoanbau in ruralen Regionen Zentralamerikas (nach SOMARRIBA, 2013, modifiziert)**  
 1=Guatemala / 2= Belize / 3=El Salvador / 4= Honduras / 5=Nicaragua / 6=Costa Rica / 7=Panama

In Costa Rica hat „Frosty Pod“ den Kakaoanbau zu Zeiten seiner höchsten Produktivität getroffen und innerhalb von 5 Jahren mehr oder weniger zum Erliegen gebracht (Abb.4): während die Gesamtproduktion 1978 noch bei über 10.000 t lag, brach sie innerhalb von 2 Jahren um 50 % ein, nahm dann langsamer aber stetig ab und erreichte mit 343 t Jahresproduktion ihren Tiefstand im Jahr 2005 (FAOSTAT, 2015). Dank zahlreicher Schulungen von Kleinbauern und Verjüngungsmaßnahmen überalteter Bäume in traditionellen Kakaoplantagen sowie wichtiger Züchtungsfortschritte und der Verbreitung moderner Kakaogenotypen mit hohem Resistenzpotential, ist die Kakaoproduktion in Costa Rica seit 10 Jahren wieder angestiegen und beläuft sich nach FAOSTAT (2015) gegenwärtig auf ca. 700 t. Wichtigste Anbauregionen stellen dabei Guatuzo-Upala (Nordwesten, Richtung Pazifik) und Talamanca (Südosten, Richtung Atlantik) dar (Abb.3).

In der Kakaobranche sorgt man sich aktuell um die Bedrohung mit *Moniliophthora perniciosa*, Erreger der Hexenbesenkrankheit bzw. „witches broom“, welche die Kakaoproduktion in Bahía 1989

komplett einbrechen ließ und weiterhin eine große Gefahr für ganz Südamerika darstellt (PURDY und SCHMIDT, 1996). In den letzten Jahrzehnten ist diese Krankheit auf dem Vormarsch, so z.B. in Ecuador. Bis dato gibt es kaum Informationen zum Befall in Mittelamerika, aber erste Flächen im Süden Panamas sind betroffen und es besteht akute Gefahr einer Ausbreitung dieser Krankheit Richtung Norden (SOMARRIBA, 2013). Demzufolge sind weitere Züchtungsarbeiten, wie sie u.a. am CATIE ausgeführt werden, mit Selektionsdruck auf Resistenzeigenschaften und hohem Ertragspotential für die Zukunft des Kakaoanbaus unabdingbar.



**Abb. 4: Rohkakaoproduktion in Costa Rica zwischen 1975 und 2013 (FAOSTAT, 2015)**

1978 (roter Pfeil): *Moniliophthora roreri*, Erreger der „Frosty Pod“-Krankheit des Kakao, erreicht Costa Rica während produktivster Phase (über 10.000 t). Signifikante Ernteverluste reduzieren die Kakaoproduktion innerhalb von 2 Jahren auf die Hälfte. Bis 1997 nimmt die Produktion ab und verbleibt anschließend fast konstant bei ca. 700 t. 1996: Beginn des Kooperationsprojekt am CATIE zur Selektion resistenter Kakaogenotypen. 2007: Verbreitung der neuen Kakao-Selektionen in Zentralamerika.

## 2.5. Verbesserung der genetischen Kakaoqualität am CATIE, Costa Rica

Mit 1170 verschiedenen Kakaogenotypen beherbergt das CATIE heute die zweitgrößte Kakaokollektion (IC3)<sup>3</sup> der Welt (Stand: Februar 2013, PHILLIPS et al., 2013). Im Rahmen des *Programa Mejoramiento Genético del Cacao* (PMG, Programm zur genetischen Verbesserung von Kakao) wird unter der Leitung von Dr. Wilberth Phillips die Heterogenität der Kollektion zur Entwicklung neuer Kakaoklone genutzt, die sich durch besondere Eigenschaften von anderen Genotypen abheben. Bisher lag der Selektionsdruck vorrangig auf einer hohen Resistenz gegenüber den vorherrschenden Pilzkrankheiten „Frosty Pod“ bzw. Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) und „Black Pod“ bzw. Phytophthora (insbesondere *Phytophthora palmivora*) sowie auf einem hohen Ertragspotential (PHILLIPS et al., 2013). Bereits von anderen Kulturpflanzen (z.B. Getreide, Erdbeere) ist bekannt, dass ein starker Selektionsdruck auf Ertrag oder Resistenz häufig mit einer Abnahme der sensorischen

<sup>3</sup> IC3 steht für *International Cocoa Collection*. Im Klonkatalog des CATIE (PHILLIPS et al. 2013) wird die IC3 detailliert beschrieben. Die weltweit größte Kakaokollektion befindet sich an der University of the West Indies, Trinidad und Tobago.

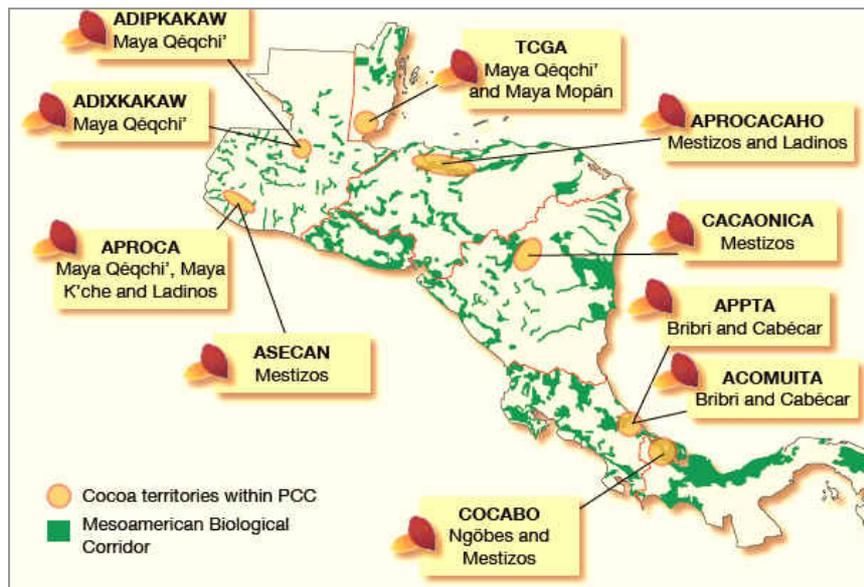
Qualität einhergeht, da hier oft eine negative Korrelation vorliegt (KUCKUCK et al., 1985; ULRICH et al., 1997). ULRICH et al. (2007) nennen im Zusammenhang mit der Züchtung von *Fragaria* eine Kombination aus hoher genetischer Diversität und effizienten Züchtungsmethoden als Basis für den Erhalt der sensorischen Qualität bei gleichzeitiger Erhöhung der Resistenz. Aufgrund der großen Heterogenität der IC3 (s.o.) und der langjährigen Züchtungserfahrung von Dr. Wilbert Phillips, konnte der Selektionsdruck in den letzten Jahren auf Eigenschaften ausgeweitet werden, die den Geschmack des Endprodukts Schokolade maßgeblich beeinflussen - wie beispielsweise das Feinaromapotential oder der Gehalt an Polyphenolen, Fetten und Proteinen in den Kotyledonen (PHILLIPS et al. 2013). Aktuell wird die Abteilung der Qualitätsforschung am CATIE intensiv ausgebaut und mit einem Speziallabor zur Probeschokoladenherstellung ausgestattet (persönl. Kommunikation PHILLIPS, CATIE, April 2015).

Im Jahre 1996 wurde mit der Unterstützung des ACRI (American Cocoa Research Institute) und später WCF (World Cocoa Foundation), USDA/MARS und Bioversity/CFC ein Forschungsprojekt etabliert, welches eine detaillierte Untersuchung und Beschreibung der genetischen Diversität der Kakaokollektion IC3 (s.o.) vorsah, sowohl auf agro-morphologischer als auch molekularer Ebene (PHILLIPS et al., 2013). Im Rahmen dieses Projektes, wurden auf insgesamt 30,3 ha Grundfläche an zwei verschiedenen Standorten (zentrales Hochland und Atlantikküste) 35 verschiedene Klonversuche etabliert. Bis heute dienen 17 dieser Versuchsreihen als Basis für monatliche Datenerhebungen und -evaluierungen zum Ertragspotential sowie zu phänotypischen Merkmalen und Resistenzeigenschaften (PHILLIPS et al. 2013). Letztere werden hauptsächlich im Experiment „L6“ untersucht, welches zwischen 1998 und 1999 im Versuchsstandort „La Lola“ angelegt wurde. Es besteht aus 42 Kakaoklonen, die in jeweils 4 Wiederholungen mit je 8 Bäumen im Abstand von 3 m x 3 m auf 1,5 ha randomisiert gepflanzt sind (PHILLIPS et al. 2013).

2007 führten die über 11 Jahre gesammelten Studienergebnisse zur Auslese und Freigabe von 6 leistungsstarken Kakaogenotypen (PHILLIPS et al. 2013), die Grundlage dieser Arbeit sind und im Rahmen des *Proyecto Cacao Centroamerica* (PCC) in Mittelamerika verbreitet wurden, um ihr Verhalten in anderen Umwelten zu prüfen und die Produktivität der dortigen Kakaopflanzungen zu steigern (SOMARRIBA, 2013) (Abb.5): CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1)<sup>4</sup> und CC-137. Die Vermehrung und Distribution des Pflanzmaterials erfolgt heute auf nationaler Ebene durch angelegte Klongärten in den jeweiligen Ländern. Die Kakaoklone werden im Detail in Kapitel 3.1 vorgestellt.

---

<sup>4</sup> Bei ICS-95 handelt es sich um einen Klon aus Trinidad (Imperial College Selections). T1 steht für Typ 1 und bedeutet, dass er sich zwar auf molekularer Ebene nicht vom Originalgenotyp unterscheidet, im Rahmen der zahlreichen Selektionen am CATIE aber aufgebessert wurde.



**Abb. 5: Partnerkooperativen und Institutionen des *Proyecto Cacao Centroamerica* (CATIE, 2015, modifiziert)**  
 Von Norden nach Süden: APROCA und ADIPKAKAW (Guatemala), TCGA (Belize), APROCACAO (Honduras), CACAONICA (Nicaragua), APPTA und ACOMUITA (Costa Rica), COCABO (Panama). Unterhalb der Kooperativen bzw. Institutionen stehen die Namen der jeweils beteiligten Ethnien verschiedener kultureller Hintergründe.

## 2.6. Nacherntebehandlungen bei *Theobroma cacao* L.

### 2.6.1. Fermentation

#### 2.6.1.1. Bedeutung und Biochemie

Im frischen Zustand sind Samen von *Theobroma cacao* L. bitter und adstringierend. Diese Eigenschaften beruhen vorrangig auf ihrem hohen Gehalt phenolischer Substanzen (ELWERS, et al. 2009). Kakaosamen müssen zunächst fermentiert und getrocknet werden, um die Vorstufen für späteres Schokoladenaroma zu bilden. Bei den Aromavorstufen handelt es sich um reduzierende Zucker, freie Aminosäuren und hydrophile Oligopeptide, die auf endogene Inhaltsstoffe der Kotyledonen zurückzuführen sind und erst während der Nacherntebehandlung entstehen (AFOAKWA et al., 2008; PETTIPHER, 1986, zitiert in VOIGT und LIEBEREI, 2014; SCHWAN und WHEALS, 2004; THOMPSON et al., 2001, ZIEGLER, 1994). In frischen Kakaokotyledonen sind die Speicherproteine Albumin und 7S Globulin (Vicilin) sowie Stärke in Vakuolen- und Lipide in Oleosomen der Mesophyllzellen eingelagert (ROHSIUS, 2007). Polyphenole und Alkaloide (Coffein, Theobromin, Theophyllin) befinden sich in Idioblasten desselben Speichergewebes (ELWERS, 2008; SOTELO und ALVAREZ, 2002). Eine Vielzahl hydrolytischer Enzyme (wie Proteasen oder Invertasen) sind im Kotyledonengewebe vorhanden, wobei die Proteasen in intaktem Zustand mit den Speicherproteinen co-lokalisiert sind und andere Hydrolasen - wie generell in Pflanzen - in kleinen lytischen Vakuolen vorliegen (TAIZ und ZEIGER, 2007). Während der ersten 48 h der Fermentation wandeln Hefen Pulpazucker in Ethanol um und geben

pektinolytische Enzyme ab, die den Abbau von Pektinen der Mittellamellen und Zellwände katalysieren und zu einer Verflüssigung der Pulpa führen (SCHWAN und WHEALS, 2004; KADOW et al., 2015). Auch die Citronensäure der Kakaopulpa wird von den Hefen metabolisiert (WOOD und LASS, 2001; SCHWAN und WHEALS, 2004). Fast zeitgleich sind homofermentative und heterofermentative Milchsäurebakterien (LAB) aktiv, um Pulpazucker zur ATP-Gewinnung zu nutzen. Nach FUCHS (2014), ist die Energieausbeute pro Mol Glucose bei homofermentativen LAB höher: es entstehen 2 Mol Lactat und 2 Mol ATP. Heterofermentativen LAB fehlen zentrale Enzyme der Glykolyse (Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase, Triosephosphat-Isomerase) sodass Glucose über den Pentosephosphatweg abgebaut wird und aus 1 Mol Glucose 1 Mol Lactat, 1 CO<sub>2</sub>, 1 Ethanol und 1 Mol ATP entstehen (KRÄMER, 2011). Anstelle von Ethanol kann Acetat gebildet werden, wenn ein Elektronen Akzeptor zur Re-Oxidation von NADH<sub>2</sub> zur Verfügung steht. So kann Fructose durch NADH<sub>2</sub> zu Mannitol reduziert werden. Unter diesen Bedingungen werden auch durch heterofermentative LAB beim Abbau von 1 Mol Glucose 2 Mol ATP gebildet (KRÄMER, 2011). Sowohl homo- als auch heterofermentative LAB zeigen geringe Wachstumsraten und rufen keine stark exothermen Reaktionen hervor wie Essigsäurebakterien. Dies hat zur Folge, dass die Fermentationstemperatur in der anaeroben und mikroaeroben Phase (während der ersten 48 h nach Fermentationsbeginn) nur leicht ansteigt. Der mit dem Pulpaabfluss eintretende Sauerstoff und die hohen Ethanolkonzentrationen in der Kakaomasse führen zur Beendigung der anaeroben Stoffwechselschritte durch Hefen und zur Hemmung der Hefen durch TA-Schleim (s. Kapitel 3.1. sowie BAHMANN, 2014; FAHRURROZI, 2015). Am 3. Tag machen sie nur noch ca. 10 % der mikrobiellen Population aus (BIEHL et al., 1984, zitiert in THOMPSON, MILLER und LOPEZ, 2001). Essigsäurebakterien finden optimale, zunehmend aerobe Bedingungen vor und dominieren schließlich ab der ersten Wendung des Samenmaterials die Kakaofermentation (SCHWAN und WHEALS, 2004). Die Umwandlung des Ethanols in Essigsäure geschieht exergonisch, d.h. unter Freisetzung von Energie, welche die Temperaturen innerhalb der Fermentationsmasse auf über 50 °C ansteigen lässt (CAMU et al., 2008; THOMPSON, MILLER und LOPEZ, 2001; WOOD und LASS, 2001). Hitze, kombiniert mit dem Eintritt der Säuren durch die Mikropyle und später durch die mazerierte Testa in die Kotyledonen (BAHMANN, 2014; VOIGT und LIEBEREI, 2014; ROHSIUS et al., 2006), bewirkt eine Auflösung der inneren Zellkompartimente sowie eine Abnahme des pH-Werts und damit das Absterben des Embryos (BIEHL et al., 1982; KADOW et al., 2015). Schlüsselenzyme (Aspartylendoprotease, Carboxypeptidase, Polyphenoloxidase) werden aktiviert bzw. synthetisiert (z.B. Invertase) und katalysieren den Abbau von Speicherstoffen (7S Globulin (Vicilin), Polyphenole) und Saccharose in Abhängigkeit vom pH-Wert der Kakaokotyledonen (BIEHL et al., 1982; HANSEN et al., 1998; VOIGT et al., 1994 a, c; THOMPSON, MILLER und LOPEZ, 2001). Bei pH 3,4 hat Aspartylendoprotease ihr pH-Optimum und spaltet das Protein 7S Globulin (Vicilin) spezifisch in hydrophobe Oligopeptide (VOIGT et al., 1994 c). Diese werden mit steigendem pH-Wert durch

Carboxypeptidasen (Optimum pH 5,8) in hydrophobe Aminosäuren und hydrophile Peptide gespalten (VOIGT et al., 1994 b, c). Neben der Bildung von Vorstufen für das spätere Schokoladenaroma, kommt es durch Oxidation der Polyphenole zu einem Abbau der Adstringenz und Bitterkeit. Solche enzymatischen Polyphenoloxidationen sind pH-abhängig und rufen die Entstehung polymerer Komplexe hervor, die Kakaosamen ihre typisch braune Farbe verleihen (VOIGT und LIEBEREI, 2014; KADOW et al., 2015).

Die Fermentationstemperatur stellt einen wichtigen Indikator für die Prozesse innerhalb der Fermentationsmasse dar. Sie sinkt, sobald die Aktivität der Essigsäurebakterien durch Substratmangel vermindert wird. Nach SCHWAN und WHEALS (2004) erfolgt dies ca. 112 h nach Fermentationsbeginn. Durch die zunehmend aeroben Bedingungen besteht die Gefahr einer mit der Produktion von biogenen Aminen verbundenen Überfermentation und einer potentiellen Anreicherung von Fäulnisbakterien. Die durch Decarboxylierung freier Aminosäuren entstehenden biogenen Amine verleihen Rohkakao Fehlparfums und mindern dadurch seine Qualität (LOPEZ und QUESNEL, 1973; SCHWAN und WHEALS, 2004).

### 2.6.1.2. Ablauf

Die Fermentationsdauer variiert je nach Genotyp, Standortbedingungen und Fermentationsmethode (AFOAKWA et al., 2008). In der Literatur gibt es verschiedene Angaben, meist werden zwischen 2-4 Tage bei feinaromatischen Criollo- und Nacionalkakaos und 5-6 Tage bei Trinitarios genannt. Robuste Varietäten mit großen Mengen phenolischer Substanzen (vor allem Lower-Amazon-Forastero-Typen, LAFs) werden sogar bis zu 10 Tage fermentiert (ROHSIUS, 2007; PRABHAKARAN NAIR, 2010; AFOAKWA et al., 2008). Zunächst werden die geernteten Früchte aufgeschlagen - dies geschieht meist direkt im Feld - und das gesunde Samenmaterial samt Fruchtfleisch entnommen. Bereits an dieser Stelle kann inadäquates Management die resultierende Rohkakaoqualität maßgeblich mindern. Placenta- oder Fruchtschalenreste, kranke Samen oder andere Fremdbestandteile beeinträchtigen den Fermentationsverlauf und ergeben ungleichmäßig fermentiertes Kakaomaterial. Demzufolge sollte bereits bei Fermentationsbeginn auf die Sauberkeit der Samenmasse geachtet werden. Je nach Fermentationsmethode (s. Kapitel 2.6.1.3) werden die frischen Kakaosamen zunächst mit Blättern lokaler Bananensorten (*Musa x paradisiaca* L.) bzw. der Kochbanane, „Plantain“ (*Musa x sp.*) und abschließend mit Jute- oder Sisalsäcken bedeckt.

### 2.6.1.3. Methoden

In Abhängigkeit von Produktionsmenge, Genotyp, finanziellen Ressourcen, Standort und Tradition wird Kakao auf verschiedene Art und Weise fermentiert. Methoden, die wenig materiellen Input benötigen, wie Haufen-, Korb- oder Sackfermentationen, findet man häufig auf Kleinbauernplantagen in Westafrika, Lateinamerika und den Philippinen (AFOAKWA, 2014). Dort, wo der Staat die Kakaoproduktion reguliert, Kakaobauern zu Verbänden zusammengeschlossen sind oder die wirtschaftliche Situation es erlaubt, wird das Samenmaterial nach ROHAN (1958) in Schubladen („Trays“) oder in Holzkisten (AFOAKWA, 2014; WOOD und LASS, 2001) fermentiert, die sehr unterschiedliche Maße haben können. Dementsprechend beläuft sich das Fassungsvermögen einer Holzkiste auf 25-1000 kg Frischkakako (AFOAKWA, 2014). „Tray“-Fermentationen sind insbesondere in Westafrika üblich und basieren auf den Erkenntnissen von ROHAN und ALLISON (1958). Die Autoren haben beobachtet, dass die oberen 8-10 cm der Samenschicht schneller fermentieren als die in unteren Lagen und somit die Fermentationsmasse lediglich 10 cm dick sein sollte, um die Dauer auf ca. 4 Tage zu minimieren (WOOD und LASS, 2001). Folglich werden heute zwischen 6 und 12 Schubladen (je 90 cm x 60 cm x 13 cm) mit Frischkakao gefüllt und übereinandergestapelt fermentiert (WOOD und LASS, 2001; AFOAKWA, 2014; PRABHAKARAN NAIR, 2010). Vergleichsstudien von Holzkisten- und „Tray“-Fermentationen haben allerdings gezeigt, dass das Samenmaterial bei Letzteren sehr heterogen fermentiert und aufgrund einer erhöhten Sauerstoffzufuhr schneller von Schimmelpilzen besiedelt wird (HEGMANN, 2012). Im Zusammenhang mit „Tray“-Fermentationen wird auf die Gefahr von Schimmelbildung (WOOD und LASS 2001) bzw. ungleichmäßige Fermentationsgrade der resultierenden Rohkakaosamen (AFOAKWA, 2014) auch in anderer Literatur hingewiesen. Nach PRABHAKARAN NAIR (2010) sind Haufen-, Schubladen- und Holzkistenfermentationen heute die gängigsten Methoden, meist mit einer etagenförmigen Anordnung der Holzkisten („Kaskadenfermentation“) (AFOAKWA, 2014).



**Abb. 6: Fermentationsmethoden bei Kakao**

Oben links (FORESTFINANCE, 2010, modifiziert): Fermentationstabletts nach ROHAN (1958) am CATIE in Costa Rica.

Oben rechts (GUITTARD, 2015; modifiziert): Korbfermentation.

Unten: 2014 errichtetes, modernes Fermentationshaus mit etagenförmiger Anordnung der Kisten („Kaskade“) in der Finca Peralta, Hacienda Azul S.A Costa Rica.

### 2.6.2. Trocknung

Im Anschluss an die Fermentation müssen Kakaosamen getrocknet werden, um den Feuchtegehalt der Kotyledonen auf 6-8 % zu verringern (AFOAKWA et al., 2008). Bei höheren Konzentrationen besteht die Gefahr der Schimmelbildung im Kotyledonengewebe während der Lagerung und des Transports (PRABHAKARAN NAIR, 2010) und damit einer potentiellen Bildung von Mykotoxinen, die gesundheitsschädigend und qualitätsmindernd sind. Bei der Trocknung steht zwar die Verminderung des Feuchtegehalts der Kakaosamen im Vordergrund, sie ist aber auch nicht unwesentlich an der Ausbildung der Aromaqualität des Rohkakaos beteiligt, da noch während der Trocknung wichtige biochemische und enzymatische Reaktionen fortschreiten (AFOAKWA et al., 2008; PRABHAKARAN NAIR, 2010). Ähnlich wie bei der Fermentation, variieren auch die Trocknungsmethoden sehr. Traditionell trocknen Kakaosamen in der Sonne. Dazu werden sie auf Beton-/Holzböden, Matten, Tischen, ausziehbaren Rollbetten oder sogar auf dem Asphalt am Straßenrand ausgebreitet (Abb.7). In regenreichen Monaten sind die Sonnenstunden reduziert und eine Wiederbefeuchtung der trocknenden Kakaosamen durch plötzliche Zenitalniederschläge kann sich verheerend auf die

Rohkakaqualität auswirken. Folglich findet man in Großplantagen oder Kooperativen teilweise Trocknungstische mit (mobilen) Plastikdächern („Solar dryer“, Abb.7), die oben und an den Seiten geöffnet sind, um eine konstante Luftzirkulation zu ermöglichen (Rohsius, 2007; BONAPARTE et al., 1998). Basiert die Trocknung ausschließlich auf Hitze (über 60 °C), besteht die Gefahr einer zu schnellen Schließung der Testa und folglich einer Verminderung des Säureaustritts aus den Kotyledonen sowie einer Abnahme der Oxidationsprozesse phenolischer Substanzen (Bräunungsreaktionen) (SCHWAN und WHEALS, 2004; JINAP et al., 1994; AFOAKWA et al., 2008). Nach RODRIGUEZ-CAMPOS et al. (2011) wirken sich Temperaturen bis 70 und 80 °C nicht negativ auf den Gehalt volatiler Aromakomponenten im Rohkakao aus. Stark beeinträchtigt wird der Geschmack jedoch durch die Verwendung von Öfen, die durch Holzverbrennung erhitzt werden (ROHSIUS, 2007; BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009). Hier können sogenannte „off-flavour“ (meist als schinkig beschrieben) die Qualität des resultierenden Rohkakaos maßgeblich mindern. Ähnliche Fremdaromen entstehen auch bei einer Besiedlung der trocknenden Samen durch Schimmelpilze und Fäulnisbakterien (FOWLER, 1995 und NEY, 1992, zitiert in ROHSIUS, 2007). Folglich sollte das Samenmaterial regelmäßig gewendet werden, um eine gleichmäßige Abtrocknung und damit hohe Rohkakaqualität garantieren zu können.



**Abb. 7: Eine Auswahl an Trocknungsverfahren bei Kakao**

Oben (INDIANA JUNE, 2012; modifiziert): Straßentrocknung, Ecuador.

Unten links: „Solar dryer“ mit Netz-überzogenen Trocknungstischen, Finca Peralta der Hacienda Azul S.A., Costa Rica.

Unten rechts (SMITH und FORBES, 2011): Ausziehbare Trocknungsbetten in der Belmont Estate, Grenada.

### 2.6.3. Waschung von Kakaosamen

In der Literatur werden Waschungen stets im Zusammenhang mit einer Vorbehandlung der Kakaosamen vor Fermentationsbeginn genannt (AFOAKWA et al. 2013, SAID et al. 1990). Bei diesem Vorgang wird das Pulpavolumen reduziert, um den Säuregehalt im Rohkakao zu minimieren. Wie in Kapitel 2.6. beschrieben, ist die Produktion von Säure und ihr Eintritt in die Kakaokotyledonen während der Fermentation, für das spätere Schokoladenaroma unabdingbar. Klimatisch als auch genetisch bedingt, weisen manche Genotypen jedoch große Mengen frischer Pulpa auf, so dass Hefen viel Ethanol für Essigsäurebakterien produzieren können und folglich der Geschmack des Rohkakaos von Säure dominiert wird (AFOAKWA et al. 2013). Wie in Kapitel 2.6.2 beschrieben, kann schnelle Trocknung (z.B. durch unzureichende Luftzirkulation und hohe Außentemperaturen) eine frühzeitige Verschließung der Testa bewirken und damit den gleichmäßigen Austritt von Feuchtigkeit und Säure aus den Kotyledonen verhindern (AFOAKWA 2014, FCC 2015). Durch die Erkenntnisse von BAHMANN (2014) kann allerdings vermutet werden, dass der Stoffaustausch durch den TA-Schleim verhindert wird, da sich dieser wie eine Lackschicht um die Testa legt.

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob durch eine Waschung der fermentierten Samen anhaftende Pulparesten und TA-Schleim entfernt werden können. Es ist anzunehmen, dass dadurch die Oxidation phenolischer Substanzen auch während der Trocknung andauert und sich der Anteil violetter Samen im resultierenden Rohkakao verringert. Der genaue Ablauf der Waschung ist in Kapitel 3.2.2.3.2. beschrieben.

### 3. Material und Methoden

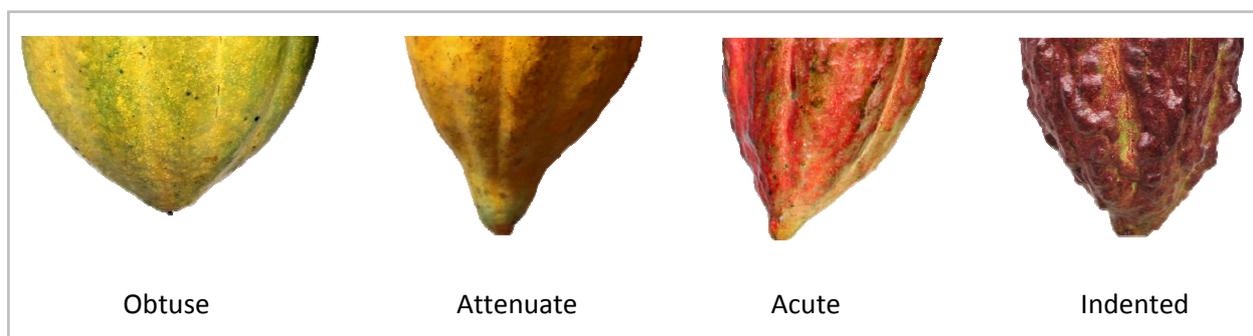
#### 3.1. Material

Im Fokus dieser Arbeit stehen 6 neue Kakaogenotypen, die aufgrund ihres hohen Ertragspotentials und ihrer Krankheitstoleranz gegenüber „Frosty pod“ und „Black pod“ am CATIE, Costa Rica, selektiert wurden (s. Kapitel 2.5.). In diesem Kapitel soll die Heterogenität der Klone anhand verschiedener agro-morphologischer Eigenschaften gezeigt werden. Die Daten wurden der neuesten Auflage des CATIE-Klonkataloges entnommen (PHILLIPS et al., 2013).

Die Kakaoklone PMCT-58 (s. Kapitel 3.1.1.), ICS-95 (T1) (s. Kapitel 3.1.2.), CATIE-R1 (s. Kapitel 3.1.3.), CATIE-R4 (s. Kapitel 3.1.4.), CATIE-R6 (s. Kapitel 3.1.5.) und CC-137 (s. Kapitel 3.1.6.) unterscheiden sich in Form und Farbe ihrer Früchte und Samen. Die Ausprägung der Fruchtspitze und die jeweilige Fruchtform werden anhand der in Abb. 8 bzw. Abb. 9 dargestellten Beispiele beschrieben.

Die Klone PMCT-58 und CC-137 tragen andere Namen, da es sich um Selektionen aus früheren Kreuzungsarbeiten handelt (PHILLIPS et al., 2009). Der Datenbank der Universität Reading zufolge, wurde PMCT-58 erstmals im Jahr 1991 dokumentiert (READING, 2015), dabei steht PMCT für *Programa Mejoramiento de Cultivos Tropicales*. Die CC-Kollektion wird bereits im Zusammenhang mit dem ersten Kakao-Klongarten des CATIE („Cabiria“), im Jahre 1960, genannt (ENGELS, 1981). Dabei gilt für den Genotyp CC-137 das Eintrittsjahr 1979. Das Kürzel CC steht für *Centro de Cacao* bzw. *Cacao Center* (READING, 2015 b).

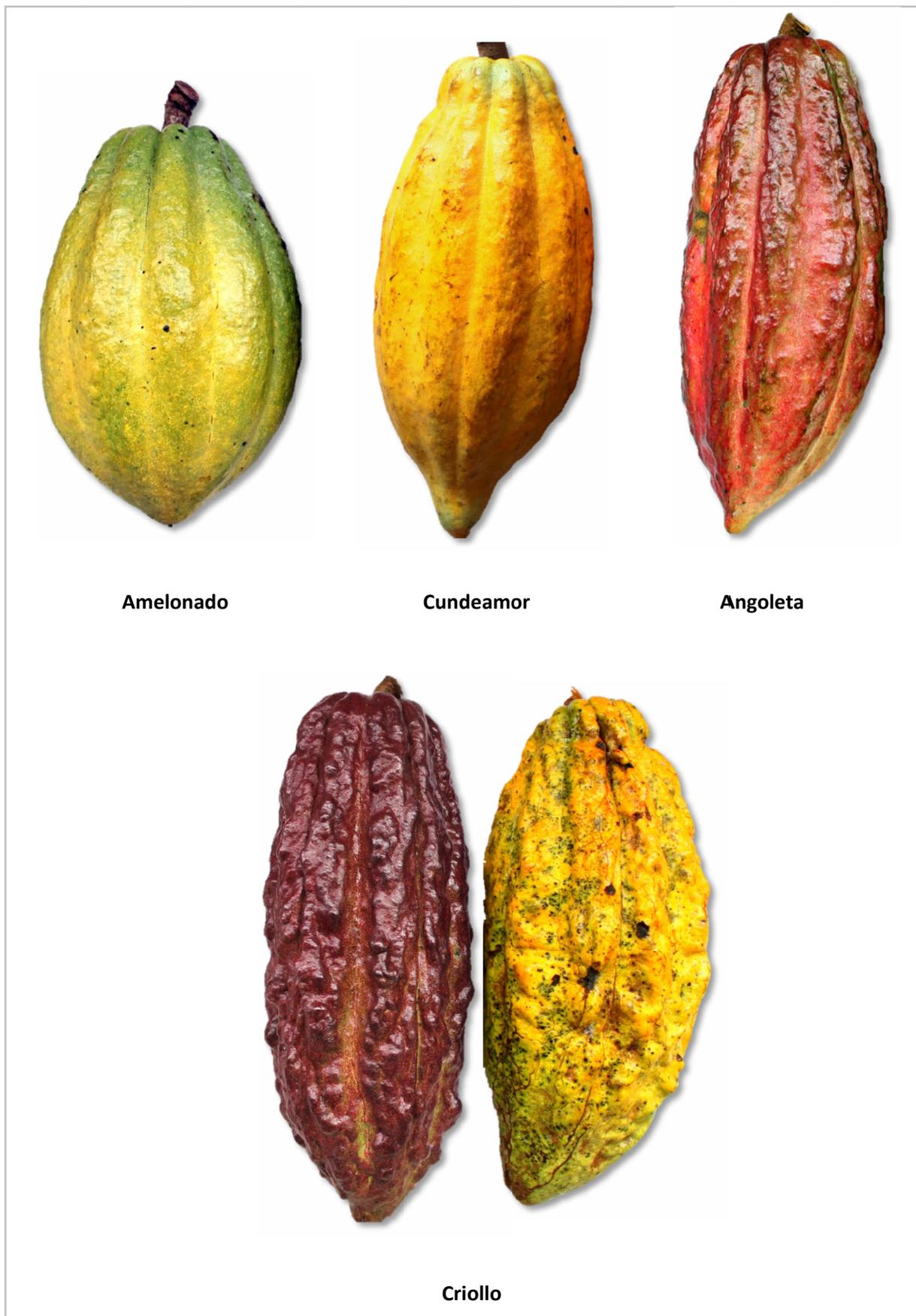
Gemeinsam mit CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und ICS-95 (T1) bilden PMCT-58 und CC-137 die Gruppe der Kakaoselektionen, die heute in verschiedenen Regionen Zentralamerikas angebaut werden (s. Kapitel 2.5.). Die Genotypen CATIE-R4 und CATIE-R6 haben die gleichen Kreuzungseltern und weisen sehr ähnliche Eigenschaften auf. Mit 2070 bzw. 2363 kg ha<sup>-1</sup>a<sup>-1</sup> produzieren sie die größten durchschnittlichen Erträge<sup>5</sup> in der Gruppe der 6 Klone (s. Kapitel 4. 1.4. und 4.1.5.).



**Abb. 8: Eine Auswahl an Formen der Fruchtspitze bei *Theobroma cacao* L.**

Nach PHILLIPS et al. 2013 (modifiziert). *Obtuse*, *Attenuate*, *Acute* und *Intended* sind allgemein gültige Begriffe zur Beschreibung der Fruchtspitzen von *Theobroma cacao* L. Weitere Typen (hier nicht aufgeführt): *Rounded*, *Mamillate*, *Caudate*.

<sup>5</sup> gemittelt über 5 Jahre. Alter der Bäume: 7-11 Jahre



**Abb. 9: Typische Fruchtformen bei *Theobroma cacao* L.**

Nach PHILLIPS et al. 2013 (modifiziert). *Amelonado*, *Cundeamor*, *Angoleta* und *Criollo* sind allgemein gültige Begriffe zur Beschreibung der verschiedenen Fruchtformen von *Theobroma cacao* L. Weitere Typen (hier nicht aufgeführt): *Pentágona* und *Calabacillo*.

3.1.1. PMCT-58



**Abb. 10: Früchte und Samen des Kakaoklons PMCT-58**

Oben: Geerntete Früchte. Mitte (von links nach rechts): 2 unreife Früchte; 2 reife Früchte; 2 überreife Früchte. Unten (von links nach rechts): frische Kakaosamen mit Pulpa; aufgeschnittene, unfermentierte Kakaokotyledonen mit Testa und Pulpa; 6 Tage-fermentierte Samen (nicht getrocknet).

Hintergrundinformationen (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert):

Herkunft: CATIE, Costa Rica  
 Kreuzung: **Trinitario Hybrid von unbekanntem Eltern**  
 Phänotyp: mittlere Größe, variiert stark. Offener Austrieb

Tab. 2: Agronomische Merkmale PMCT-58 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert)

Natürlicher Krankheitsbefall				Artifizielle Inokulationen		Ertrag (kg/ha/a)	
Frosty Pod		Black Pod		<i>Moniliophthora rorei</i> (Frosty Pod)	<i>Phytophthora palmivora</i> (Black Pod)	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre
Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre				
26 %	35 %	4 %	2 %	mäßig anfällig	hoch anfällig	789	1036

Frucht			Kotyledonen	
Farbe	unreif	violett mit hellgrün	Farbe	violett
	reif	orange-gelb	Form	oval
Form	Frucht	Amelonado	Form des Querschnitts	flach
	Apex	Obtuse	Länge (cm)	2,3 ± 0,09
	Basale Verengung (Hals)	gering	Durchmesser (cm)	0,8 ± 0,02
Mesokarp	Rauigkeit	gering	Dicke (cm)	1,1 ± 0,02
	Härte	gering	<b>Indexes</b>	
Andere Eigenschaften	Gewicht (g)	441,1 ± 18,5	Frucht <sup>2)</sup>	27
	Länge (cm)	13,8 ± 0,24	Kakaosamen <sup>3)</sup>	1,2
	Durchmesser (cm)	8,8 ± 0,15	Effizienz <sup>4)</sup>	4,35
	Verhältnis L/D (cm)	1,5 ± 0,02		
Samen	Frischgewicht je Frucht (g)	93,1 ± 4,48		
	Anzahl Samen je Frucht	37 ± 1,32		
Dämme	Dicke (cm)	1,5 ± 0,02		
Furchen	Tiefe (cm)	1,1 ± 0,02		

<sup>2)</sup> Benötigte Anzahl an Früchten zur Produktion von 1 kg Rohkakao. Hoch > 35,0 / Mittel 20,1-35,0/ Niedrig < 20,1 (UWI, 2005)

<sup>3)</sup> Durchschnittliches Einzelsamengewicht bei 100 getrockneten Kakaosamen

<sup>4)</sup> Verhältnis zwischen Baumgröße und Ertrag (Max: >5) (Phillips et al., 2013)

3.1.2. ICS-95 (T1)



**Abb. 11: Früchte und Samen des Kakaoklons ICS-95 (T1)**

Oben: Geerntete Früchte. Mitte (von links nach rechts): unreife Früchte; reife Früchte; überreife Früchte. Unten (von links nach rechts): frische Kakaosamen mit Pulpa; aufgeschnittene Kakaokotyledonen mit Testa und Pulpa (24 h fermentiert); 6 Tage-fermentierte Samen (nicht getrocknet).

Hintergrundinformationen (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert):

**Herkunft:** IMPERIAL COLLEGE, Trinidad und Tobago  
**Kreuzung:** **Unbekannter Trinitario x Criollo Hybrid**  
**Phänotyp:** großwüchsig, blattreich, robust. Offener Austrieb mit schnellem und intensivem Blätterwachstum

Tab. 3: Agronomische Merkmale ICS-95 (T1) (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert)

Natürlicher Krankheitsbefall				Artifizielle Inokulationen		Ertrag (kg/ha/a)	
Frosty Pod		Black Pod		<i>Moniliophthora rorei</i> (Frosty Pod)	<i>Phytophthora palmivora</i> (Black Pod)	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre
Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre				
26 %	32 %	6 %	4 %	mäßig anfällig	mäßig resistent	636	926

Frucht			Kotyledonen	
Farbe	unreif	dunkel violett	Farbe	hell violett
	reif	orange-gelb	Form	ungleichförmig
Form	Frucht	Angoleta-Acriollada	Form des Querschnitts	mittel
	Apex	Acute	Länge (cm)	2,1 ± 0,05
	Basale Verengung (Hals)	gering	Durchmesser (cm)	0,9 ± 0,02
Mesokarp	Rauigkeit	mittel	Dicke (cm)	1,1 ± 0,02
	Härte	mittel	<b>Indexes</b>	
Andere Eigenschaften	Gewicht (g)	589,7 ± 18,54	Frucht <sup>2)</sup>	22
	Länge (cm)	19,7 ± 0,26	Kakaosamen <sup>3)</sup>	1,2
	Durchmesser (cm)	8,5 ± 0,10	Effizienz <sup>4)</sup>	3,79
	Verhältnis L/D (cm)	2,3 ± 0,02		
Samen	Frischgewicht je Frucht (g)	102,0 ± 2,93		
	Anzahl Samen je Frucht	33 ± 0,76		
Dämme	Dicke (cm)	1,7 ± 0,03		
Furchen	Tiefe (cm)	1,2 ± 0,02		

<sup>2)</sup> Benötigte Anzahl an Früchten zur Produktion von 1 kg Rohkakao. Hoch > 35,0 / Mittel 20,1-35,0/ Niedrig < 20,1 (UWI, 2005)

<sup>3)</sup> Durchschnittliches Einzelsamengewicht bei 100 getrockneten Kakaosamen

<sup>4)</sup> Verhältnis zwischen Baumgröße und Ertrag (Max: >5) (Phillips et al., 2013)

3.1.3. CATIE-R1



**Abb. 12: Früchte und Samen des Kakaoklons CATIE-R1**

Oben: Geerntete Früchte. Mitte (von links nach rechts): 2 unreife Früchte; 2 reife bis überreife Früchte. Unten (von links nach rechts): frische Kakaosamen mit Pulpa; aufgeschnittene, unfermentierte Kakaokotyledonen mit Testa und Pulpa; 6 Tage-fermentierte Samen (nicht getrocknet).

Hintergrundinformationen (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert):

Herkunft: CATIE, Costa Rica

**Kreuzung:** **UF-273 (T1) x CATIE-1000<sup>1)</sup>**

Phänotyp: kleinwüchsig, Blattwerk und Austrieb moderat, semi-aufrechtes Wachstum

<sup>1)</sup>CATIE-1000 wurde in den 1970ern aufgrund seiner Produktivität und Toleranz gegenüber Phytophthora aus der Kreuzung Pound-12 x Catongo selektiert.

Tab. 4: Agronomische Merkmale CATIE-R1 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert)

Natürlicher Krankheitsbefall				Artifizielle Inokulationen		Ertrag (kg/ha/a)	
Frosty Pod		Black Pod		<i>Moniliophthora rorei</i> (Frosty Pod)	<i>Phytophthora palmivora</i> (Black Pod)	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre
Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre				
12%	15%	7%	6%	mäßig resistent	anfällig	1066	1674

Frucht			Kotyledonen	
Farbe	unreif	violett, teils mit grün	Farbe	intensiv violett
	reif-überreif	orange mit gelben Bereichen	Form	Oblong
Form	Frucht	Angoleta-Cundeamor	Form des Querschnitts	mittel
	Apex	Attenuate	Länge (cm)	2,5 ± 0,08
	Basale Verengung (Hals)	mittel	Durchmesser (cm)	0,9 ± 0,02
Mesokarp	Rauigkeit	mittel	Dicke (cm)	1,2 ± 0,02
	Härte	gering	<b>Indexes</b>	
Andere Eigenschaften	Gewicht (g)	556,7 ± 19,8	Frucht <sup>2)</sup>	29
	Länge (cm)	17,4 ± 0,27	Kakaosamen <sup>3)</sup>	1,3
	Durchmesser (cm)	9,2 ± 0,17	Effizienz <sup>4)</sup>	4,05
	Verhältnis L/D (cm)	1,9 ± 0,03		
Samen	Frischgewicht je Frucht (g)	93,4 ± 3,82		
	Anzahl Samen je Frucht	29 ± 1,08		
Dämme	Dicke (cm)	1,7 ± 0,03		
Furchen	Tiefe (cm)	1,3 ± 0,03		

<sup>2)</sup> Benötigte Anzahl an Früchten zur Produktion von 1 kg Rohkakao. Hoch > 35,0 / Mittel 20,1-35,0/ Niedrig < 20,1 (UWI, 2005)

<sup>3)</sup> Durchschnittliches Einzelsamengewicht bei 100 getrockneten Kakaosamen

<sup>4)</sup> Verhältnis zwischen Baumgröße und Ertrag (Max: >5) (Phillips et al., 2013)

3.1.4. CATIE-R4



**Abb. 13: Früchte und Samen des Kakaoklons CATIE-R4**

Oben: Geerntete Früchte. Mitte (von links nach rechts): 2 unreife Früchte; 2 reife Früchte; 2 überreife Früchte. Unten (von links nach rechts): frische Kakaosamen mit Pulpa; aufgeschnittene Kakaokotyledonen mit Testa und Pulpa (24 h fermentiert); 6 Tage-fermentierte Samen (nicht getrocknet).

Hintergrundinformationen (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert):

Herkunft: CATIE, Costa Rica  
 Kreuzung: **UF-273 (T1) x PA-169**  
 Phänotyp: mittlere Größe, dichtes Blattwerk, semi-aufrechtes Triebwachstum

Tab. 5: Agronomische Merkmale CATIE-R4 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert)

Natürlicher Krankheitsbefall				Artifizielle Inokulationen		Ertrag (kg/ha/a)	
Frosty Pod		Black Pod		<i>Moniliophthora rorei</i> (Frosty Pod)	<i>Phytophthora palmivora</i> (Black Pod)	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre
Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre				
9%	12%	1%	1%	resistent	anfällig	1336	2070

Frucht			Kotyledonen	
Farbe	unreif	hellgrün mit leichten Rottönen	Farbe	violett
	reif	gelb bis orange, ggf. rote Flecken	Form	oval
Form	Frucht	Cundeamor	Form des Querschnitts	rund
	Apex	Attenuate	Länge (cm)	2,5 ± 0,08
	Basale Verengung (Hals)	Mittel	Durchmesser (cm)	1,0 ± 0,01
Mesokarp	Rauhigkeit	Mittel	Dicke (cm)	1,3 ± 0,03
	Härte	gering	Indexes	
Andere Eigenschaften	Gewicht (g)	573,7 ± 19,8	Frucht <sup>2)</sup>	18
	Länge (cm)	18,7 ± 0,25	Kakaosamen <sup>3)</sup>	1,5
	Durchmesser (cm)	9,6 ± 0,13	Effizienz <sup>4)</sup>	3,81
	Verhältnis L/D (cm)	1,9 ± 0,02		
Samen	Frischgewicht je Frucht (g)	144,7 ± 5,7		
	Anzahl Samen je Frucht	35 ± 1,3		
Dämme	Dicke (cm)	1,5 ± 0,04		
Furchen	Tiefe (cm)	1,1 ± 0,02		

<sup>2)</sup> Benötigte Anzahl an Früchten zur Produktion von 1 kg Rohkakao. Hoch > 35,0 / Mittel 20,1-35,0/ Niedrig < 20,1 (UWI, 2005)

<sup>3)</sup> Durchschnittliches Einzelsamengewicht bei 100 getrockneten Kakaosamen

<sup>4)</sup> Verhältnis zwischen Baumgröße und Ertrag (Max: >5) (Phillips et al., 2013)

3.1.5. CATIE-R6



**Abb. 14: Früchte und Samen des Kakaoklons CATIE-R6**

Oben: Geerntete Früchte. Mitte (von links nach rechts): 2 unreife Früchte; 2 reife Früchte; 2 überreife Früchte. Unten (von links nach rechts): frische Kakaosamen mit Pulpa; aufgeschnittene, unfermentierte Kakaokotyledonen mit Testa und Pulpa; 6 Tage-fermentierte Samen (nicht getrocknet).

Hintergrundinformationen (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert):

Herkunft: CATIE, Costa Rica  
 Kreuzung: **UF-273 (T1) x PA-169**  
 Phänotyp: mittlere Größe, dichtes Blattwerk, aufrechtes Triebwachstum

Tab. 6: Agronomische Merkmale CATIE-R6 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert)

Natürlicher Krankheitsbefall				Artifizielle Inokulationen		Ertrag (kg/ha/a)	
Frosty Pod		Black Pod		<i>Moniliophthora rorei</i> (Frosty Pod)	<i>Phytophthora palmivora</i> (Black Pod)	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre
Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre				
5 %	4 %	0 %	0 %	resistent	mäßig resistent	1485	2363

Frucht			Kotyledonen	
Farbe	unreif	grün mit violett	Farbe	hell violett
	reif	gelb-orange, ggf. rote Flecken	Form	ungleichförmig
Form	Frucht	Angoleta-Cundeamor	Form des Querschnitts	rund
	Apex	Attenuate	Länge (cm)	2,6 ± 0,07
	Basale Verengung (Hals)	gering	Durchmesser (cm)	0,9 ± 0,01
Mesokarp	Rauigkeit	gering	Dicke (cm)	1,2 ± 0,02
	Härte	gering	<b>Indexes</b>	
Andere Eigenschaften	Gewicht (g)	566,1 ± 18,4	Frucht <sup>2)</sup>	24
	Länge (cm)	14,3 ± 0,24	Kakaosamen <sup>3)</sup>	1,4
	Durchmesser (cm)	9,5 ± 0,15	Effizienz <sup>4)</sup>	5,34
	Verhältnis L/D (cm)	1,8 ± 0,02		
Samen	Frischgewicht je Frucht (g)	127,2 ± 4,46		
	Anzahl Samen je Frucht	31 ± 1,11		
Dämme	Dicke (cm)	1,5 ± 0,03		
Furchen	Tiefe (cm)	1,2 ± 0,02		

<sup>2)</sup> Benötigte Anzahl an Früchten zur Produktion von 1 kg Rohkakao. Hoch > 35,0 / Mittel 20,1-35,0 / Niedrig < 20,1 (UWI, 2005)

<sup>3)</sup> Durchschnittliches Einzelsamengewicht bei 100 getrockneten Kakaosamen

<sup>4)</sup> Verhältnis zwischen Baumgröße und Ertrag (Max: >5) (Phillips et al., 2013). CATIE-R6 weist die höchste Effizienz der sechs Klone auf

3.1.6. CC-137



**Abb. 15: Früchte und Samen des Kakaoklons CC-137**

Oben: Geerntete Früchte. Mitte: reife und überreife Früchte von CC-137. Unten (von links nach rechts): frische Kakaosamen mit Pulpa; aufgeschnittene, unfermentierte Kakaokotyledonen mit Testa und Pulpa; 6 Tage-fermentierte Samen (nicht getrocknet).

Hintergrundinformationen (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert):

Herkunft: CATIE, Costa Rica  
**Kreuzung:** **Offen bestäubter UF-12**  
 Phänotyp: große Bäume, blattreich und robust, offenes Triebwachstum (Neigung zu Verwachsungen zwischen den Reihen)

Tab. 7: Agronomische Merkmale CC-137 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert)

Natürlicher Krankheitsbefall				Artifizielle Inokulationen		Ertrag (kg/ha/a)	
Frosty Pod		Black Pod		<i>Moniliophthora rorei</i> (Frosty Pod)	<i>Phytophthora palmivora</i> (Black Pod)	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre
Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre	Ø 11 Jahre	Ø letzten 5 Jahre				
32 %	43 %	1 %	0 %	mäßig anfällig	mäßig resistent	990	1321

Frucht			Kotyledonen	
Farbe	unreif	hellgrün mit weißlichen Furchen	Farbe	intensives violett
	reif	gelb	Form	oval
Form	Frucht	Amelonado-Angoleta	Form des Querschnitts	flach
	Apex	Attenuate	Länge (cm)	2,5 ± 0,08
	Basale Verengung (Hals)	gering	Durchmesser (cm)	1,1 ± 0,02
Mesokarp	Rauigkeit	gering	Dicke (cm)	0,9 ± 0,02
	Härte	gering	<b>Indexes</b>	
Andere Eigenschaften	Gewicht (g)	461,6 ± 13,8	Frucht <sup>2)</sup>	24
	Länge (cm)	14,9 ± 0,18	Kakaosamen <sup>3)</sup>	1,7
	Durchmesser (cm)	9,0 ± 0,07	Effizienz <sup>4)</sup>	3,71
	Verhältnis L/D (cm)	1,6 ± 0,01		
Samen	Frischgewicht je Frucht (g)	117,3 ± 3,87		
	Anzahl Samen je Frucht	27 ± 0,78		
Dämme	Dicke (cm)	1,4 ± 0,02		
Furchen	Tiefe (cm)	1,1 ± 0,02		

<sup>2)</sup> Benötigte Anzahl an Früchten zur Produktion von 1 kg Rohkakao. Hoch > 35,0 / Mittel 20,1-35,0/ Niedrig < 20,1 (UWI, 2005)

<sup>3)</sup> Durchschnittliches Einzelsamengewicht bei 100 getrockneten Kakaosamen

<sup>4)</sup> Verhältnis zwischen Baumgröße und Ertrag (Max: >5) (Phillips et al., 2013).

## 3.2. Methoden

### 3.2.1. Feinaromaanalytik

Die Untersuchung der Fruchtpulpen der Kakaoklone PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 auf potentielle Feinaromakomponenten erfolgte in 2 Parallelen. Der erste Zyklus fand im Herbst 2012 (Regenzeit), der zweite im Mai 2013 (Trockenzeit) statt (Tab. 8). Zur Kontrolle wurden Fruchtpulpen der Klone EET 62 (Nacionalkakao, nach DELGADO et al. 2003) und SCA-6 (Contamanakakao, nach MOTAMAYOR et al., 2008) untersucht. Von CCN-51 (T1) und CCN-51 (T2) sind ebenfalls Analysen des Pulpaaromas gemacht worden.

**Tab. 8: Probenübersicht der Feinaromaanalytik von Fruchtpulpen unterschiedlicher Reifegrade verschiedener Kakao-Genotypen**

<b>Klon</b>	<b>Jahreszeit</b>	<b>Reifestadium</b>	<b>Anzahl Früchte</b>	<b>Anzahl Messungen (n)</b>
<b>PMCT 58</b>	<i>Regen</i>	reif	3	9
<b>ICS-95 (T1)</b>	<i>Regen</i>	unreif	1	3
<b>ICS-95 (T1)</b>	<i>Regen</i>	reif	2	6
<b>CATIE-R1</b>	<i>Regen</i>	überreif	3	9
<b>CATIE-R4</b>	<i>Regen</i>	überreif	3	9
<b>CATIE-R6</b>	<i>Regen</i>	überreif	2	6
<b>CCN-51 (T2)</b>	<i>Regen</i>	überreif	2	6
<b>SCA-6</b>	<i>Regen</i>	reif	2	3
<b>EET 62</b>	<i>Regen</i>	reif	2	6
<b>PMCT 58</b>	<i>Trocken</i>	unreif	1	2
<b>PMCT 58</b>	<i>Trocken</i>	reif	3	6
<b>PMCT 58</b>	<i>Trocken</i>	überreif	2	4
<b>ICS-95</b>	<i>Trocken</i>	unreif	2	4
<b>ICS-95</b>	<i>Trocken</i>	reif	2	4
<b>ICS-95</b>	<i>Trocken</i>	überreif	2	4
<b>CATIE-R1</b>	<i>Trocken</i>	unreif	3	6
<b>CATIE-R1</b>	<i>Trocken</i>	reif	2	4
<b>CATIE-R1</b>	<i>Trocken</i>	überreif	1	2
<b>CATIE-R4</b>	<i>Trocken</i>	unreif	2	4
<b>CATIE-R4</b>	<i>Trocken</i>	reif	2	4
<b>CATIE-R4</b>	<i>Trocken</i>	überreif	2	4
<b>CATIE-R6</b>	<i>Trocken</i>	unreif	2	4
<b>CATIE-R6</b>	<i>Trocken</i>	reif	2	4
<b>CATIE-R6</b>	<i>Trocken</i>	überreif	2	4
<b>CCN-51 (T1)</b>	<i>Trocken</i>	unreif	1	2
<b>SCA-6</b>	<i>Trocken</i>	reif	2	3
<b>EET 62</b>	<i>Trocken</i>	reif	2	4

Die Früchte wurden jeweils am Morgen in der Kakaokollektion des CATIE geerntet, anschließend desinfiziert und am gleichen Tag per Express (3-4 Tage) zum Biozentrum Klein Flottbek der Universität Hamburg, geschickt. Im 2. Zyklus wurden von jedem Klon jeweils 2 unreife, reife und überreife Früchte zur Untersuchung des Reifegrades der Früchte auf das abschließende Pulpaaroma, geerntet. Differenzen im Probenumfang resultieren aus einem Fortschreiten des Reifungsprozesses während des Versands (Tab.9). SCA-6 weist sehr kleine Früchte und Samen auf, daher waren je Zyklus nur 3 Messungen möglich. Von CCN-51 (T1) gab es während der Regenzeit keine Früchte und in der Trockenzeit lediglich 1 unreife Frucht.

### 3.2.1.1. Probenvorbereitung

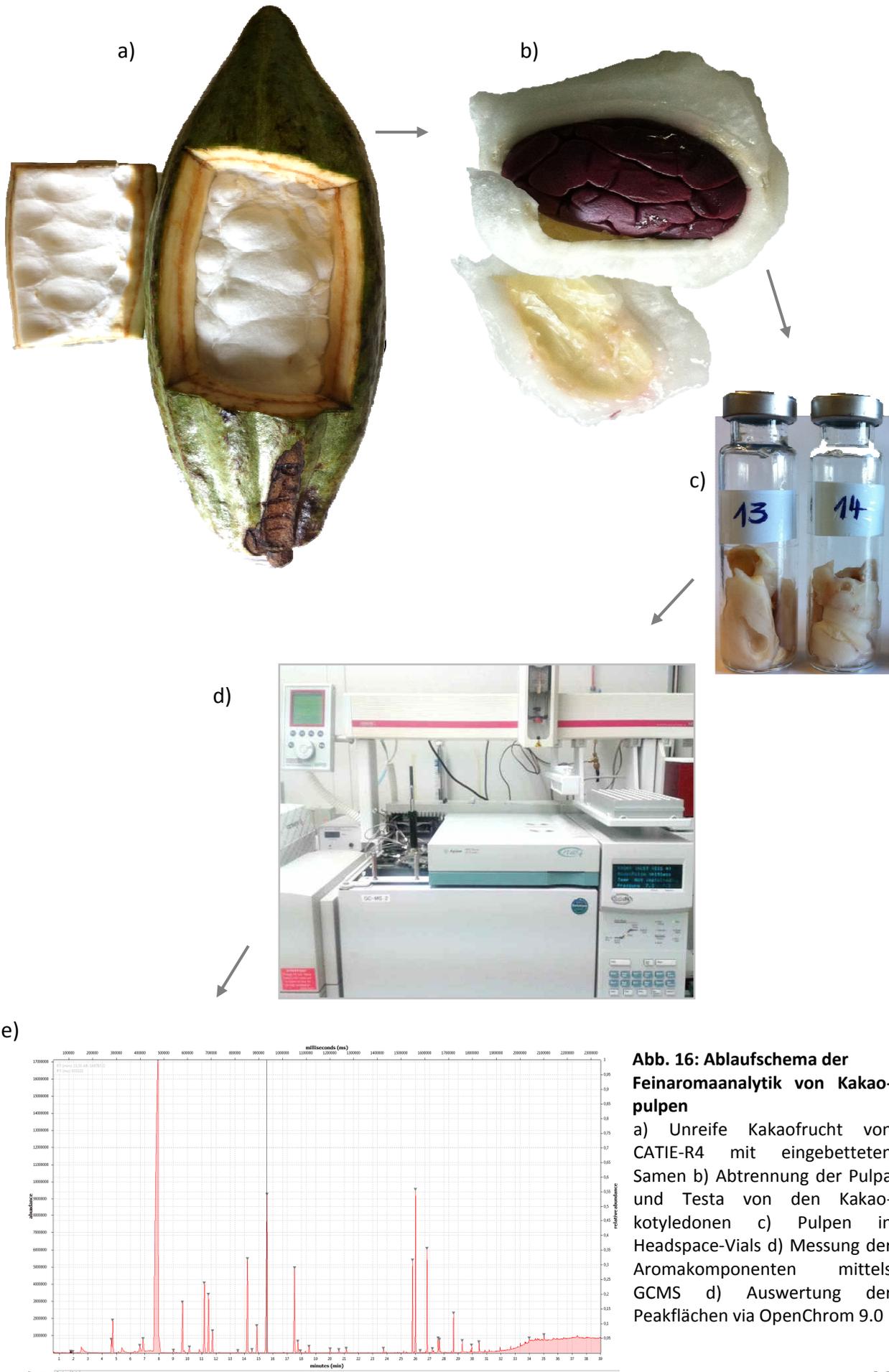
Die Kakaofrüchte wurden längs aufgeschnitten, die Fruchtpulpa samt Testa mit einem Skalpell von den Kotyledonen entfernt, je 5 g Fruchtpulpa in ein 20mL Headspace Crimp Neck Vial N 20 (Firma Macherey Nagel) eingewogen und das Vial mit einer magnetischen Bördelkappe N20 (8 mm Öffnung, Septum: blaues Silikon/PTFE farblos, 3 mm, Firma Macherey Nagel) mittels Bördelzange gasdicht verschlossen (Abb.16). Bis zur quantitativen Bestimmung der Probenbestandteile durch Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GCMS), wurden die Proben bei -80 °C gelagert.

### 3.2.1.2. Probenvermessung

Zunächst wurde das Probenmaterial in den Vials je 15 min auf 30°C temperiert, um die volatilen Aromakomponenten im Dampfraum (Headspace) über dem Probenmaterial anzureichern. Anschließend erfolgte die Stoffextraktion mit einem PDMS/DVB-Fiber (65µm, Nadelgröße 24Ga, SPME Fiber Assembly, StableFlex, Firma Supelco, Sigma-Aldrich Group) 15 min bei 30°C (Festphasenmikroextraktion, SPME). Im Anschluss wurden die Analyten über den Einspritzblock in den Gaschromatographen (6890 Series GC-System, Firma Agilent Technologies) manuell injiziert, dort in ihre einzelnen Stoffe aufgetrennt und diese im gekoppelten Massenspektrometer (S 5973 Network Mass Selective Detector, Firma Agilent Technologies) identifiziert und quantifiziert. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit OpenChrom 9.0. Dabei wurden die Massenspektren der volatilen Komponenten mit den Referenzspektren der NIST-Bibliothek (National Institute of Standards and Technology) verglichen und letztlich die Aromastoffe identifiziert (Abb.16).

**GCMS- Aufbau und Konditionen:**

Gerät	Element	Parameter																			
<i>Gaschromatograph</i> <b>6890plus</b>	Injektor	KAS 4																			
	Programm	Start-Temp.: 200°C, 30s halten; 12 °C min <sup>-1</sup> auf 240°C, 10 min halten																			
	Front Inlet	Mode: pulsed splitless pressure: 48,5 kPa pulse pressure: 250 kPa pulse time: 30 s purge flow: 40,1 mL min <sup>-1</sup> purge time: 28,8 s																			
	Trennsäule	DB-WAX (Agilent J&W, 30 m, 0,25 mm i. D., 0,25µm, Katalog-Nr.122-7032)																			
	Trägergas Flow	Helium 4,6 1 mL min <sup>-1</sup> ; konstante Flussrate																			
	Ofen	<b>Temperaturprogramm:</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Rate [°C min<sup>-1</sup>]</th> <th>Ziel-Temp. [°C]</th> <th>Halten [min]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Initial</td> <td>-</td> <td>40</td> <td>3,0</td> </tr> <tr> <td>Rampe 1</td> <td>3,0</td> <td>100</td> <td>0,0</td> </tr> <tr> <td>Rampe 2</td> <td>10,0</td> <td>150</td> <td>0,0</td> </tr> <tr> <td>Rampe 3</td> <td>15,0</td> <td>240</td> <td>5,0</td> </tr> </tbody> </table>		Rate [°C min <sup>-1</sup> ]	Ziel-Temp. [°C]	Halten [min]	Initial	-	40	3,0	Rampe 1	3,0	100	0,0	Rampe 2	10,0	150	0,0	Rampe 3	15,0	240
	Rate [°C min <sup>-1</sup> ]	Ziel-Temp. [°C]	Halten [min]																		
Initial	-	40	3,0																		
Rampe 1	3,0	100	0,0																		
Rampe 2	10,0	150	0,0																		
Rampe 3	15,0	240	5,0																		
<i>Massenspektrometer</i> <b>S 5973</b>	Transferline	300 °C																			
	MS Source	230 °C																			
	MS Quad	150 °C																			
	Massenscan	40-400																			
	Solvent Delay	0,5 min																			



**Abb. 16: Ablaufschema der Feinaromaanalytik von Kakao-pulpen**

a) Unreife Kakaofrucht von CATIE-R4 mit eingebetteten Samen  
 b) Abtrennung der Pulpa und Testa von den Kakao-kotyledonen  
 c) Pulpen in Headspace-Vials  
 d) Messung der Aromakomponenten mittels GCMS  
 e) Auswertung der Peakflächen via OpenChrom 9.0

### 3.2.2. Monoklonale Mikrofermentationen in Costa Rica

Das Nachernteverhalten der 6 Kakaoklone wurde in 3 Fermentationszyklen in einer Kakaoplantage im zentralen Hochland Costa Ricas im Frühjahr und Herbst 2013, untersucht (s. Kapitel 3.2.2.1). Die Anfertigung der 18 Mikrofermentationskisten aus *Vochysia ferruginea*, einer geruchsneutralen Holzart, erfolgte am CATIE im September 2012 (Abb.17). Drei Vorfermentationen, mit Frischkakao aus der CATIE-Kollektion in Turrialba (602 m N.N., 2645 mm, 22.5 °C), dienten der Inokulation des Holzes mit den vorherrschenden fermentativen Mikroorganismen in dieser Region. 9 Kisten wurden für die anaerobe Phase und 9 Kisten für die aerobe Phase der Fermentation genutzt.

#### Mikrofermentationskisten

Maße: 25 cm x 25 cm x 25 cm, doppelwandig (5 cm), gelöcherter Boden (6 Löcher)  
Fassungsvolumen: ca. 15 kg Frischkakao



**Abb. 17: Anfertigung der Holzkisten für monoklonale Mikrofermentationen**

#### 3.2.2.1. Versuchsstandort

Das Gelände der Finca Peralta der Hacienda Azul S.A., ist 100 ha groß und hügelig. Die Böden sind steinig, teilweise alluvial. Die Plantage befindet sich auf 550 m N.N. und liegt nord-östlich der Zentralkordillere, zwischen Siquirres und Turrialba, ca. 19 km vom CATIE entfernt (Abb.18). Hauptkultur ist *Cedrela odorata*, anfangs gemischt mit Melina (*Gmelina aborea*, mittlerweile abgeerntet). Aktuell ist ein 1 ha mit Laurél (*Cordia alliodora*) bepflanzt. 2008 wurde ein Klongarten (1 ha) mit den selektierten Kakao-Eliteklonen des CATIE etabliert. Auf einem weiteren ha stehen resistente Genotypen (z.B. IMC-67, EET 400), die als Unterlagen für Veredelungen dienen. Seit 2009 wird die Anbaufläche der CATIE-Eliteklone jährlich um 3-4 ha erweitert und beträgt mittlerweile 33 ha, wovon 21 ha in Produktion sind. Sie werden während der Erntepeaks wöchentlich abgeerntet (Oktober-November: Haupternte, April-Mai: Nebenernte). Die Kakaobäume stehen im Abstand von 3 m x 3 m (Abb.19). Jeder Baum ist markiert und trägt den Namen des jeweiligen Klons. Die Plantage wird konventionell bewirtschaftet, Düngerapplikationen erfolgen 3 Mal pro Jahr und 1- bis maximal 2 Mal pro Jahr werden Pestizide gespritzt. Die erste Ernte erfolgte nach 2 Jahren, heute werden durchschnittlich 860 kg Rohkakao ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup> erreicht (E. Perez, persönliche Kommunikation, 26.02.2015).



**Abb. 18: Geographische Lage Costa Ricas und des Versuchsstandorts Finca Peralta** (WIKIPEDIA, 2015)  
 Lage Costa Ricas: in der mittelamerikanischen Landbrücke, zwischen Nicaragua (Norden) und Panama (Süden).  
 Koordinaten des Versuchsstandorts Peralta 📍: 9° 58' 5" N und 83° 36' 44" W



**Abb. 19: Kakaoanbausystem der Finca Peralta**  
 Oben links: AFS Zedrele mit Kakao (jung)  
 Oben rechts: Fruchtttragender PMCT-58  
 (Foto C. ROHSIUS)  
 Unten: 4 Jahre alte Bäume der sechs  
 Kakaoklone

### 3.2.2.2. Versuchsaufbau Trockenzeit

Anfang April 2013 war viel reifes Fruchtmaterial verfügbar, je Genotyp konnten 3 monoklonale Fermentationen gestartet werden. Die 6 Klone wurden in 2 Gruppen im Abstand von 2 Tagen fermentiert. Gruppe 1: PMCT-58, ICS-95 und CATIE-R1 (Abb.20). Gruppe 2: CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137. Die Kakaofrüchte wurden nach Klonen sortiert am Morgen geerntet, anschließend im Feld aufgeschlagen und das frische Samenmaterial direkt in die Kisten gefüllt (Abb.20). Von jedem Klon sind Temperatur, Zuckergehalt [°Brix] und pH-Wert der frischen Pulpa gemessen worden. Am Mittag wurden die Fermentationskisten in die Nacherntestation transportiert und jeweils mit frischen Bananenblättern (*Musa L.*) und Jutesäcken abgedeckt. Die erste Wendung des Samenmaterials erfolgte nach 48 h, danach alle 24 h- jeweils nach der zweiten Temperaturmessung am Mittag.



**Abb. 20: Versuchsvorbereitung Frühjahrsfermentationen**

Oben: Aufschlagen der Früchte und Füllen der Kisten für die monoklonalen Mikrofermentationen  
 Unten links (von oben nach unten): Frisches Samenmaterial von CATIE-R1, ICS-95 (T1) und PMCT-58 in Kisten  
 Unten rechts: Messung der Fermentationstemperatur.

#### Messungen während der Fermentation:

Fermentationstemperatur      3 Mal täglich (7:00 h, 12:00-13:00 h, 16:00-17:00 h) in zwei Ecken und in der Mitte, in je drei unterschiedlichen Tiefen (6 cm, 13 cm, 23 cm)  
 = 3 x 9 Messwerte je Fermentationskiste.

*Messgerät:* digitales Einstichthermometer vom Typ VOLTcraft DET-3T (Fühlertyp K-Typ, Messbereich Temperatur 0 bis 200 °C, Grundgenauigkeit:  $\pm 1$  °C, Auflösung: 1 °C)

pH-Wert der Pulpa 1 Mal pro Tag, mittags vor der Wendung der Fermentationsmasse. Je 2 Messungen pro Kiste a 10 Samen, mit 10 ml dest. Wasser vermengt. *Messgerät:* digitales pH-Meter, VOLTcraft PHT-02 ATC, pH 0 bis 14, Genauigkeit:  $\pm 0,01$  pH, Auflösung: 0,01 pH.

Zuckergehalt [°Brix] der Pulpa 1 Mal pro Tag, mittags vor der Wendung der Fermentationsmasse. Je 2 Messungen pro Kiste a 10 Samen, mit 10 ml dest. Wasser vermengt. *Messgerät:* HI 96801 Digital-Refraktometer, Hanna Instruments. 0- 85 °Brix, Genauigkeit:  $\pm 0,2$  °Brix, Auflösung: 0,1 °Brix.

### **Probenentnahme:**

Tag 4: 400-475 g

Tag 5: 1 kg

Tag 6 : 6,1 bis 8,5 kg (variierte je Klon und Fermentation)

### 3.2.2.3. Versuchsaufbau Regenzeit

Aufgrund eines geringen Fruchtansatzes im Oktober 2013, konnte je Klon nur eine Fermentation gestartet werden (Abb.21). Der Versuchszyklus wurde im November 2013 wiederholt. Ernte, Versuchsvorbereitung und Messungen entsprachen den in Kapitel 3.2.2.2. beschriebenen Abläufen. Bei den Herbstfermentationen wurden zusätzlich zu den monoklonalen Fermentationen von CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, ICS-95 (T1), PMCT-58 und CC-137, auch Mischungen der 6 Klone fermentiert. Bei zwei der Mischfermentationen, wurde zuvor hergestellter testaassoziierter Schleim aus Kakaotesten (s. Kapitel 3.2.2.3.1.) auf das frische Samenmaterial gegeben:

Mix 1 = Mischung der 6 Klone ohne Testa-Schleim

Mix 2 = Mischung der 6 Klone mit 300 ml Testa-Schleim

Mix 3 = Mischung der 6 Klone mit 600 ml Testa-Schleim

Am 6.Tag war Fermentationsende. Je Kiste wurde 1 kg fermentierter Kakaosamen direkt auf den Trocknungstischen angehäuft, das restliche Material wurde zunächst gewaschen (s. Kapitel 3.2.2.3.2.) und dann getrocknet. Probenentnahme wie bei 3.2.2.2., zusätzlich Tag 0 (Fermentationsbeginn) bis Tag 3: 10 Samen je Kiste.



**Abb. 21: Vorbereitete Mikrofermentationskisten mit frischem Kakaosamenmaterial, Herbst 2013**  
 Oben (von links nach rechts): CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6. Unten: PMCT-58, ICS-95 (T1), CC-137.

### 3.2.2.3.1. Herstellung des testaassoziierten Schleims (TA-Schleim)

Je Klon wurde von einer reifen Frucht frische Pulpa mit Testa von den Kakaosamen abgetrennt und bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  mehr als 3 h Stunden gelagert. Im Anschluss wurde das gesamte Probenmaterial (ca. 100 g) vermischt, mit 1 ml Pectinex® BE XXL (Pektin Lyase) und Wasser vermengt (Benetzung aller Testen) und bei Zimmertemperatur 24h lang inkubiert (Abb.22). Reste der abgebauten Pulpa wurden abgewaschen und die Testen erneut mit Wasser aufgegossen, um eine Quellung des TA-Schleims hervorzurufen. Der produzierte Schleim wurde über ein Sieb in eine Flasche dekantiert (Abb.23) und die verbliebenen Testen erneut mit Wasser aufgegossen. Dieser Vorgang wiederholte sich, bis insgesamt ca. 4 Liter TA-Schleim produziert werden konnten. Bis zum Fermentationsbeginn lagerte der Schleim bei  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



**Abb. 22: Enzymatische Entpulpung von Kakaotesten und Quellung der Schleimkavernen**  
 Von links nach rechts: Enzymatisch entpulppte Kakaotesten, Schleimbildung und erste Quellungserscheinungen



**Abb. 23: Schleimgewinnung aus frischen Kakaotesten**  
Dekantieren des TA-Schleims

#### 3.2.2.3.2. *Waschung von fermentierten Kakaosamen vor der Trocknung*

Bei den Versuchszyklen im Herbst, ist ein Teil der 6 Tage-fermentierten Kakaosamen nach Fermentationsende bzw. vor der Trocknung gewaschen worden, um anhaftende Pulparestes und TA-Schleim abzuspülen und auf diesem Weg eine mögliche Versiegelung der Samenschale während der Trocknung zu verhindern (s. Kapitel 2.6.2.). Sowohl der Trocknungsverlauf, als auch die finale Rohkakaqualität (freie Aminosäuren, reduzierende Zucker, organische Säuren, Epicatechin, Catechin) der gewaschenen und ungewaschenen Kakaosamen wurden analysiert.

Waschung (Abb.24): Die frisch fermentierten Kakaosamen wurden in eine Fermentationskiste mit Spaltenboden gekippt, mit einem kräftigen Wasserstrahl durchgespült und parallel manuell durchmischt, um eine gleichmäßige Abtragung der Pulparestes zu ermöglichen. Die Waschung dauerte ca. 10 Minuten und wurde beendet, als das Abflusswasser klar war.



**Abb. 24: Waschung fermentierter Kakaosamen**

#### 3.2.2.3.3. *Trocknung*

Die Trocknung der Kakaoproben fand im Gewächshaus der Finca Peralta statt (Abb.25):

360 m<sup>2</sup> (30 m x 12 m), Tunnelform, lichtdurchlässiges Plastikdach, keine Seiten-oder Dachbelüftung, dafür an den Enden offen, Holztische mit hexagonalen Kunststoffnetzen. Temperatur: bis 48 °C.

### Trocknungsprotokoll:

Tag 1: Ende der Fermentation am Mittag. Ab 14h: Ausbreitung der Kakaosamen auf Trocknungstischen für 3 h, über Nacht Anhäufung.

Tag 2: Ausbreitung von 7-11 Uhr. Nach 2 h: intensives Durchmischen des Samenmaterials. Erneute Anhäufung von 12-14 Uhr (dabei seitliche Abtragung der oberen Samenschicht nach 1 h), Ausbreitung von 14-17h mit einmaliger Wendung zwischendurch, Anhäufung über Nacht.

Tag 3: Wie Tag 2, keine Anhäufung über Nacht.

Tag 4- Tag 8: Keine Anhäufungen, 3 Wendungen pro Tag.

Ungewaschene Kakaosamen wurden am 1.Tag nicht ausgebreitet, sie verblieben bis zum folgenden Morgen angehäuft. Dabei wurde die obere Samenschicht einmalig nach 2 Stunden zur Seite hin abgetragen, um eine homogene Antrocknung des gesamten Samenmaterials zu ermöglichen.

Nachdem die Rohkakaoproben einen Feuchtegehalt von ca. 7 % aufwiesen (Kapitel 3.2.3.1), wurden die 100-Kakaobohnengewichte ermittelt (Kapitel 3.2.3.2) und je Probe 100 Samen per Hand geschnitten, um ihren Fermentationsgrad zu evaluieren (Kapitel 3.2.3.3). Anschließend wurde ein Teil der Proben für Qualitätsanalysen nach Hamburg geschickt (Kapitel 3.2.3), das restliche Material verblieb als Rückstellmuster in Costa Rica.



**Abb. 25: Trocknung der Kakaoproben**

Oben: Angehäufte Kakaosamen aus 5-Tage Fermentation und ausgebreitete 4-Tageproben (vordere 2 Reihen)  
Unten: Auswahl unterschiedlich langfermentierter Kakaoproben, ausgebreitet auf Trocknungstischen.

### 3.2.3. Qualitätsanalysen der Rohkakaoproben

Gesamtprobenanzahl *Trockenzeit*: n = 53

- 6 Klone, 3 Wiederholungen, 3 Fermentationszeiten (4,5,6 Tage). Bei CC-137 lagen nur zwei 6-Tagesproben vor.

Gesamtprobenanzahl *Regenzeit*: n = 126

- 6 Klone und 3 Mischungen (9 Fermentationen), 2 Wiederholungen, 6 Fermentationszeiten (Tag 0 bis Tag 6, zusätzl. Tag 6 mit Waschung)

Probenmenge des unfermentierten bzw. 1-3 Tage fermentierten Rohkakaos: 12-15 g

Probenmenge des 4- bis 6 Tage fermentierten Rohkakaos: 200 g

#### 3.2.3.1. Feuchtegehalt

Die Bestimmung des Feuchtegehalts erfolgte leicht modifiziert nach der DGF-Einheitmethode B-14 (87). Es wurden 10 Samen gewogen, 4 h bei 103 °C im Ofen getrocknet und anschließend aus der Gewichtsänderung der Feuchtegehalt berechnet.

#### 3.2.3.2. 100-Bohnengewicht

Mithilfe des 100-Bohnengewichts können Erkenntnisse über die Homogenität einer Rohkakaoscharge gewonnen werden (ROHSIUS, 2007). Dementsprechend wird die Ermittlung des 100-Bohnengewichts heute standardmäßig bei Qualitätsprüfungen von Rohkakao durchgeführt.

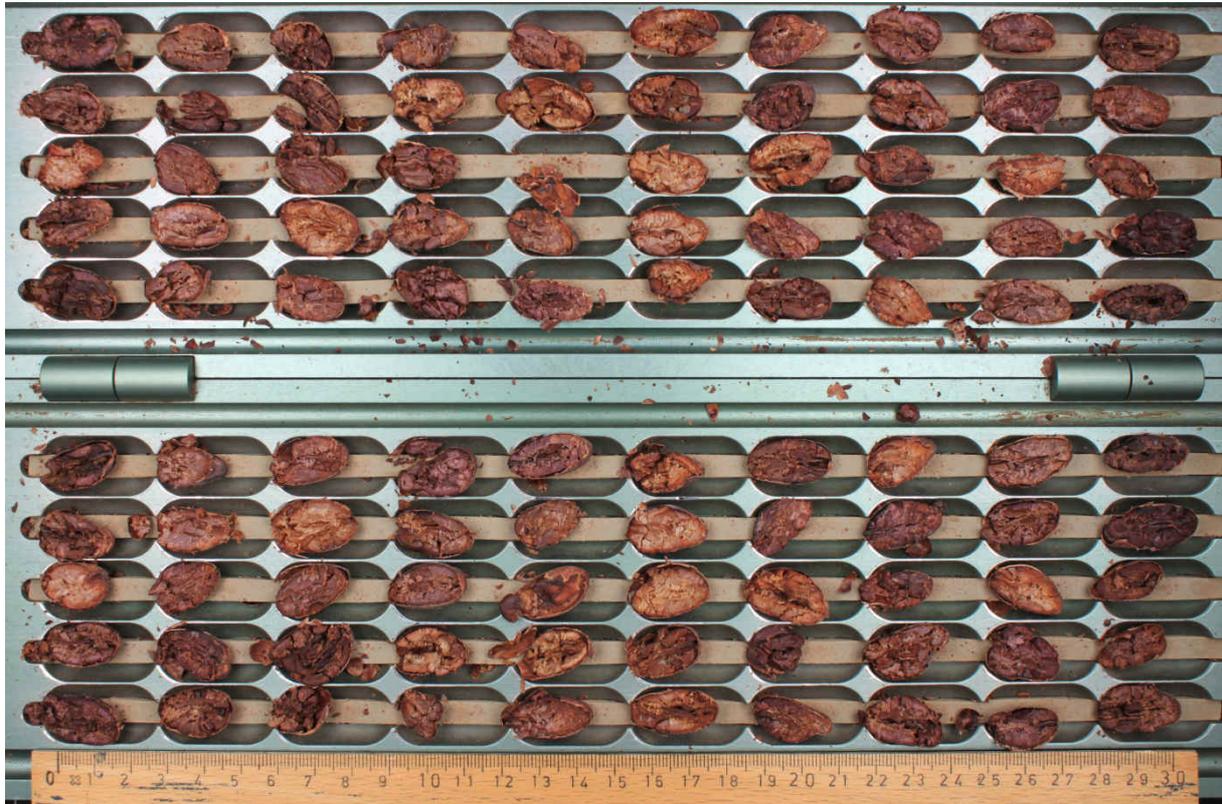
Je Klon und Versuchszyklus wurden 100 Rohkakaosamen der 6-Tage Fermentationsproben randomisiert ausgewählt und gewogen.

#### 3.2.3.3. Schnitt-Test

Bei dem Schnitt-Test (engl. CUT-Test) handelt es sich um ein weltweit anerkanntes Verfahren zur Qualitätsprüfung und Bewertung des Fermentationsgrades von Rohkakao. Der von der *Federation of Cocoa Commerce Ltd* (FCC) entwickelte internationale Standard sieht den Schnitttest für 300 Kakaosamen je Tonne Rohkakao vor (FCC, 2007; ICCO, 2012).

In Costa Rica wurden je nach Probengröße 10-100 Samen mit einem üblichen Taschenmesser per Hand geschnitten und evaluiert. In Hamburg erfolgten weitere Schnitt-Tests mithilfe einer „Kakao-

Guillotine“ (Typ MAGRA, Schweizer Hersteller TESERBA, 39 cm x 14 cm x 7 cm, 3,5 kg), welche 50 Samen in einem Zug entlang der Längsachse halbiert (Abb.26).



**Abb. 26: Schnitt-Test von Rohkakao mithilfe der "Kakao-Guillotine"**

Dargestellt ist eine 6 Tage-fermentierte Probe des Klons ICS-95 (T1) aus der Regenzeit. Guillotine: Typ MAGRA, Schweizer Hersteller TESERBA. Dimensionen: 39 cm x 14 cm x 7 cm. Gewicht: 3,5 kg.

Die geschnittenen Kakaosamen wurden entsprechend ihrer Kotyledonen-Färbung und Beschaffenheit bewertet und in die Gruppen *schiefzig*, *violett*, *violett-braun*, *braun* und *hellbrechend* eingeteilt (Abb.27). Der jeweilige Anteil wurde gemäß FCC Standard in Prozent dargestellt (ICCO, 2012). Bei den Rohkakaoproben der ersten 3 Fermentationstage tauchten weitere Zwischenstufen auf, so dass neben den genannten Kategorien auch zwischen *schiefzig-violetten* und *schiefzig-braunen* Kotyledonen differenziert wurde (Abb.27). Insektenbefall, Schimmel oder gekeimte Samen sind ebenfalls registriert worden.

In der Schokoladenindustrie wird zudem der Anteil an brüchigen Samen, Doppelbohnen („clusters“, 2 oder mehr aneinanderheftende Samen), flachen Bohnen (zu dünn für eine komplette Oberflächenevaluierung der Kotyledonen) und Fremdbestandteilen ermittelt (FCC 2007, ISO 2014). Kakaobohnen mit Theobrominkristallen auf der Testa, sogenannten „white spots“, werden ebenfalls erfasst (ISO, 2014) (Abb.27).

Die Schnitt-Test-Ergebnisse der einzelnen Rohkakaoproben aus den Fermentationsstudien in Costa Rica, sind in Kapitel 4.3.1. aufgeführt.



**Abb. 27: Farbe und Beschaffenheit unterschiedlich lang fermentierter Rohkakaosamen**

Beschreibung der Schnittflächen jeweils von links nach rechts. Oben: *schiefrig*, *schiefrig-violett* und *schiefrig-braun*. Mitte: *violett*, *braun-violett* und *braun*. Unten: *hellbrechend* (links) und Rohkakaosamen mit „white spots“ (auskristallisiertes Theobromin) auf der Samenschale.

#### 3.2.3.4. Probenvorbereitung

Die in Kapitel 4.2.3. beschriebenen Rohkakaoproben wurden per Hand in Kotyledonen und Samenschalen getrennt. Da der hohe Fettgehalt die Homogenisierung beeinträchtigt, wurden die Kotyledonen 24 h bei -20 °C in PVC-Gefäßen gelagert, anschließend mit einer Ultrazentrifugalmühle (ZU 100, ohne Sieb, 12er Kranz, Fa. Retsch) langsam bei 15.000 rpm gemahlen und durch ein Prüfsieb (3 mm) gesiebt. Das Homogenat wurde so oft zerkleinert, bis mind. 98 % der Partikel < 3 mm groß waren. Bis zur Analyse der organischen Säuren (s. Kapitel 3.2.3.6.4) wurden die gemahlene Proben bei -20 °C in PVC-Gefäßen gelagert. Für die Untersuchung der freien Aminosäuren (s. Kapitel 3.2.3.6.1), Polyphenole (s. Kapitel 3.2.3.6.2) und reduzierenden Zucker (s. Kapitel 3.2.3.6.3.) mittels HPLC wurde das Kakaomaterial zunächst noch entfettet (s. Kapitel 3.2.3.5.).

### 3.2.3.5. Entfettung

Je Probe wurden 2 g der zerkleinerten Kotyledonen mit 10 ml n-Hexan sowie 3 mittelgroßen und 3 kleinen Edelstahlkugeln in ein Kugelmühlengefäß gegeben und 10 min bei einer Frequenz von  $20 \text{ s}^{-1}$  vermahlen (Schwing- bzw. Kugelmühle Typ MM200, Fa. Retsch). Anschließend erfolgte quantitative Kaltentfettung des Kakaopulvers durch 3 maliges Spülen mit 25 ml Petrolether über einen  $0,45 \mu\text{m}$ -Filter und Absaugung über Filternutsche (unter Vakuum). Der entfettete Filterkuchen wurde in ein Probengefäß überführt und in einem Vakuumtrockenschrank (Fa. Heraeus) bei Raumtemperatur und 100 mbar getrocknet. Das fettfreie Kakaopulver wurde bis zur Weiterverarbeitung bei  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  gelagert.

### 3.2.3.6. HPLC-Analysen

Der Gehalt an freien Aminosäuren, Polyphenolen (Epicatechin), reduzierenden Zuckern (Glucose, Fructose) und organischen Säuren (Milch- und Essigsäure) in den Rohkakaoproben wurde mittels Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) analysiert. Bei diesem Verfahren wird der Analyt durch Wechselwirkungen mit einer stationären und einer mobilen Phase in seine einzelnen Stoffkomponenten aufgetrennt. Die mobile Phase (Laufmittel) löst die Probenmoleküle und ermöglicht damit ihren Transport über eine Säule (stationäre Phase), an der die einzelnen Stoffe reversibel adsorbiert werden. Die Auftrennung des komplexen Probengemisches basiert auf den unterschiedlichen Eigenschaften (z.B. Polarität, Molekülgröße, Ladung) mit denen die einzelnen Komponenten mit der stationären Phase reagieren und den daraus resultierenden verschiedenen Retentionszeiten (ERFKAMP et al. 2007). Umkehrphasen (engl. *reversed phase*, RP)-HPLC bedeutet, dass die mobile Phase polarer ist als die stationäre Phase (PLENIO, et al., 2009). Letztere besteht aus Kieselgelen, die an ihren Oberflächen Alkylgruppen unterschiedlicher Länge tragen (BAHMANN, 2014).

#### HPLC- Aufbau (wie BAHMANN, 2014):

Autosampler:	Merck Hitachi AS-2000 und Waters 717 plus
Pumpen:	Knauer Smartline Pump 1000,
UV-Detektor:	Merck Hitachi F-1050 Fluorescence Spectrometer
PDA-Detektor:	Waters 996 Photodiode Array Detector

### 3.2.3.6.1. Freie Aminosäuren

Zunächst wurde destilliertes Wasser mit 50%iger Trifluoressigsäure-Lösung (TFA) auf pH 2 eingestellt und bei 4 °C gelagert. Je Probe wurden 0,1 g entfettetes Kakaopulver und 0,28 g Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) mit einem Magnetrührstab in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen (aus Polypropylen, Fa. Th.Geyer) gegeben, mit 10 ml des vorbereiteten destillierten Wassers versetzt und der pH-Wert mit 50%iger TFA-Lösung auf 2,5 eingestellt. Anschließend wurde 1 h im Eisbad mit einem Magnetrührer extrahiert, dann 10 min bei 4100 rpm zentrifugiert (Heraeus® Megafuge® 11R, Fa. Thermo Scientific). Der klare Überstand wurde über einen Celluloseacetat-Spritzenvorsatzfilter (Chromafil® CA-45/25, Fa. Macherey-Nagel) in ein Szintillationsgefäß überführt, anschließend wurden 30 µl des Filtrats in ein HPLC-Vial pipettiert und dieses 30 Minuten bei -18 °C tiefgefroren. Zuletzt wurde der Analyt bei -20 °C und 0,05 mbar eine Stunde gefriergetrocknet und mittels HPLC (Kapitel 3.2.3.6) vermessen.

Für die Vermessung wurde die gefriergetrocknete Probe in 800 µl Boratpuffer gelöst, schließlich wurden 400 µl OPA-Reagenz (*o*-Phthaldialdehyd, Nr.11452, Fa. Merck) zur Derivatisierung der freien Aminosäuren auf die Probe gegeben und nach 2 min Reaktionszeit wurden 20 µl des aufbereiteten Extraktes entnommen und auf die HPLC-Säule überführt.

#### HPLC-Reagentien

Boratpuffer (200 mmol L <sup>-1</sup> ):	Es wurden 12,38 g Borsäure in ca. 800 ml Wasser (LiChrosolv®, Fa. Merck) gelöst, mit konzentrierter Kalilauge (KOH) auf pH 9,5 eingestellt und 5 Minuten aufgekocht. Zuletzt wurde der Puffer mit abgekochtem Wasser (LiChrosolv®) auf 1 Liter aufgefüllt. Lagerung bei 4 °C.
OPA-Reagenz:	24 Stunden vor der Analytik wurden 100 mg <i>o</i> -Phthaldialdehyd (Nr. 11452, Fa. Merck) in 2,5 ml Methanol (LiChrosolv® gradient grade) gelöst und mit 22,4 ml Boratpuffer (pH 9,5) und 100 µl 2-Mercaptoethanol (Nr. 15433, Fa. Merck) aufgefüllt. Lagerung bei 4 °C.
Mobile Phase (Laufmittel):	<b>A:</b> 1,6 Liter 50 mmol L <sup>-1</sup> Natriumacetat-Lsg. pH 6,2; 50 ml Methanol (LiChrosolv® gradient grade); 20 ml Tetrahydrofuran (LiChrosolv®) <b>B:</b> 200 ml 50 mmol L <sup>-1</sup> Natriumacetat-Lsg. pH 6,2; 800 ml Methanol (LiChrosolv® gradient grade)

**HPLC- Konditionen**

Stationäre Phase: Vorsäule: LiChrospher® 5µm RP-18 100 Å  
 Trennsäule: LiChroCART® 250-4  
 Säulentemperatur: 30 °C

Detektor: Fluoreszenzdetektor  
 (F1050 Fluorescence Spectrophotometer,  
 Fa. Merck-Hitachi,  $\lambda_{\text{Ex}} = 334 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{Em}} = 425 \text{ nm}$ )

Kalibrier-Standard-Lsg.: 125 ng ml<sup>-1</sup>, 250 ng ml<sup>-1</sup>, 500 ng ml<sup>-1</sup>, 1000 ng ml<sup>-1</sup>

Fließgeschwindigkeit: 1,3 ml min<sup>-1</sup>

Gradient:

Zeit [min]	Laufmittel A [%]	Laufmittel B [%]
0	100	0
2	85	15
15	70	30
21	70	30
40	0	100
45	0	100
50	100	0
55	100	0

Die Berechnung der freien Aminosäuregehalte in den Rohkakaoproben erfolgte mittels Peakflächen- bzw. Peakhöhenintegration gegen die Standardreihe.

**3.2.3.6.2. Polyphenole und Anthocyane**

Die Polyphenole Catechin, Epicatechin und die Anthocyane Cyanidin-3-galactosid, Cyanidin-3-arabinosid wurden mittels methanolischer Mikroextraktion und anschließender Vermessung via RP-HPLC bestimmt. Von jeder Probe wurde 0,1 g entfettetes Kakaopulver in ein Zentrifugenglas (Duran, Rundboden, 16 mm x 100 mm) eingewogen, mit 5 ml Methanol versetzt und 20-30 sec. mithilfe eines Ultra-Turrax® T25 (Fa. IKA) extrahiert. Der Rührstab des Ultra-Turrax® T25 wurde mit 2 ml Methanol abgespült, der vereinigte Extrakt für 3 min im Ultraschallbad behandelt und 15 min in ein Eisbad gestellt, bevor sie dann 10 min bei 4.100 rpm zentrifugiert wurde (Heraeus® Megafuge® 11R, Fa. Thermo Scientific). Der klare Überstand wurde in einen Spitzkolben (50 ml) dekantiert und der Kolbenrand mit 1 ml Methanol abgespült, um eine quantitative Analyse der phenolischen Substanzen

zu ermöglichen. Die methanolische Extraktion wurde 2 weitere Male wiederholt, jedoch ohne Ultraschallbad-behandlung und nur 2 minütiger Aufbewahrung im Eisbad. Anschließend wurden die Methanolextrakte am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeengt (40 °C, 100 mbar) und der Rückstand in 3 ml Methanol (LiChrosolv®) aufgenommen. Zuletzt erfolgte die Filtration der Probe durch einen Einmalfilter (Chromafil®Xtra PVDF-45/25, F. Macherey-Nagel) und Vermessung mittels RP-HPLC gegen die PS-Standardreihe.

**HPLC-Konditionen**

Injektionsvolumen: 20 µl  
 Stationäre Phase: Vorsäule: LiChrospher® 5µm RP-18e 100Å  
 Trennsäule: LiChroCART® 250-4  
 Säulentemperatur: 26 °C  
 Mobile Phase (Laufmittel): **A:** 2%ige Essigsäure  
**B:** Gemisch aus 400 ml Acetonitril, 90 ml Wasser und 10 ml Eisessig

Gradient:

Zeit [min]	Fließgeschwindigkeit [min <sup>-1</sup> ]	Laufmittel A [%]	Laufmittel B [%]
0	1,2	90	10
8	1,2	90	10
38	1,1	77	23
41	1,2	10	90
44	1,2	10	90
49	1,2	90	10
60	1,2	90	10

In den vorliegenden Rohkakaoproben wurden lediglich Epicatechin und Spuren von Catechin gefunden. Die Anthocyane Cyanidin-3-galactosid und Cyanidin-3-arabinosid konnten nicht detektiert werden. Die Auswertung der Mengen an Epicatechin und Catechin erfolgte mittels Peakflächenintegration gegen die Standardreihe.

### 3.2.3.6.3. Reduzierende Zucker

Je Probe wurden 0,1 g entfettetes Kakaopulver in ein spitzes 2 ml Eppendorf-Tube eingewogen, mit 1 ml destilliertem Wasser versetzt, das Gemisch für 1 Stunde bei 80 °C im Thermocycler extrahiert und 10 min bei 13.000 rpm zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge, Heraeus® Biofuge®fresco, Nr. 75005521). 250 µl des Probenüberstands wurden in ein 2 ml Eppendorf-Tube pipettiert, mit 750 µl Acetonitril versetzt, umgeschwenkt und erneut 10 min bei 13.000 rpm zentrifugiert. Zuletzt wurde der nun klare Überstand in ein HPLC-Vial überführt und isokratisch mittels HPLC gegen die Standardreihe vermessen.

#### **HPLC- Konditionen**

Stationäre Phase:	Trennsäule: Hypersil APS-2 (125 x 4 mm, 3 µm), Thermo Fisher Scientific
	Säulentemperatur: 30 °C
Mobile Phase (Laufmittel):	Gemisch aus Acetonitril und Wasser (88/12, v/v)
Injektionsvolumen:	20 µl
Fließgeschwindigkeit:	1,0 ml min <sup>-1</sup>
Detektor:	HPLC-Refraktometer
Zucker-Standard-Lsg. in Acetonitril (75 %):	<b>A:</b> 1,4 mg ml <sup>-1</sup> Fructose, 1,1 mg ml <sup>-1</sup> Glucose, 1,2 mg ml <sup>-1</sup> Saccharose <b>B:</b> 0,7 mg ml <sup>-1</sup> Fructose, 0,55 mg ml <sup>-1</sup> Glucose, 0,6 mg ml <sup>-1</sup> Saccharose <b>C:</b> 0,28 mg ml <sup>-1</sup> Fructose, 0,22 mg ml <sup>-1</sup> Glucose, 0,24 mg ml <sup>-1</sup> Saccharose

Diese Analyse wurde lediglich mit den 6-Tage fermentierten Regenzeitproben durchgeführt, um einen Effekt der Waschung auf den finalen Gehalt an reduzierenden Zuckern im Rohkakao zu überprüfen. Die Auswertung der Konzentrationen an Fructose und Glucose erfolgte mittels Peakflächen- bzw. Peakhöhenintegration gegen die Standard-Lösungen.

### 3.2.3.6.4. Organische Säuren

Zur Extraktion der organischen Säuren Essigsäure und Milchsäure, wurden je Probe 2 g gemahlene Kakaokotyledonen (nicht entfettet) mit einer großen Kugel in ein Kugelmühlengefäß gegeben, mit 10 ml 0,2%iger wässriger Benzoesäure versetzt und 10 min bei einer Frequenz von 25 s<sup>-1</sup> geschüttelt (Schwing- bzw. Kugelmühle Typ MM200, Fa. Retsch). Die Probe wurde in ein Zentrifugenglas (20 ml) überführt und 10 min bei 4.100 rpm (Heraeus® Megafuge® 11R, Fa. Thermo Scientific) zentrifugiert. Der Überstand wurde mithilfe einer Pasteurpipette in ein 2 Eppendorf Tubes (2 ml) pipettiert und

anschließend bei 13.000 rpm zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge, Heraeus® Biofuge®fresco, Nr. 75005521).

Im nächsten Schritt erfolgte die Konditionierung der Anionenaustauscherkartuschen zur Festphasenextraktion. Zunächst wurden die Säulen (BAKERBOND spe® Quaternary Amine (N<sup>+</sup>) Columns, J.T. Baker®) am Luer-Ausgang (männlich) mit einem PTFE-Absperrhahn verbunden, auf den Deckelvorsatz einer Vakuumkammer (BAKER-10 SPE System, Fa. J.T.Baker®) gesteckt und mit je 5 ml Methanol 5 min konditioniert. Anschließend erfolgte die Elution des Methanols und Auftragung von 2 ml destilliertem Wasser, sodass gerade die Oberfläche des Sorbens vom Wasser bedeckt blieb und so 10 min die Kartuschen konditionierte. Nach 10 min wurde das Wasser langsam mit einer Vakuum-Pumpe bis zum oberen Rand des Sorbens abgesaugt. Das Eluat wurde verworfen. Die Elutionsgeschwindigkeit konnte manuell am Vakuumsystem reguliert werden. Zur Filtration der Probenextrakte wurden 5 ml Meßkolben (kurzer Hals) im Auffanggefäß des Vakuumsystems platziert und 1 ml Extraktlösung auf die konditionierten Kartuschen pipettiert. Anschließend wurden die Analyten bei geringem Vakuum langsam durch die Säulen gesaugt und zweimalig mit 1,8 ml Posphatpuffer (pH 7,5) eluiert. Zuletzt wurde die in den Meßkolben aufgefangenen Eluate mit den organischen Säuren bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und mittels RP-HPLC isokratisch gegen die Kalibrier-Standard-Lösungen vermessen.

### **HPLC- Konditionen**

Stationäre Phase:	Trennsäule: Aminex HPX-87H (300x7,8 mm), Fa. Bio-Rad
	Säulentemperatur: 25- 27 °C
Mobile Phase (Laufmittel):	0,013 mol L <sup>-1</sup> Schwefelsäure
Injektionsvolumen:	20 µl
Fließgeschwindigkeit:	ca. 0,6 ml min <sup>-1</sup>
Detektor:	UV-Detektor L7420, Fa. Merck-Hitachi (λ = 215 nm)
Standardreihe:	Milchsäureäquivalent: Lithiumlactat = 375 µg ml <sup>-1</sup> , 750 µg ml <sup>-1</sup> , 1500 µg ml <sup>-1</sup> Essigsäureäquivalent: Natriumacetat = 300 µg ml <sup>-1</sup> , 600 µg ml <sup>-1</sup> , 1200 µg ml <sup>-1</sup>

Die Berechnung der Milchsäurekonzentration [%] erfolgte über Flächenintegration der Proben gegen die entsprechende Standardreihe. Für die Auswertung der Essigsäuregehalte [%] wurden die Peakhöhen genommen und gegen die Standardreihe integriert.

### 3.2.3.7. Statistische Auswertung

Die in Kapitel 5 dargestellten Ergebnisse der Mikrofermentationsstudien (Temperaturverläufe, pH-Werte und Zuckergehalte der Fruchtpulpen) wurden mit MS Office Excel 2010 ausgewertet.

Alle Ergebnisse der chemischen Analysen (Pulpaaromakomponenten sowie freie Aminosäuren, organische Säuren, Polyphenole und reduzierende Zucker der Koyledonen) wurden mit MS Office Excel 2010 bearbeitet und anschließend einer statistischen Auswertung mit STATISTICA<sup>®</sup> (Version 10.0, StatSoft, Inc. 1984-2011, Tulsa OK, USA) unterzogen. Dabei wurden folgende Parameter geprüft: Genotyp und Jahreszeit sowie Reifegrad der Früchte bei der Pulpaaromenanalytik.

Zunächst wurde die Datenlage mit einer deskriptiven Statistik veranschaulicht und anschließend mithilfe des Shapiro-Wilk W Tests die Normalverteilung der Daten geprüft. Letztere ist zusammen mit einer Varianzhomogenität (Levene Test), d.h. einer Gleichheit der Varianzen in den zu untersuchenden Gruppen (STATSOFT, 2015), eine Voraussetzung für eine anschließende Varianzanalyse (ANOVA). Es wurden sowohl einfaktorielle als auch mehrfaktorielle ANOVAs durchgeführt. Die Bestimmung signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten erfolgte mit dem *post-hoc* Tukey HSD Test für gleiches und ungleiches N mit einem Konfidenzniveau von 95 % bzw. Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$ . Unter den jeweiligen Graphen ist der p-Wert dargestellt. Ist er kleiner als das Signifikanzniveau, wird die Nullhypothese abgelehnt, d.h. es liegt ein Effekt des Parameters (*hier* Genotyp und/oder Jahreszeit) vor (ADLUNG et al. 2014).

### 3.2.3.8. Fotografische Dokumentation

Alle dargestellten Fotos wurden, sofern nicht anders vermerkt, von der Autorin mit einer Spiegelreflexkamera, Firma CANON, Modell EOS 500D mit 15,1 Megapixel, gemacht.

## 3.2.4. Herstellung und Blindverkostung von Probeschokoladen

Aus den 6 Tage-fermentierten und gewaschenen Rohkakaoproben der Klone PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 wurden von der Firma Rausch Schokoladen GmbH, Berlin, Probeschokoladen hergestellt und diese anschließend vom Expertenpanel der Firma blind verkostet. Aufgrund des abschließenden Violettanteils von über 50 %, wurde keine Probeschokolade des Klons CC-137 angefertigt. Zur Schokoladenherstellung wurde eine firmeninterne Rezeptur angewendet, die auch Basis der als „Costa Rica“ vermarkteten Plantagen-Schokolade der Rausch Schokoladen GmbH ist. Der Kakaoanteil beträgt 47 % und wird ergänzt durch Rohrzucker, Kakaobutter und Milchpulver (zu unterschiedlichen Anteilen). Als Kontrolle diente die dunkle Vollmilchschokolade „Costa Rica“ sowie eine Probeschokolade aus dem Konsum-Kakaoklon CCN-51. Das

Rohkakaomaterial für diese Schokolade stellte eine Plantage in Costa Rica bereit. Die Kakaosamen waren ebenfalls monoklonal in einer Holzkiste fermentiert worden.

Die in Kapitel 4.5. vorgestellten Ergebnisse basieren auf der sensorischen Evaluierung der Schokoladen durch 5 Qualitätsexperten der Firma Rausch Schokoladen GmbH. Sie mussten den Aromaverlauf sowie Geschmack und Intensität anhand 15 verschiedener Attribute beschreiben (Deskriptives Verfahren): *cremig, milchig, sahnig, karamellig, süß, kräftig, kakaobetont, adstringierend, sauer, aromatisch, bitter, herb, blumig, fruchtig, exotisch-fruchtig*.

Im Frühjahr 2015, ca. 5 Monate später, wurde die sensorische Qualität der Schokoladen zusätzlich durch Herrn Dr. Darin Sukha, Cocoa Research Center der University of the West Indies, Trinidad und Tobago, beurteilt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Aromagebende Kakaopulpa-Komponenten

Insgesamt sind 57 volatile Aromakomponenten aus der Gruppe der Aromaten, Terpene, Ester, Aldehyde und Ketone in den Fruchtpulpen der Kakaoklone PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6 sowie in den Kontrollklonen SCA-6 (Contamanakakao, nach MOTAMAYOR et al. 2008) und EET 62 (Nacionalkakao, DELGADO et al. 2003), identifiziert worden. Weitere chemische Verbindungen wurden mittels SPME-GCMS detektiert, ließen sich aber bei der Auswertung keinem Aromastoff eindeutig zuordnen. Sie werden in Kapitel 4.1.9 und 4.1.10 als „andere“ zusammengefasst. Eine mehrfaktorielle ANOVA mit anschließendem *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiche N, mit  $\alpha = 0,05$ , hat einen signifikanten Einfluss des Genotyps und der Jahreszeit auf den Anteil der einzelnen Feinaromakomponenten am Gesamtpulpaaroma ergeben. Im Folgenden werden diese Aromastoffe individuell vorgestellt und ihr Vorkommen in den hier untersuchten Kakaoklonen beschrieben. Dabei wird auch auf den Einfluss der Jahreszeit eingegangen. Letztere bezieht sich auf das vorherrschende Klima während der Reifungsphase der Früchte (Trockenzeit-Regenzeit). Zunächst werden Aromakomponenten mit der größten durchschnittlichen Peakfläche beschrieben (Kapitel 4.1.1. und 4.1.2.) und anschließend die Minorkomponenten gezeigt (Kapitel 4.1.3 bis 4.1.7). Alle Ergebnisse beziehen sich auf das Frischgewicht je Probe (5 g).

Da in der Literatur unterschiedliche Namen für gleiche chemische Stoffe auftauchen, wird bei jeder Aromakomponente die CAS-Nummer genannt, ein international anerkannter Standard zur Identifikation von chemischen Stoffen (CAS, 2015a). Außerdem erfolgt eine chemische Einordnung und Aromabeschreibung der einzelnen Komponenten. Die Klassifizierung nach den Aromagruppen *grün*, *krautig/pflanzlich*, *fruchtig*, *blumig*, *würzig*, *holzig*, *erdig*, *fermentiert* und *käsigt* sowie die anschließende organoleptische Beschreibung der Aromastoffe basieren auf den zahlreichen Untersuchungen von MOSCIANO (1989; 1990a,b; 1991a,b,c,d; 1992a,b; 1993a,b; 1995a,b,c; 1996a,b; 1997a,b; 1998; 2000; 2001a,b; 2009 via *the good scent company*) sowie den Erläuterungen von SURBURG und PANTEN (2006), NOZAKI et al. (1997), HUI (2010) und LAN-PHI et al. (2009). In Kapitel 4.1.9 werden die Anteile der einzelnen Aromagruppen an der Gesamtpeakfläche der GCMS-Chromatogramme (nachfolgend GCMSChr) der Klone miteinander verglichen. Im Anschluss erfolgt eine nähere Betrachtung des Einflusses der Jahreszeit (Regenzeit-Trockenzeit) und des Reifegrades der Früchte (unreif, reif, überreif) auf die Aromakomposition der einzelnen Kakaoklone (Kapitel 4.1.10.).

#### 4.1.1. Hauptkomponenten: Peakfläche der GCMSChr < 7,0E+09

##### 4.1.1.1. 2-Pentanolacetat

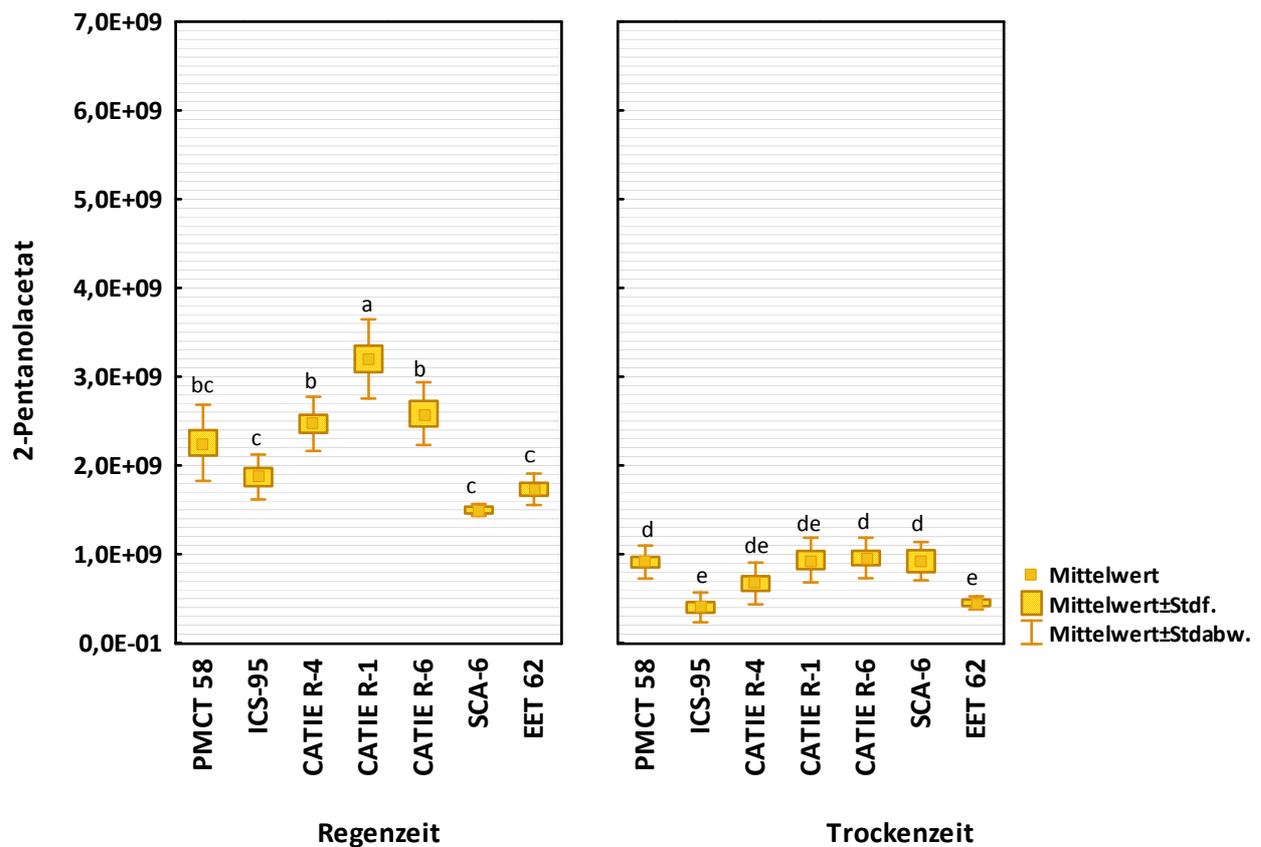
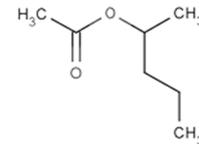
Gruppe: Ester

CAS-Nr.: 626-38-0

Aromagruppe: *fruchtig*

Aromabeschreibung: fruchtig, Muskat, grün, metallisch,  
Orange, Banane, leichte Nuss-Note

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 28: 2-Pentanolacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr Esters 2-Pentanolacetat aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 8,3619$ .

Eine mehrfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit anschließendem *post-hoc* Tukey HSD Test (ungleiches N) haben einen signifikanten Einfluss der Jahreszeit und des Genotyps auf den Anteil an 2-Pentanolacetat in den Pulpen der 7 untersuchten Kakaoklone ergeben. Während die durchschnittlichen Peakflächen in der Regenzeit  $2,23E+09$  erreichen, betragen sie in der Trockenzeit nur ca.  $7,58E+08$ . Der tropisch-fruchtige Aromastoff ist am intensivsten bei CATIE-R1 in der Regenzeit ( $3,20E+09$ ), gefolgt von CATIE-R4 und CATIE-R6 und PMCT-58. Bei den Klone ICS-95, SCA-6 und EET

62 ist die Peakfläche des Esters um ca. eine Zehnerpotenz kleiner. In der Trockenzeit unterscheiden sich die Klone PMCT-58, CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und SCA-6 in ihrem Pulpa-Gehalt an 2-Pentanolactetat nicht signifikant voneinander. Mit durchschnittlich  $4,27E+08$  ist die Peakfläche des Esters bei den Klonen ICS-95 und EET 62 in der Trockenzeit am geringsten.

#### 4.1.1.2. 2-Heptanolacetat

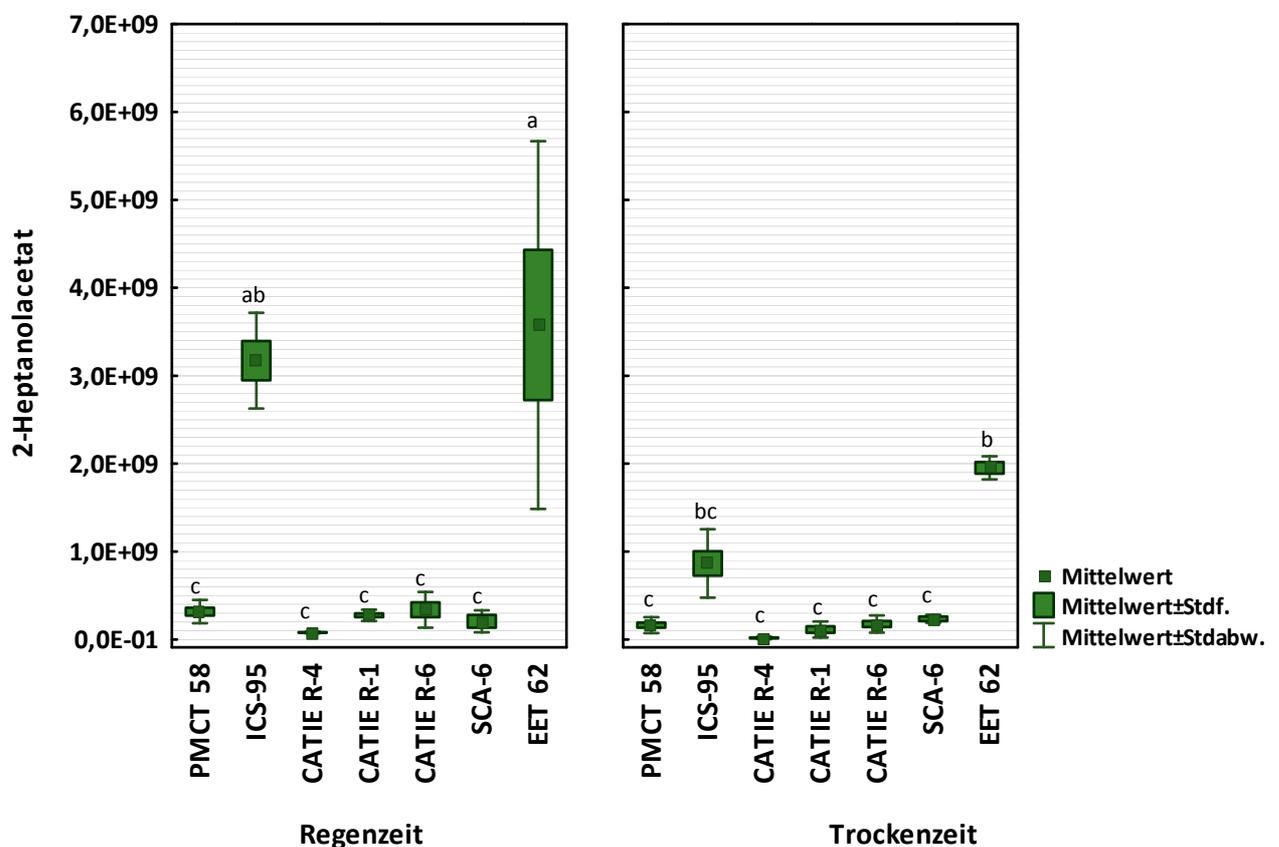
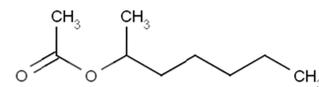
Gruppe: Ester

CAS-Nr.: 5921-82-4

Aromagruppe: grün

Aromabeschreibung: grün, fettig, fruchtig (Banane)

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 29: 2-Heptanolacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Esters 2-Heptanolacetat aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 8,5381$ .

Mit einer durchschnittlichen Peakfläche von  $3,58E+09$  in der Regenzeit und  $1,95E+09$  in der Trockenzeit weist der Kakaoklon EET 62 den größten Anteil von 2-Heptanolacetat in seiner Pulpa auf. Auch im Aromaprofil des Klons ICS-95 ist der grün, fettig, fruchtig riechende Ester in beiden

Jahreszeiten (Regenzeit und Trockenzeit mit  $3,17E+09$  und  $8,65E+08$ ) detektiert worden. Die Kakaogenotypen PMCT-58, CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und SCA-6 enthalten zwar 2-Heptanolacetat, die durchschnittlichen Peakflächengrößen sind jedoch in beiden Jahreszeiten signifikant geringer als bei ICS-95 und EET 62.

#### 4.1.1.3. trans-Ocimen

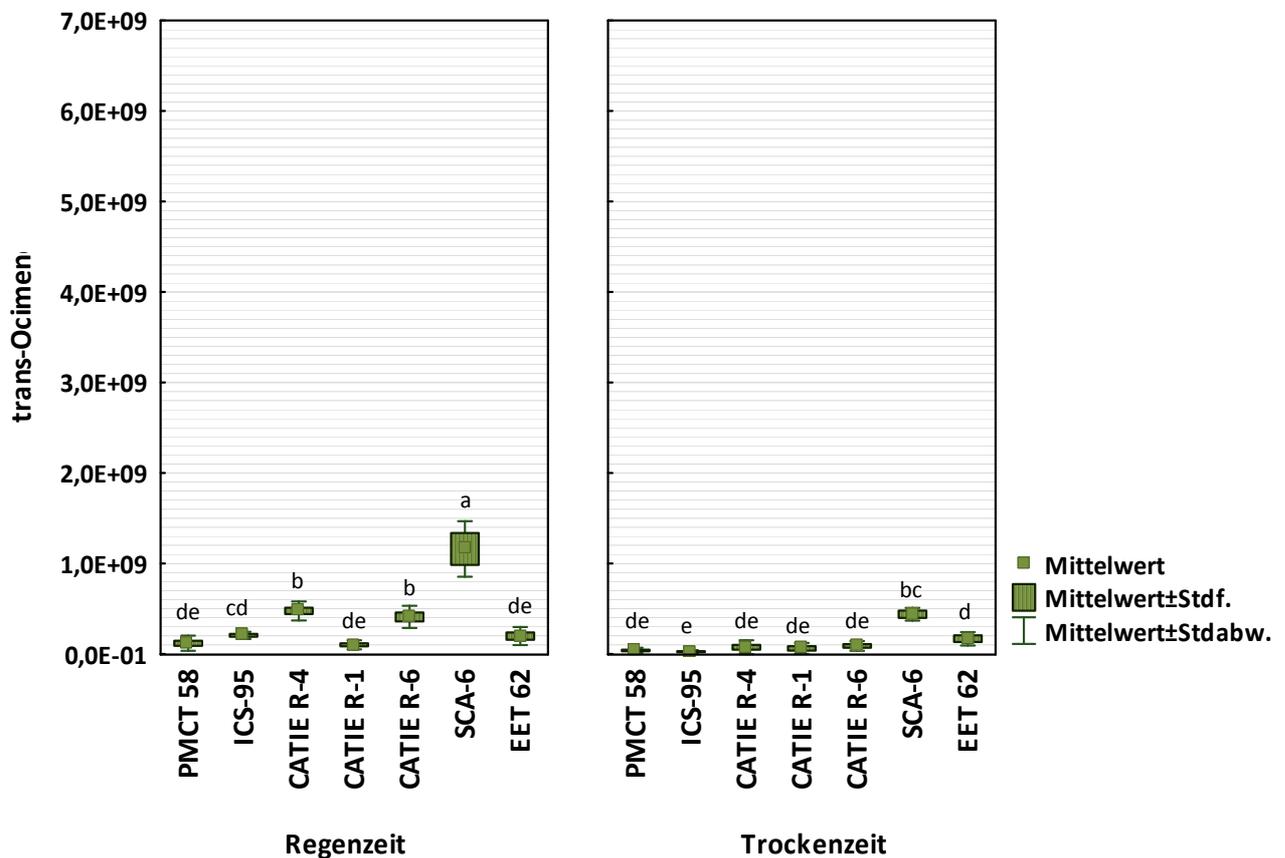
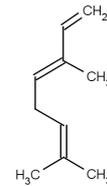
**Gruppe:** azyklisches Monoterpen

**CAS-Nr.:** 3779-61-1

**Aromagruppe:** krautig/pflanzlich

**Aromabeschreibung:** süß-krautig, Kiefer, Zitrus

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 30: trans-Ocimen in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChR des Terpens trans-Ocimen aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 8,5381$ .

Bei den Klone ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R6 und SCA gibt es einen signifikanten Einfluss der Jahreszeit auf den Gehalt an trans-Ocimen. Anders verhält es sich bei PMCT-58, CATIE-R1 und EET 62: hier unterscheiden sich die durchschnittlichen Peakflächen in der Regenzeit ( $1,98E+08$ ) und Trockenzeit

(3,92E+07) nicht signifikant voneinander. Die größten Anteile des azyklischen Monoterpenkohlenwasserstoffs mit süß-krautigem Aroma sind in der Pulpa des Klons SCA-6 detektiert worden (Regenzeit und Trockenzeit mit 1,16E+09 und 4,38E+08). CATIE-R4 und CATIE-R6 unterscheiden sich in beiden Jahreszeiten nicht signifikant voneinander, sie weisen eine durchschnittliche Peakfläche von 4,75E+08 bzw. 4,09E+08 in der Regenzeit und 7,37E+07 bzw. 8,84E+07 auf. Geringste Anteile von trans-Ocimen zeigt ICS-95 in der Trockenzeit.

#### 4.1.2. Hauptkomponenten: Peakfläche GCMSChr < 1,0E+09

##### 4.1.2.1. alpha-Ocimen

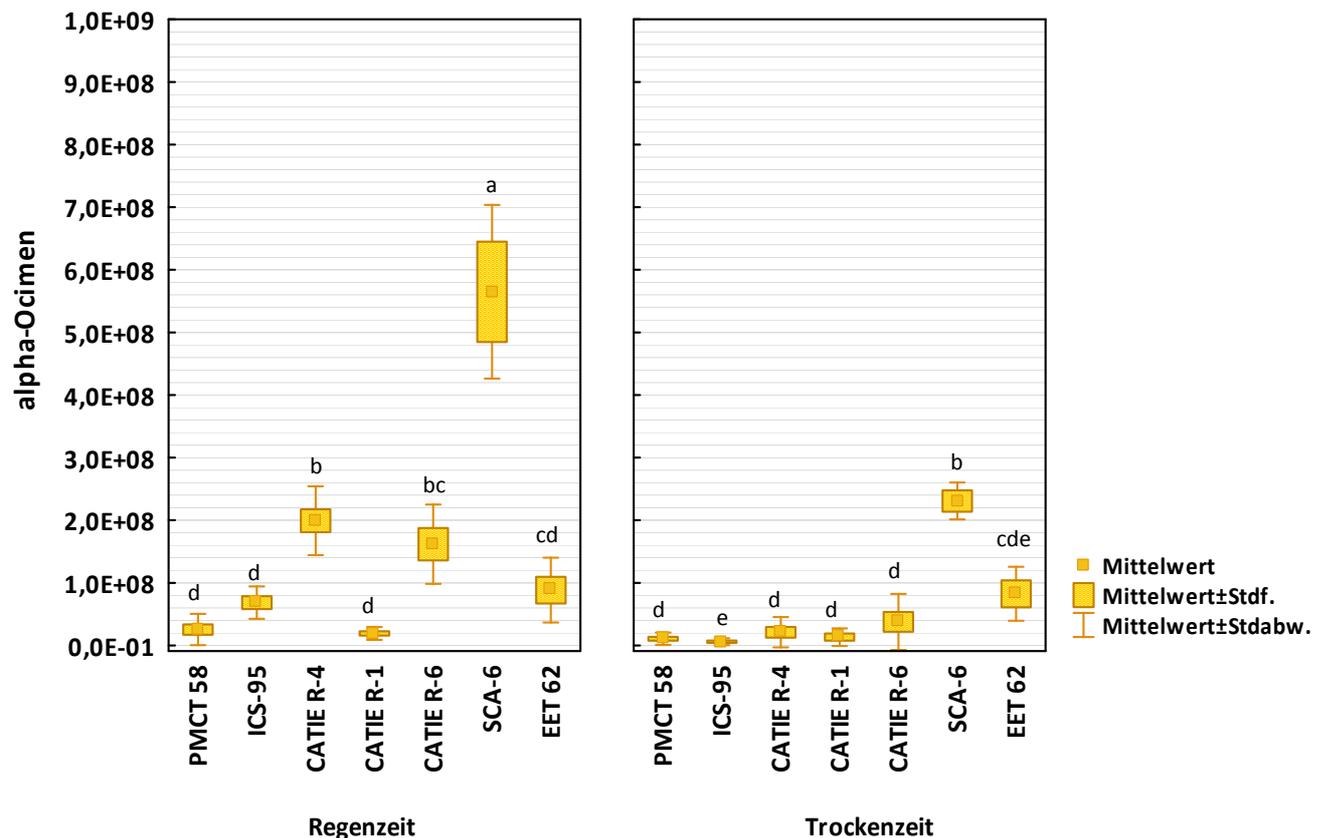
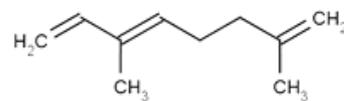
**Gruppe:** azyklisches Monoterpen

**CAS-Nr.:** 502-99-8

**Aromagruppe:** *fruchtig*

**Aromabeschreibung:** fruchtig-blumig

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 31: alpha-Ocimen in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Terpens alpha-Ocimen aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 20,673$ .

Sowohl in der Regenzeit (5,65E+08) als auch der Trockenzeit (2,31E+08), weist SCA-6 im Durchschnitt die größten Anteile von alpha-Ocimen auf. Wie bereits bei trans-Ocimen, unterscheiden sich auch im

Fall von alpha-Ocimen die Klone CATIE-R4 und CATIE-R6 in beiden Jahreszeiten nicht signifikant voneinander. In der Regenzeit sind die Anteile der fruchtig-blumigen Aromakomponente bei beiden Klonen signifikant höher. Die Kakaogenotypen PMCT-58, CATIE-R1 und ICS-95 enthalten weniger alpha-Ocimen als die anderen untersuchten Klone, EET 62 liegt mit einer durchschnittlichen Peakfläche von  $8,83E+07$  in der Regenzeit und  $8,13E+07$  in der Trockenzeit im mittleren Bereich.

#### 4.1.2.2. Linalool

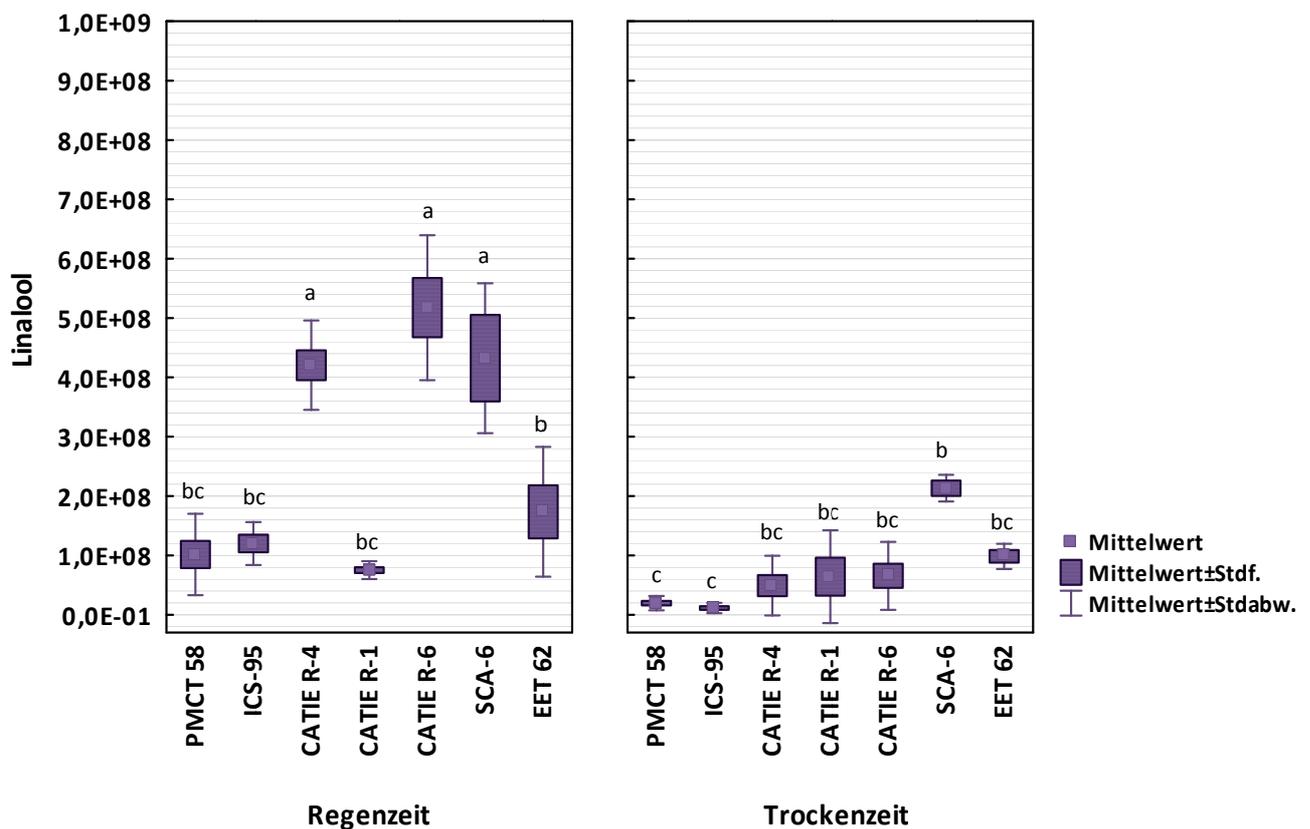
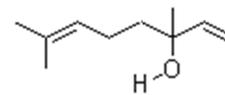
**Gruppe:** azyklischer Terpenalkohol

**CAS-Nr.:** 78-70-6

**Aromagruppe:** blumig

**Aromabeschreibung:** blumig (Maiglöckchen, Lavendel), leichte Zitrusnote (Orange), wachsartig

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 32: Linalool in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Terpenalkohols Linalool aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 25,659$ .

Der azyklische Terpenalkohol Linalool, mit seinem charakteristisch blumigen Aroma, ist bei allen untersuchten Kakaoklonen detektiert worden. Die größten durchschnittlichen Peakflächen weisen

CATIE-R6 (5,18E+08), SCA-6 (4,32E+08) und CATIE-R4 (4,21E+08) in der Regenzeit auf. CATIE-R1, PMCT-58, ICS-95 und EET 62 enthalten zu diesem Zeitpunkt signifikant geringere Mengen des Terpenalkohols. In der Trockenzeit sind die Anteile von Linalool bei CATIE-R6, SCA-6 und CATIE-R4 geringer und nicht mehr signifikant von CATIE-R1 und EET 62 verschieden. Bei den Genotypen ICS-95 und PMCT-58 ist die durchschnittliche Peakfläche in der Regenzeit (1,20E+08 und 1,02E+08) um ca. eine Zehnerpotenz größer als in der Trockenzeit (1,13E+07 und 1,96E+07).

Unter alleiniger Berücksichtigung der Trockenzeit ergibt eine einfaktorielle ANOVA mit anschließendem *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N eine signifikant größere durchschnittliche Peakfläche von Linalool bei SCA-6 als bei den anderen sechs untersuchten Kakaoklonen (Tab. 9).

**Tab. 9: Ergebnis der einfaktoriellen ANOVA und anschließendem *post-hoc* Test Tukey HSD (ungleiches N) für die Variablen Linalool und Klon, nur unter Berücksichtigung der Trockenzeit.**  
 $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0001^*$  (signifikant).  $F(6, 40) = 9,9166$

Klon	Linalool	1	2
ICS-95	1,13E+07	****	
PMCT 58	1,96E+07	****	
CATIE-R4	4,92E+07	****	
CATIE-R1	6,42E+07	****	
CATIE-R6	6,57E+07	****	
EET 62	9,85E+07	****	
SCA-6	2,13E+08		****

## 4.1.2.3. Myrcen

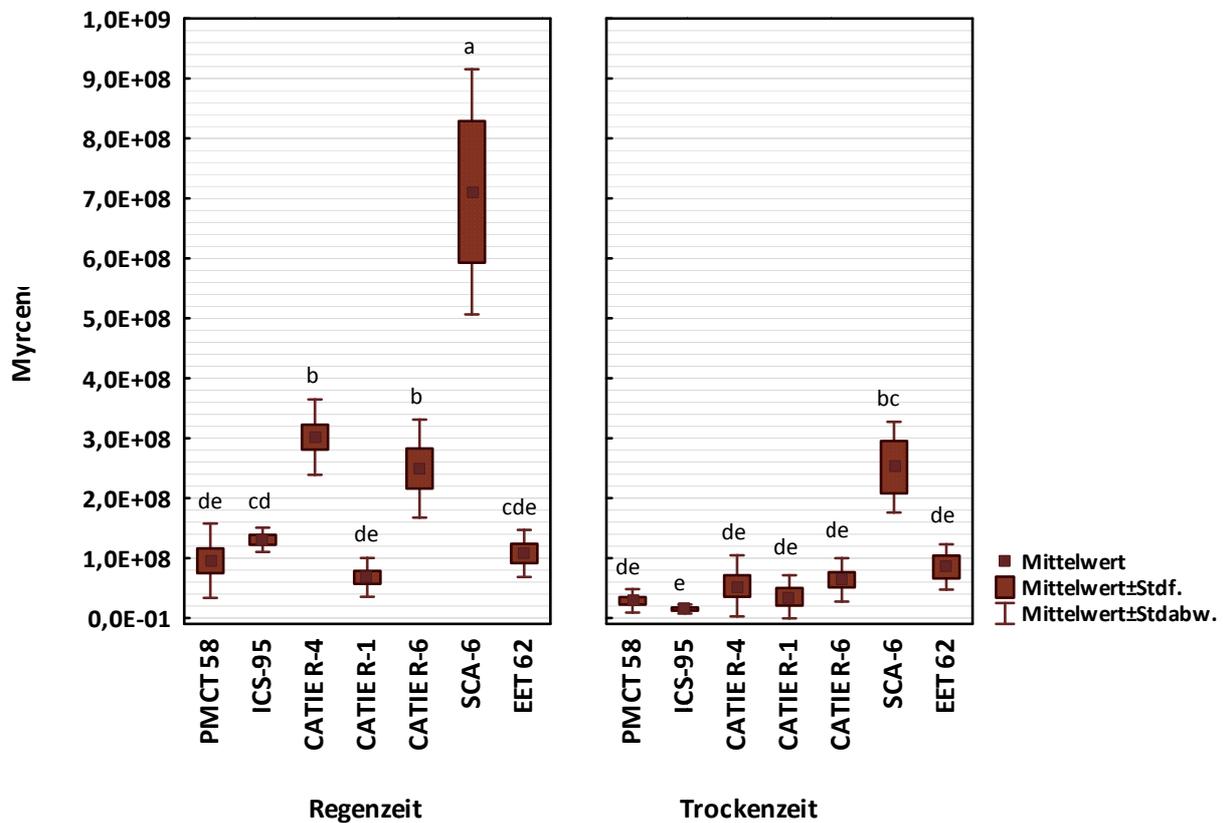
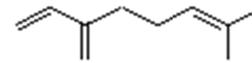
**Gruppe:** azyklisches Monoterpen

**CAS-Nr.:** 123-35-3

**Aromagruppe:** würzig

**Aromabeschreibung:** krautig, holzig, harzig, balsamisch, Hanf, leicht metallisch

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 33: Myrcen in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Terpens Myrcen aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 17,671$ .

Eine mehrfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N zeigen einen signifikanten Einfluss der Jahreszeit und des Kakaogenotyps auf den Gehalt an Myrcen in den Fruchtpulpen der 7 untersuchten Klone. Die auffälligsten Anteile des würzigen Monoterpens sind in der Regenzeit bei SCA-6 detektiert worden ( $7,11E+08$ ), gefolgt von CATIE-R4 und CATIE-R6 mit  $3,02E+08$  bzw.  $2,49E+08$ . In der Trockenzeit sind die Peakflächen der GCMSChr von Myrcen bei SCA-6, CATIE-R4 und CATIE-R6 um fast eine Zehnerpotenz kleiner. PMCT-58, ICS-95, CATIE-R1 und EET 62 sind weder in der Regenzeit, noch in der Trockenzeit in ihrem Gehalt an Myrcen signifikant voneinander verschieden. Ihre durchschnittliche Peakfläche beträgt  $1,00E+08$  (Regenzeit) bzw.  $4,11E+07$  (Trockenzeit).

#### 4.1.3. Minorkomponenten: Peakfläche GCMSChr < 5,0E+08

##### 4.1.3.1. 2-Methyl-3-buten-2-ol

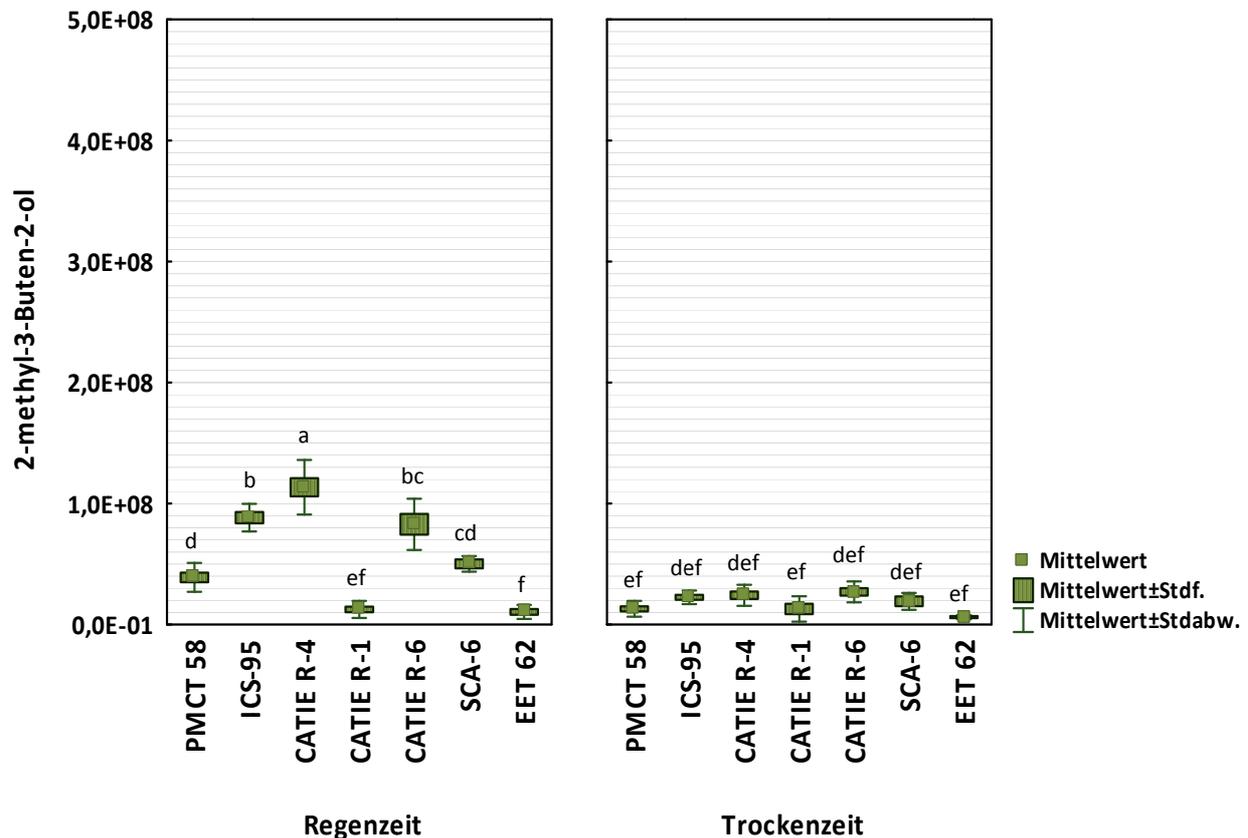
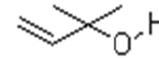
**Gruppe:** ungesättigter Alkohol

**CAS-Nr.:** 115-18-4

**Aromagruppe:** krautig/pflanzlich

**Aromabeschreibung:** krautig, erdig, ölig

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 34: 2-Methyl-3-buten-2-ol in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone in der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Alkohols 2-Methyl-3-buten-2-ol aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 29,556$ .

Eine Varianzanalyse nach ANOVA mit anschließendem *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N hat einen signifikanten Einfluss der Jahreszeit und des Genotyps auf den Gehalt an 2-Methyl-3-buten-2-ol ergeben. Während der Regenzeit, zeigt CATIE-R4 mit  $1,13E+08$  die größte durchschnittliche Peakfläche und unterscheidet sich damit signifikant von allen anderen untersuchten Klonen. ICS-95 und CATIE-R6 weisen ebenfalls einen großen Anteil des krautig riechenden Alkohols auf ( $8,84E+07$  und  $8,29E+07$ ). Obschon sich Unterschiede im Gehalt von 2-Methyl-3-buten-2-ol zwischen den Klonen in der Trockenzeit erkennen lassen, haben sich die Differenzen als statistisch nicht signifikant herausgestellt. In dieser Jahreszeit zeigt EET 62 ( $6,15E+06$ ) die kleinste, und CATIE-R6 ( $2,70E+07$ ) die größte durchschnittliche Peakfläche des Alkohols.

## 4.1.3.2. 2-Nonanon

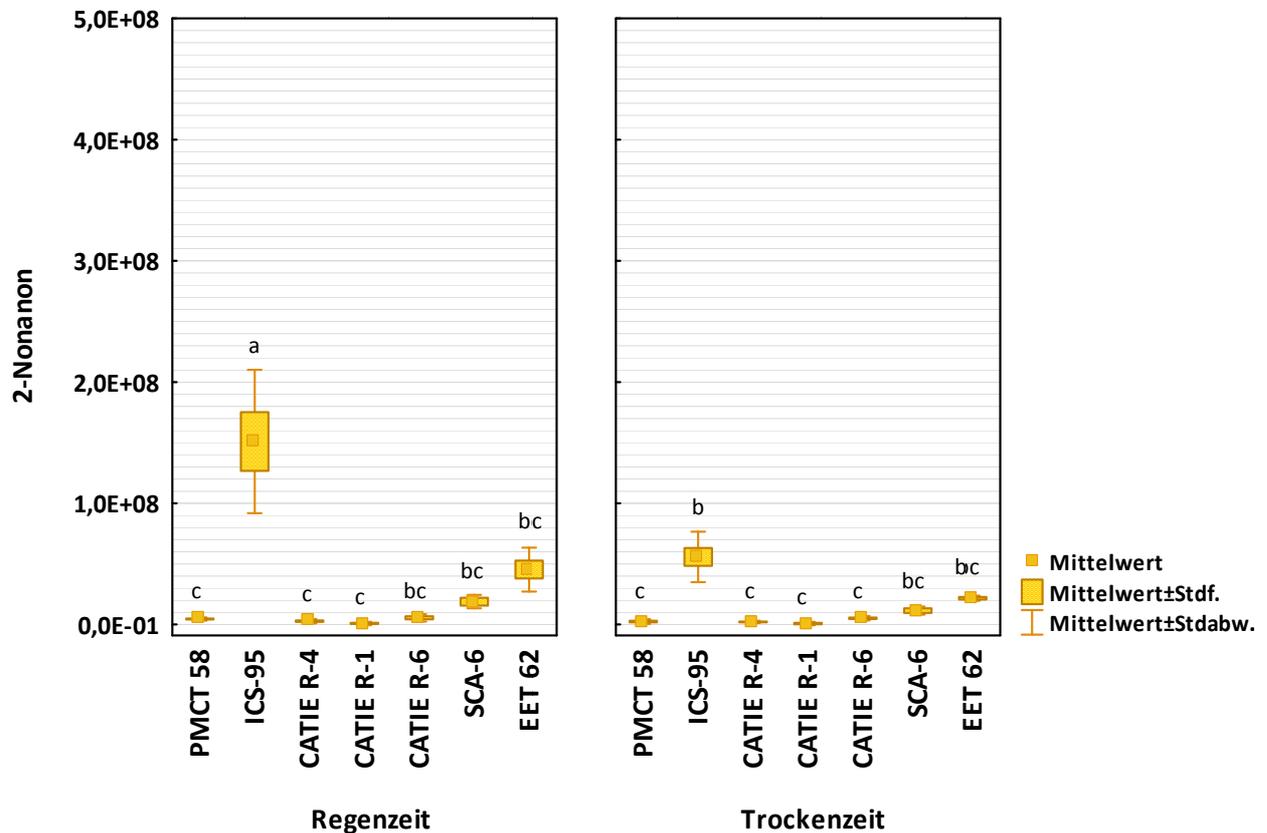
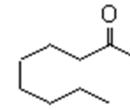
Gruppe: Keton

CAS-Nr.: 821-55-6

Aromagruppe: *fruchtig*

Aromabeschreibung: fruchtig, süß, seifig, Kokos, wachsartig, krautig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 35: 2-Nonanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Ketons 2-Nonanon aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0125$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 2,9060$ .

Der Kakaoklon ICS-95 zeigt in beiden Jahreszeiten die größten Anteile des fruchtigen Aromastoffs 2-Nonanon auf ( $1,51E+08$  und  $5,58E+07$  in der Regen- und Trockenzeit). Die Fruchtpulpen der anderen Genotypen enthalten signifikant weniger 2-Nonanon. Obwohl die durchschnittliche Größe der Peakflächen auch zwischen den anderen Klone divergiert, hat eine Varianzanalyse nach ANOVA keine signifikanten Unterschiede ergeben. Bei PMCT-58, CATIE-R4 und CATIE-R1 schwanken die Peakflächen der GCMSChr zwischen  $8,92E+05$  bis  $4,59E+06$  in der Regenzeit und  $8,30E+05$  bis  $2,47E+06$  in der Trockenzeit.

## 4.1.3.3. 2-Pentanon

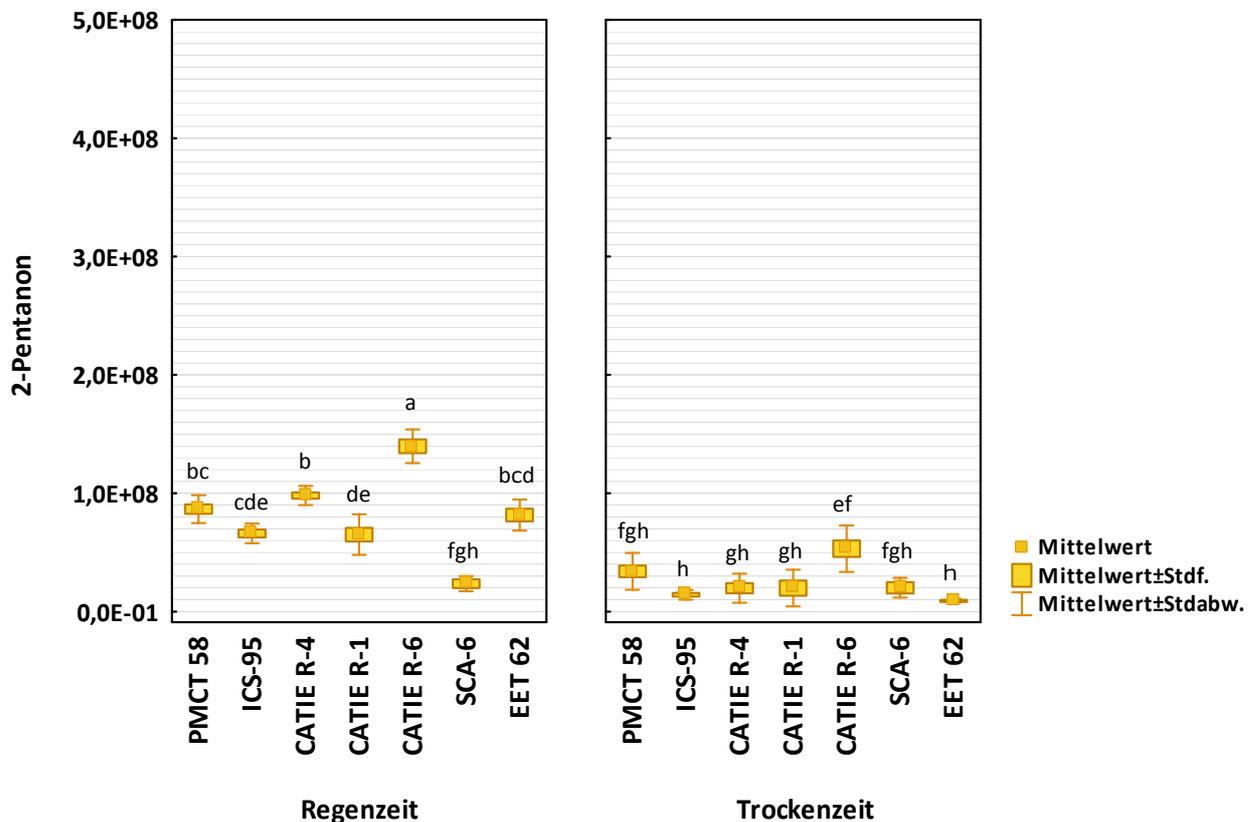
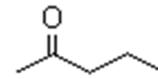
Gruppe: Keton

CAS-Nr.: 107-87-9

Aromagruppe: *fruchtig*

Aromabeschreibung: Banane, fermentierte Holznuancen, flüchtig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 36: 2-Pentanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Ketons 2-Pentanon aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 10,613$ .

Die untersuchten Kakaoklone unterscheiden sich signifikant in ihrem Gehalt an 2-Pentanon. CATIE-R6 zeigt in beiden Jahreszeiten die größten durchschnittlichen Peakflächen auf (Regenzeit und Trockenzeit mit  $1,40E+08$  und  $5,31E+07$ ). Während SCA-6 in beiden Jahreszeiten eine vergleichbare Menge von 2-Pentanon aufweist, sind die Peakflächen der GCMSChr bei den anderen Genotypen in der Trockenzeit signifikant geringer. PMCT-58, CATIE-R4 und EET 62 enthalten in der Regenzeit vergleichbare Mengen des nach Banane und fermentiertem Holz riechenden Ketons; in der Trockenzeit ist die durchschnittliche Peakfläche bei PMCT-58 größer. ICS-95 und CATIE-R1 sind sich in ihrem Gehalt an 2-Pentanon ähnlich.

4.1.3.4. 2-Heptanol

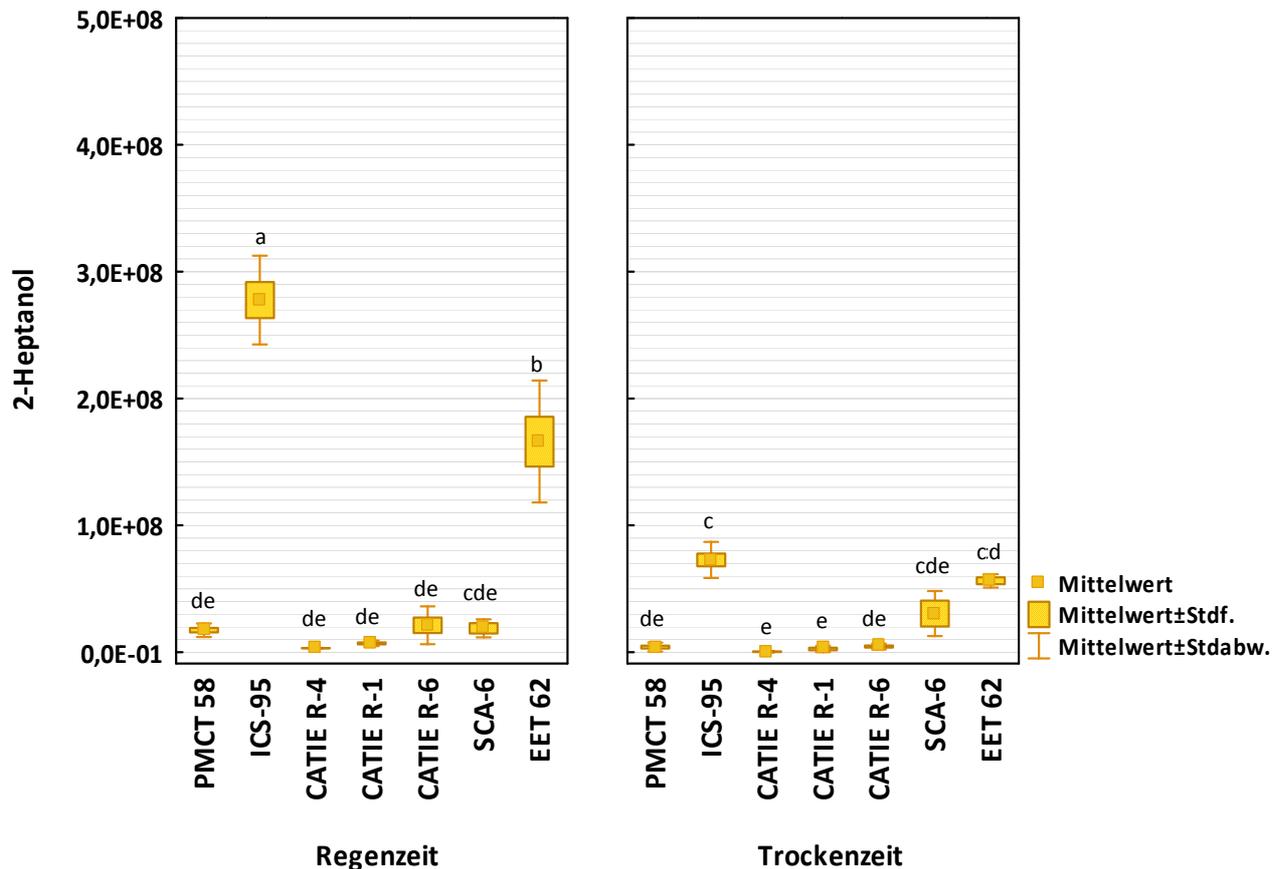
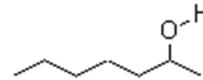
**Gruppe:** sekundärer Alkohol

**CAS-Nr.:** 543-49-7

**Aromagruppe:** *fruchtig*

**Aromabeschreibung:** frisch, Zitronengras, krautig, süß, fruchtig-blumig, grün

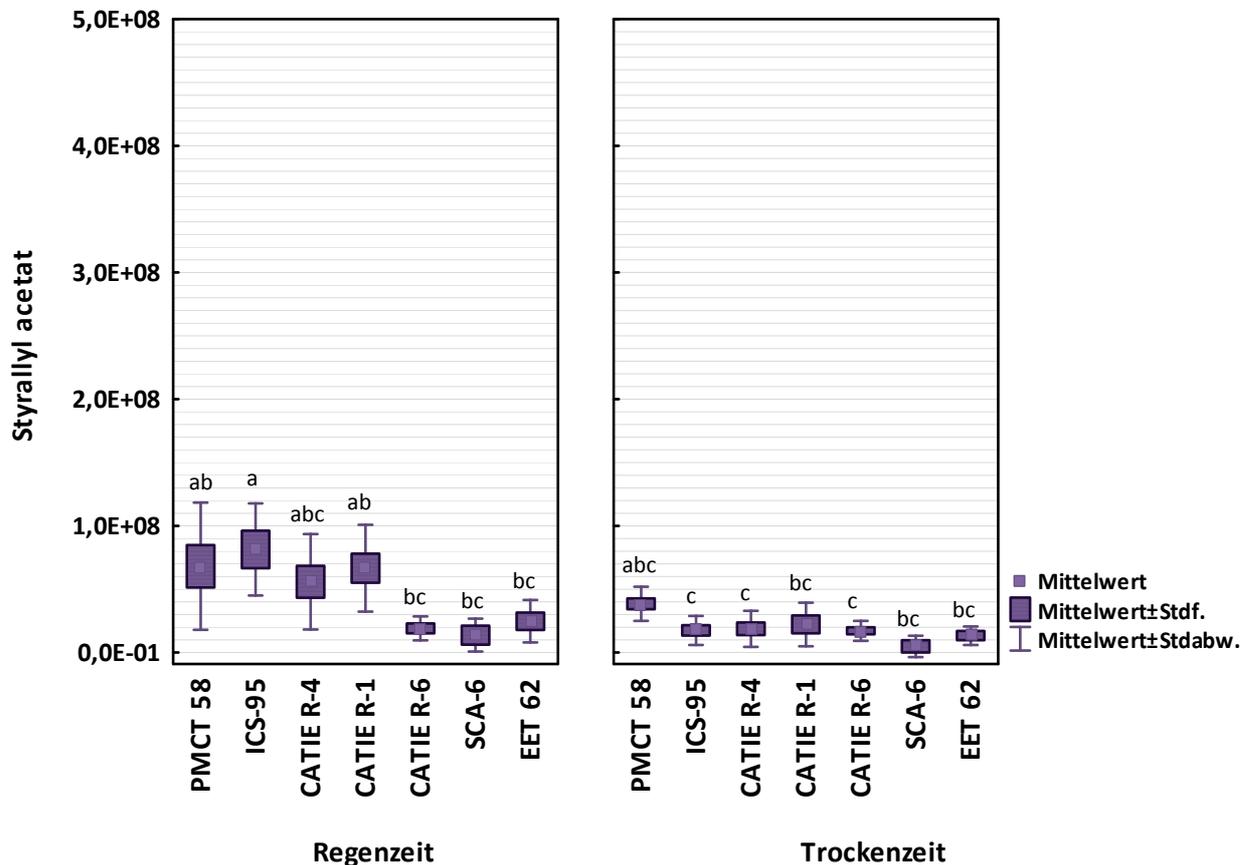
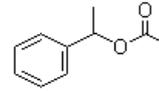
**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 37: 2-Heptanol in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des sekundären Alkohols 2-Heptanol aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 43,719$ .

Die 7 untersuchten Kakaogenotypen weisen signifikante Differenzen im Gehalt an 2-Heptanol auf. In der Regenzeit hebt sich ICS-95 mit einer durchschnittlichen Peakfläche von  $2,78E+08$  deutlich von den Klonen CATIE-R4, CATIE-R1, PMCT-58, SCA-6 und CATIE-R6 (mit  $3,21E+06$ ,  $6,99E+06$ ,  $1,74E+07$ ,  $1,88E+07$  und  $2,12E+07$ ) ab. Lediglich EET 62 ( $1,66E+08$ ) nähert sich ICS-95 an. In der Trockenzeit fällt der Anteil von 2-Heptanol signifikant geringer aus ( $7,28E+07$  bei ICS-95) und die Differenzen zwischen den Genotypen nehmen ab. Bei CATIE-R4 beträgt die durchschnittliche Peakfläche noch  $4,42E+05$ .

4.1.3.5. Styrallylacetat (1-Phenylethylacetat)**Gruppe:** Ester**CAS-Nr.:** 93-92-5**Aromagruppe:** blumig**Aromabeschreibung:** blumig (Gardenia), trocken, intensiv, grün, frisch, beerig-fruchtige Nuancen**Strukturformel (CAS, 2015b):**

**Abb. 38: Styrallylacetat in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Esters Styrallylacetat (1-Phenylethylacetat) aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0397$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 2,3238$ .

Alle untersuchten Genotypen enthalten die volatile Aromakomponente Styrallylacetat in ihrer frischen Fruchtpulpa. Der durchschnittliche Anteil des blumig riechenden Esters fällt in der Trockenzeit zwar geringer aus als in der Regenzeit, doch sind die Differenzen statistisch nicht signifikant. Mit  $8,14E+07$  weist ICS-95 die größte durchschnittliche Peakfläche in der Regenzeit auf, gefolgt von PMCT-58 ( $6,81E+07$ ), CATIE-R1 ( $6,66E+07$ ) und CATIE-R4 ( $5,59E+07$ ). CATIE-R6, SCA-6 und EET 62 zeigen mit einer gemittelten Peakfläche von  $1,92E+07$  einen geringeren Anteil von Styrallylacetat am Pulpaaroma.

## 4.1.3.6. 2-Heptanon

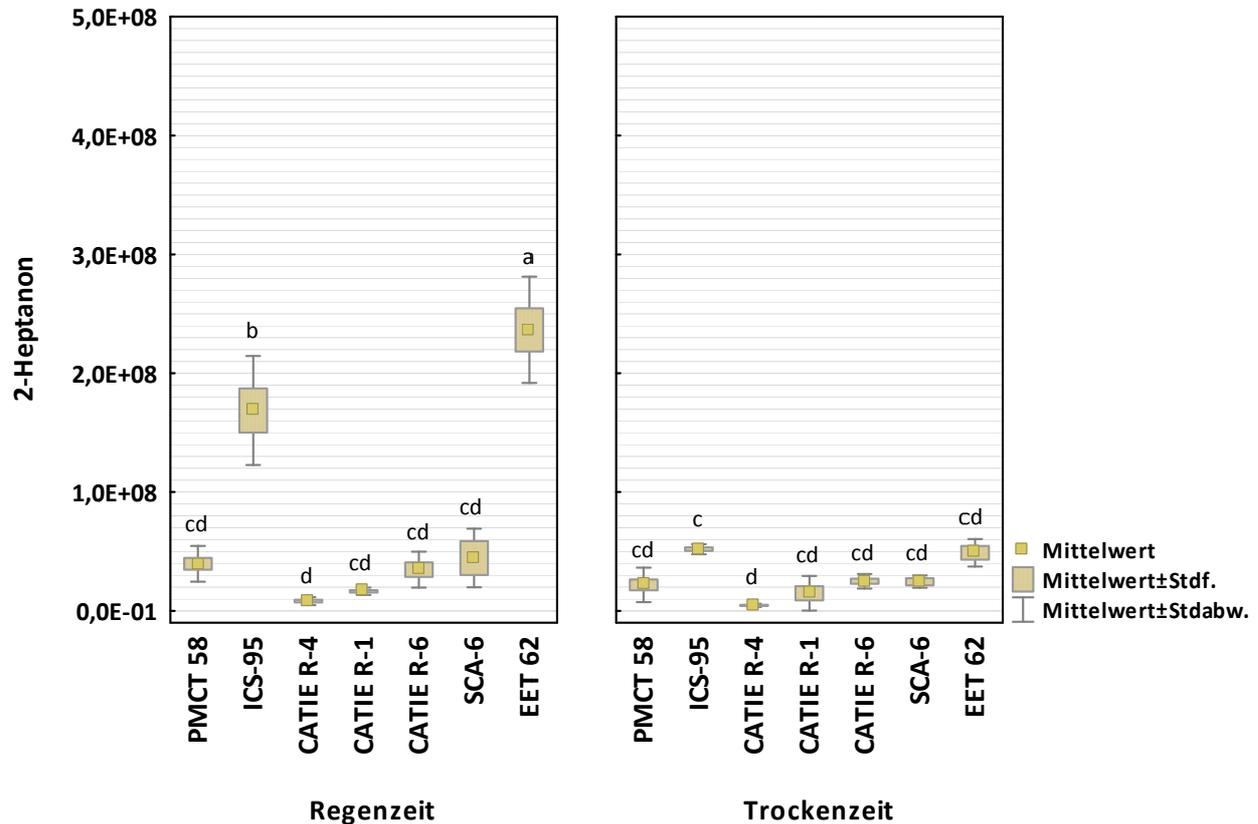
Gruppe: Keton

CAS-Nr.: 110-43-0

Aromagruppe: käsig

Aromabeschreibung: Kasig (Blauschimmelkäse),  
fruchtig (Brombeere, grüne Banane) , Zimt

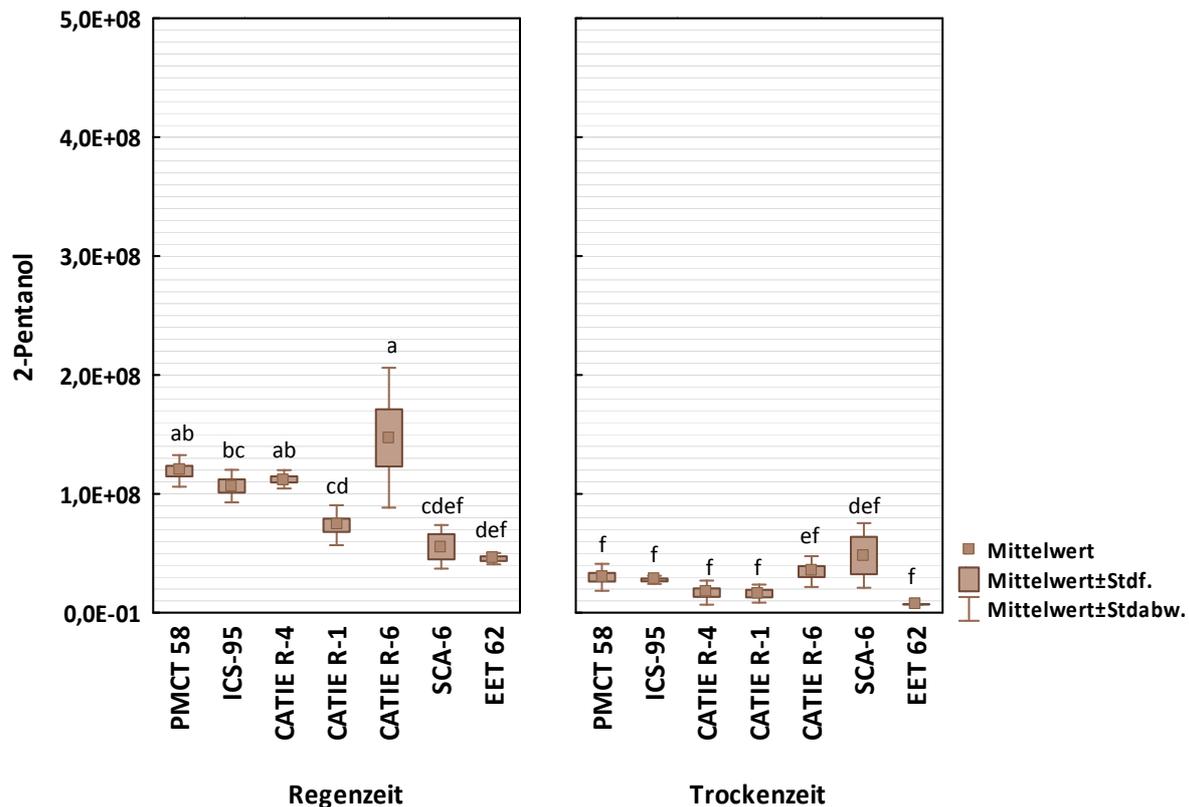
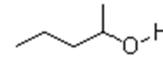
Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 39: 2-Heptanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSCh des Ketons 2-Heptanon aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 29,220$ .

Eine zweifaktorielle ANOVA mit anschließendem *post-hoc* Tukey HSD für ungleiche N hat einen signifikanten Einfluss des Genotyps und der Jahreszeit auf den Gehalt an 2-Heptanon in der frischen Pulpa der untersuchten Kakaoklone ergeben. Sowohl in der Regenzeit, als auch in der Trockenzeit, enthalten ICS-95 und EET 62 größere Mengen des Ketons als die anderen Genotypen. In der Trockenzeit fällt die Differenz statistisch nicht signifikant aus. In der Regenzeit sind die Anteile des käsig-fruchtig riechenden 2-Heptanons bei EET 62 ( $2,36E+08$ ) und ICS-95 ( $1,69E+08$ ) signifikant größer als bei den Genotypen SCA-6 ( $4,45E+07$ ), PMCT-58 ( $3,96E+07$ ) und CATIE-R6 ( $3,48E+07$ ). CATIE-R4 enthält in beiden Jahreszeiten am wenigsten 2-Heptanon.

4.1.3.7. 2-Pentanol**Gruppe:** sekundärer Alkohol**CAS-Nr.:** 6032-29-7**Aromagruppe:** fermentiert**Aromabeschreibung:** adstringierend (beißend), schwer, staubig, unangenehm**Strukturformel (CAS, 2015b):**

**Abb. 40: 2-Pentanol in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des sekundären Alkohols 2-Pentanol aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 9,2212$ .

Alle untersuchten Kakaogenotypen enthalten in beiden Jahreszeiten 2-Pentanol in ihrem Pulpaaroma. Bei den Klonen CATIE-R6, PMCT-58, CATIE-R4, ICS-95, und CATIE-R1 sind die durchschnittlichen Peakflächen mit  $1,47E+08$ ,  $1,19E+08$ ,  $1,12E+08$ ,  $1,07E+08$  und  $7,36E+07$  in der Regenzeit signifikant größer als in der Trockenzeit ( $3,47E+07$ ,  $2,98E+07$ ,  $1,69E+07$ ,  $2,77E+07$  und  $1,62E+07$ ). SCA-6 und EET 62 zeigen zwischen den Jahreszeiten keine statistisch signifikanten Unterschiede in ihrem Gehalt an 2-Pentanol auf.

## 4.1.4. Minorkomponenten: Peakfläche GCMSChr &lt; 1,0E+08

## 4.1.4.1. 2-Octanolacetat

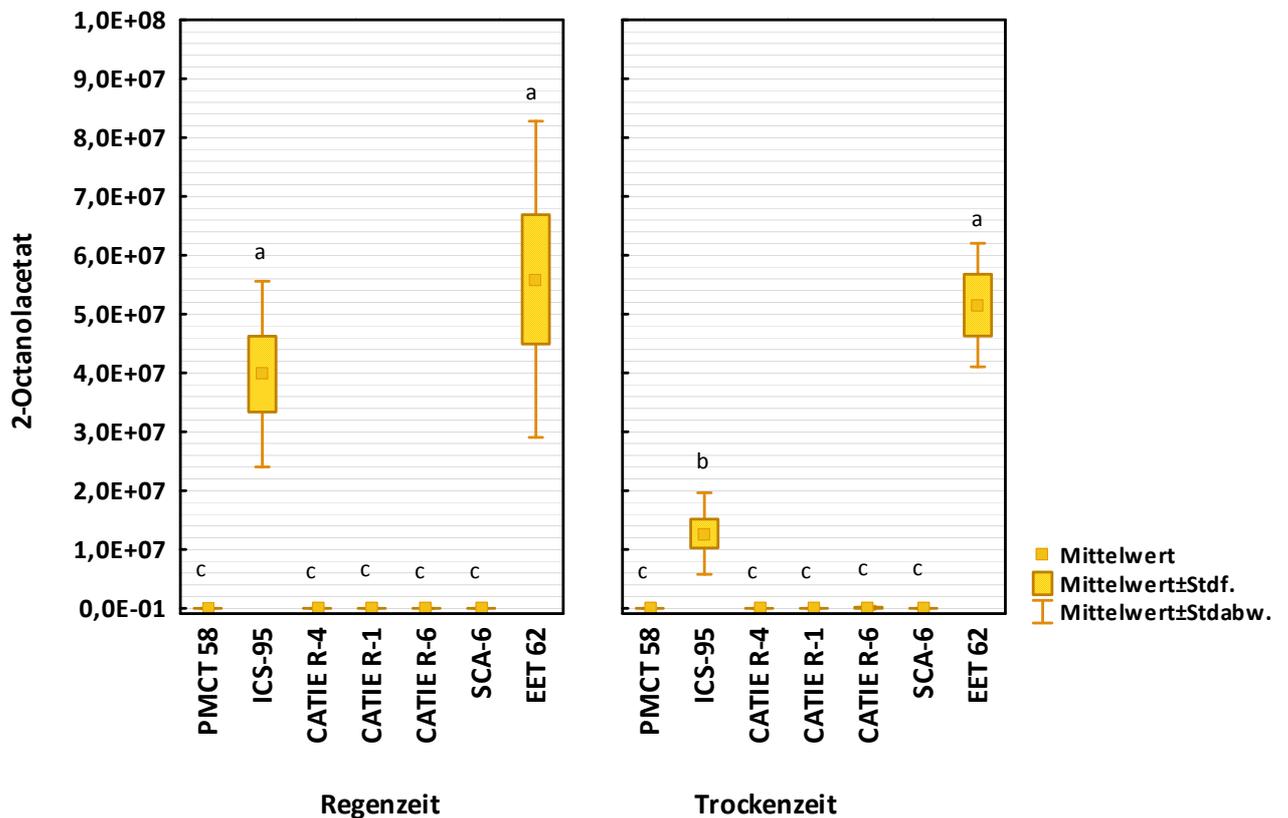
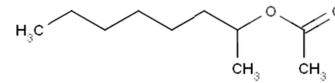
Gruppe: Ester

CAS-Nr.: 2051-50-5

Aromagruppe: fruchtig

Aromabeschreibung: Zitrus (Orange)

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 41: 2-Octanolacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Esters 2-Octanolacetat aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, gerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0009$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,2517$ .

Der nach Zitrus riechende Aromastoff 2-Octanolacetat ist in den Pulpen der Klone ICS-95 und EET 62 detektiert worden. Die anderen untersuchten Genotypen weisen den Ester nicht auf. Während die durchschnittliche Peakfläche bei ICS-95 in der Regenzeit signifikant höher ist ( $3,98E+07$  statt  $1,27E+07$  in der Trockenzeit), zeigt EET 62 in beiden Jahreszeiten vergleichbare Anteile von 2-Octanolacetat (durchschnittlich  $5,37E+07$ ).

## 4.1.4.2. 2-Nonanol

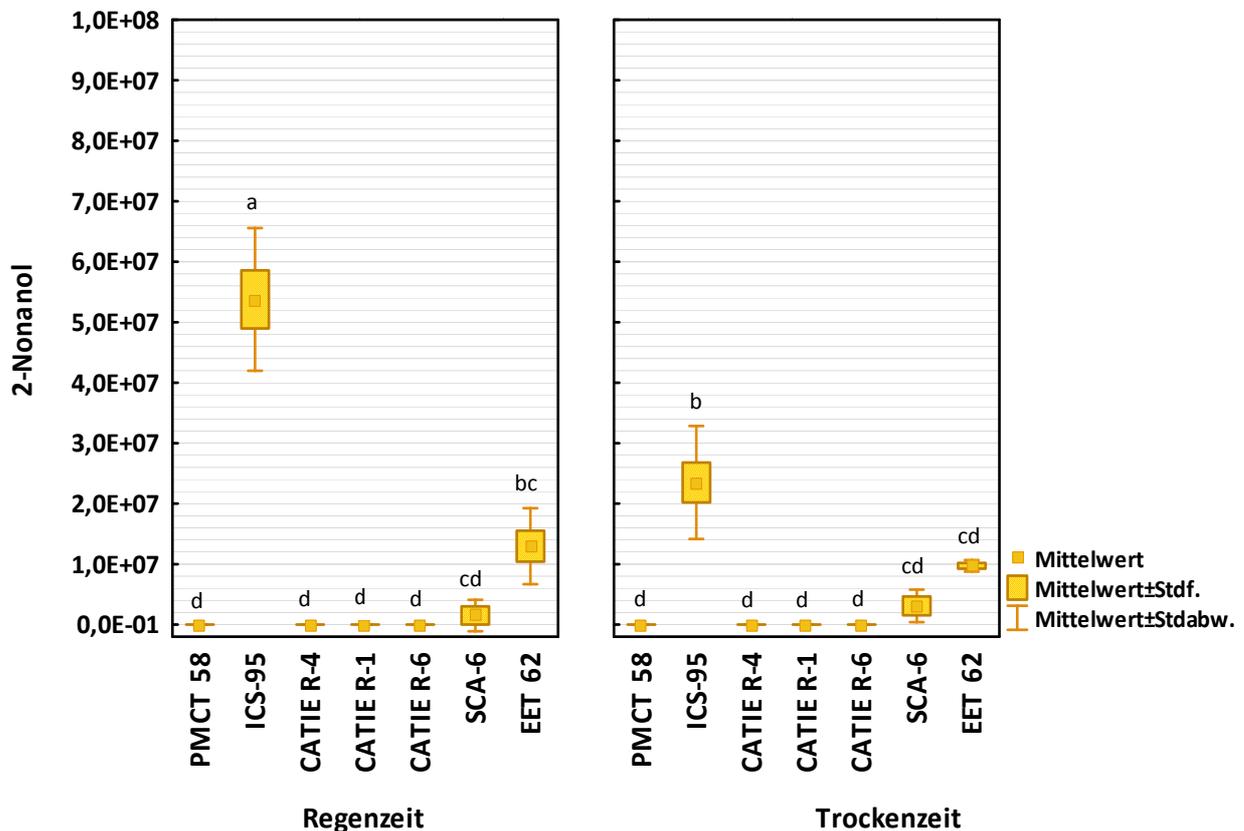
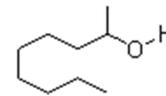
Gruppe: sekundärer Alkohol

CAS-Nr.: 628-99-9

Aromagruppe: *fruchtig*

Aromabeschreibung: Zitrus (Orange), sahnig, grün, wachsartig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 42: 2-Nonanol in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des sekundären Alkohols 2-Nonanol aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0008$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,2631$ .

Der sekundäre Alkohol 2-Nonanol ist in beiden Jahreszeiten in den frischen Fruchtpulpen von ICS-95, EET 62 und SCA-6 detektiert worden. Die anderen Genotypen enthalten kein 2-Nonanol im Fruchtfleisch. Bei ICS-95 erreicht die durchschnittliche Peakfläche  $5,38E+07$  in der Regenzeit und  $2,35E+07$  in der Trockenzeit. EET 62 liegt mit  $1,30E+07$  (Regenzeit) und  $9,72E+06$  (Trockenzeit) im mittleren Bereich, während SCA-6 die geringsten Mengen des fruchtigen Alkohols aufzeigt ( $3,10E+06$  bzw.  $1,50E+06$ ).

#### 4.1.5. Minorkomponenten Peakfläche GCMSChr < 5,0E+07

##### 4.1.5.1. 5-Methyl-3-heptanon

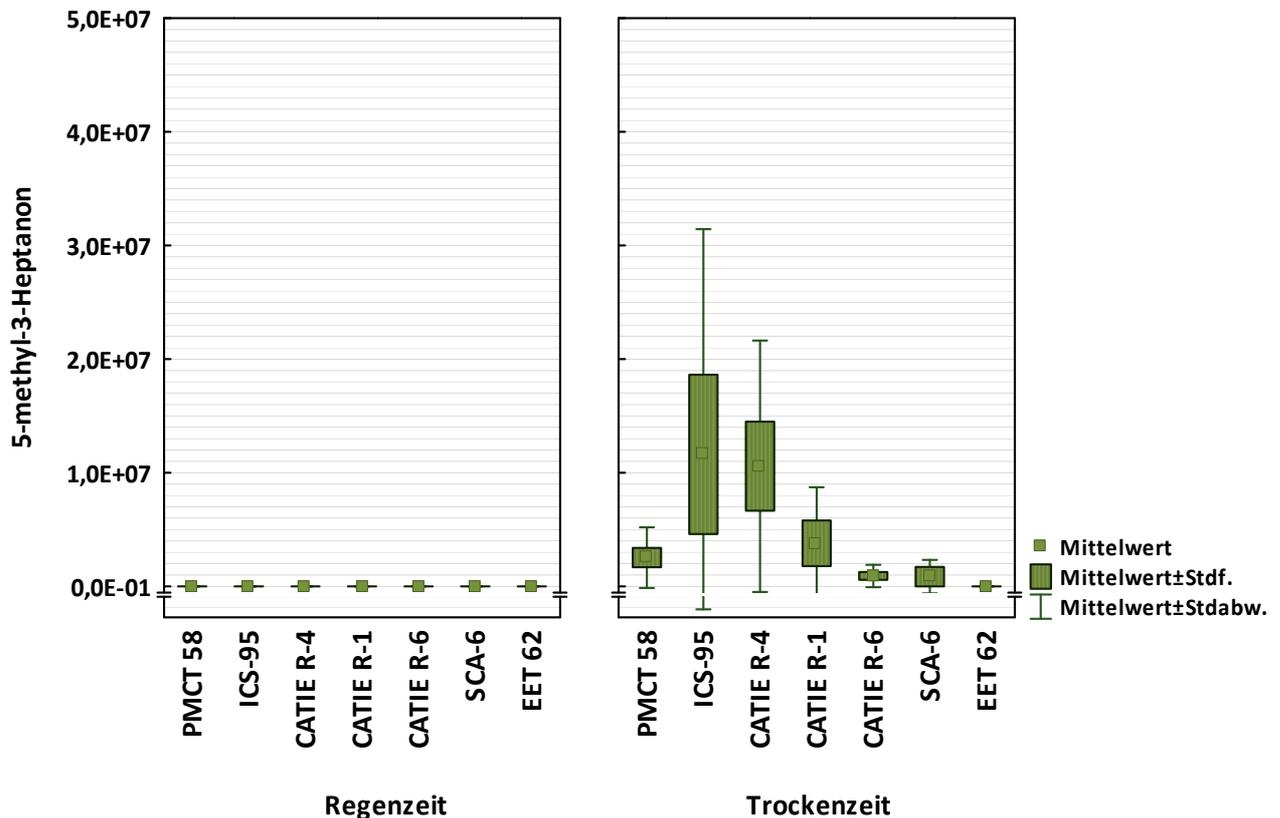
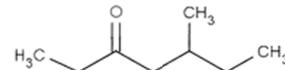
Gruppe: Keton

CAS-Nr.: 541-85-5

Aromagruppe: krautig/pflanzlich

Aromabeschreibung: krautig, süß, ölig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 43: 5-Methyl-3-heptanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Ketons 5-Methyl-3-heptanon aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R-4, CATIE-R-1, CATIE-R-6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. Skalenunterbrechung: von 7,0E-06 bis 5,5E-05. Zweifaktorielle ANOVA (Genotyp\*Jahreszeit) und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker).  $n = 3-9$

Eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) hat keine statistisch signifikanten Unterschiede im Gehalt an 5-Methyl-3-heptanon ergeben, es ist lediglich ein Effekt der Jahreszeit auf die Anwesenheit des Ketons im Pulpaaroma der untersuchten Kakaoklone festgestellt worden. Während in der Regenzeit keine Peaks auftauchen, zeigen einzelne Messungen der Klone ICS-95, CATIE-R-4, CATIE-R-1, PMCT-58, CATIE-R-6 und SCA-6 das krautig riechende Keton in der Trockenzeit.

## 4.1.5.2. Linalylacetat

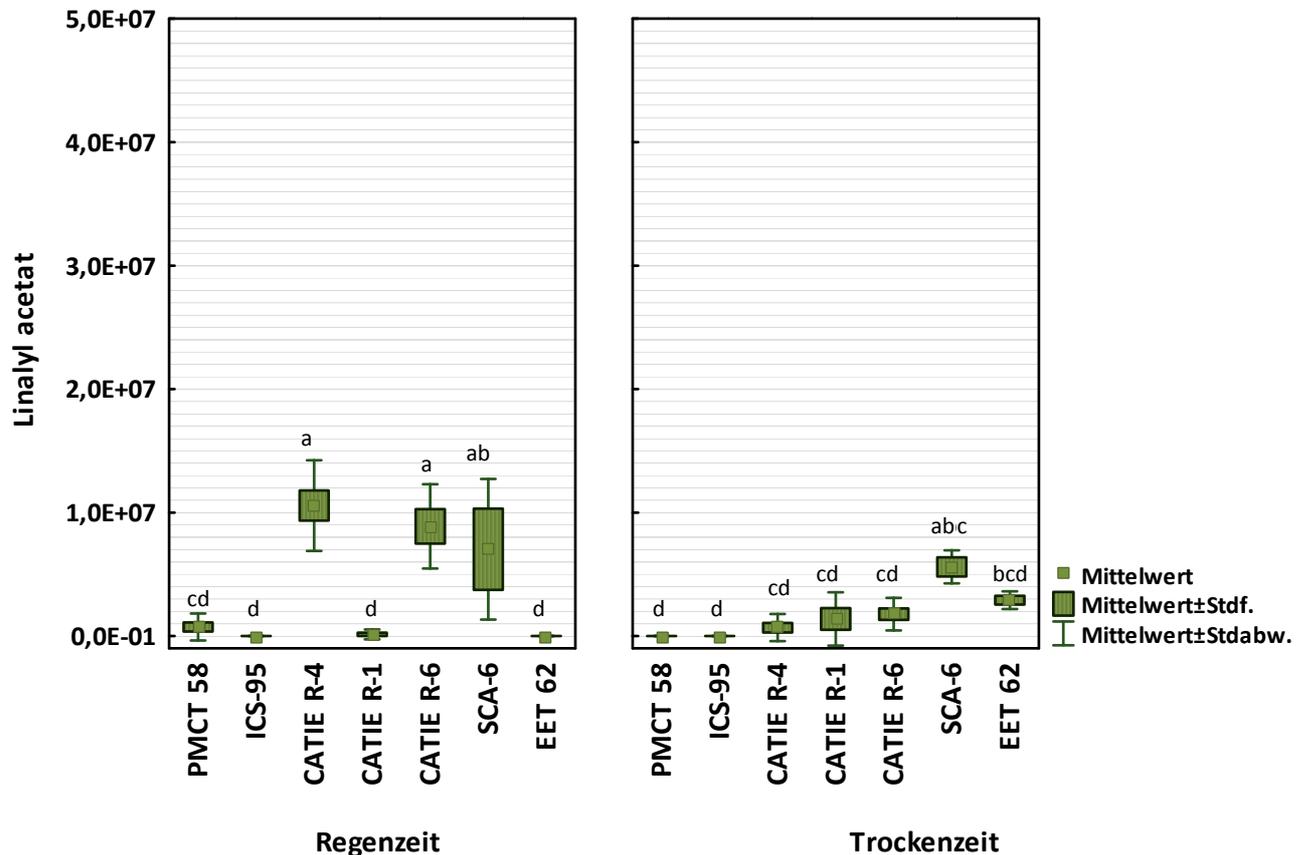
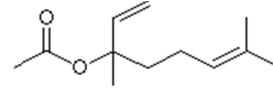
Gruppe: Ester

CAS-Nr.: 115-95-7

Aromagruppe: krautig/pflanzlich

Aromabeschreibung: krautig, süß, würzig, Bergamotte, holzig, Zitrusnote

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 44: Linalylacetat in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSchr des Esters Linalylacetat aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 22,754$ .

Die krautig-würzige Aromakomponente Linalylacetat ist bei den Kakaogenotypen CATIE-R4, CATIE-R6 und CATIE-R1 in beiden Jahreszeiten festgestellt worden. Bei dem Klon ICS-95 ist der Ester nicht aufgetaucht, bei PMCT-58 nur in der Regenzeit ( $7,32E+05$ ) und bei EET 62 nur in der Trockenzeit ( $2,91E+06$ ). In der Regenzeit ist die durchschnittliche Peakfläche bei CATIE-R4 am größten ( $1,06E+07$ ), gefolgt von CATIE-R6 ( $8,88E+06$ ) und SCA-6 ( $7,03E+06$ ); CATIE-R1 weist in dieser Jahreszeit am wenigsten Linalylacetat auf ( $1,34E+05$ ). In der Trockenzeit hat SCA-6 die größte durchschnittliche Peakfläche ( $5,60E+06$ ), unterscheidet sich aber nicht signifikant von den Klone EET 62, CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6.

## 4.1.5.3. 2-Undecanon

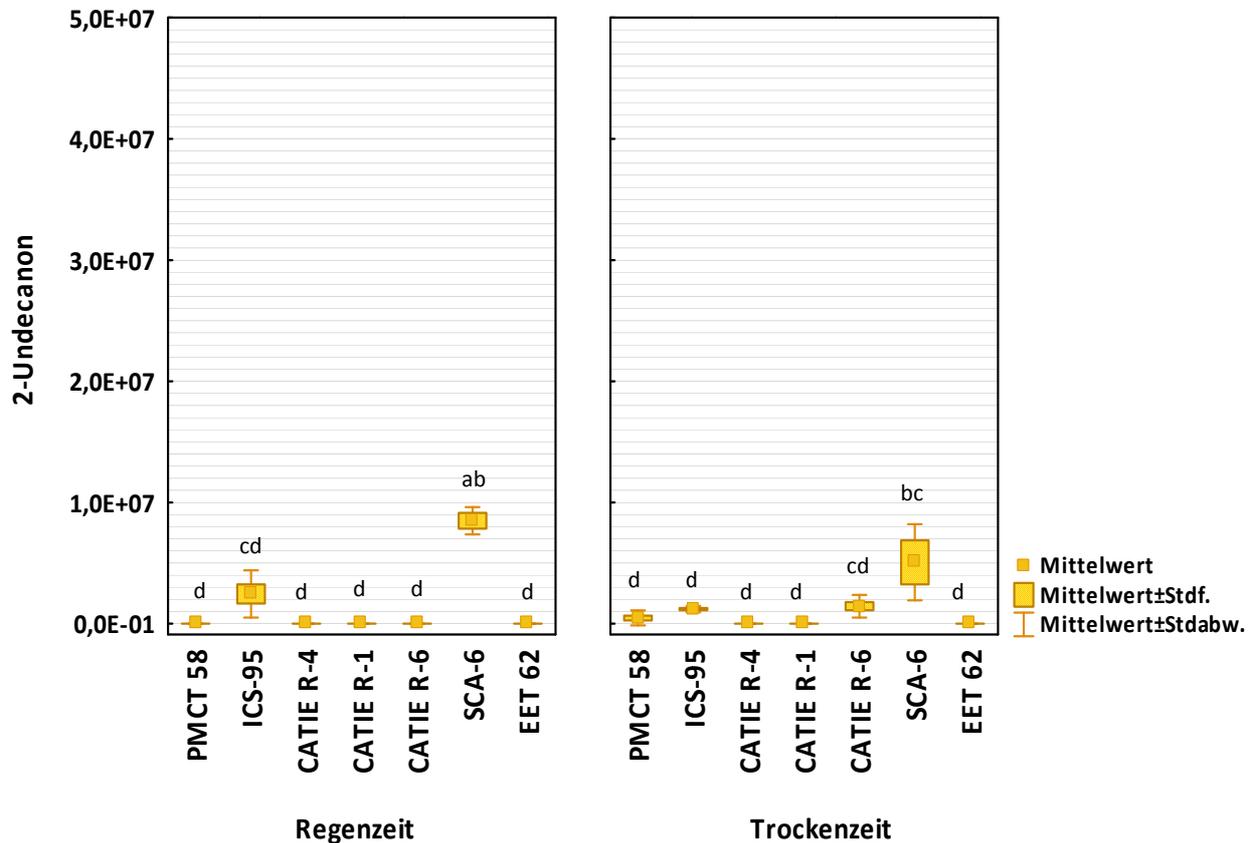
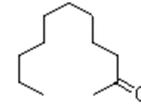
Gruppe: Keton

CAS-Nr.: 112-12-9

Aromagruppe: *fruchtig*

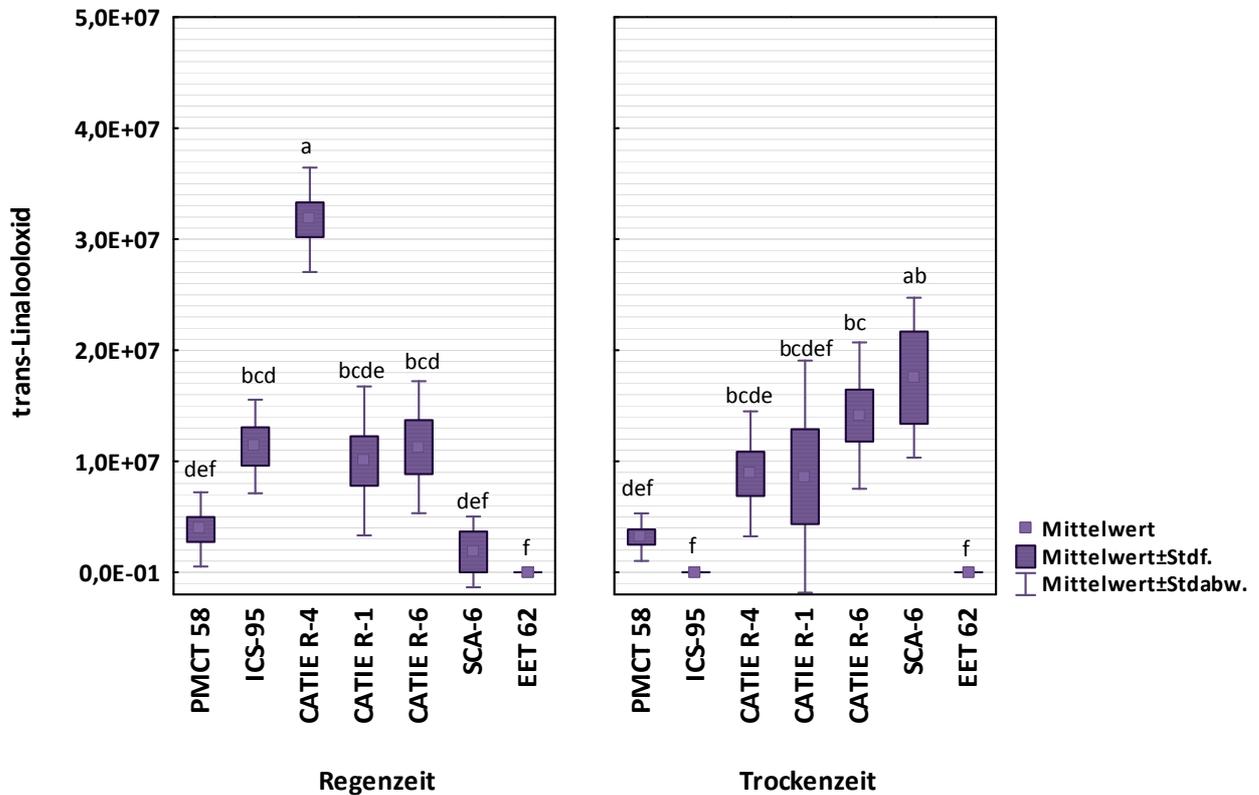
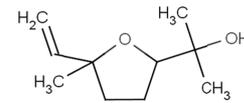
Aromabeschreibung: fruchtig (Ananas), wachsartig, fettig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 45: 2-Undecanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Ketons 2-Undecanon aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0112$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 2,9643$ .

In den frischen Fruchtpulpen der Kakaogenotypen SCA-6, ICS-95, CATIE-R6 und PMCT-58 ist das Keton 2-Undecanon gefunden worden. Es handelt sich um eine fruchtige, nach Ananas riechende Aromakomponente. Während SCA-6 und ICS-95 2-Undecanon in beiden Jahreszeiten aufzeigen (8,49E+06 bzw. 2,45E+06 in der Regenzeit und 5,06E+06 bzw. 1,20E+06 in der Trockenzeit), konnte es bei PMCT-58 und CATIE-R6 nur in einzelnen Proben aus der Trockenzeit detektiert werden. Die Klone CATIE-R1, CATIE-R4 und EET 62 weisen keine Spuren des fruchtigen Ketons in ihren Pulpen auf.

4.1.5.4. trans-Linalooloxid**Gruppe:** heterozyklisches Monoterpenderivat**CAS-Nr.:** 34995-77-2**Aromagruppe:** blumig**Aromabeschreibung:** blumig-erdig, leichte Bergamotte**Strukturformel (CAS, 2015b):**

**Abb. 46: trans-Linalooloxid in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChR von trans-Linalooloxid aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 17,010$ .

Eine Varianzanalyse (ANOVA) mit anschließendem *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiche N hat einen signifikanten Effekt des Genotyps auf den Gehalt von trans-Linalooloxid ergeben. Dabei sind auch Unterschiede zwischen den beiden Jahreszeiten erkennbar. In der Regenzeit reichert CATIE-R4 signifikant mehr trans-Linalooloxid in seiner Pulpa an ( $3,18E+07$ ) als alle anderen untersuchten Genotypen. In der Trockenzeit sind die Gehalte geringer, hier befindet sich CATIE-R4 mit einer durchschnittlichen Peakfläche von  $8,87E+06$  auf einer Stufe mit CATIE-R1 ( $8,61E+06$ ) und CATIE-R6 ( $1,41E+07$ ). Die Gehalte der einzelnen Proben schwanken stark, so dass in der Trockenzeit keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Klonen vorliegen. Auffällig sind ICS-95 und EET 62. Bei letzterem ist in beiden Jahreszeiten kein trans-Linalooloxid detektiert worden; ICS-95 weist den blumigen Aromastoff lediglich in der Regenzeit auf ( $1,13E+07$ ). PMCT-58 enthält in beiden Jahreszeit gleich viel trans-Linalooloxid ( $3,86E+06$  bzw.  $3,17E+06$  in der Regenzeit und Trockenzeit).

## 4.1.5.5. Acetophenon

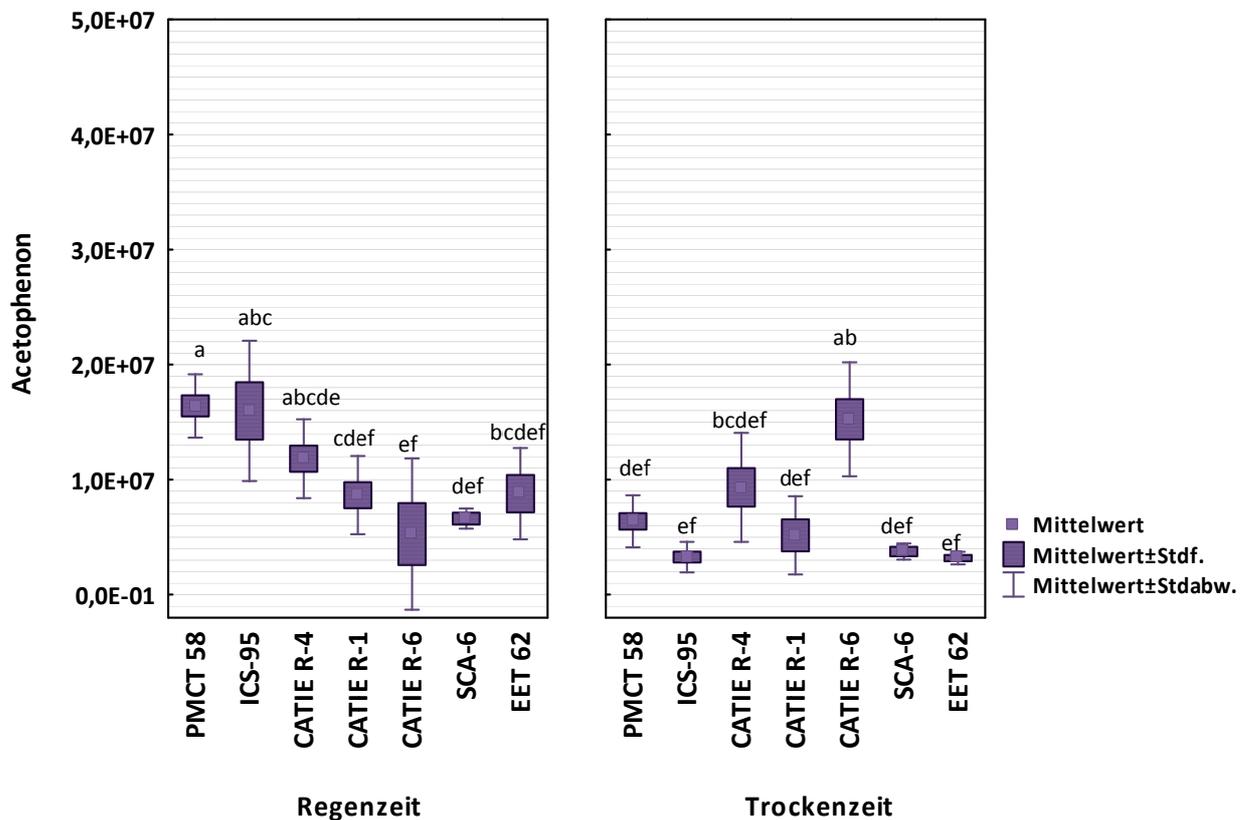
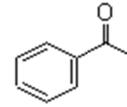
Gruppe: Keton

CAS-Nr.: 98-86-2

Aromagruppe: blumig

Aromabeschreibung: Orangenblüte, süß, würzig (Cumarin),  
Marzipan, leichte Nuss- und Vanille Note

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 47: Acetophenon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Ketons Acetophenon aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,0395$ .

Alle untersuchten Kakaoklone enthalten in beiden Jahreszeiten die Aromakomponente Acetophenon, dessen Geruch als blumig, süß, würzig beschrieben wird und an Orangenblüte erinnert. In der Regenzeit weist PMCT-58 mit  $1,64E+07$  die größte durchschnittliche Peakfläche auf. In ICS-95 und CATIE-R4 sind ähnliche Peakflächengrößen festgestellt worden ( $1,60E+07$  bzw.  $1,18E+07$ ), sie unterscheiden sich jedoch nicht signifikant von den restlichen Klone. Die geringsten Anteile weist in dieser Jahreszeit der Genotyp CATIE-R6 auf ( $5,27E+06$ ). In der Trockenzeit ergibt sich ein konträres Bild. Hier zeigt CATIE-R6 im Durchschnitt die größte Peakfläche von Acetophenon ( $1,52E+07$ ) und enthält damit statistisch signifikant mehr von dem Aromastoff als PMCT-58 ( $6,38E+06$ ), CATIE-R1 ( $5,16E+06$ ), SCA-6 ( $3,75E+06$ ), ICS-95 ( $3,27E+06$ ) und EET 62 ( $3,18E+06$ ). Lediglich CATIE-R4 ( $9,33E+06$ ) nähert sich CATIE-R6 an.

4.1.5.6. Styrallyl alcohol (1-Phenylethanol)

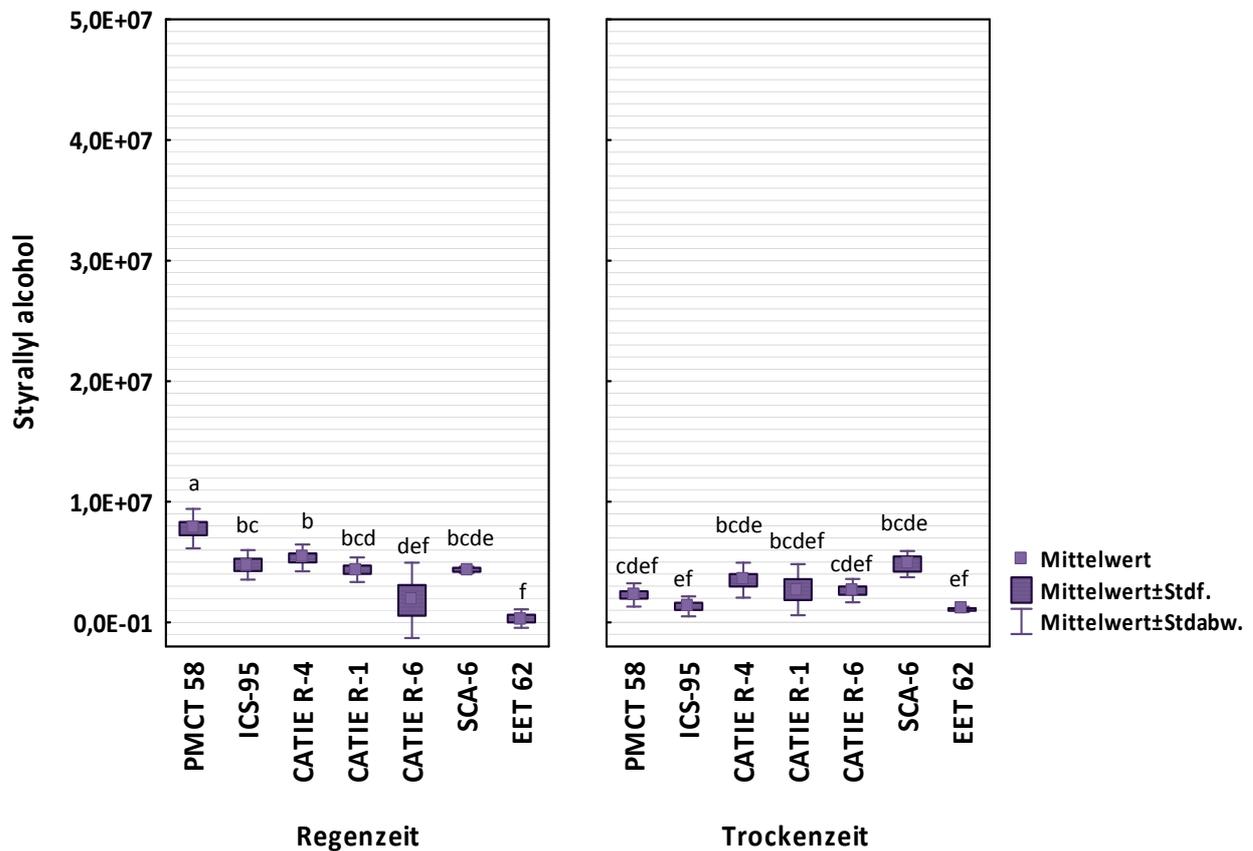
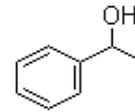
Gruppe: sekundärer Alkohol

CAS-Nr.: 98-85-1

Aromagruppe: blumig

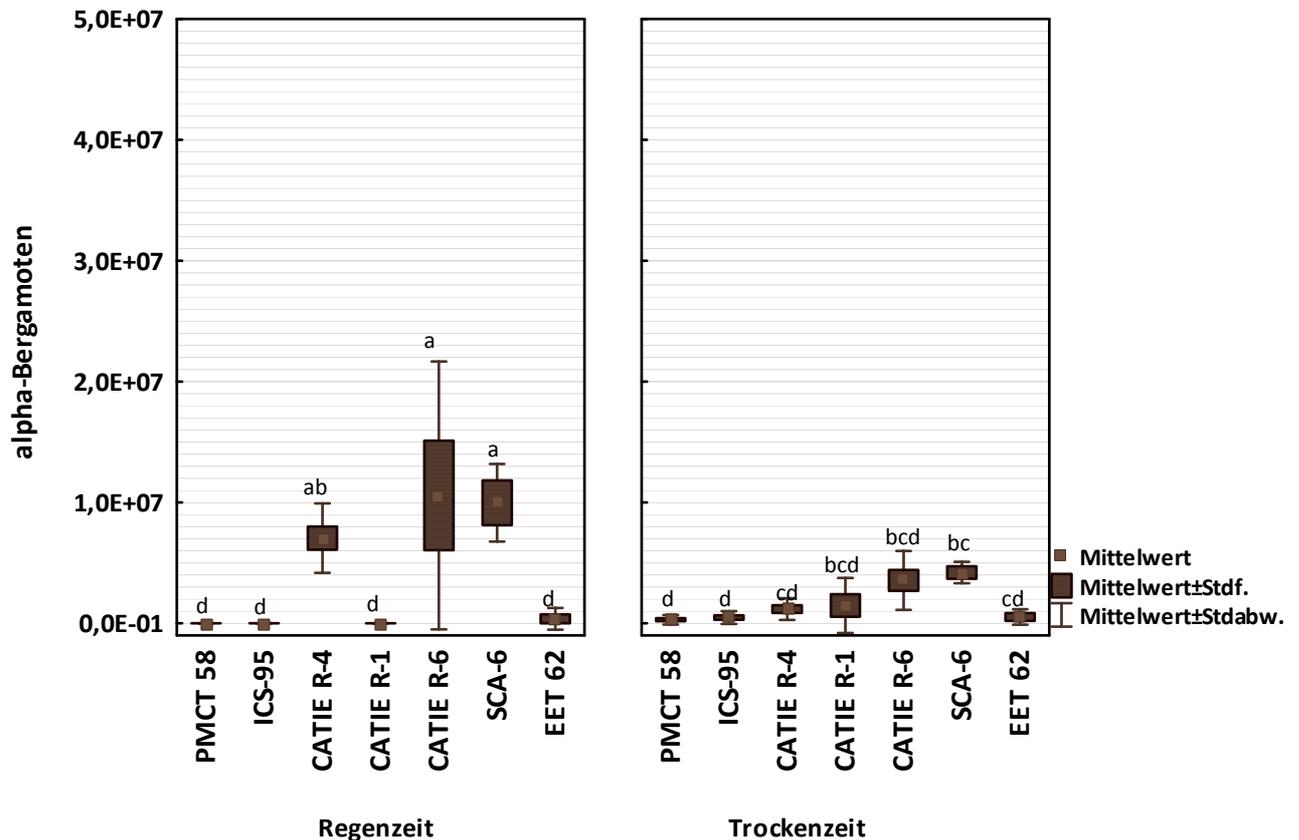
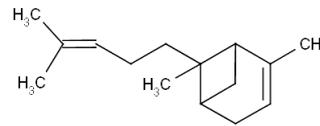
Aromabeschreibung: trocken, Weißdorn, Rose

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 48: Styrallyl alcohol in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des sekundären Alkohols Styrallyl alcohol aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. Skalenunterbrechung: von  $2,0E-06$  bis  $5,0E+07$ . ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 10,300$ .

Bei dem durch Reduktion von Acetophenon entstehenden sekundären Alkohol Styrallyl alcohol, handelt es sich um eine blumige Aromakomponente, die in allen hier untersuchten Kakaogenotypen detektiert wurde. Lediglich PMCT-58 und ICS-95 zeigen einen Effekt der Jahreszeit auf; bei beiden Klonen sind die durchschnittlichen Peakflächen in der Regenzeit signifikant größer ( $7,78E+06$  bzw.  $4,77E+06$ ) als in der Trockenzeit ( $2,28E+06$  bzw.  $1,33E+06$ ). Bei den anderen Klonen sind die Anteile des sekundären Alkohols am Gesamtpulpaaroma in beiden Jahreszeiten vergleichbar. Die Unterschiede zwischen den Genotypen CATIE-R4, CATIE-R1 und SCA-6 sind weder in der Regen- noch in der Trockenzeit statistisch signifikant. Die kleinsten Peakflächen zeigt EET 62 auf (mit  $3,14E+05$  in der Regenzeit und  $1,08E+06$  in der Trockenzeit).

4.1.5.7. alpha-Bergamoten**Gruppe:** Sesquiterpen**CAS-Nr.:** 17699-05-7**Aromagruppe:** holzig**Aromabeschreibung:** warm, Teeblatt, holzig**Strukturformel (CAS, 2015b):****Abb. 49:  $\alpha$ -Bergamoten in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Sesquiterpens alpha-Bergamoten aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0005$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,5660$ .

Das komplexe Sesquiterpen alpha-Bergamoten, wird als warm-holziger Aromastoff beschrieben und tritt bei allen hier untersuchten Kakaoklonen in der Fruchtpulpa auf. Die Kakaogenotypen CATIE-R6, SCA-6 und CATIE-R4 reichern in der Regenzeit ( $1,06E+07$ ,  $9,97E+06$  bzw.  $7,05E+06$ ) signifikant größere Mengen von alpha-Bergamoten an als in der Trockenzeit ( $3,55E+06$ ,  $4,20E+06$  bzw.  $1,18E+06$ ). Bei PMCT-58 ( $2,97E+05$ ) und ICS-95 ( $4,77E+05$ ) treten Spuren des Sesquiterpens nur in der Trockenzeit auf. CATIE-R1 zeigt ebenfalls kein alpha-Bergamoten in der Regenzeit, dafür sind die durchschnittlichen Peakflächen in der Trockenzeit deutlich größer ( $1,47E+06$ ) als bei PMCT-58 und ICS-95. EET 62 enthält in beiden Jahreszeiten nur Spuren der holzigen Aromakomponente in seinem Fruchtfleisch.

4.1.5.8. alpha-Copaen

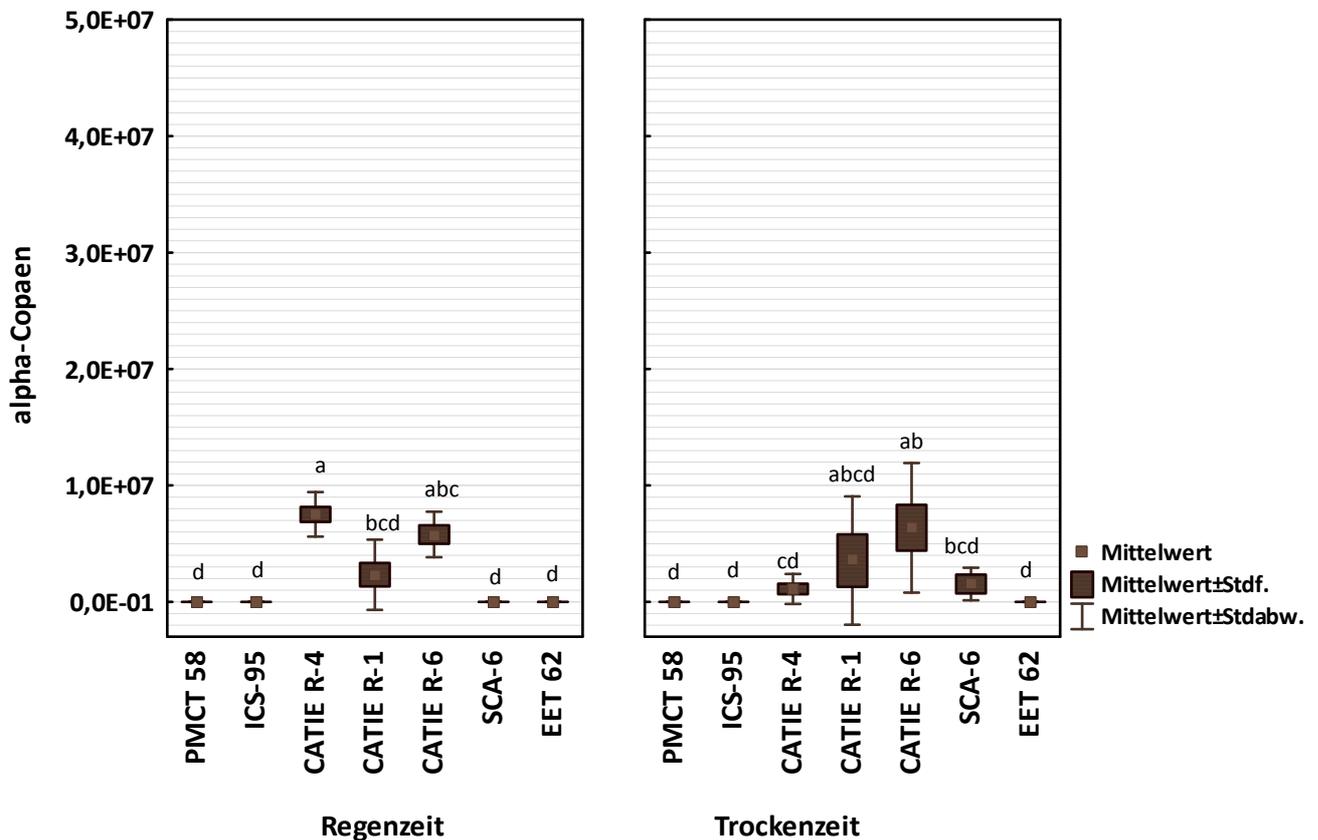
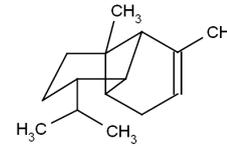
**Gruppe:** trizyklisches Sesquiterpen

**CAS-Nr.:** 3856-25-5

**Aromagruppe:** holzig

**Aromabeschreibung:** holzig, würzig, Honig

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 50: alpha-Copaen in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des trizyklischen Sesquiterpens alpha-Copaen aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. Skalenunterbrechung: von  $3,0E-06$  bis  $5,0E+07$ . ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0005$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,5057$ .

Die Kakaoklone CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 weisen alpha-Copaen in beiden Jahreszeiten in ihren Fruchtpulpen auf und sind nicht signifikant voneinander verschieden. Bei SCA-6 ist das holzig-würzige trizyklische Sesquiterpen lediglich in der Trockenzeit detektiert worden ( $1,53E+06$ ). In den Pulpen von PMCT-58 und ICS-95 konnte es nicht gefunden werden. CATIE-R4 zeigt signifikant größere durchschnittliche Peakflächen in der Regenzeit ( $7,51E+06$ ) als in der Trockenzeit ( $1,11E+06$ ). Die Kakaogenotypen CATIE-R1 und CATIE-R6 enthalten in beiden Jahreszeiten ähnliche Mengen von alpha-Copaen in ihrem Fruchtfleisch.

## 4.1.6. Minorkomponenten Peakfläche GCMSChr &lt; 1,0E+07

4.1.6.1. trans-beta-Farnesen

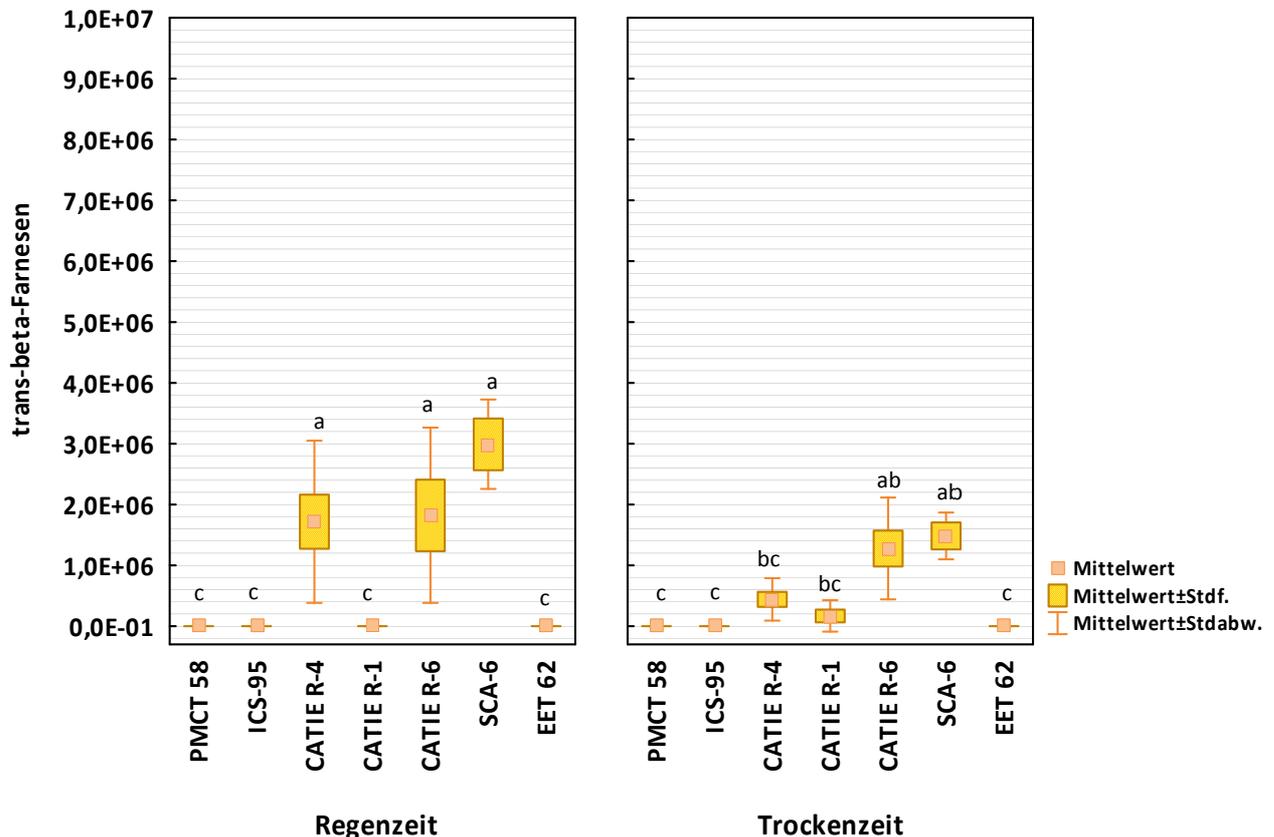
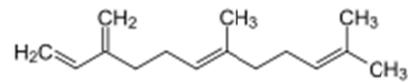
Gruppe: Sesquiterpen

CAS-Nr.: 502-60-3

Aromagruppe: *fruchtig*

Aromabeschreibung: Zitrus, grün, fruchtig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 51: trans-β-Farnesen in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Sesquiterpens trans-beta-Farnesen aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0033$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 3,5785$ .

Eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiche N hat einen signifikanten Einfluss des Genotyps und der Jahreszeit auf den Gehalt von trans-beta-Farnesen in den Fruchtpulpen der untersuchten Kakaoklone ergeben. In den Klone PMCT-58, ICS-95 und EET 62 ist das Sesquiterpen nicht detektiert worden. Bei CATIE-R1 sind lediglich in der Trockenzeit kleine Peaks von trans-beta-Farnesen aufgetaucht ( $1,67E+05$ ). CATIE-R4 enthält mit einer durchschnittlichen Peakfläche von  $1,72E+06$  signifikant größere Mengen der fruchtigen Aromakomponente in der Regenzeit, als in der Trockenzeit ( $4,40E+05$ ). Bei CATIE-R6 und SCA-6 haben sich die Unterschiede zwischen den Jahreszeiten als statistisch nicht signifikant herausgestellt: die durchschnittlichen Peakflächen erreichen  $2,99E+06$  (SCA-6) bzw.  $1,82 E+06$  (CATIE-R6) in der Regenzeit und  $1,48E+06$  (SCA-6) bzw.  $1,28E+06$  (CATIE-R6) in der Trockenzeit.

4.1.6.2. 2,3-Butandioldiacetat

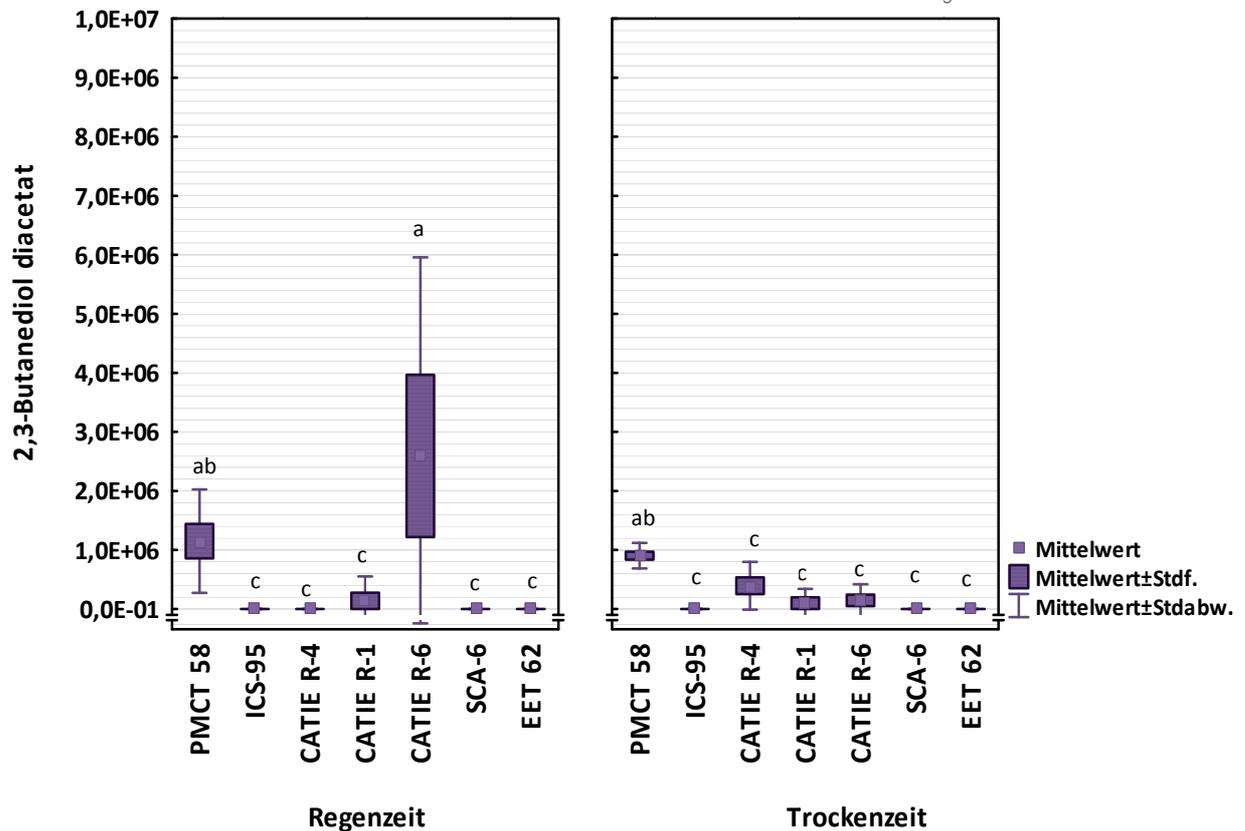
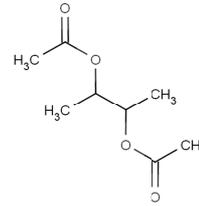
Gruppe: Diester

CAS-Nr.: 1114-92-7

Aromagruppe: blumig

Aromabeschreibung: Honig

Strukturformel (CAS, 2015b):



**Abb. 52: 2,3-Butandioldiacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des Diesters 2,3-Butandioldiacetat aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. Skalenunterbrechung: von  $7,0E-05$  bis  $1,0E-05$ . ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0013$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.

$n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,0395$ .

Der Kakaogenotyp PMCT-58 enthält in beiden Jahreszeiten die blumige Aromakomponente 2,3-Butandioldiacetat in der frischen Pulpa seiner reifen und überreifen Früchte. In ICS-95, SCA-6 und EET 62 ist der Diester nicht detektiert worden. Bei CATIE-R1 und CATIE-R4 taucht 2,3-Butanedioldiacetat nur in einzelnen Proben auf, bei CATIE-R4 jedoch lediglich in der Trockenzeit. PMCT-58 zeigt durchschnittliche Peakflächen von  $1,15E+06$  in der Regenzeit und  $9,04E+05$  in der Trockenzeit, die Unterschiede haben sich als statistisch nicht signifikant erwiesen. CATIE-R6 weist große Schwankungen auf: während in der Regenzeit die Peaks von 2,3-Butandioldiacetat Flächengrößen bis  $8,07E+06$  erreicht haben, sind in der Trockenzeit lediglich Spuren gefunden worden ( $2,59E+06$ ).

#### 4.1.7. Minorkomponenten Peakfläche GCMSChr < 5,0E+06

##### 4.1.7.1. Epoxylinalool

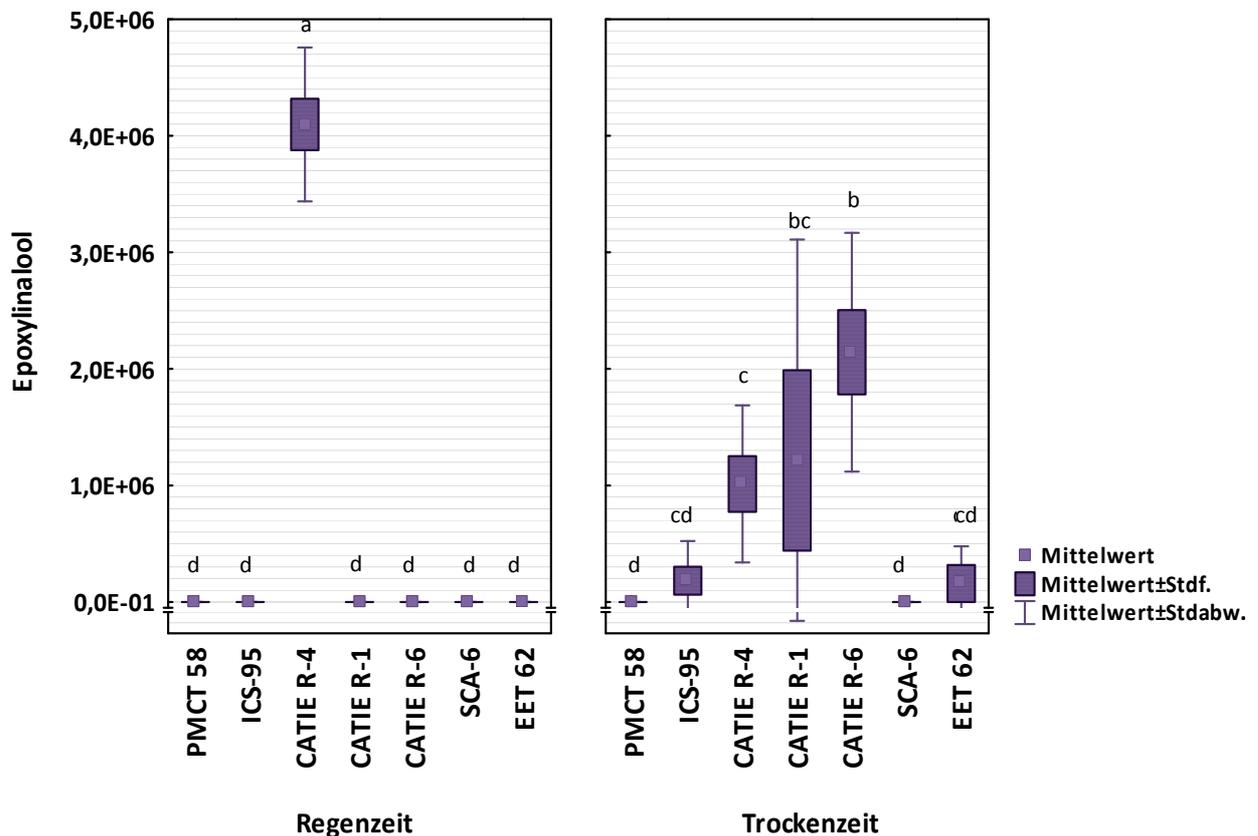
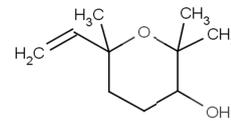
**Gruppe:** zyklischer Terpenalkohol

**CAS-Nr.:** 14049-11-7

**Aromagruppe:** blumig

**Aromabeschreibung:** blumig, Honig

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 53: Epoxylinalool in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit**

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr des zyklischen Terpenalkohols Epoxylinalool aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. Skalenunterbrechung: von 6,0E-05 bis 5,0E-04. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p < 0,0001$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 26,640$ .

Eine statistische Auswertung (ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiche N) der Peakflächen von Epoxylinalool in den Fruchtpulpen der 7 Kakaoklone hat einen signifikanten Einfluss des Genotyps und der Jahreszeit ergeben. In der Regenzeit weist CATIE-R4 große Peakflächen des zyklischen Terpenalkohols in den Chromatogrammen auf (durchschnittlich 4,10E+06). Die anderen Klone enthalten kein Epoxylinalool. Anders verhält es sich in der Trockenzeit: hier wurden auch bei CATIE-R6, CATIE-R1, ICS-95 und EET 62 Peaks des blumigen Alkohols detektiert, wobei CATIE-R6 (2,14E+06) und CATIE-R1 (1,21E+06) neben CATIE-R4 (1,01E+06) die größten durchschnittlichen Peakflächen aufzeigen. Bei SCA-6 und PMCT-58 ist kein Epoxylinalool gefunden worden.

4.1.7.2. cis-Linalooloxid

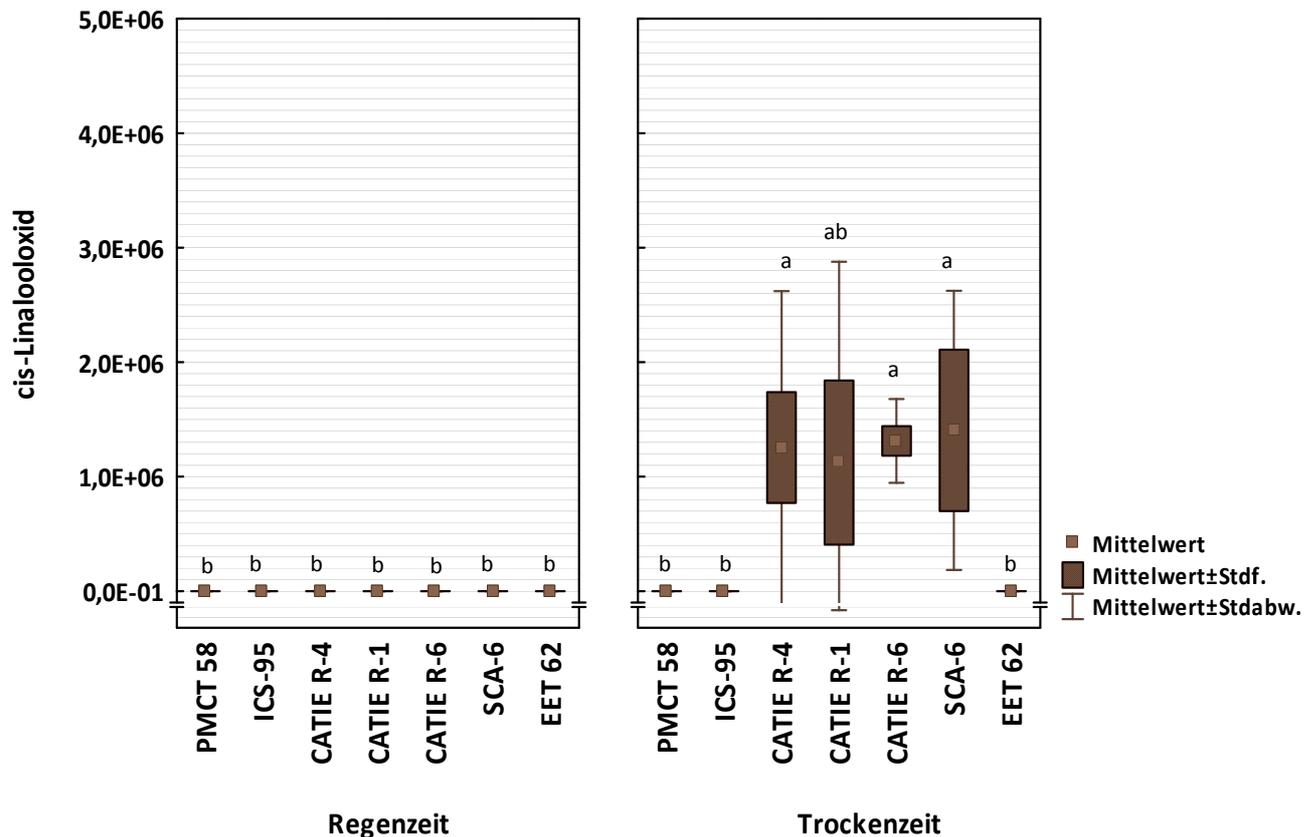
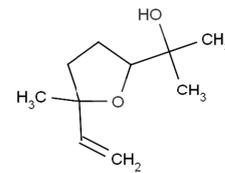
**Gruppe:** heterozyklisches Monoterpenderivat

**CAS-Nr.:** 5989-33-3

**Aromagruppe:** erdig

**Aromabeschreibung:** erdig, süß, holzig

**Strukturformel (CAS, 2015b):**



**Abb. 54:** cis-Linalooloxid in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit

Dargestellt sind die Peakflächen der GCMSChr von cis-Linalooloxid aus dem Fruchtfleischextrakt reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, geerntet während der Regenzeit und Trockenzeit in Costa Rica. Skalenunterbrechung: von  $6,0E-05$  bis  $1,0E-04$ . ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für ungleiches N mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0013$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und Jahreszeiten sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $n = 3-9$ .  $F(6, 86) = 4,0484$ .

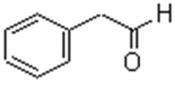
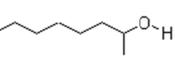
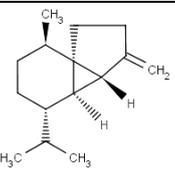
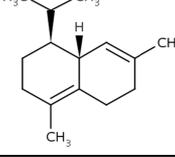
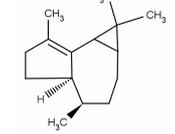
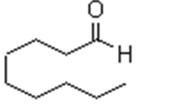
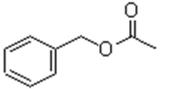
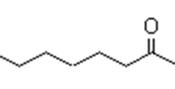
Die Aromakomponente cis-Linalooloxid wird als erdig-süß-holzlig beschrieben und ist in der Pulpa von Früchten der Kakaoklone CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und SCA-6 detektiert worden, die während der Trockenzeit herangereift sind. In der Regenzeit taucht cis-Linalooloxid bei keinem Genotyp auf. Die starke Streuung der Peakflächengrößen (Abb.54) bewirkt einen nicht signifikanten Unterschied der Klone CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und SCA-6 in ihrem Gehalt an cis-Linalooloxid: bei allen ist die Peakfläche durchschnittlich  $1,27E+06$  groß.

#### 4.1.8. Andere volatile Aromastoffe (Minorkomponenten) in der Kakaopulpa

Weitere Minorkomponenten (Peakfläche <1,0E+07) wurden mittels SPME-GCMS detektiert. Es wird unterschieden zwischen reifen bzw. überreifen Früchten (Tab.10) und unreifen Früchten (Tab. 11).

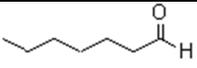
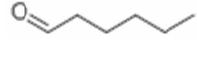
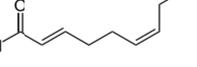
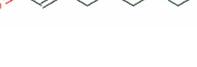
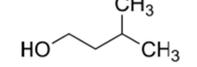
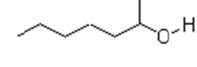
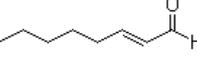
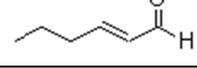
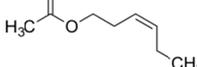
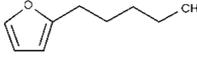
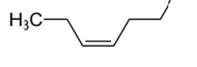
**Tab. 10: Andere volatile Aromastoffe (Minorkomponenten) in der Kakaopulpa reifer und überreifer Früchte**

Aufgeführt sind weitere chemische Verbindungen aus der Gruppe der Aromaten, Terpene, Alkohole, Aldehyde und Ester in den Fruchtpulpen reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58

Name	CAS-Nr.	Gruppe	Aromagruppe	Aromabeschreibung	Strukturformel (CAS, 2015b)	Kakaoklon
Benzacetaldehyd	122-78-1	aromatisches Aldehyd	<i>blumig</i>	Honig, blumig (Rose), pulverig, fermentiert, schokoladig mit leichter Nuss Note		<b>ICS-95</b>
2-Octanol	123-96-6	sekundärer Alkohol	<i>würzig</i>	frisch, würzig, grün, holzig, pflanzlich, erdig		<b>ICS-95</b>
beta-Cubeben	13744-15-5	Sesquiterpen	<i>fruchtig</i>	Zitrus, fruchtig, Rettich		<b>CATIE-R1</b> (in der Trockenzeit)
delta-Cadinen	483-76-1	Sesquiterpen	<i>krautig/pflanzlich</i>	Thymian, trocken, pflanzlich, holzig		<b>CATIE-R1</b>
alpha-Gurjunen	489-40-7	Sesquiterpen	<i>holzig</i>	holzig, balsamisch		<b>CATIE-R1, PMCT-58</b> (jeweils nur in der Trockenzeit)
Nonanal	124-19-6	Aldehyd	<i>blumig</i>	fettig/wachsig, Rose, Zitrus, leichte Gurke-Note		<b>PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4</b>
Benzylacetat	140-11-4	Ester	<i>blumig</i>	süß, blumig und fruchtig		<b>PMCT-58, CATIE-R1, -R-4, -R-6</b>
2-Octanon	111-13-7	Keton	<i>erdig</i>	Käsiger (Blauschimmel, Parmesan), erdig, milchig, fruchtig		<b>ICS-95, CATIE-R6</b>

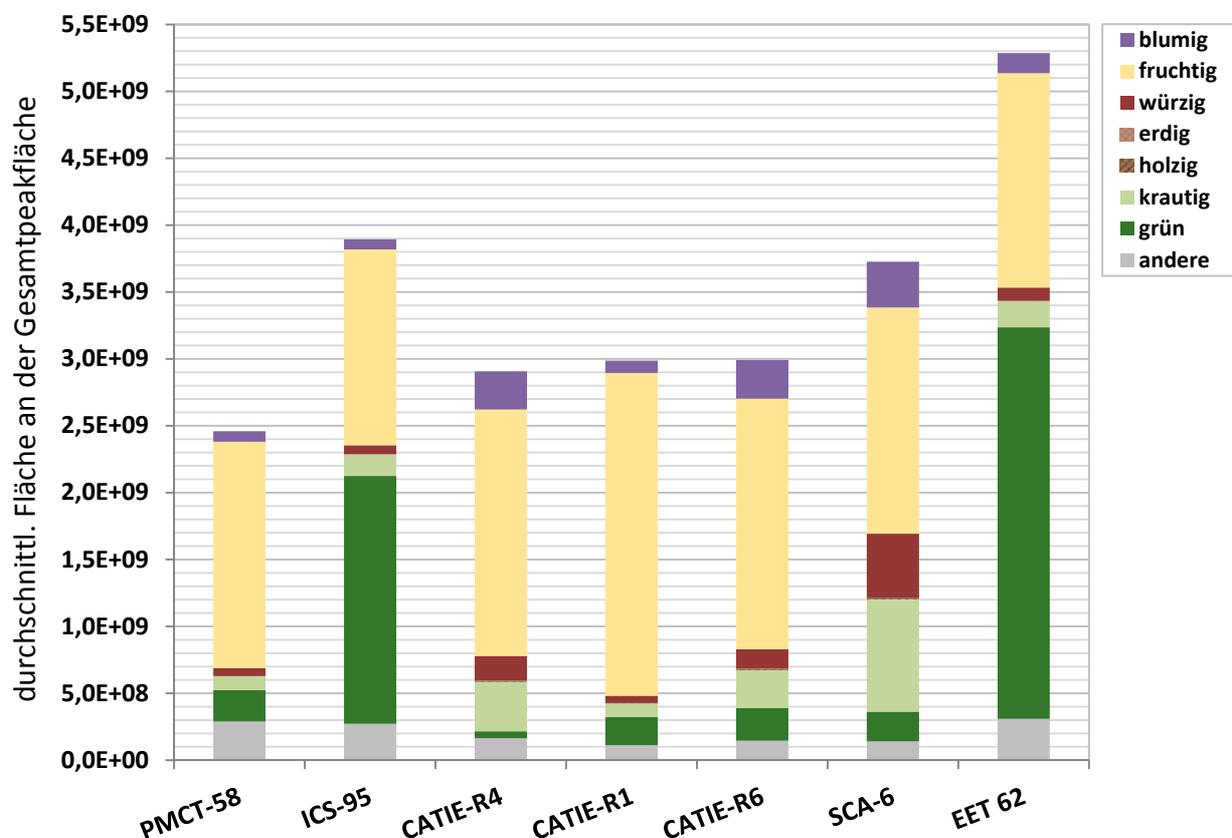
**Tab. 11: Andere volatile Aromastoffe (Minorkomponenten) in der Kakaopulpa unreifer Früchte**

Aufgeführt sind weitere chemische Verbindungen aus der Gruppe der Aromate, Alkohole und Aldehyde in den Fruchtpulpen reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone ICS-95, CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58. Unterstrichener Klon: zeigt größte Peakfläche von allen untersuchten Genotypen.

Name	CAS-Nr.	Gruppe	Aromagruppe	Aromabeschreibung	Strukturformel (CAS, 2015b)	Kakaoklon
Heptanal	111-71-7	Aldehyd	<i>grün</i>	Krautig/pflanzlich, fruchtig, ölig-fettig, grün		<b>ICS-95,</b> <b>CATIE-R4</b>
Hexanal	66-25-1	Aldehyd	<i>grün</i>	Pflanzlich, grün, Blatt, fettig, holzige Nuance, stechend		<b>CATIE-R4,</b> <b>ICS-95</b>
trans-2-cis-6-Nonadienal	557-48-2	Aldehyd	<i>grün</i>	Gurke, Melone, grün, fettig, pflanzlich		<b>CATIE-R4</b>
trans-2-Nonenal	18829-56-6	Aldehyd	<i>grün</i>	Gurke, fettig, Zitrus, aldehydic		<b>CATIE-R4</b>
3-Methyl-1-butanol	123-51-3	Alkohol	<i>fermentiert</i>	Alkoholisch, stechend, Cognac, Banane, Molasse		<b>CATIE-R4</b>
3-Octanol	589-98-0	Alkohol	<i>erdig</i>	Erdig, Pilze, milchig, wachsig, fermentiert, Minze		<b>CATIE-R4</b>
1-Hexanol	111-27-3	primärer Alkohol	<i>krautig/pflanzlich</i>	grüne Kopfnote, süß, ätherisch, stechend, fruchtig, alkoholisch		<b>PMCT-58</b>
trans-2-Octenal	2548-87-0	Aldehyd	<i>grün</i>	Zitrus		<b>ICS-95,</b> <b>CATIE-R4</b>
trans-2-Hexenal	6728-26-3	Aldehyd	<i>grün</i>	Scharf, pflanzlich, grün, Kräuter		<b>PMCT-58,</b> <b>CATIE-R4</b>
cis-3-Hexenylacetat	3681-71-8	Ester	<i>grün</i>	frisch, grün, fruchtig, süß, Apfel, Birne, Melone		<b>CATIE-R1,</b> <b>CATIE-R6</b>
2-Pentylfuran	3777-69-3	Furanderivat	<i>grün</i>	Fruchtig, grün, erdig, gemüsig		<b>Alle</b> <b>(ICS-95)</b>
cis-3-Hexenol	928-96-1	ungesättigter Alkohol	<i>grün</i>	grüne Früchte, grasig, Melonenrinde, frisch		<b>Alle</b> <b>(PMCT-58)</b>

#### 4.1.9. Anteile der Aromagruppen an der Gesamtpeakfläche

Die in Kapitel 5.1.1.-5.1.8. beschriebenen Aromakomponenten werden in Kapitel 5.1.9. entsprechend ihrer Aromagruppen zusammengefasst und deren Anteil an der durchschnittlichen Gesamtpeakfläche der GCMS-Chromatogramme eines jeden Klons dargestellt (Abb.55). Berücksichtigt werden an dieser Stelle nur die Analyseergebnisse der reifen und überreifen Fruchtpulpen. Die Kategorie *andere* beinhaltet solche Aromastoffe, die nicht eindeutig identifiziert werden konnten sowie 2-Pentanol (der Aromagruppe *fermentiert*) und 2-Heptanon (der Gruppe *käsigt*). In der Aromagruppe *grün* taucht in diesem Reifestadium lediglich der Ester 2-Heptanolacetat auf.



**Abb. 55: Absolute Flächen der einzelnen Aromagruppen am jeweiligen Gesamtaromaprofil (Gesamtpeakfläche) der Pulpa von reifen und überreifen Früchten der 7 untersuchten Kakaogenotypen**

Abgebildet sind die durchschnittlichen absoluten Flächen der Aromagruppen *blumig*, *fruchtig*, *würzig*, *erdig*, *holzig*, *krautig*, *grün* und *andere* im Aromaprofil reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone PMCT-58, ICS-95, CATIE-R4, CATIE-R1, CATIE-R6, SCA-6 und EET 62, gemittelt über beide Jahreszeiten (Regenzeit, Trockenzeit). n je Klon = 6-19.

Bei der Auswertung der GCMS-Chromatogramme beider Jahreszeiten, ist die größte durchschnittliche Gesamtpeakfläche bei EET 62 ( $5,29E+09$ ) festgestellt worden, gefolgt von ICS-95 ( $3,89E+09$ ) und SCA-6 ( $3,73E+09$ ). CATIE-R4 ( $2,91E+09$ ), CATIE-R1 ( $2,99E+09$ ) und CATIE-R6

(2,99E+09) zeigen ähnliche durchschnittliche Gesamtpeakflächen. Der Genotyp PMCT-58 enthält die geringsten Stoffkonzentrationen (2,46E+09); die Größe seiner durchschnittlichen Gesamtpeakfläche beträgt weniger als die Hälfte von EET 62. Bei allen Klonen, außer EET 62 und ICS-95, ist das Pulpaaroma von *fruchtigen* Aromakomponenten geprägt. Bei EET 62 und ICS-95 dominiert die *grüne* Gruppe mit 2-Heptanolacetat. Bei den anderen Klonen sind die Konzentrationen des als grün, fettig und fruchtig beschriebenen Esters signifikant geringer. Die Kakaoklone CATIE-R4 und CATIE-R6 zeigen insgesamt sehr ähnliche Aromakompositionen: beide weisen nicht nur viele Peaks von *blumigen* (ca. 2,86E+09) und *fruchtigen* (ca. 1,86E+08) Komponenten auf, sie enthalten auch vergleichsweise große Mengen *würziger* Stoffe. Dies sind insbesondere die azyklischen Monoterpene Myrcen und alpha-Ocimen. Der Anteil *holziger* Minor Komponenten, wie alpha-Bergamoten oder alpha-Copaen, ist mit 8,79E+06 bzw. 1,27E+07 bei CATIE-R4 und CATIE-R6 im Vergleich zu den anderen Klonen am größten. Das Aroma von SCA-6 ist von *krautigen* (22,6 %), *würzigen* (12,9 %) und *blumigen* (9,2 %) Verbindungen geprägt (Tab.12). Der Genotyp CATIE-R1 fällt durch seine verhältnismäßig großen Mengen *fruchtiger* Verbindungen auf. Sie machen über 80% seines Pulpaaromas aus (Tab.12). PMCT-58 enthält einen großen Anteil nicht eindeutig identifizierbarer Komponenten (*Andere*).

**Tab. 12: Durchschnittliche prozentuale Anteile [%] der Aromagruppen am Pulpaaroma reifer und überreifer Früchte der sieben Kakaoklone**

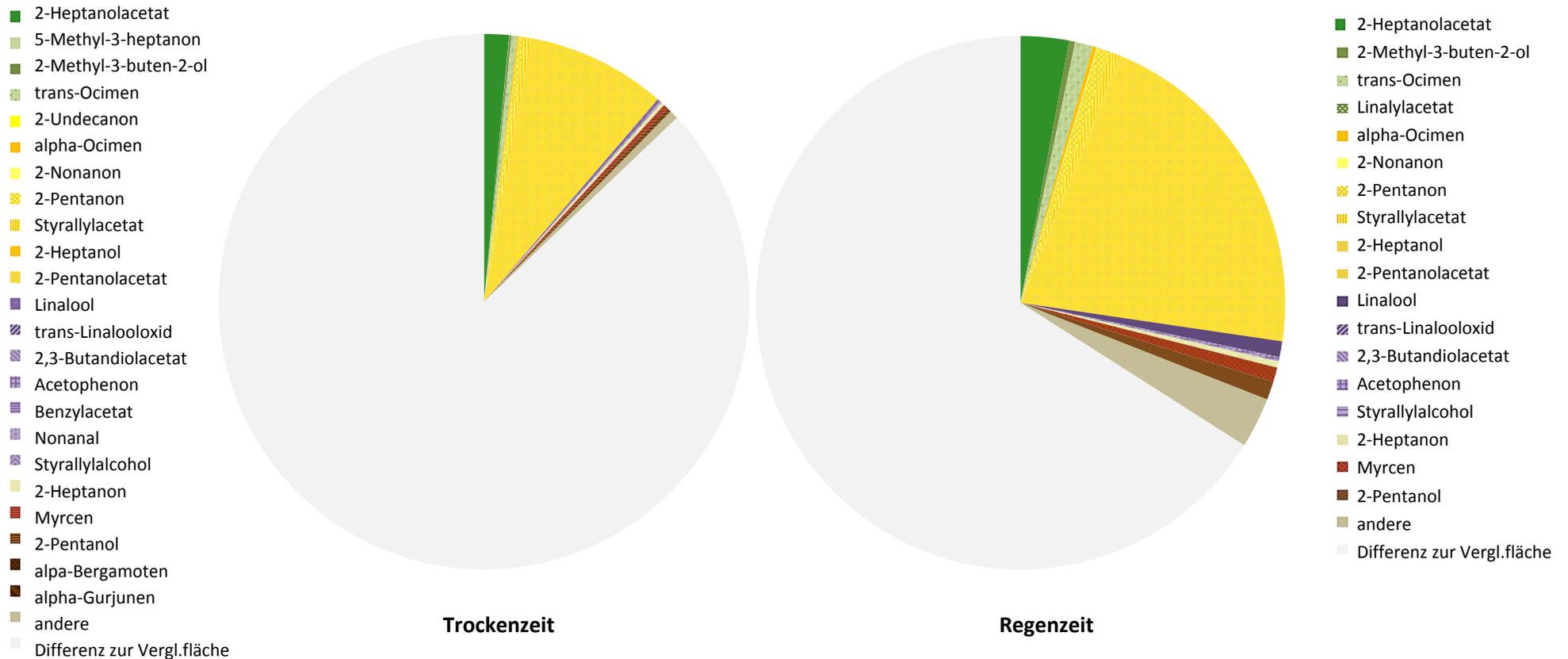
Darstellung der durchschnittlichen Anteile am Pulpaaroma, in den Fruchtpulpen reifer und überreifer Kakaofrüchte der Klone ICS-95, CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58. Die prozentualen Angaben beziehen sich auf die durchschnittliche Gesamtpeakfläche des jeweiligen Klons. Alle detektierten chemischen Verbindungen aus der Gruppe der Aromaten, Terpene, Alkohole, Aldehyde und Ester sind in die Aromagruppen *grün*, *krautig*, *fruchtig*, *blumig*, *würzig*, *holzige*, *erdig* und *andere* zusammengefasst. n je Klon = 6-19

	<i>grün</i> [%]	<i>krautig</i> [%]	<i>fruchtig</i> [%]	<i>blumig</i> [%]	<i>würzig</i> [%]	<i>holzige</i> [%]	<i>erdig</i> [%]	<i>andere</i> [%]
PMCT 58	9,6	4,2	68,8	3,2	2,5	0,02	0,00	11,7
ICS-95	47,6	4,1	37,6	1,9	1,7	0,01	0,09	7,0
CATIE-R4	1,8	12,7	63,4	9,8	6,4	0,30	0,02	5,7
CATIE-R1	7,1	3,4	80,8	3,1	1,8	0,12	0,02	3,8
CATIE-R6	8,2	9,4	62,6	9,6	4,8	0,42	0,03	4,9
SCA-6	5,9	22,6	45,4	9,2	12,9	0,21	0,02	3,8
EET 62	55,4	3,7	30,3	2,9	1,9	0,01	0,04	5,9

4.1.10. Aromaprofile der Fruchtpulpen der untersuchten Kakaoklone

4.1.10.1. PMCT-58

4.1.10.1.1. Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von PMCT-58: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit

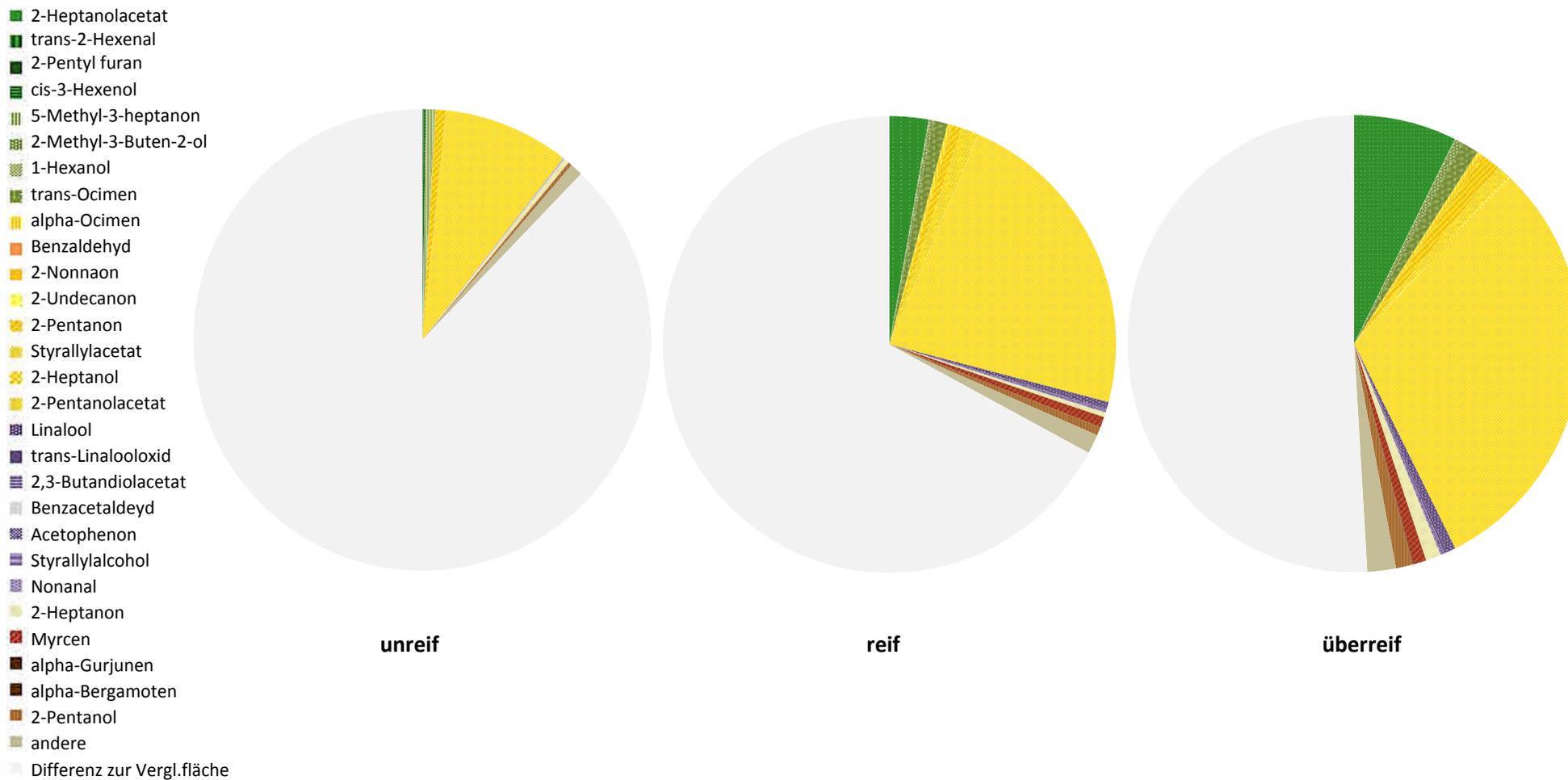


**Abb. 56: Aromaprofil von PMCT-58 während der Trockenzeit und der Regenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der reifen und überreifen Fruchtpulpa des Kakaoklons PMCT-58 während der Trockenzeit (links) und Regenzeit (rechts) in Costa Rica. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in beiden Jahreszeiten (EET 62: 1,70E+10). n = 9-12.

Sowohl die Konzentrationen der einzelnen Feinaromen, als auch die Komposition des Gesamtpulpaaromas von PMCT-58, variieren in Abhängigkeit von der vorherrschenden Jahreszeit während der Reifephase der Früchte (Abb. 56). In der Trockenzeit beträgt die durchschnittliche Gesamtpeakfläche von PMCT-58  $1,39E+09$  und erreicht damit nur  $13,0\pm 3,5$  % der größten detektierten Gesamtpeakfläche (Klon EET 62:  $1,70E+10$ ). In der Regenzeit ist die durchschnittliche Gesamtpeakfläche von PMCT-58 mehr als doppelt so groß ( $3,65E+09$ ) und macht  $34,0\pm 5,7$  % von EET 62 aus. Die Konzentration der *fruchtigen* Aromakomponente 2-Pentanolacetat nimmt in der Regenzeit signifikant zu ( $21,0\pm 4,0$  % statt  $8,5\pm 1,7$  % in der Trockenzeit). Gleiches gilt für die *blumigen* Aromastoffe Linalool und Acetophenon sowie das *würzige* Myrcen; ihre Anteile am Pulpaaroma sind in der Trockenzeit signifikant geringer ( $0,18\pm 0,1$  %,  $0,06\pm 0,02$  % bzw.  $0,27\pm 0,18$  %) als in der Regenzeit ( $0,95\pm 0,64$  %,  $0,15\pm 0,03$  % bzw.  $0,89\pm 0,58$  %). Der Anteil volatiler Komponenten mit *krautigem* Aroma nimmt während regenreicher Monate um ein dreifaches zu. Dabei steigt insbesondere die Konzentration des Monoterpens trans-Ocimen. Obschon die Aromen in der Trockenzeit weniger intensiv sind, tauchen in dieser Jahreszeit Spuren von Stoffen auf, die während der Regenzeit nicht detektiert werden. Dazu gehören die Sesquiterpene alpha-Bergamoten (*holzig*) und alpha-Gurjunen (*holzig*), das Aldehyd Nonanal (*blumig*), der Ester Benzylacetat (*blumig*) sowie die Ketone 2-Undecanon (*fruchtig*) und 5-Methyl-3-heptanon (*krautig*). In der Regenzeit tritt eine größere Anzahl von Aromen auf, die nicht eindeutig identifiziert werden können (zusammengefasst als *andere*).

## 4.1.10.1.2. Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von PMCT-58



**Abb. 57: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons PMCT-58 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der Pulpa unreifer (links), reifer (Mitte) und überreifer Früchte des Kakaoklons PMCT-58 während der Trockenzeit. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in der Trockenzeit (EET 62: 3,53E+09). n = 2-6

Mit zunehmendem Reifegrad der Früchte, verändert sich die Zusammensetzung und Intensität des Pulpaaromas von PMCT-58 stark (Abb. 57). Unreife Früchte enthalten lediglich 12 %, reife Früchte 33 % und überreife Früchte 49 % der maximalen Aromakonzentrationen im Kontrollklon EET 62. In unreifen Früchten dominieren *fruchtige* Aromen, sie reduzieren sich allerdings weitestgehend auf 2-Pentanolacetat (hat mit  $8,9 \pm 0,5$  % einen Anteil von 92 %). Außerdem treten Spuren von Benzaldehyd auf, welches mit zunehmendem Reifegrad wieder verschwindet. Verschiedene Aromakomponenten, die als *grün* bzw. *pflanzlich* beschrieben werden (trans-2-Hexenal, 2-Pentylfuran, cis-3-Hexenol und 1-Hexanol), sind ausschließlich in unreifen Früchten von PMCT-58 detektiert worden; in reifen und überreifen Früchten treten sie nicht auf. Aus der Gruppe der *blumigen* Aromakomponenten sind Spuren von trans-Linalooloxid ( $0,01 \pm 0,001$  %), 2,3-Butandioldiacetat ( $0,02 \pm 0,002$  %), Acetophenon (0,02 %), Nonanal ( $0,03 \pm 0,002$  %) und Benzacetaldehyd ( $0,04 \pm 0,02$  %) gefunden worden. Letzteres verschwindet in reifen und überreifen Früchten. Das als *käsig-fruchtig* beschriebene Keton 2-Heptanon weist eine Konzentration von  $0,4 \pm 0,1$  % auf.

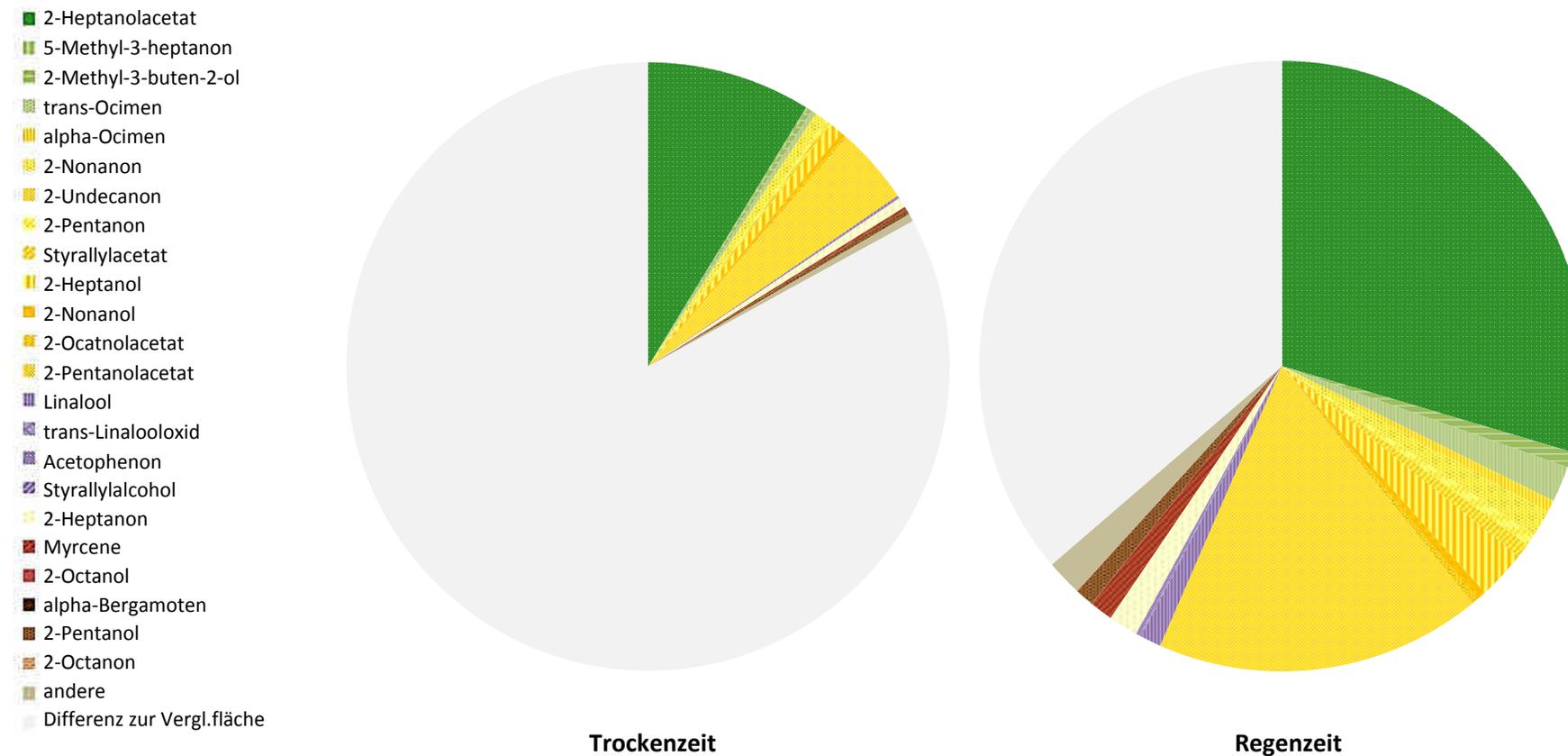
Im erntereifen Zustand (Abb. 30, Mitte), nehmen die Konzentrationen der folgenden Aromakomponenten in der Fruchtpulpa zu: 2-Heptanolacetat ( $2,8 \pm 1,3$  %), Styrallylacetat ( $1,2 \pm 0,4$  %), 2-Pentanolacetat ( $22,6 \pm 4,3$  %), Acetophenon ( $0,2 \pm 0,06$  %), Myrcen ( $0,8 \pm 0,7$  %) und 2-Pentanol ( $0,6 \pm 0,1$  %). Zudem wird das Aromaspektrum diverser. Folgende Verbindungen aus der Gruppe der Ketone, Monoterpene und sekundären Alkohole treten nun in reifen Früchten auf: 2-methyl-3-Heptanon ( $0,3 \pm 0,1$  %), trans-Ocimen ( $1 \pm 0,9$  %), alpha-Ocimen ( $0,3 \pm 0,3$  %), Linalool ( $0,5 \pm 0,4$  %), Styrallylalkohol ( $0,1 \pm 0,02$  %).

Mit zunehmender Reifung erhöht sich neben der Konzentration der Hauptkomponenten 2-Heptanolacetat ( $7,3 \pm 0,5$  %) und 2-Pentanolacetat ( $30,6 \pm 1,2$  %), auch der Anteil verschiedener Minorkomponenten am Gesamtpulpaaroma: 2-methyl-3-Heptanon ( $0,5 \pm 0,1$  %), trans-Ocimen ( $1,2 \pm 0,6$  %), 2-Nonanon ( $0,1 \pm 0,03$  %), 2-Pentanon ( $1,4 \pm 0,4$  %), 2-Heptanol ( $0,2 \pm 0,04$  %), Linalool ( $0,7 \pm 0,3$  %), Acetophenon ( $0,2 \pm 0,07$  %), Styrallylalkohol ( $0,1 \pm 0,01$  %), 2-Heptanon ( $1,1 \pm 0,1$  %), Myrcen ( $1,0 \pm 0,1$  %) und 2-Pentanol ( $1,2 \pm 0,1$  %). Nur bei manchen chemischen Verbindungen sind die Unterschiede zur reifen Frucht signifikant.

In überreifen Früchten tauchen zum ersten Mal Spuren der komplexen Sesquiterpene alpha-Gurjunen ( $0,04 \pm 0,01$  %) und alpha-Bergamoten ( $0,02 \pm 0,01$  %) sowie des *fruchtigen* Ketons 2-Undecanon ( $0,03 \pm 0,01$  %), auf.

4.1.10.2. ICS-95 (T1)

## 4.1.10.2.1. Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von ICS-95 (T1): Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit

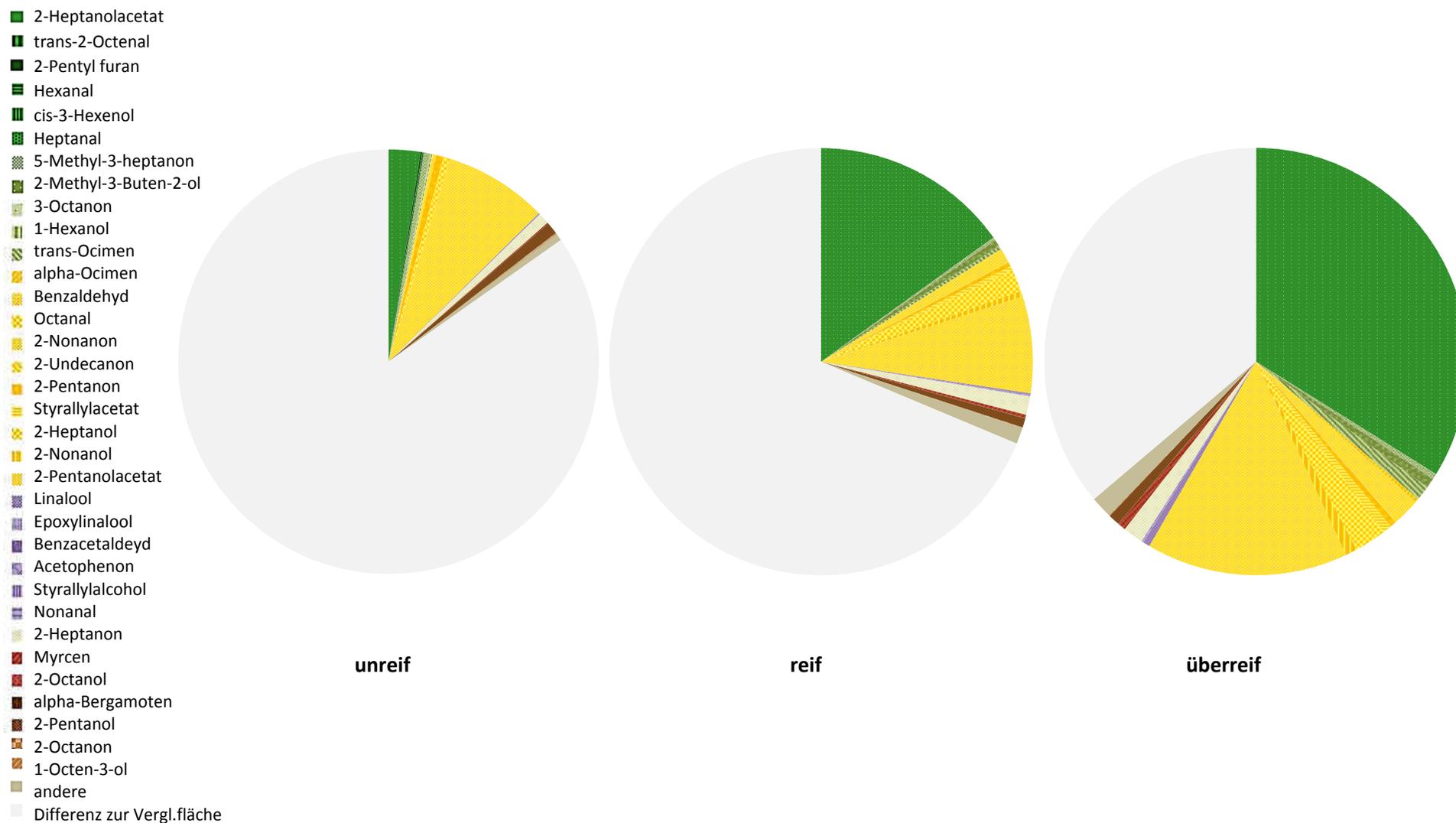
**Abb. 58: Aromaprofil von ICS-95 (T1) während der Trockenzeit und der Regenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der reifen und überreifen Fruchtpulpa des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Trockenzeit (links) und Regenzeit (rechts) in Costa Rica. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in beiden Jahreszeiten (EET 62: 1,70E+10). n =6-8

Das Pulpaaroma des Kakaoklons ICS-95 (T1) divergiert stark in Abhängigkeit von der vorherrschenden Jahreszeit während der Fruchtreife (Abb.58). Die durchschnittliche Gesamtpeakfläche erreicht in der Trockenzeit 15,7 % und in der Regenzeit 63,7 % der größten ausgewerteten Fläche des Kontrollklons EET 62. Während der trockenen Monate, ist die Aromadiversität geringer und die Pulpen weisen vorrangig 2-Heptanolacetat ( $8,1\pm 3,6$  %) und 2-Pentanolacetat ( $3,7\pm 1,6$  %) auf. Aus der Gruppe der *fruchtigen* Minorkomponenten konnten 2-Nonanon ( $0,5\pm 0,2$  %), 2-Heptanol ( $0,7\pm 0,1$  %), 2-Nonanol ( $0,2\pm 0,1$  %) und Styrallyl acetat ( $0,2\pm 0,1$  %) gefunden werden, weitere *fruchtige* Aromen tauchen nur in Spuren auf ( $\leq 0,1$  %): alpha-Ocimen, 2-Undecanon, 2-Pentanon und 2-Octanolacetat. Die Konzentration von Linalool (*blumig*) ist ebenfalls gering ( $0,1$  %). Weitere Minorkomponenten, die das Aroma in der Trockenzeit prägen, sind 2-Heptanon ( $0,5\pm 0,04$  %) und 2-Pentanol ( $0,3\pm 0,03$  %). Der Anteil *krautiger* Aromen beträgt insgesamt  $0,6\pm 0,1$  % (5-Methyl-3-heptanon, 2-Methyl-3-buten-2-ol und trans-Ocimen).

Während der Regenzeit nimmt der Gehalt von 2-Heptanolacetat und 2-Pentanolacetat signifikant zu ( $29,5\pm 5,1$  % bzw.  $17,4\pm 2,4$  %) und es werden vermehrt *fruchtige* Minorkomponenten gebildet: alpha-Ocimen ( $0,6\pm 0,2$  %), 2-Nonanon ( $1,4\pm 0,6$  %), 2-Pentanon ( $0,6\pm 0,1$  %), Styrallyl acetat ( $0,8\pm 0,3$  %), 2-Heptanol ( $2,6\pm 0,3$  %), 2-Nonanol ( $0,5\pm 0,1$  %) und 2-Octanolacetat ( $0,4\pm 0,2$  %). Der Anteil *würziger* und *blumiger* Komponenten am Pulpaaroma steigt ebenfalls in regenreichen Monaten: Myrcen ( $1,2\pm 0,2$  %), Linalool ( $1,1\pm 0,3$  %), trans-Linalooloxid ( $0,1\pm 0,04$  %), Acetophenon ( $0,2\pm 0,1$  %). Außerdem sind Spuren ( $<0,1$  %) von Styrallyl alcohol (*fruchtig*) und 2-Octanon (*erdig*) detektiert worden. Die Konzentration von 2-Pentanol erreicht  $1,0\pm 0,1$  % und der Anteil *krautiger* Aromen  $2,7\pm 0,8$  % (5-Methyl-3-heptanon, 2-Methyl-3-buten-2-ol und trans-Ocimen).

## 4.1.10.2.2. Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von ICS-95 (T1)



**Abb. 59: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Trockenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der Pulpa unreifer (links), reifer (Mitte) und überreifer Früchte des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Trockenzeit. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in der Trockenzeit (EET 62: 3,53E+09). n =4

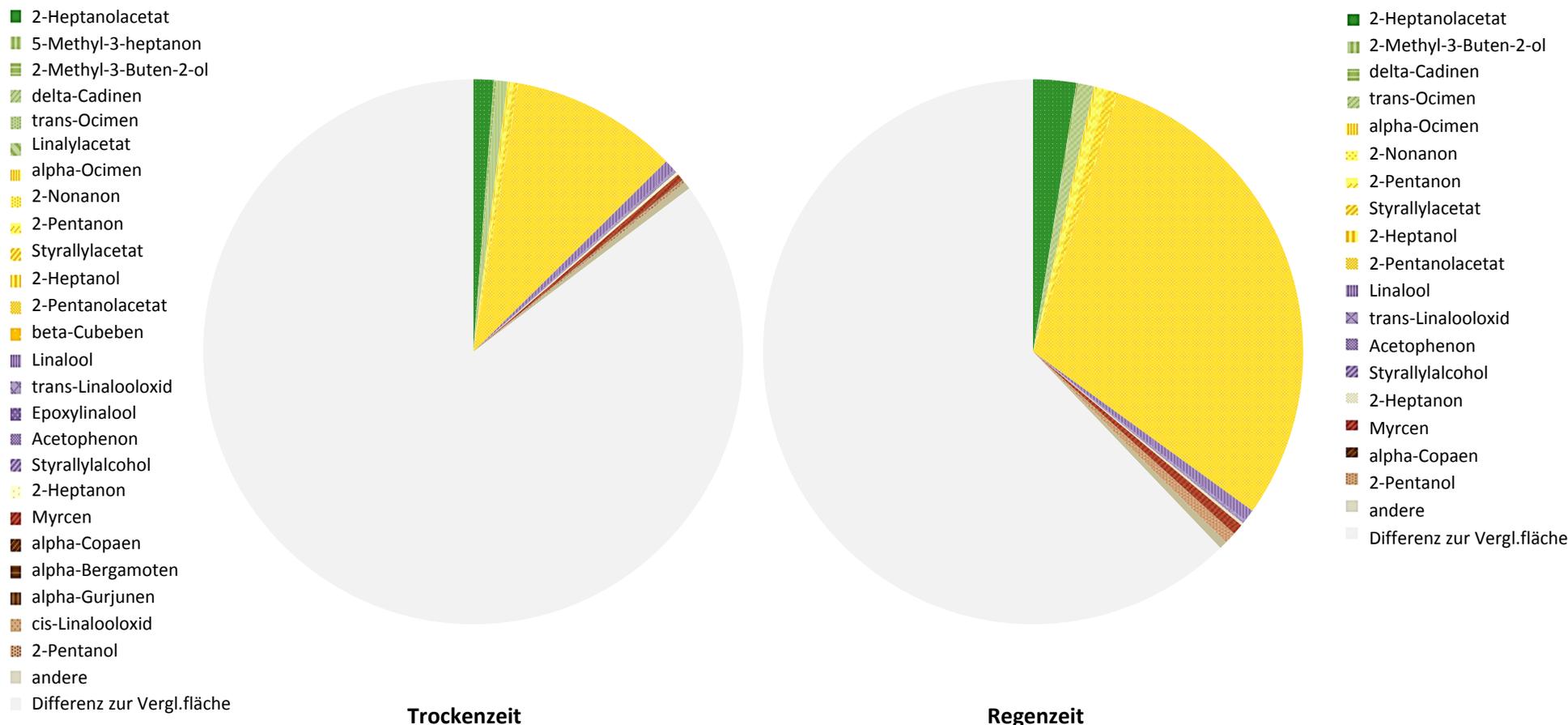
Bei ICS-95 (T1) ist das finale Aromaspektrum bereits weitestgehend in unreifen Früchten angelegt, jedoch nimmt mit zunehmendem Reifegrad der Früchte die Aromaintensität signifikant zu (Abb.59). Eine Vielzahl von *fruchtigen*, *blumigen* und *würzigen* Minorkomponenten liegen erst in reifen bzw. überreifen Früchten hochkonzentriert vor. Im unreifen Zustand der Pulpa, beträgt die durchschnittliche Gesamtpeakfläche lediglich  $15,3 \pm 6,0$  % der maximalen Peakfläche (EET 62). 2-Heptanolacetat ( $2,4 \pm 2,4$  %) und 2-Pentanolacetat ( $7,9 \pm 2,3$  %) haben in unreifen Früchten einen Anteil von  $67,8 \pm 24,1$  % am Gesamtpulpaaroma. Das *würzige* Monoterpen Myrcen ist lediglich gering konzentriert vorhanden ( $<0,1$  %). Die als *grün* und *krautig* beschriebenen Feinaromen trans-2-Octenol, 2-Pentyl furan, Hexanal, cis-3-Hexenol, Heptanal, 5-Methyl-3-heptanon, 3-Octanon, 1-Hexanol und trans-Ocimen machen insgesamt  $3,4 \pm 1,0$  % aus. An *fruchtigen* Aromakomponenten konnten neben 2-Nonanon ( $0,2 \pm 0,1$  %), 2-Pentanon ( $0,6 \pm 0,04$  %) und 2-Heptanol ( $0,5 \pm 0,4$  %) auch Spuren ( $\leq 0,1$  %) von Benzaldehyd, Octanal, Styrallyl acetat und 2-Nonanol detektiert werden. *Blumige* Feinaromen treten kaum auf, lediglich Benzacetaldehyd, welches in reifen und überreifen Früchten nicht vorhanden ist. Der als adstringierend und unangenehm beschriebene Alkohol 2-Pentanol hat in allen drei Reifegraden einen Anteil von ca.  $0,8 \pm 0,2$  %.

Mit zunehmender Fruchtreife steigt die Konzentration der Hauptkomponente 2-Heptanolacetat: im reifen Zustand erreicht sie einen Anteil von  $15,1 \pm 7,2$  % und im überreifen Zustand  $33,8 \pm 0,9$  %. Die durchschnittliche Peakfläche von 2-Pentanolacetat ist in der reifen Pulpa unverändert, gewinnt dann allerdings im überreifen Stadium signifikant an Größe ( $15,4 \pm 2,2$  %). Die *grünen* Feinaromen sowie ein Teil der *krautigen* Komponenten lassen sich in reifen und überreifen Pulpen von ICS-95 (T1) nicht detektieren. Lediglich 5-Methyl-3-heptanon, 2-Methyl-3-buten-2-ol, und trans-Ocimen tragen mit insgesamt  $2,3 \pm 0,5$  % noch zum Pulpaaroma bei (überreif). Folgende *fruchtige* Aromastoffe werden mit zunehmender Reife intensiver (reif-überreif): 2-Nonanon ( $1,1 \pm 0,3$  % bzw.  $2,1 \pm 0,04$  %), Styrallyl acetat  $0,3 \pm 0,2$  % bzw.  $0,7 \pm 0,3$  %), 2-Heptanol ( $1,7 \pm 0,1$  % bzw.  $2,4 \pm 0,2$  %) und 2-Nonanol ( $0,4 \pm 0,1$  % bzw.  $0,9 \pm 0,1$  %). Die Anteile des *blumigen* Linalools ( $0,5 \pm 0,1$  %) sowie des *würzigen* Myrcens ( $0,6 \pm 0,1$  %) und des *käsig-fruchtigen* 2-Heptanons ( $1,6 \pm 0,1$  %) nehmen ebenfalls zu (überreif).

Zahlreiche Minorkomponenten treten erst im reifen oder überreifen Stadium der Fruchtpulpen von ICS-95 (T1) auf ( $\leq 0,1$  %): Epoxylinalool (*blumig*), Acetophenon (*blumig*), Styrallyl alcohol (*blumig*), alpha-Ocimen (*fruchtig*), 2-Undecanon (*fruchtig*), 2-Octanol (*würzig*) und alpha-Bergamoten (*holzig*).

4.1.10.3. CATIE-R1

4.1.10.3.1. Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von CATIE-R1: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit



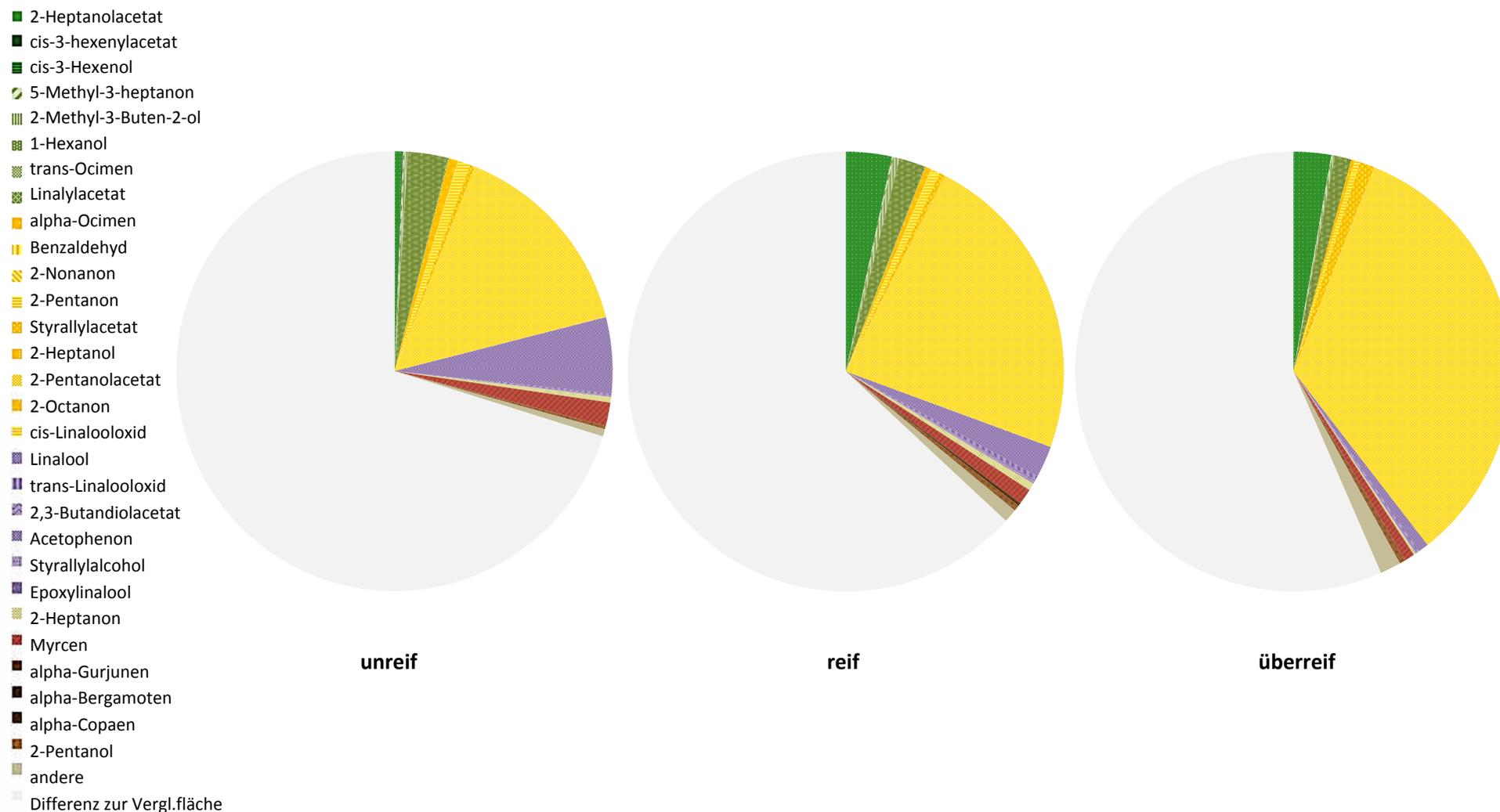
**Abb. 60: Aromaprofil von CATIE-R1 während der Trockenzeit und der Regenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der reifen und überreifen Fruchtpulpa des Kakaoklons CATIE-R1 während der Trockenzeit (links) und Regenzeit (rechts) in Costa Rica. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in beiden Jahreszeiten (EET 62: 1,70E+10).n =6-9

Die während der Fruchtreife vorherrschende Jahreszeit wirkt sich signifikant auf das Pulpaaroma in reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R1 aus (Abb.60). Während der Trockenzeit ist die Gesamtpeakfläche zwar kleiner, d.h. die Aromaintensität geringer, aber das Aromaspektrum ist größer: in den Fruchtpulpen der Trockenzeit konnten insgesamt 25 und in den Proben der Regenzeit 18 Aromakomponenten identifiziert werden. Folgende Feinaromen treten in Spuren ( $<0,1\%$ ) nur in der Trockenzeit auf: 5-Methyl-3-heptanon (*krautig*), Linalylacetat (*krautig*), beta-Cubebene (*fruchtig*), Epoxylinool (*blumig*), alpha-Bergamoten (*holzig*), alpha-Gurjunene (*holzig*) und cis-Linalooloxid (*erdig*).

Die durchschnittliche Gesamtpeakfläche beträgt  $12,9\%$  (Trockenzeit) bzw.  $37,8\%$  (Regenzeit) im Vergleich zur maximalen Fläche von EET 62. In beiden Jahreszeiten zeigt 2-Pentanolacetat die größten Peakflächen ( $8,7\pm 2,3\%$  bzw.  $29,8\pm 4,2\%$ ); 2-Heptanolacetat fällt mit  $1,1\pm 0,8\%$  bzw.  $2,6\pm 0,6\%$  signifikant geringer aus. Während der Regenzeit ist die Konzentration der *fruchtigen* Minorkomponenten 2-Pentanon und Styrallyl acetat mit  $0,6\pm 0,2\%$  bzw.  $0,6\pm 0,3\%$  größer als in der Trockenzeit. Die Anteile von alpha-Ocimen, 2-Nonanon und 2-Heptanol sind in beiden Jahreszeiten ähnlich, genauso auch die der *blumigen* Feinaromen Linalool, trans-Linalooloxid, Acetophenon und Styrallyl alcohol. Anders verhält es sich bei dem *würzigen* Monoterpen Myrcen und dem sekundären Alkohol 2-Pentanol (*fermentiert*), ihre Peakflächen sind mit  $0,6\pm 0,3\%$  bzw.  $0,7\pm 0,2\%$  größer in den Pulpen der Regenzeit.

## 4.1.10.3.2. Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von CATIE-R1



**Abb. 61: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R1 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der Pulpa unreifer (links), reifer (Mitte) und überreifer Früchte des Kakaoklons CATIE-R1 während der Trockenzeit. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in der Trockenzeit (EET 62: 3,53E+09). n =2-6.

Die Analyse verschiedener Fruchtpulpen des Genotyps CATIE-R1 zeigt einen signifikanten Einfluss des Reifegrades der Kakaofrucht auf die Aromakomposition und -konzentration im Fruchtfleisch (Abb.61). Die durchschnittliche Gesamtpeakfläche ist in unreifen Früchten mit  $1,05E+09$  am geringsten ( $= 29,8 \pm 6,6$  % von EET 62) und wird mit zunehmendem Reifegrad größer:  $1,30E+09$  ( $= 36,9 \pm 19,2$  % von EET 62) in reifen Pulpen bzw.  $1,54E+09$  ( $= 43,4 \pm 1,6$  % von EET 62) in überreifen Pulpen.

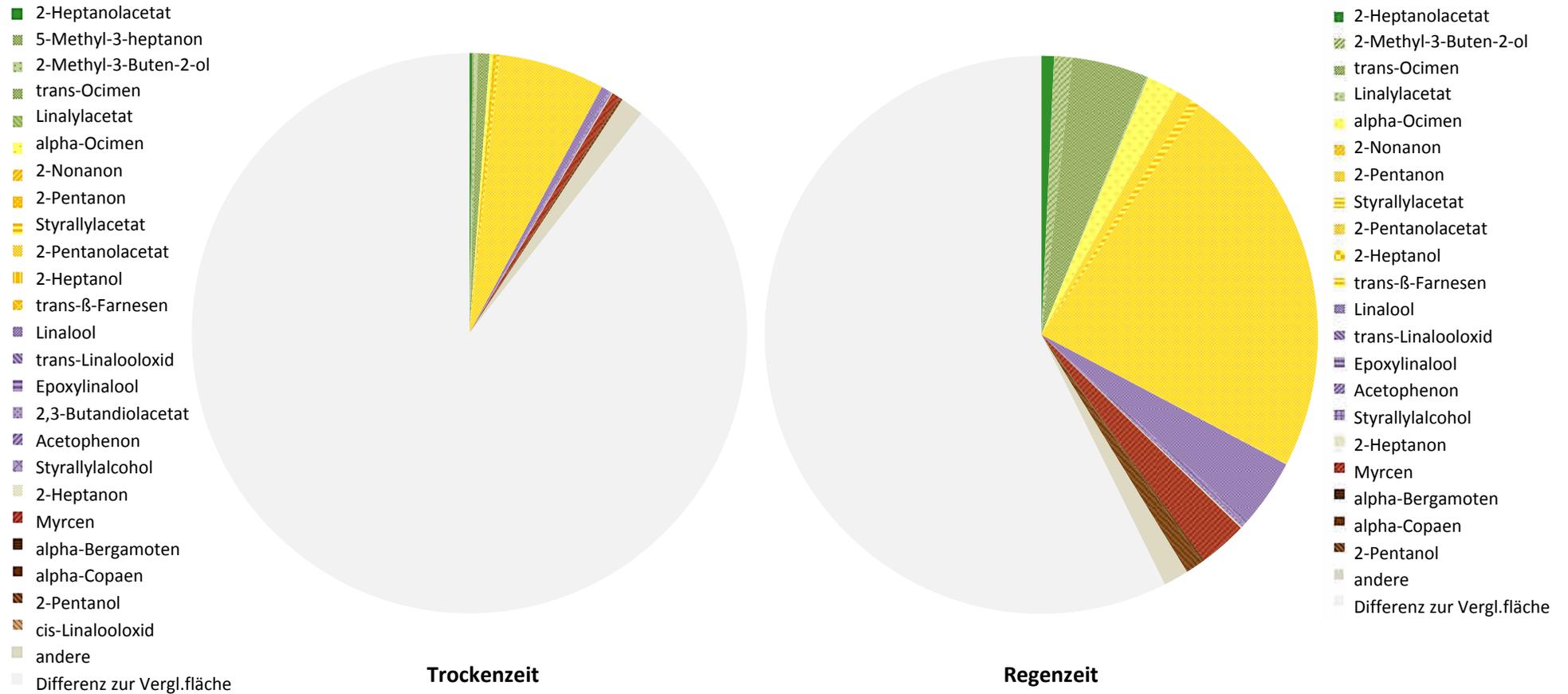
Im unreifen Zustand, enthält die Fruchtpulpa viel *blumiges* Aroma, das hauptsächlich auf Linalool ( $5,6 \pm 4,2$  %) zurückzuführen ist. Die anderen Komponenten dieser Aromagruppe sind nur in Spuren vorhanden ( $<0,1$  %): trans-Linalooloxid, 2,3-Butandioldiacetat, Acetophenon, Styrallyl alcohol und Epoxyllinalool. Die beiden azyklischen Monoterpene Myrcen (*würzig*,  $1,7 \pm 1,2$  %) und trans-Ocimen (*krautig*,  $3,0 \pm 2,3$  %) liegen ebenfalls in unreifen Pulpen am höchsten konzentriert vor.

Zwar steigt der absolute Anteil *fruchtiger* Feinaromen am Gesamtpulpaaroma mit zunehmender Reife (17 % unreif, 25 % reif und 35 % überreif), aber einzelne *fruchtige* Minorkomponenten verlieren an Intensität (alpha-Ocimen, 2-Pentanon) oder lassen sich in reifen bzw. überreifen Pulpen nicht mehr detektieren (Benzaldehyd, 2-Octanon). Bei Styrallyl acetate hingegen, nimmt die Konzentration mit zunehmender Frucht reife zu ( $0,4 \pm 0,2$  %,  $0,4 \pm 0,4$  % bzw.  $1,1 \pm 0,1$  %). 2-Nonanon und cis-Linalooloxid tauchen nur in unreifen und reifen Fruchtpulpen auf.

Die Hauptkomponente 2-Heptanolacetat (*grün*), hat mit  $0,5 \pm 0,2$  % (unreif),  $3,4 \pm 3,3$  % (reif) bzw.  $2,8 \pm 0,1$  % (reif) einen verhältnismäßig geringen Anteil am Pulpaaroma von CATIE-R1. *Holzige* Minorkomponenten (alpha-Gurjunen, alpha-Bergamoten und alpha-Copaen) konnten lediglich in reifen Früchten des Kakaoklons gefunden werden.

## 4.1.10.4. CATIE-R4

## 4.1.10.4.1. Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von CATIE-R4: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit



**Abb. 62: Aromaprofil von CATIE-R4 während der Trockenzeit und der Regenzeit**

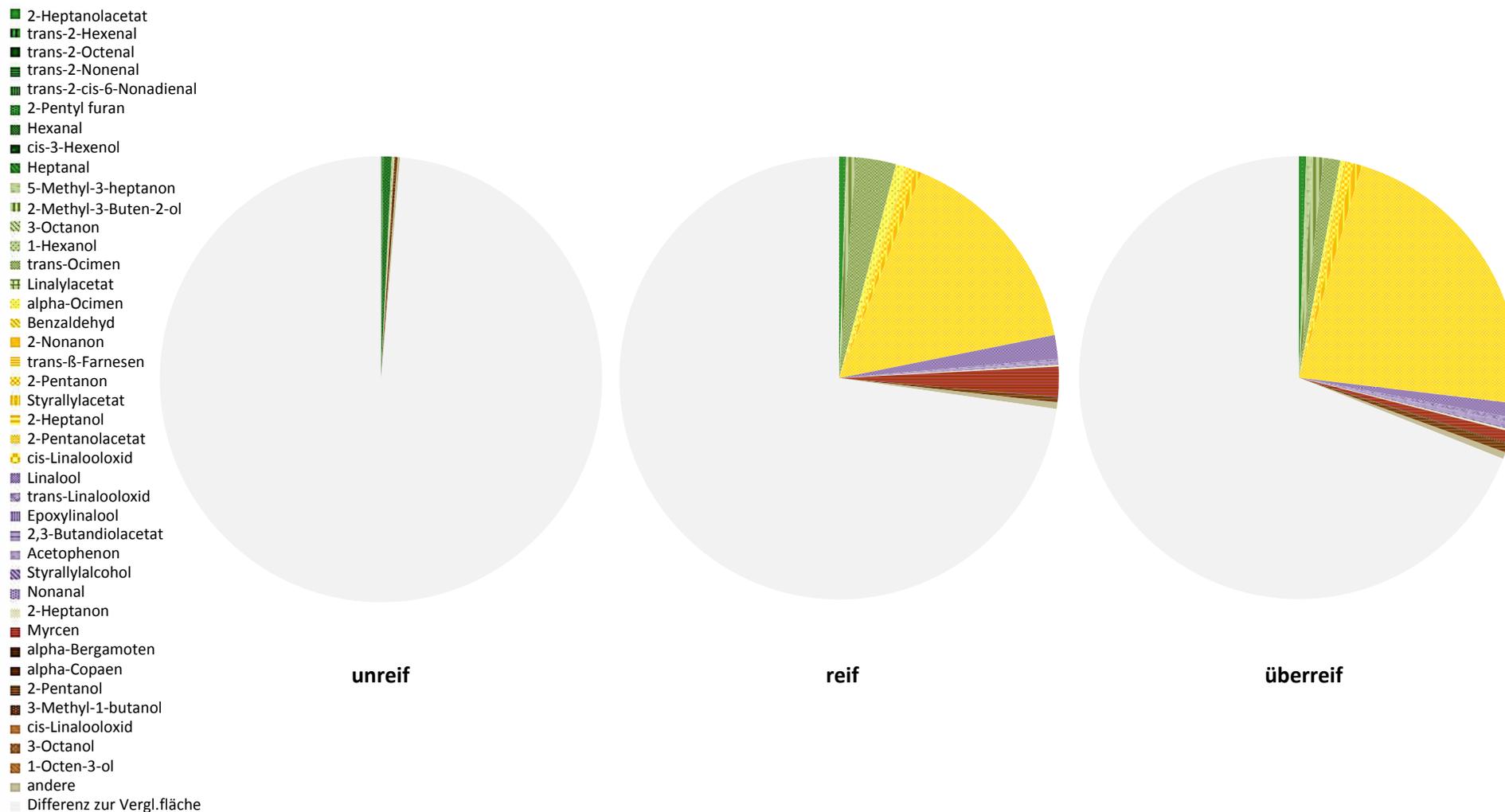
Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der reifen und überreifen Fruchtpulpa des Kakaoklons CATIE-R4 während der Trockenzeit (links) und Regenzeit (rechts) in Costa Rica. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in beiden Jahreszeiten (EET 62: 1,70E+10). n =8-9.

Das Aroma der Fruchtpulpa von CATIE-R4 wird signifikant von den klimatischen Bedingungen während der Fruchtreife beeinflusst (Abb.62). Dabei liegen die Unterschiede weniger in der Aromakomposition, als vielmehr in den Peakflächen der einzelnen Feinaromen. Reifen Kakaofrüchte während regenreicher Monate heran, ist das Pulpaaroma deutlich intensiver, da die Aromakomponenten in höheren Konzentrationen vorliegen. In der Trockenzeit erreicht die durchschnittliche Gesamtpeakfläche lediglich 9,6 % der Fläche des Kontrollklons EET 62, während der Regenzeit 42,6 %.

Insgesamt sind 21 Komponenten aus verschiedenen Aromagruppen in den Fruchtpulpen von CATIE-R4 identifiziert worden. Ihre organoleptischen Eigenschaften werden als *grün* (2-Heptanolacetat), *krautig* (2-Methyl-3-buten-2-ol, trans-Ocimen, Linalylacetat), *fruchtig* (alpha-Ocimen, 2-Nonanon, 2-Pentanon, Styrallyl acetat, 2-Pentanolacetat, 2-Heptanol, trans-beta-Farnesen), *blumig* (Linalool, trans-Linalooloxid, Epoxylinool, Acetophenon, Styrallyl alcohol), *käsige-fruchtig* (2-Heptanon), *würzig* (Myrcen), *holzig* (alpha-Bergamoten, alpha-Copaen) und *fermentiert* (2-Pentanol) beschrieben. In den Pulpen der trockenen Monate sind außerdem Spuren ( $\leq 0,1$  %) von 5-Methyl-3-heptanon (*krautig*), 2,3-Butandioldiacetat (*blumig*), cis-Linalooloxid (*erdig*) gefunden worden. In beiden Jahreszeiten haben folgende Aromakomponenten den größten Anteil am Pulpaaroma (Trockenzeit-Regenzeit): trans-Ocimen ( $0,7 \pm 0,7$  % bzw.  $4,4 \pm 1,0$  %), 2-Pentanolacetat ( $6,2 \pm 2,2$  % bzw.  $23,0 \pm 2,8$  %), Linalool ( $0,5 \pm 0,5$  % bzw.  $3,9 \pm 0,7$  %) und Myrcen ( $0,5 \pm 0,5$  % bzw.  $2,8 \pm 0,6$  %).

CATIE-R4 zeigt in der Regenzeit ein ausgewogenes Pulpaaroma, in dem *fruchtige* Feinaromen durch Komponenten aus den Aromagruppen *grün-krautig*, *blumig* und *würzig-holzig* zu ähnlichen Teilen ergänzt werden.

## 4.1.10.4.2. Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von CATIE-R4



**Abb. 63: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R4 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der Pulpa unreifer (links), reifer (Mitte) und überreifer Früchte des Kakaoklons CATIE-R4 während der Trockenzeit. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in der Trockenzeit (EET 62: 3,53E+09). n =4

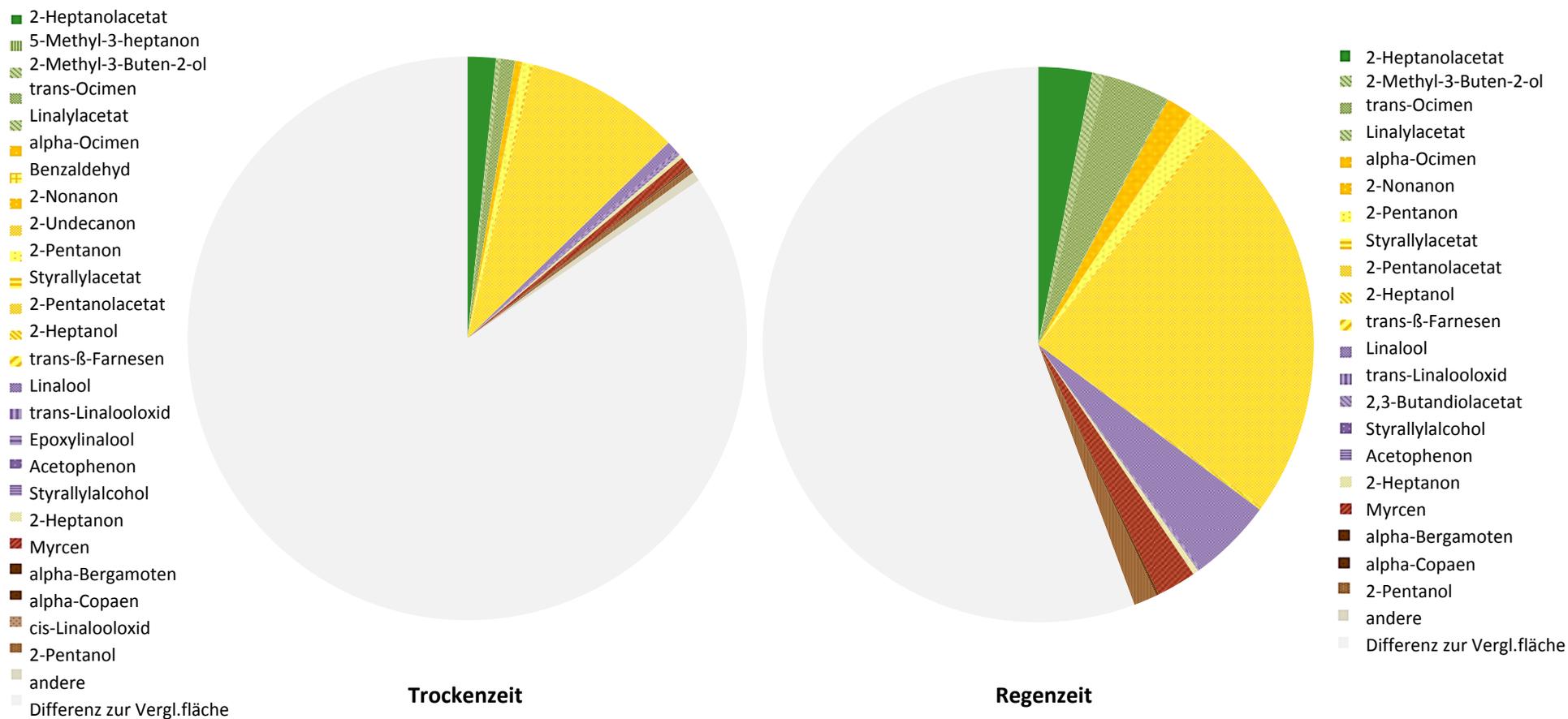
Die Fruchtpulpa des Kakaoklons CATIE-R4 weist im unreifen Zustand kaum Feinaromen auf (Abb. 63). Mehr als 70 % der durchschnittlichen Gesamtpeakfläche basieren auf den *grünen* und *krautigen* Aromakomponenten trans-2-Hexenal, trans-2-Octenal, trans-2-Nonenal, trans-2-cis-6-Nonadienal, 2-Pentyl furan, Hexanal, cis-3-Hexenol, Heptanal, 5-Methyl-3-heptanon, 2-Methyl-3-buten-2-ol, 3-Octanon und 1-Hexanol. Aus den Aromagruppen *fruchtig* und *blumig* konnten nur Spuren (<0,1 %) von Benzaldehyd (*fruchtig*) und Nonanal (*blumig*) gefunden werden. *Würzige* oder *holzige* Feinaromen treten zu diesem Zeitpunkt nicht auf, dafür aber die beiden Alkohole 3-methyl-1-Butanol (*fermentiert*) und 3-Octanol (*erdig*). Beide Minorkomponenten wurden in keinem anderen Klon festgestellt. Während unreife Pulpen von CATIE-R4 kein 2-Heptanolacetat (*grün*), Linalylacetat (*krautig*) und trans-Ocimen (*krautig*) enthalten, kommen sie in reifen und überreifen Früchten in hohen Konzentrationen vor. 2-Heptanolacetat ist dabei der einzige *grüne* Duftstoff in reifen und überreifen Fruchtpulpen von CATIE-R4.

Mit einer durchschnittlichen Gesamtpeakfläche von  $4,89E+07$ , erreicht CATIE-R4 im unreifen Zustand lediglich  $1,38\pm 0,4$  % der Fläche von EET 62 ( $3,53E+09$ ). Eine Vielzahl an *fruchtigen* und *blumigen* Aromakomponenten lassen sich erst im reifen Stadium der Pulpa detektieren: alpha-Ocimen ( $0,8\pm 0,9$  %), 2-Nonanon ( $0,1\pm 0,03$  %), 2-Pentanon ( $0,6\pm 0,4$  %), Styrallyl acetat ( $0,5\pm 0,2$  %), 2-Pentanolacetat ( $15,7\pm 8,1$  %), Linalool ( $1,7\pm 2,0$  %), trans-Linalooloxid ( $0,2\pm 0,2$  %), Acetophenon ( $0,2\pm 0,1$  %) und Styrallyl alcohol ( $0,1\pm 0,04$  %). Ihre Peakflächen werden mit weiterer Reife größer (Ausnahme: alpha-Ocimen und Linalool).

Im überreifen Zustand reduziert sich der Anteil von trans-Ocimen, alpha-Ocimen, Linalool und Myrcen signifikant. Insgesamt steigt jedoch der Anteil *fruchtiger* und *blumiger* Feinaromen mit zunehmendem Reifegrad der Früchte. Des Weiteren treten vermehrt *holzige* Aromen auf (alpha-Bergamoten und alpha-Copaen).

4.1.10.5. CATIE-R6

## 4.1.10.5.1. Einfluss der Jahreszeit auf das Pulpaaroma von CATIE-R6: Vergleich der Trockenzeit und Regenzeit



**Abb. 64: Aromaprofil von CATIE-R6 während der Trockenzeit und der Regenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der reifen und überreifen Fruchtpulpa des Kakaoklons CATIE-R6 während der Trockenzeit (links) und Regenzeit (rechts) in Costa Rica. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in beiden Jahreszeiten (EET 62: 1,70E+10). n =6-8.

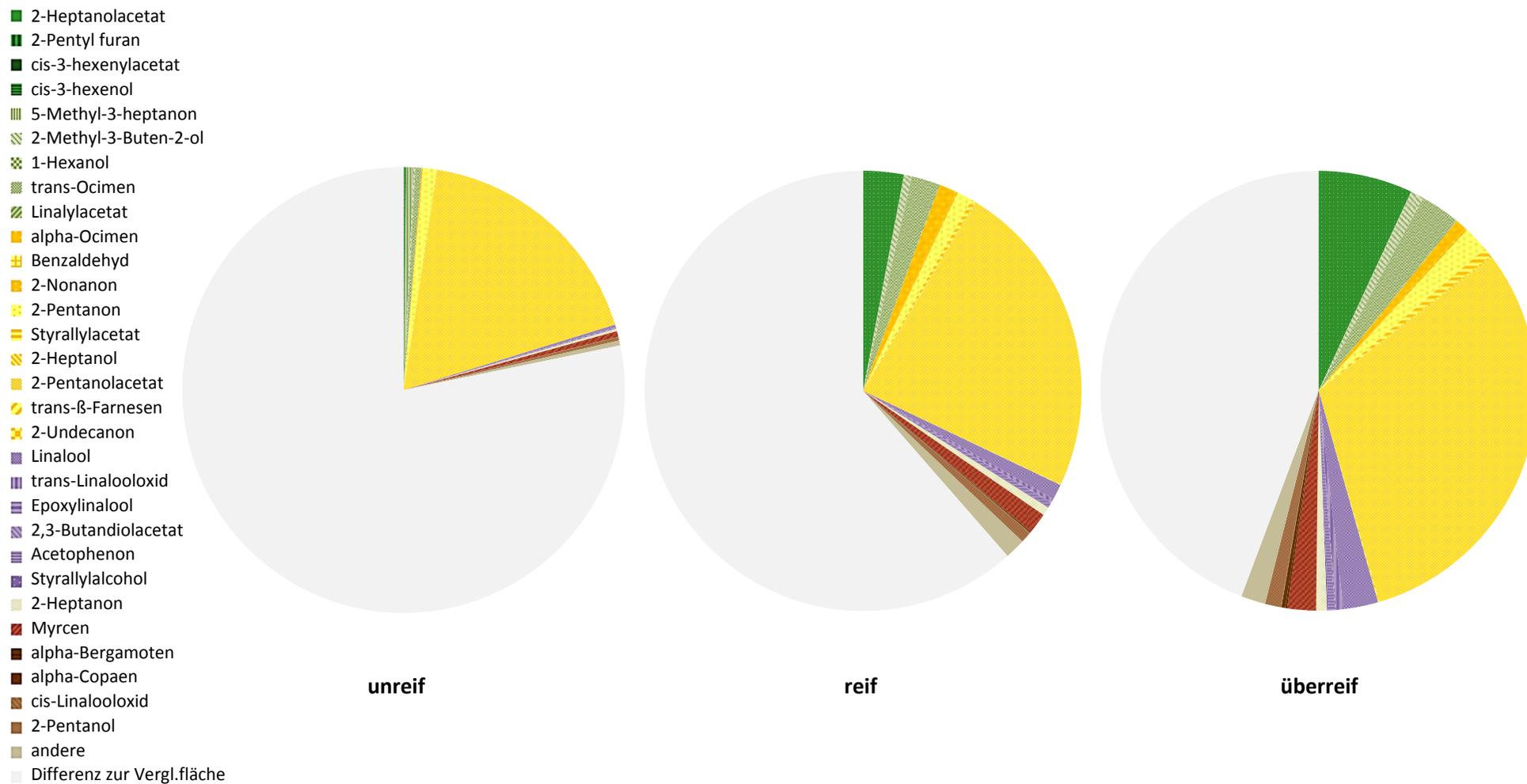
Das Aroma reifer und überreifer Fruchtpulpen des Kakaoklons CATIE-R6 setzt sich aus verschiedenen volatilen Komponenten zusammen, die in ihren organoleptischen Eigenschaften sehr divergieren. In der Trockenzeit weisen die Pulpen ein flacheres Aroma auf, das überwiegend von fruchtigen Feinaromen geprägt ist (Abb.64). *Grün-krautige*, *blumige* und *würzige* Verbindungen treten in geringeren Konzentrationen auf. Mit einer durchschnittlichen Gesamtpeakfläche von  $1,67E+09$  erreicht CATIE-R6 während der Trockenzeit nur 15,5 % der maximalen detektierten Fläche (EET 62). In der Regenzeit ist das Aroma deutlich intensiver (44,3 % von EET 62), die durchschnittliche Gesamtpeakfläche beträgt  $4,76E+09$  und ist damit fast 3 Mal so groß wie die aus der Trockenzeit.

In regenreichen Monaten werden von den folgenden Feinaromen signifikant größere Mengen gebildet (Trockenzeit bzw. Regenzeit): 2-Heptanolacetat ( $1,6\pm 1,0$  % bzw.  $3,2\pm 2,0$  %) trans-Ocimen ( $0,8\pm 0,5$  % bzw.  $3,8\pm 1,1$  %), 2-Methyl-3-buten-2-ol ( $0,3\pm 0,1$  % bzw.  $0,8\pm 0,2$  %), alpha-Ocimen ( $0,4\pm 0,4$  % bzw.  $1,5\pm 0,6$  %) 2-Pentanon ( $0,5\pm 0,2$  % bzw.  $1,3\pm 0,1$  %), 2-Pentanolacetat ( $8,9\pm 2,1$  % bzw.  $24,1\pm 3,3$  %), Linalool ( $0,6\pm 0,5$  % bzw.  $4,8\pm 1,1$  %), Myrcen ( $0,6\pm 0,3$  % bzw.  $2,3\pm 0,8$  %) und 2-Pentanol ( $0,3\pm 0,1$  % bzw.  $1,4\pm 0,6$  %).

In den Pulpen der Trockenzeit sind Spuren ( $<0,1$  %) von 5-Methyl-3-heptanon (*krautig*), 2-Undecanon (*fruchtig*), Epoxyllinalool (*blumig*) und cis-Linalooloxid (*erdig*) gefunden worden. 2,3-Butandioldiacetat (*blumig*) tritt hingegen nur in Pulpen der Regenzeit auf.

Bei den *holzigen* Aromen alpha-Bergamoten und alpha-Copaen, dem *käsigen-fruchtigen* 2-Heptanon, den *blumigen* Verbindungen trans-Linalooloxid, Styrallyl alcohol, Acetophenon, den *fruchtigen* Feinaromen 2-Nonanon, Styrallyl acetat, 2-Heptanol, trans-beta-Farnesen sowie dem *krautigen* Linalylacetat, sind hinsichtlich der Peakfläche keine Unterschiede zwischen den beiden Jahreszeiten festgestellt worden.

## 4.1.10.5.2. Vergleich des Reifegrades der Kakaofrucht (unreif, reif, überreif) auf das Pulpaaromaprofil von CATIE-R6



**Abb. 65: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R6 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind alle detektierten Aromakomponenten in der Pulpa unreifer (links), reifer (Mitte) und überreifer Früchte des Kakaoklons CATIE-R6 während der Trockenzeit. Die abgebildeten Konzentrationen [%] beziehen sich auf die größte detektierte Gesamtpeakfläche in der Trockenzeit (EET 62: 3,53E+09). n =4

Der Reifegrad der Kakaofrucht wirkt sich signifikant auf das Aroma des Fruchtfleisches von CATIE-R6 aus (Abb.65). Im unreifen Zustand riecht die Pulpa vorrangig *fruchtig* und *krautig*, von *würzigen* und *blumigen* Aromastoffen sind lediglich Spuren gefunden worden. Mit einer Konzentration von  $17,8 \pm 2,8\%$ , hat der Ester 2-Pentanolacetat einen Anteil von ca. 82 % am Gesamtaroma der unreifen Pulpa des Kakaoklons CATIE-R6. Die durchschnittliche Gesamtpeakfläche beträgt hier 21,8 %, im reifen Zustand 35,5 % und im überreifen Stadium 55,8 % der Vergleichsfläche von EET 62. Unreife Fruchtpulpen weisen Spuren ( $<0,1\%$ ) der *grünen* Aromakomponenten 2-Pentyl furan, cis-3-Hexenyl acetat und cis-3-Hexenol sowie des *krautigen* 1-Hexanols und des *fruchtigen* Benzaldehyds auf. Das Keton 5-Methyl-3-heptanon (*krautig*) ist ebenfalls am meisten im unreifen Stadium vorhanden. Mit zunehmender Fruchtreife verschwinden diese chemischen Verbindungen ganz oder reduzieren sich auf kaum detektierbare Mengen.

Im erntereifen Stadium ist das Aromaspektrum diverser und die einzelnen Feinaromakomponenten liegen in höheren Konzentrationen vor (Abb. 65). 2-Heptanolacetat (*grün*,  $3,0 \pm 2,7\%$ ), trans-Ocimen (*krautig*,  $2,1 \pm 2,1\%$ ), 2-Methyl-3-buten-2-ol (*krautig*,  $0,6 \pm 0,1\%$ ), alpha-Ocimen (*fruchtig*,  $1,3 \pm 1,9\%$ ), 2-Pentanon (*fruchtig*,  $1,1 \pm 0,6\%$ ) Styrallyl acetat (*fruchtig*,  $0,3 \pm 0,1\%$ ), Linalool (*blumig*,  $1,1 \pm 2,1\%$ ), trans-Linalooloxid (*blumig*,  $0,3 \pm 0,2\%$ ), Acetophenon (*blumig*,  $0,4 \pm 0,1\%$ ), 2-Heptanon (*käsige-fruchtig*,  $0,6 \pm 0,2\%$ ), Myrcen (*würzig*,  $1,5 \pm 1,4\%$ ) und 2-Pentanol (*fermentiert*,  $0,8 \pm 0,5\%$ ) treten in den Vordergrund. Ausserdem sind erstmals Linalylacetat (*krautig*), 2-Heptanol (*fruchtig*), trans-beta-Farnesen (*fruchtig*), 2-Undecanon (*fruchtig*), Epoxylylinalool (*blumig*), Styrallyl alcohol (*blumig*), alpha-Bergamoten (*holzig*) und alpha-Copanen (*holzig*) in der Pulpa von CATIE-R6 vorhanden.

In überreifen Pulpen potenzieren sich die Konzentrationen noch einmal. Dabei nehmen nicht nur komplexe Verbindungen, wie die *holzigen* Sesquiterpene alpha-Bergamoten und alpha-Copanen flächenmäßig zu, sondern auch Aromen wie 2-Heptanolacetat ( $7,0 \pm 0,6\%$ ), trans-Linalooloxid ( $0,5 \pm 0,03\%$ ) oder Styrallyl acetat ( $0,7 \pm 0,1\%$ ). Lediglich die Peakfläche von alpha-Ocimen ist in überreifen Pulpen kleiner als in reifen.

## 4.2. Monoklonale Mikrofermentationen

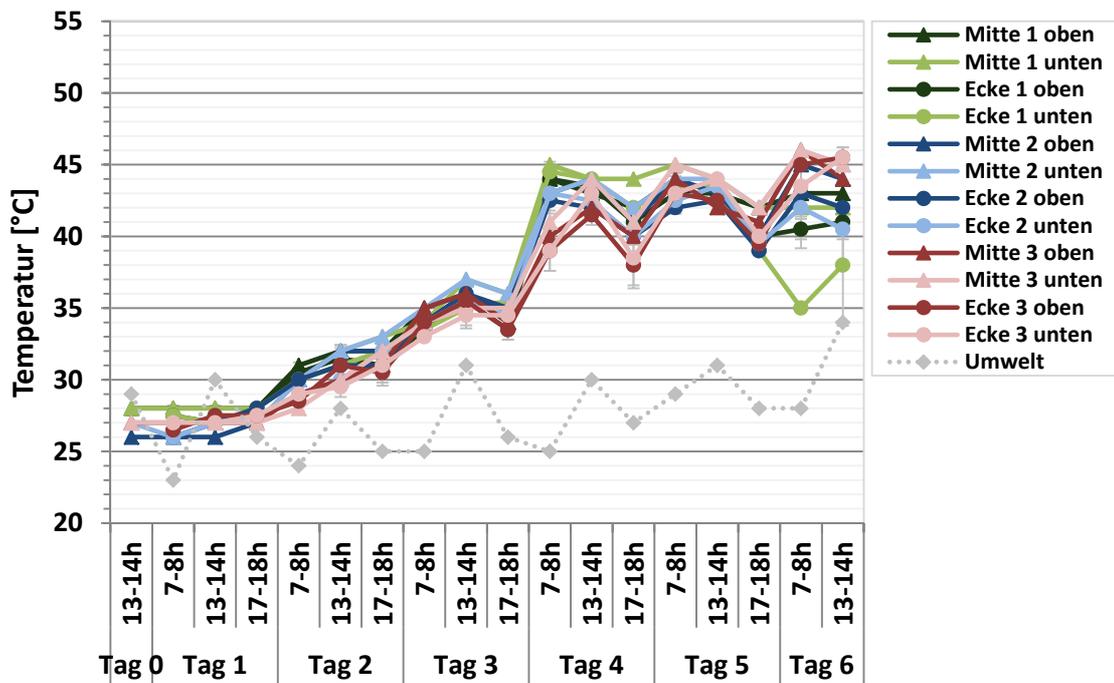
### 4.2.1. Trockenzeit

#### 4.2.1.1. Verläufe der Fermentationstemperatur

Die Kakaoklone PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 durchlaufen in den monoklonalen Mikrofermentationen der Trockenzeit die typischen Phasen der Kakaofermentation, welche näher in Kapitel 2.6. beschrieben wurden (Abb. 66-71). Allerdings sind die Temperaturverläufe je nach Genotyp sehr unterschiedlich. Diese Unterschiede bestätigen sich in den jeweiligen Wiederholungen und weisen darauf hin, dass klontypische Prozesse vorliegen.

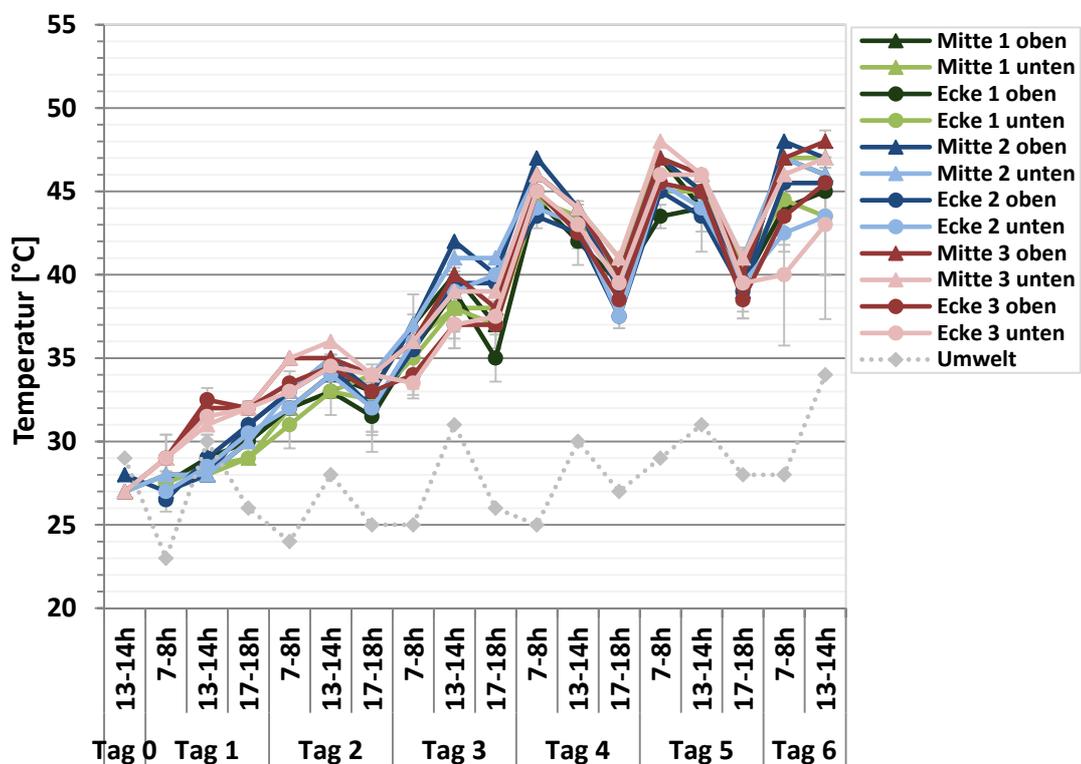
Bei PMCT-58 (Abb.66), ICS-95 T1 (Abb.67) und CATIE-R4 (Abb.69) steigt die durchschnittliche Fermentationstemperatur in den ersten 72 h nur langsam an (von ca. 27 °C auf 35 °C bzw. 40 °C bei ICS-95) und die erste Wendung des Kakaosamenmaterials nach 48 h bewirkt nicht den starken Temperaturanstieg, wie er bei den Genotypen CATIE-R1 (Abb.68), CATIE-R6 (Abb.70) und CC-137 (Abb. 71) auftritt. Erst nach der zweiten Wendung, am Mittag des 3. Fermentationstages, steigt die Temperatur bei PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R4 in allen Kisten auf über 40 °C und erreicht bei ICS-95 (T1) und CATIE-R4 Maximalwerte von 45-47 °C am Morgen des 4.Tages. Die Genotypen CATIE-R1 und CATIE-R6 sind zu diesem Zeitpunkt bereits seit 24 h auf einem Temperaturniveau von über 45 °C. Bei allen Klonen kann beobachtet werden, wie die Wendung des Samenmaterials zu einer kurzfristigen Abkühlung der Fermentationsmasse führt (um ca. 5 °C), die Temperatur dann jedoch über Nacht wieder ansteigt und am Vormittag Höchstwerte erreicht.

Bei PMCT-58 ist auffällig, dass sich ab dem 4.Tag die durchschnittliche Maximaltemperatur bei 43-44 °C einpendelt und die 45 °C-Marke lediglich für wenige Stunden in 2 Kisten zu unterschiedlichen Zeitpunkten erreicht wird. Bei CC-137 (Abb.71) treten große Temperaturdifferenzen innerhalb der Fermentationskisten (Ecken-Mitte, oben-unten) und Kiste Nr.3 (rote Linien) auf. Letztere war aufgrund unzureichenden Frischkakaos nur bis zur Hälfte gefüllt und zeigt einen mehr oder weniger kontinuierlichen Temperaturabfall ab der 1.Wendung, bis auf unter 30 °C am Morgen des 5.Tages, sodass die Fermentation frühzeitig am Mittag beendet wurde. Bei allen Fermentationen sind die Temperaturen in den Ecken 1-2 °C kühler, als in der Mitte.



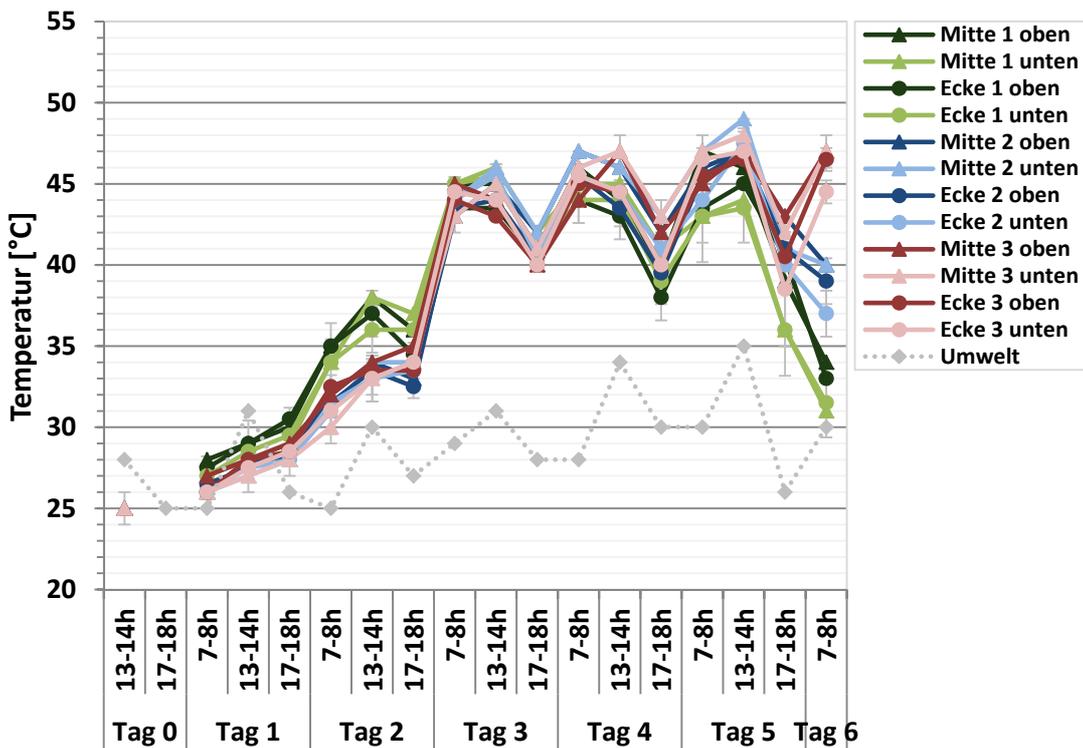
**Abb. 66: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons PMCT-58**

Dargestellt sind die Verläufe der Fermentationstemperatur [°C] in 3 Kisten, gefüllt mit Samenmaterial des Klons PMCT-58. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Kreise: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: Temperaturverläufe der oberen Schicht. Helle Linien: Temperaturverläufe der unteren Schicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur. Graue Balken: Standardabweichungen.



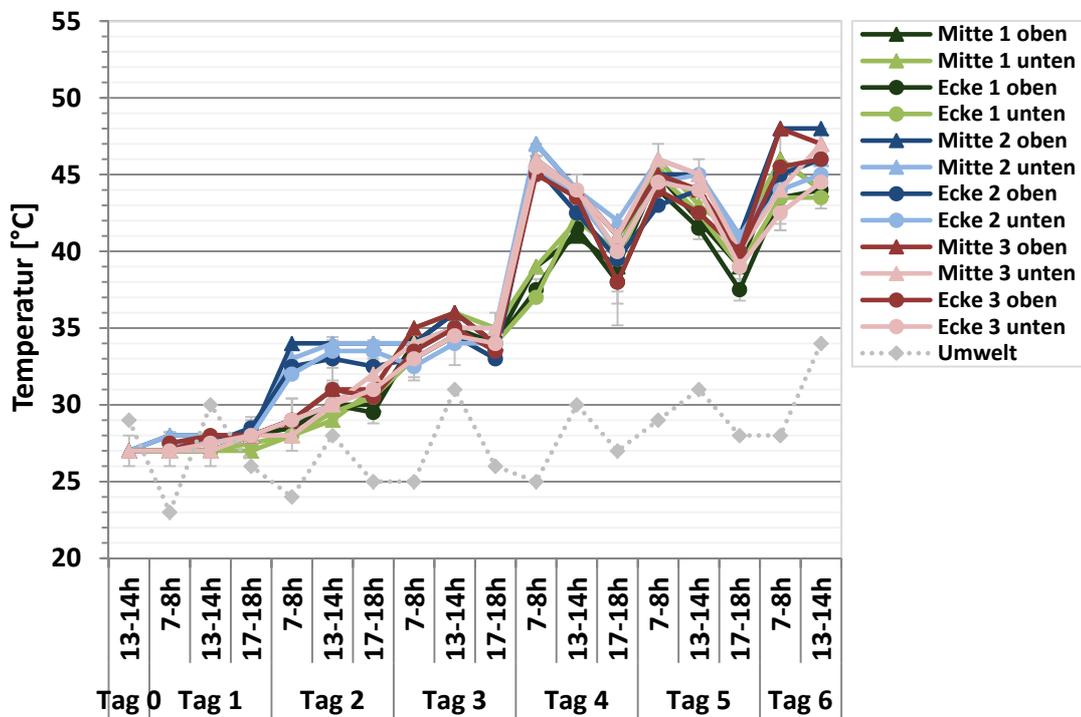
**Abb. 67: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons ICS-95 (T1)**

Dargestellt sind die Verläufe der Fermentationstemperatur [°C] in 3 Kisten, gefüllt mit Samenmaterial des Klons ICS-95 (T1). Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Kreise: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: Temperaturverläufe der oberen Schicht. Helle Linien: Temperaturverläufe der unteren Schicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur. Graue Balken: Standardabweichungen.



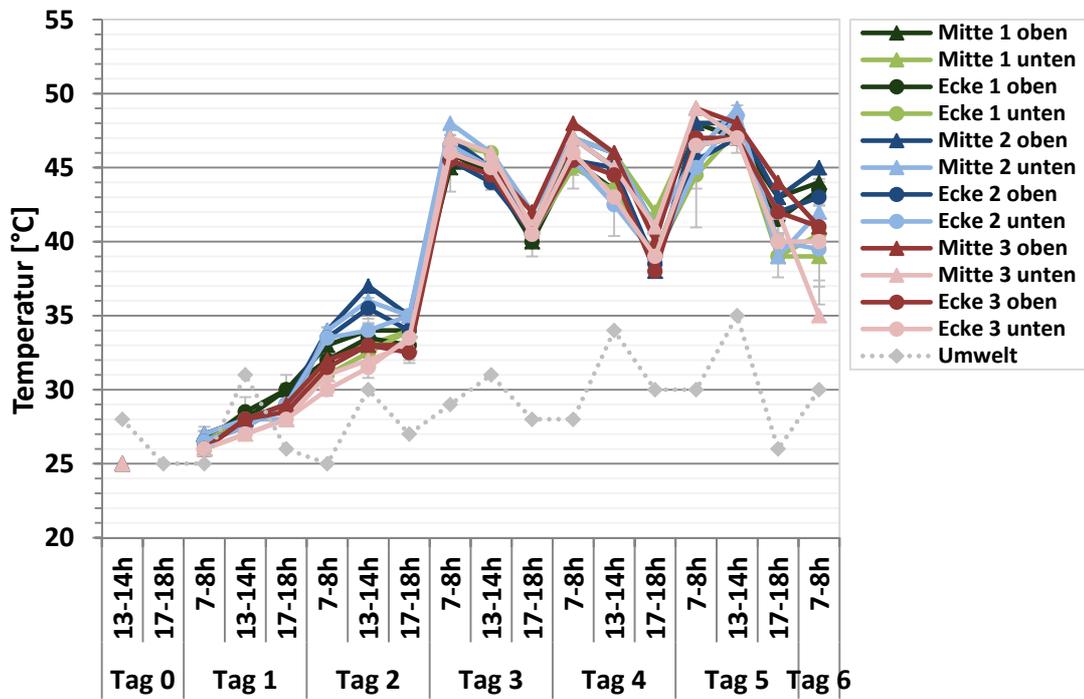
**Abb. 68: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CATIE-R1**

Dargestellt sind die Verläufe der Fermentationstemperatur [°C] in 3 Kisten, gefüllt mit Samenmaterial des Klons CATIE-R1. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Kreise: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: Temperaturverläufe der oberen Schicht. Helle Linien: Temperaturverläufe der unteren Schicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur. Graue Balken: Standardabweichungen.



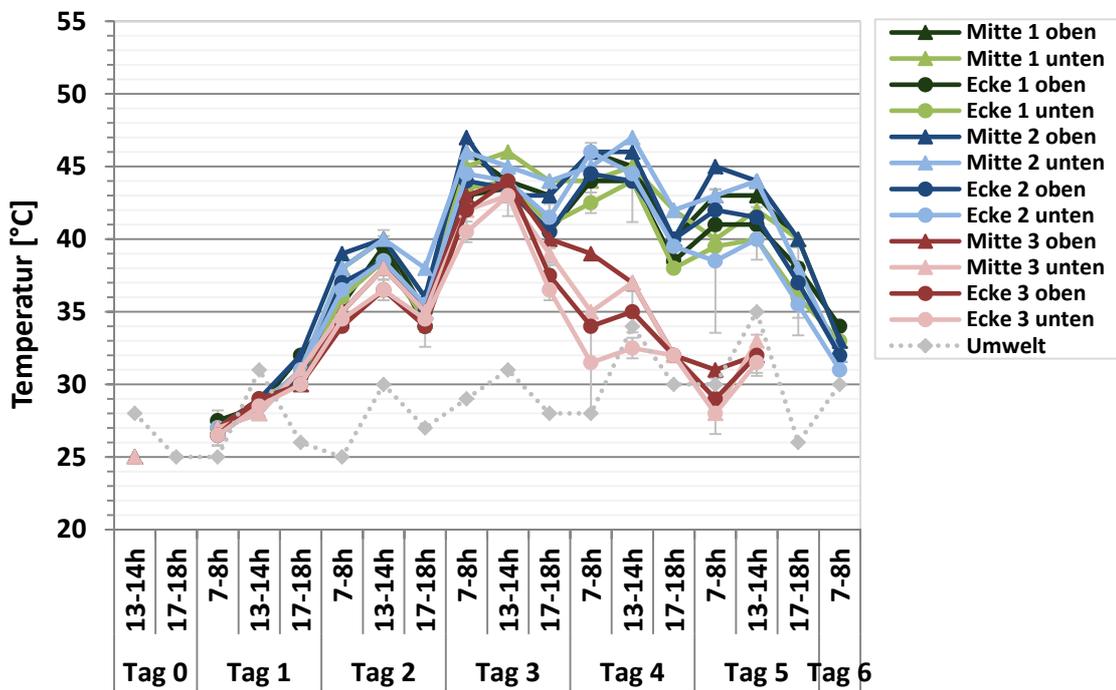
**Abb. 69: Temperaturentwicklung in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CATIE-R4**

Dargestellt sind die Verläufe der Fermentationstemperatur [°C] in 3 Kisten, gefüllt mit Samenmaterial des Klons CATIE-R4. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Kreise: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: Temperaturverläufe der oberen Schicht. Helle Linien: Temperaturverläufe der unteren Schicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur. Graue Balken: Standardabweichungen.



**Abb. 70: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CATIE-R6**

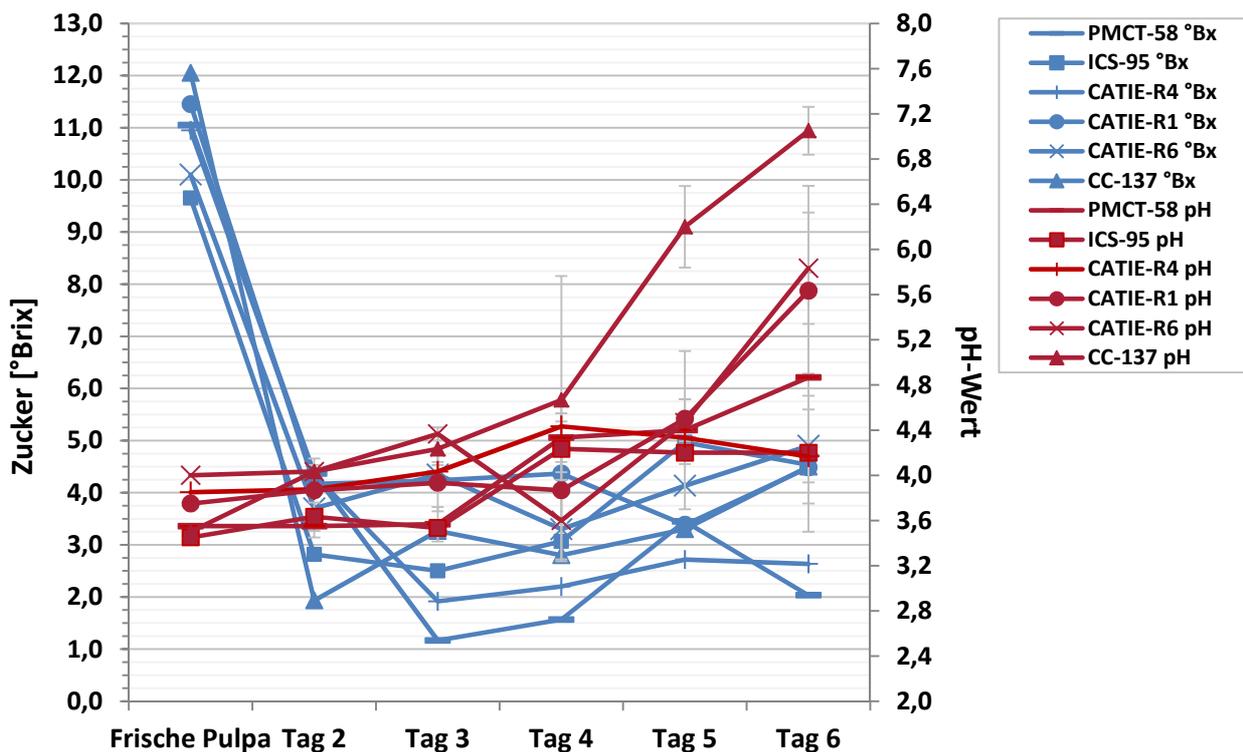
Dargestellt sind die Verläufe der Fermentationstemperatur [°C] in 3 Kisten, gefüllt mit Samenmaterial des Klons CATIE-R6. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Kreise: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: Temperaturverläufe der oberen Schicht. Helle Linien: Temperaturverläufe der unteren Schicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur. Graue Balken: Standardabweichungen.



**Abb. 71: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CC-137**

Dargestellt sind die Verläufe der Fermentationstemperatur [°C] in 3 Kisten, gefüllt mit Samenmaterial des Klons CC-137. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Kreise: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: Temperaturverläufe der oberen Schicht. Helle Linien: Temperaturverläufe der unteren Schicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur. Graue Balken: Standardabweichungen.

## 4.2.1.2. Zucker [°Brix] und pH-Wert der Kakaopulpa während der Fermentation



**Abb. 72: Veränderung des Zuckergehalts [°Brix] und des pH-Werts [°C] der Pulpa während der Fermentation**

Dargestellt sind die Mittelwerte des täglich gemessenen Zuckergehalts [°Brix] und pH-Werts der Pulpa von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, und CC-137 während der monoklonalen Frühjahrsfermentationen. Blaue Linien: Zucker [°Brix]. Rote Linien: pH-Wert. Graue Balken: Standardabweichungen.

Der Zuckergehalt [°Brix] der frischen Kakaopulpa von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 liegt bei Proben der Trockenzeit zwischen 9,7 und 12 °Brix. Während der anaeroben Phase, in den ersten 48 h nach Fermentationsbeginn, sinkt der Zuckergehalt auf 1,9 °Brix bei CC-137, 2,9 °Brix bei ICS-95 (T1) bzw. ca. 4 °Brix bei den anderen 4 Genotypen. PMCT-58 und CATIE-R4 enthalten erst am 3.Tag Zuckergehalte von unter 2 °Brix. Bei CATIE-R1 und CATIE-R6 schwankt der Pulpazuckergehalt bis zum Ende zwischen 3 und 4 °Brix. Dennoch lässt sich bei allen Kakaoklonen der gleiche Verlauf beobachten: zunächst Abnahme des Pulpazuckergehalts bis zum 5. Fermentationstag und anschließend erneut leichte Zunahme bis zum Fermentationsende.

Die frischen Kakaopulpen sind mit einem pH von 3,5 bis 4,0 zunächst sauer, dann steigt der pH-Wert je nach Genotyp bis zum 2. bzw. 3. Fermentationstag leicht an, sinkt anschließend ab und steigt bis zum Fermentationsende auf 4,2 (ICS-95, CATIE-R4), 4,9 (PMCT-58), 5,6 (CATIE-R1), 5,8 (CATIE-R6) und 6,9 bei CC-137.

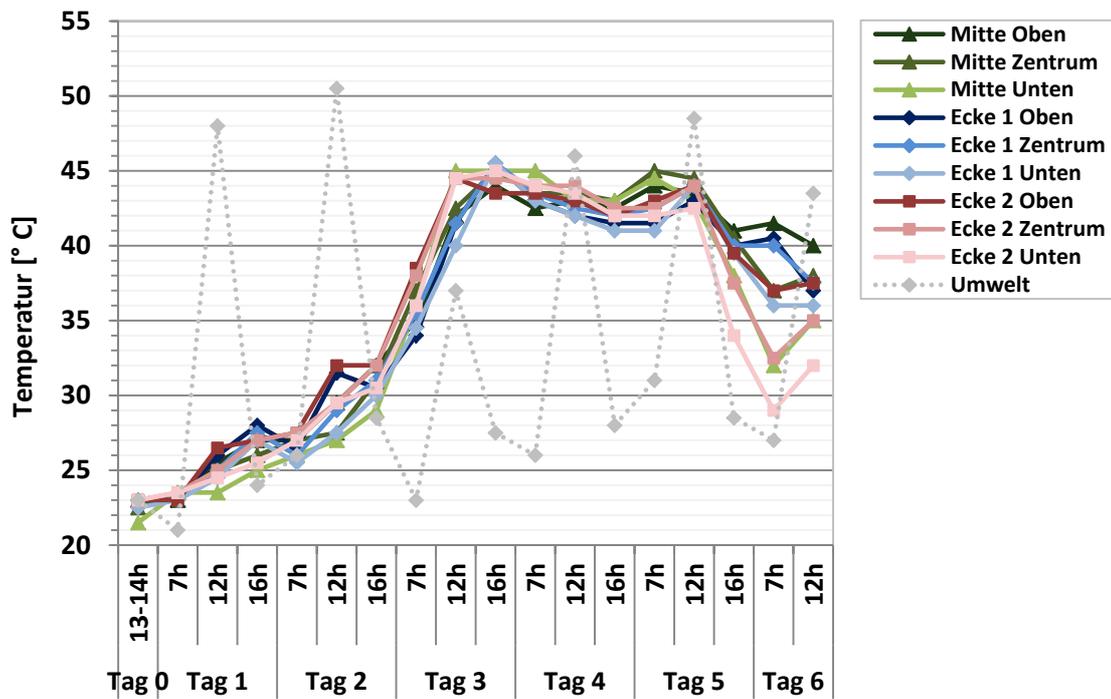
## 4.2.2. Regenzeit

### 4.2.2.1. Verläufe der Fermentationstemperatur, Beispiel Oktober

Während der Regenzeit fanden 2 Fermentationszyklen statt. Da die Fermentationen in ähnlichen Mustern verlaufen sind, werden im Folgenden nur die Ergebnisse der Oktober-Fermentationen vorgestellt (Abb.73-78).

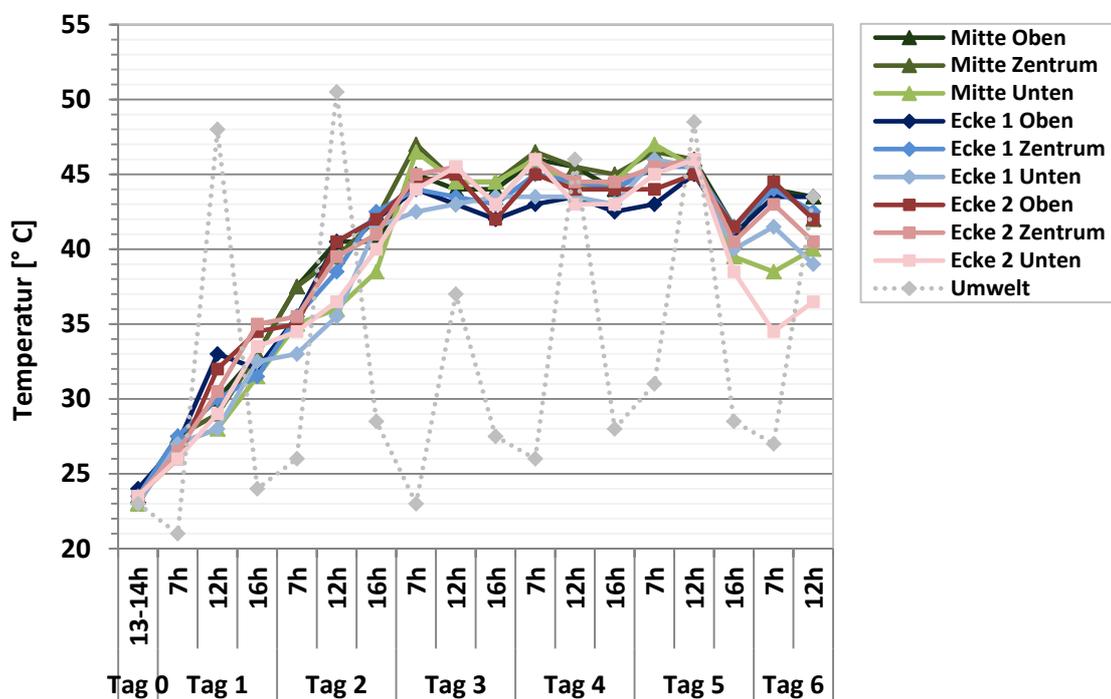
Zu Fermentationsbeginn, weisen alle Klone zwischen 22 und 24 °C in den unterschiedlichen Kistenebenen auf. Von da an steigt die Fermentationstemperatur bei ICS-95 (T1) fast linear an und erreicht nach 72 h ca. 45 °C. Bei den anderen Genotypen kann während der ersten 12 h kein Temperaturanstieg beobachtet werden. Bis zur ersten Wendung des Samenmaterials (am Mittag des 2.Tages) erwärmt sich die Fermentationsmasse von PMCT-58, CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 lediglich auf ca. 29-32 °C, zeigt anschließend jedoch einen mehr oder weniger exponentiellen Temperaturanstieg über Nacht und erreicht ca. 35 °C (CC-137), 37 °C (PMCT-58, CATIE-R1, CATIE-R4) bzw. 41 °C (CATIE-R6) am Morgen des 3. Fermentationstages. Zu diesem Zeitpunkt hat sich das fermentierende Samenmaterial von ICS-95 (T1) bereits auf fast 45 °C erhitzt und verbleibt dort während der folgenden 24 h, mit geringen Abweichungen innerhalb der Fermentationskiste. PMCT-58 und CC-137 erreichen 45 °C bzw. 47 °C erst am Nachmittag des 3. Tages. Während der folgenden 24 h nimmt die durchschnittliche Fermentationstemperatur bei beiden Kakaoklonen erneut ab und steigt lediglich in der Mitte der Kiste erneut auf 45 °C (am Morgen des 5.Fermentationstages), bevor sie bis zum Fermentationsende auf 32-40 °C (PMCT-58) bzw. 35-39 °C (CC-137) sinkt. Bei CATIE-R1 schwankt die Temperatur vom Nachmittag des 3.Fermentationstages bis zum Mittag des 5. Tages zwischen 43 und 45 °C, die letzte Wendung bewirkt dann zunächst einen Temperaturabfall auf 37-40 °C, mit anschließend erneutem Anstieg zum Fermentationsende, auf 39 °C (Ecke unten) bzw. 45 °C (Mitte oben). CATIE-R4 und CATIE-R6 weisen ein ähnliches Temperaturschema wie CATIE-R1 auf, allerdings sind bei CATIE-R4 teilweise große Schwankungen innerhalb der Kiste erkennbar, mit Differenzen von bis zu 9 °C (Tag 3 Mittag). Während sich die untere Schicht nach der letzten Wendung nicht mehr aufwärmt, steigt die Temperatur im oberen Samenmaterial noch einmal an. Bei CATIE-R6 dauert die Phase hoher Temperaturen länger an, als bei den anderen beiden CATIE-R-Klonen und beläuft sich auf insgesamt 48 h (zwischen Tag 3 und Tag 5).

Bei allen Genotypen kann in den dargestellten Abbildungen in den letzten 24 h ein Temperaturabfall und damit das Ende der Fermentationen beobachtet werden.



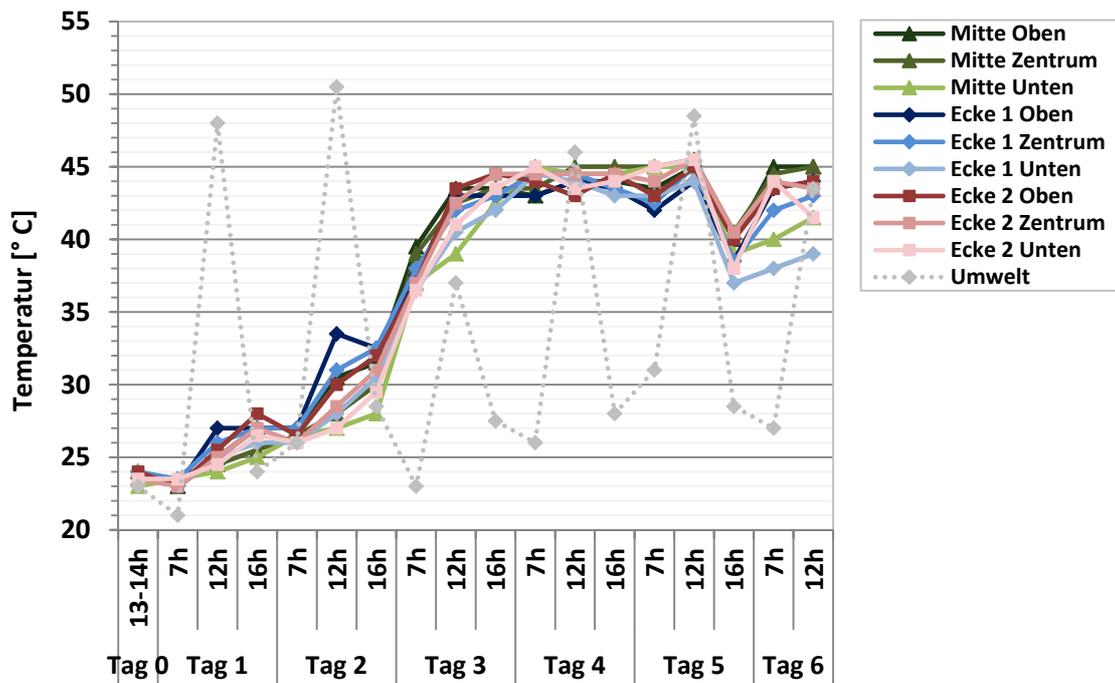
**Abb. 73: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons PMCT-58**

Dargestellt ist der Verlauf der Fermentationstemperatur [°C] in Samenmaterial des Klons PMCT-58 während der Regenzeit in Costa Rica. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Karos und Vierecke: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: obere Materialschicht. Mittel-dunkle Linien: mittlere Materialschicht. Helle Linien: untere Materialschicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur.



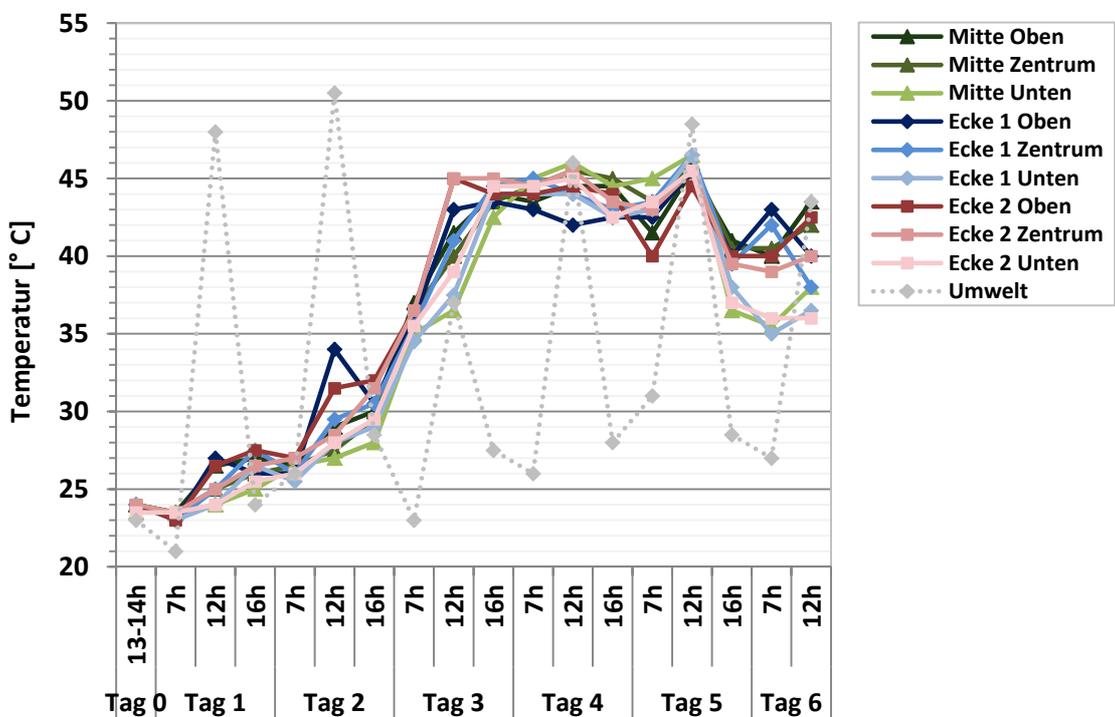
**Abb. 74: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons ICS-95 (T1)**

Dargestellt ist der Verlauf der Fermentationstemperatur [°C] in Samenmaterial des Klons ICS-95 (T1) während der Regenzeit in Costa Rica. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Karos und Vierecke: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: obere Materialschicht. Mittel-dunkle Linien: mittlere Materialschicht. Helle Linien: untere Materialschicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur.



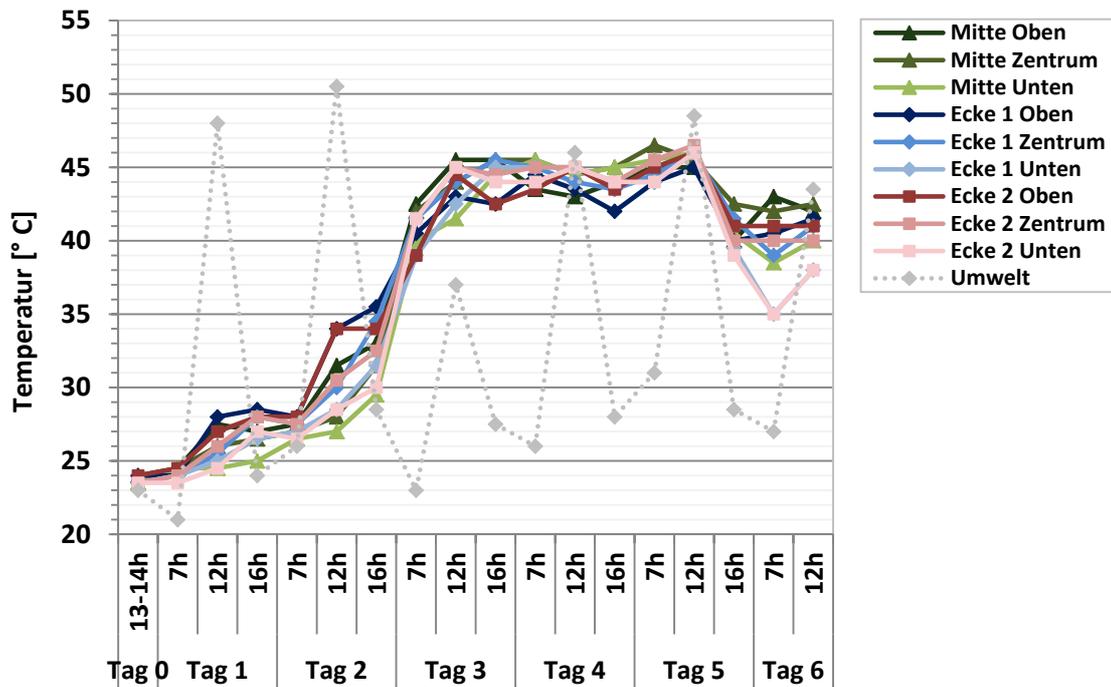
**Abb. 75: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CATIE-R1**

Dargestellt ist der Verlauf der Fermentationstemperatur [°C] in Samenmaterial des Klons CATIE-R1 während der Regenzeit in Costa Rica. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Karos und Vierecke: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: obere Materialschicht. Mittel-dunkle Linien: mittlere Materialschicht. Helle Linien: untere Materialschicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur.



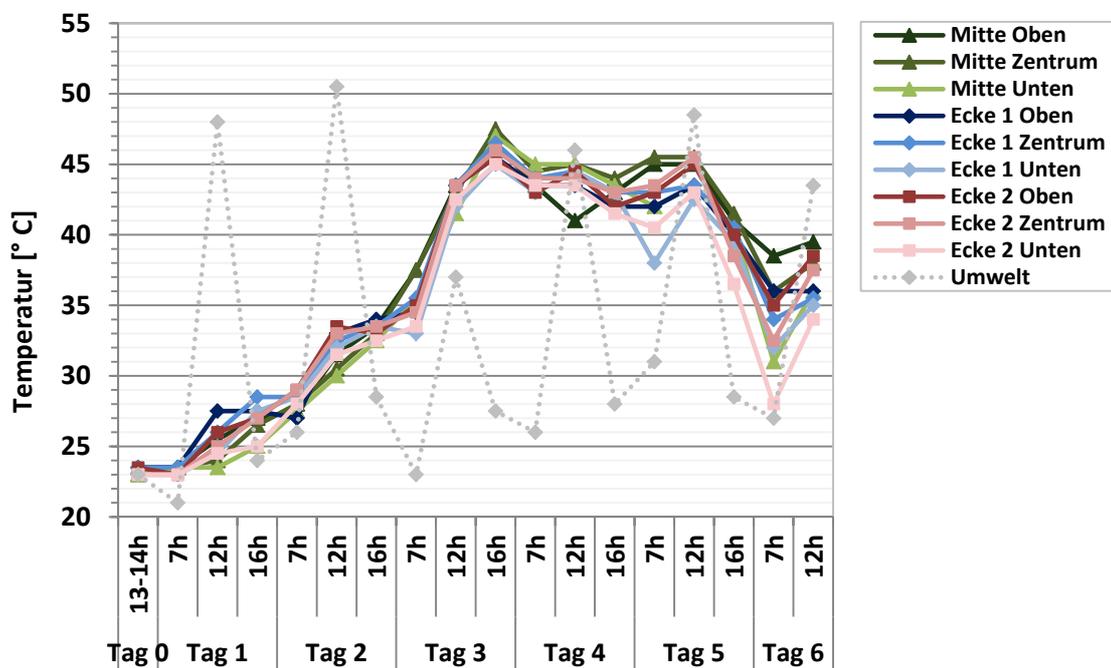
**Abb. 76: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CATIE-R4**

Dargestellt ist der Verlauf der Fermentationstemperatur [°C] in Samenmaterial des Klons CATIE-R4 während der Regenzeit in Costa Rica. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Karos und Vierecke: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: obere Materialschicht. Mittel-dunkle Linien: mittlere Materialschicht. Helle Linien: untere Materialschicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur.



**Abb. 77: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CATIE-R6**

Dargestellt ist der Verlauf der Fermentationstemperatur [°C] in Samenmaterial des Klons CATIE-R6 während der Regenzeit in Costa Rica. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Karos und Vierecke: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: obere Materialschicht. Mittel-dunkle Linien: mittlere Materialschicht. Helle Linien: untere Materialschicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur.

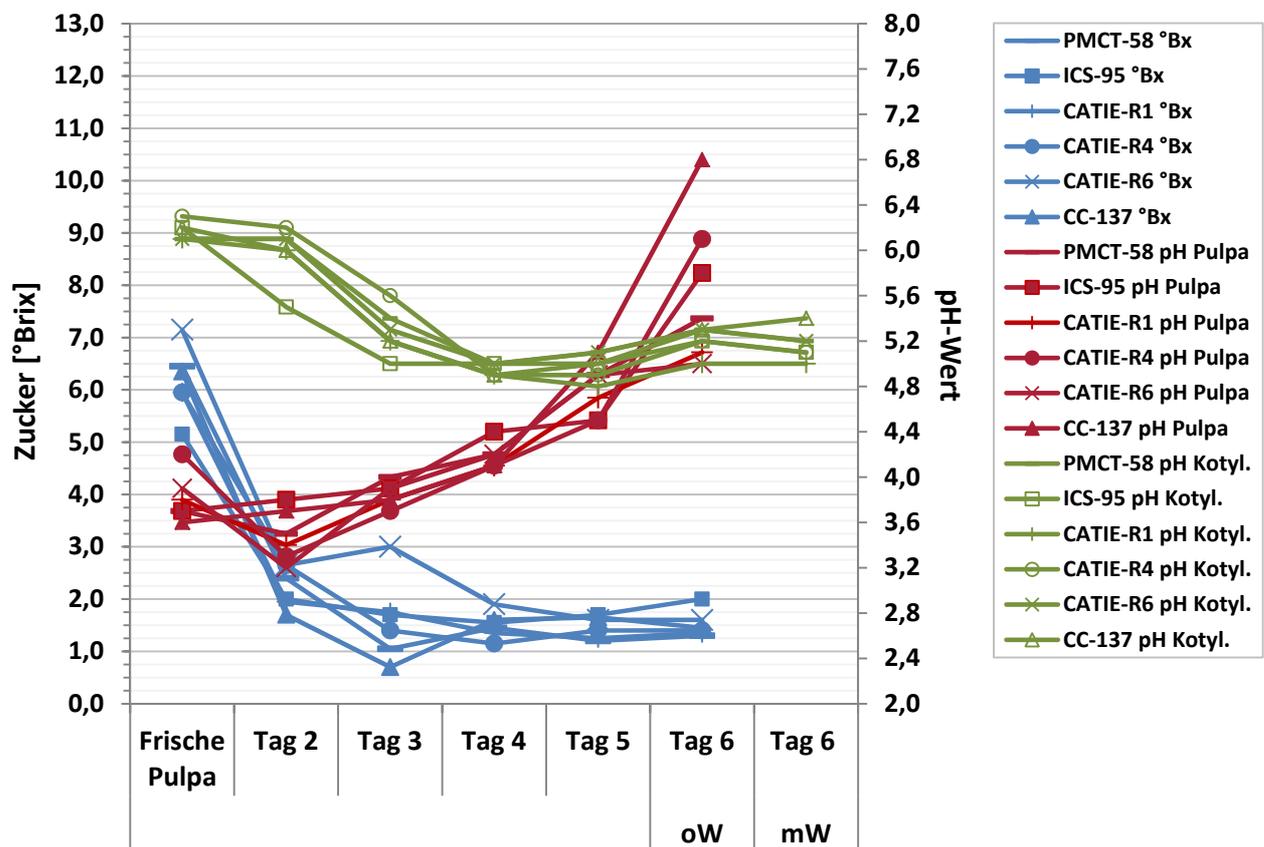


**Abb. 78: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CC-137**

Dargestellt ist der Verlauf der Fermentationstemperatur [°C] in Samenmaterial des Klons CC-137 während der Regenzeit in Costa Rica. Dreiecke: Mittelwerte der Mitten. Karos und Vierecke: Mittelwerte der Ecken. Dunkle Linien: obere Materialschicht. Mittel-dunkle Linien: mittlere Materialschicht. Helle Linien: untere Materialschicht. Grau-gepunktete Linie: Entwicklung der Umgebungstemperatur.

#### 4.2.2.2. Zucker [°Brix] und pH-Wert der Pulpa und der Kotyledonen während der Fermentation

Im Folgenden werden zusammengefasst die Veränderungen des Pulpazuckergehalts [°Brix] sowie des pH-Werts der Kakaopulpa und der Kotyledonen während der monoklonalen Fermentationen in der Regenzeit, im Oktober 2013, gezeigt.



**Abb. 79: Veränderung des Pulpazuckergehalts [°Brix] und des pH-Werts der Kakaopulpa und -kotyledonen verschiedener Kakaogenotypen während der Fermentation**

Dargestellt sind die Ergebnisse der täglichen Zucker- und pH-Wert-Messungen während der Herbstfermentation (Oktober) von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 in Costa Rica. Blaue Linien: Zuckergehalt [°Brix]. Rote Linien: pH-Wert der Pulpa. Grüne Linien: pH-Wert der Kotyledonen. Der pH-Wert der Kotyledonen wurde in den unterschiedlich lang fermentierten und getrockneten Kakaokotyledonen in Hamburg analysiert. oW= ohne Waschung; mW= mit Waschung.

Im frischen, unfermentierten Zustand sind die Pulpen von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 mit einem pH-Wert von 3,6 bis 3,9 (bei CATIE-R4: 4,2) sauer (Abb.14). Gleichzeitig weisen die Kakaokotyledonen der 6 Genotypen einen pH-Wert von ca. 6,2 auf und sind damit nur leicht sauer. Mit zunehmender Fermentation werden die Pulpen alkalischer und die Kotyledonen saurer. Dabei sinkt der Pulpa-pH in den ersten 48 h leicht ab, steigt zwischen Tag 3 und Tag 5 auf 4,5- 5 an und weist zum Fermentationsende Werte von 5 (CATIE-R6), 5,1 (CATIE-R1), 5,4 (PMCT-58), 5,8 (ICS-95), 6,0 (CATIE-R4) und 6,8 (CC-137) auf. Die Kotyledonen zeigen in den ersten 48 h der Fermentation kaum eine Veränderung in ihrem pH-Wert, lediglich bei ICS-95 kann eine

Abnahme beobachtet werden (pH 5,5). Bis zum 4.Fermentationstag werden die Kotyledonen zunehmend saurer und weisen pH-Werte zwischen 4,9 und 5 auf. Während der letzten 24 h steigt der pH erneut an, bleibt aber im sauren Bereich (5 bis 5,4). Es können keine Unterschiede zwischen den gewaschen und ungewaschen 6 Tage-fermentierten Kakaosamen beobachtet werden (Abb.80-81).

Mit 5-7 °Brix weisen die frischen Pulpen während der Regenzeit (Abb.79) nur etwa die Hälfte des Zuckergehalts der Trockenzeit auf (10-12 °Brix, Abb.72). ICS-95 (T1) enthält am wenigsten Zucker, CATIE-R6 am meisten. Die anderen 4 Genotypen liegen mit Werten von 6-6,3 °Brix dazwischen. Bei ICS-95 (T1), CATIE-R6 und CATIE-R1 sinken die Pulpazuckergehalte bis zum 2.Fermentationstag um ca. 60-70 %. Damit verbleiben die Restzuckergehalte auf einem höheren Niveau als bei PMCT-58, CATIE-R4 und CC-137, bei denen bis zum 3.Tag weitere Zucker abgebaut wurden. Bei CATIE-R6 steigt die Konzentration zum 3.Tag erneut leicht an (3 °Brix), sinkt dann aber kontinuierlich ab und erreicht zum Fermentationsende 1,7 °Brix. Bei CC-137 und PMCT-58 vermindert sich der Zuckergehalt während der ersten 72h auf 0,7 °Brix bzw. 1,1 °Brix, anschließend steigt er erneut leicht an und weist 1,5 °Brix bzw. 1,3 °Brix am 6.Fermentationstag auf. CATIE-R4 zeigt eine ähnliche Entwicklung der Pulpazuckerkonzentration, mit einer starken Abnahme während der ersten 72h und anschließend einer mehr oder weniger konstanten Zuckerkonzentration von 1,2-1,4 °Brix.

#### 4.2.2.3. Waschung



**Abb. 80: Fermentierte und gewaschene Kakaosamen von CATIE-R1 und CATIE-R4, frisch und getrocknet**  
Dargestellt sind fermentierte Kakaosamen von CATIE-R1 (oben) und CATIE-R4 (unten), im frisch gewaschenen Zustand (links) und nach der Trocknung (rechts). Abgebildete Proben stammen aus der Oktoberfermentation.



**Abb. 81: Fermentierte und gewaschene Kakaosamen von CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137, frisch und getrocknet**

Dargestellt sind fermentierte Kakaosamen von CATIE-R6 (oben), PMCT-58 (2.Reihe), ICS-95 (T1, 3.Reihe) und CC-137 (unten), im frisch gewaschenen Zustand (links) und nach der Trocknung (rechts). Abgebildete Proben stammen aus den Oktoberfermentationen.

In Kapitel 3.2.2.3.2 wurde die Vorgehensweise bei der Waschung fermentierter Kakaosamen beschrieben. Abb. 80 und 81 zeigen sowohl die frisch gewaschenen Samen als auch den abschließenden Rohkakao von jedem Genotyp. Das fermentierte Kakaomaterial von CATIE-R1 ist im frisch gewaschenen Zustand hellbraun, leicht gelblich gefärbt, das von CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58 hingegen dunkelbraun und die Kakaosamen von ICS-95 (T1) und CC-137 hell-bzw.

mittelbraun mit leichter Violett-Färbung. Bei den Genotypen CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 hat die Waschung zur Bildung sogenannter „White spots“ während der Trocknung geführt: zahlreiche Samen zeigen kristallisierte Methylxanthine (u.a. Theobromin) auf der Testa (Kapitel 3.2.3.3). Bei PMCT-58 und ICS-95 (T1) können diese nur teilweise beobachtet werden, CC-137 weist zwar keine „white spots“ auf, dafür aber Anzeichen von Schimmel auf der Schale einzelner Samen. Während der Rohkakao von CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58 hellbraun und matt erscheint, leuchten CATIE-R1 und ICS-95 (T1) rötlich. Der Rohkakao von CC-137 ist dunkelbraun-rot, die Samen sind größer als die der anderen untersuchten Genotypen. Diese Beobachtungen haben sich bei den Novemberfermentationen bestätigt.

#### 4.2.3. Allgemeine Beobachtungen

Bei allen durchgeführten monoklonalen Fermentationen wurden bei ICS-95 (T1) eine schnell einsetzende Hefeaktivität und ein rascher Temperaturanstieg beobachtet. Die Braunfärbung der Samen setzte bereits am 3. Fermentationstag ein (Abb.82). Im frischen Zustand wies das Samenmaterial signifikant weniger Pulpa als CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58 auf und während der Fermentationen erfolgte der Abbau der Pulpa fast vollständig. Bei PMCT-58 ging die Umwandlung der Pulpazucker in Alkohol langsam voran, bis zum Fermentationsende klebten große Mengen Pulparesten an der Testa und das Samenmaterial ging vergleichsweise feucht und heterogen fermentiert in die Trocknung. Bei CATIE-R6, PMCT-58 und CC-137 waren viele Kotyledonen nach Fermentationsende violett gefärbt, Bräunungsreaktionen setzten erst spät ein. Der groß-samige CC-137 zeigte am 3.Tag partielle Violett-Färbungen in der äußeren Samenschicht (Abb.82). Zwischen dem 5. und 6. Fermentationstag, d.h. nach der letzten Wendung, entwickelte sich stets ein unangenehmer Geruch („off-flavour“).



**Abb. 82: Optische und strukturelle Unterschiede zwischen Genotypen am 3. Fermentationstag**

3 Tage-fermentierte Kakaosamen von ICS-95 (T1) (links), PMCT-58 (Mitte) und CC-137 (rechts) im Vergleich. ICS-95(T1) zeigt zu diesem Zeitpunkt bereits Bräunungsreaktionen und weniger Pulparesten als PMCT-58. CC-137 weist partielle violette Färbungen in der äußeren Samenschicht auf.

### 4.3. Qualitätsbestimmende Analysen

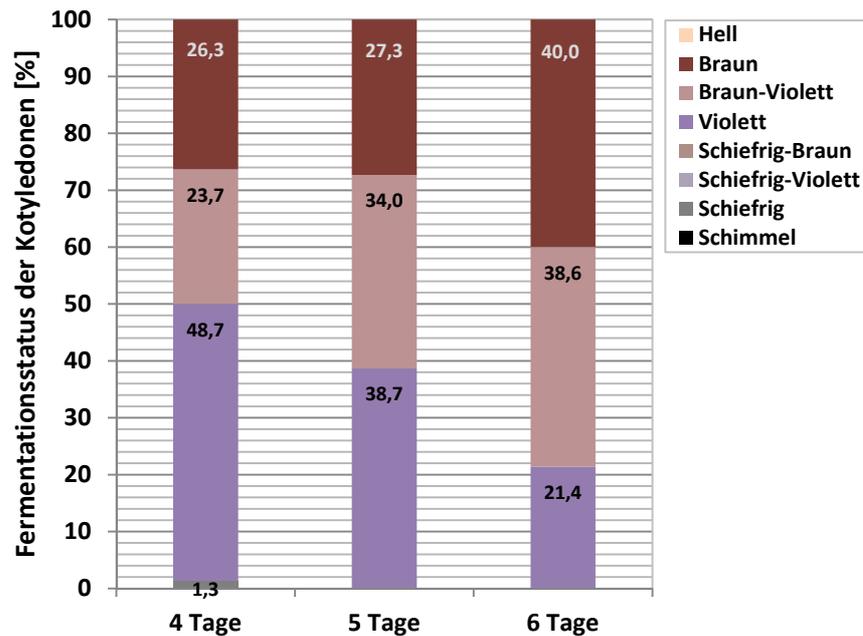
Da sich in Abhängigkeit von Jahreszeit und Genotyp teils signifikante Unterschiede bei den Qualitätsanalysen der Kakaoproben ergeben haben, werden die Ergebnisse im Folgenden aufgeteilt nach Fermentationszyklus und Kakaoklon vorgestellt. Zunächst werden die ausgewerteten Schnitttestergebnisse beschrieben (s. Kapitel 4.3.1.) und anschließend die ermittelten Daten der biochemischen Analysen gezeigt: Epicatechin und Catechin (s. Kapitel 4.3.2.), Freie Aminosäuren (s. Kapitel 4.3.3.), Organische Säuren (Essigsäure, Milchsäure, s. Kapitel 4.3.4.) und Reduzierende Zucker, im Fall der gewaschenen und ungewaschenen Kakaoproben (s. Kapitel 3.5.)

#### 4.3.1. Schnitttest

Bei den Frühjahrsfermentationen wurden am 4., 5. und 6. Fermentationstag Proben entnommen, in der Regenzeit bereits von Fermentationsbeginn an. Im Folgenden werden die Ergebnisse des in Kapitel 3.2.3.3. beschriebenen Schnitttests, zur Prüfung des Fermentationsgrades von Rohkakaosamen, nach Fermentationszyklen sortiert vorgestellt und die Ergebnisse der einzelnen Klone zusammenfassend beschrieben.

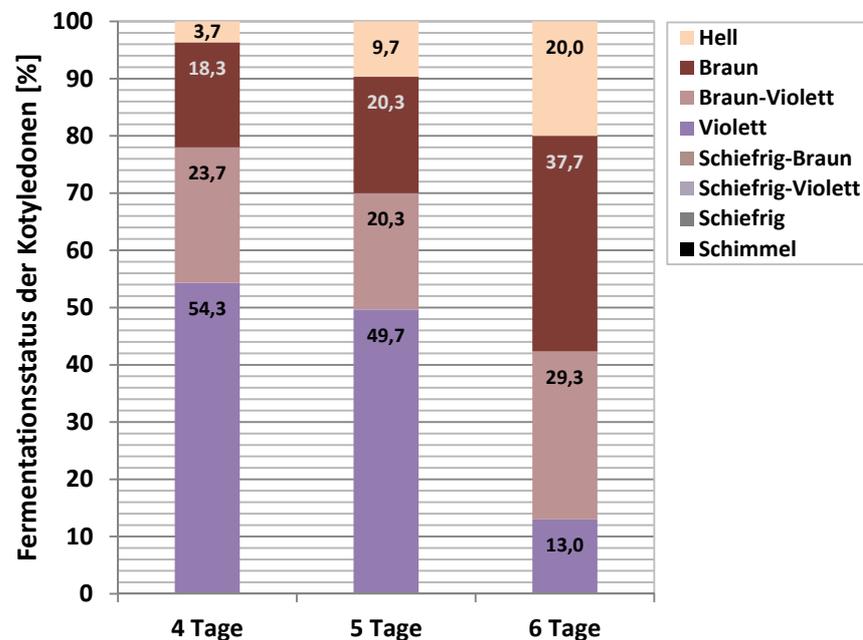
##### 4.3.1.1. Trockenzeit

Bei allen 6 Genotypen lässt sich mit zunehmender Fermentationsdauer eine Abnahme des Violett-Anteils und eine Zunahme des Braun-Anteils bei den Rohkakaosamen erkennen (Abb.83-88). ICS-95 (T1) zeigt zudem in allen untersuchten Proben hellbrechende Samen auf (Abb.84), CATIE-R4 (Abb.86) lediglich in den 4 Tage-Proben. PMCT-58 ist der einzige Kakaoklon, der am 4. Fermentationstag schiefrige Samen enthält (1,3 %), der Violett-Anteil liegt bei 48,7 % (Abb.83). Die anderen Genotypen enthalten zu diesem Zeitpunkt 52 % (CATIE-R6), 54,3 % (ICS-95 T1, CATIE-R4), 64 % (CC-137) und 69 % (CATIE-R1) violette Samen. Während bei CATIE-R1 am 4. Fermentationstag kaum gut fermentierte Samen gefunden werden können (2,5 %), steigt der Anteil zum 5. Tag signifikant (26,7 %) und der Anteil der violetten Samen nimmt deutlich ab (41,6 %) (Abb.85). Bei den anderen Kakaoklonen wirkt sich die Reduktion des Violett-Anteils zu diesem Zeitpunkt weniger auf den Anteil brauner Samen aus, als vielmehr auf den der braun-violetten Kotyledonen. Sie zeigen erst zum 6. Tag eine Zunahme der gut fermentierten Kakaosamen: PMCT-58 (40 %), ICS-95 T1 (57,7 %, hellbrechende und braune zusammengefasst), CATIE-R4 (32,3 %) und CATIE-R6 (42 %). CATIE-R1 (Abb.85) und CC-137 (Abb.88) weisen mit 27,9 % bzw. 28,5 % den geringsten Anteil brauner Kotyledonen in den 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben auf. Der abschließende Anteil violetter Samen ist bei ICS-95 (T1) (Abb.84) und CATIE-R6 (Abb.87) mit 13 % bzw. 15,7 % am geringsten. Die Rohkakaoproben von PMCT-58, CATIE-R1, CATIE-R4 und CC-137 enthalten mit 21,4 %, 32,7 %, 34,3 % bzw. 28,5 % auch nach 6 Tagen Fermentation verhältnismäßig viele, unzureichend fermentierte Rohkakaosamen.



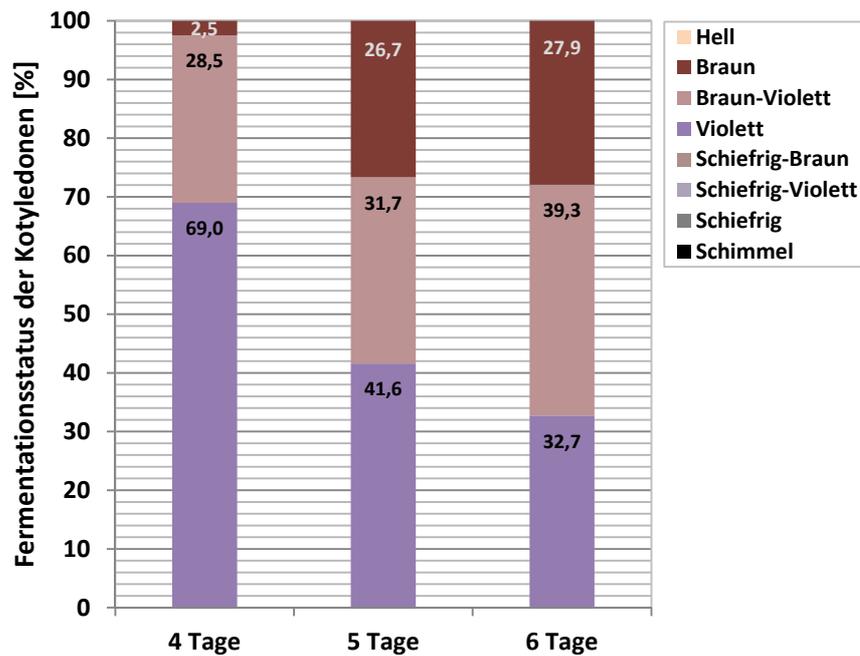
**Abb. 83: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von PMCT-58 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefbrig-brauner, schiefbrig-violetter, schiefbriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben des Genotyps PMCT-58. n =100



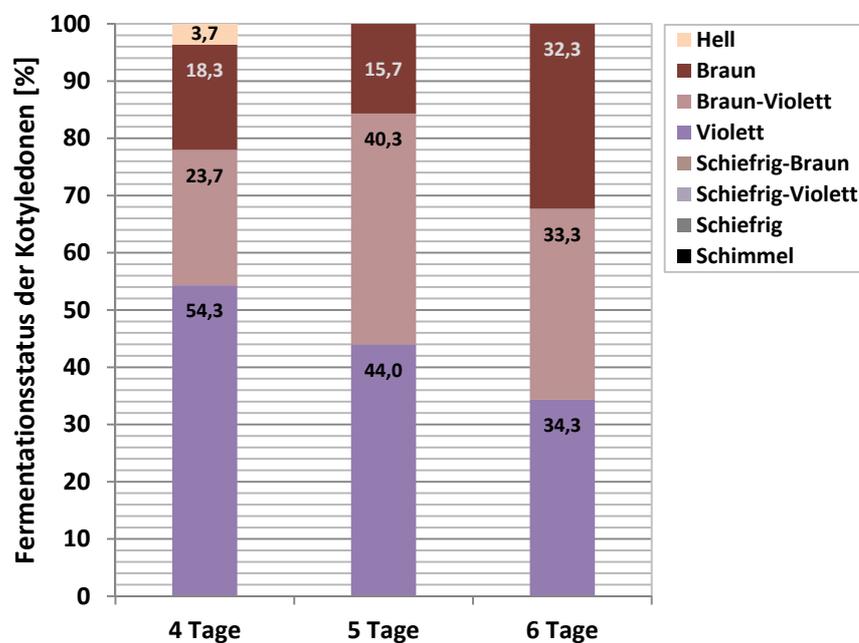
**Abb. 84: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von ICS-95 (T1) während der Trockenzeit**

Dargestellt sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefbrig-brauner, schiefbrig-violetter, schiefbriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben des Genotyps ICS-95 (T1). n =100



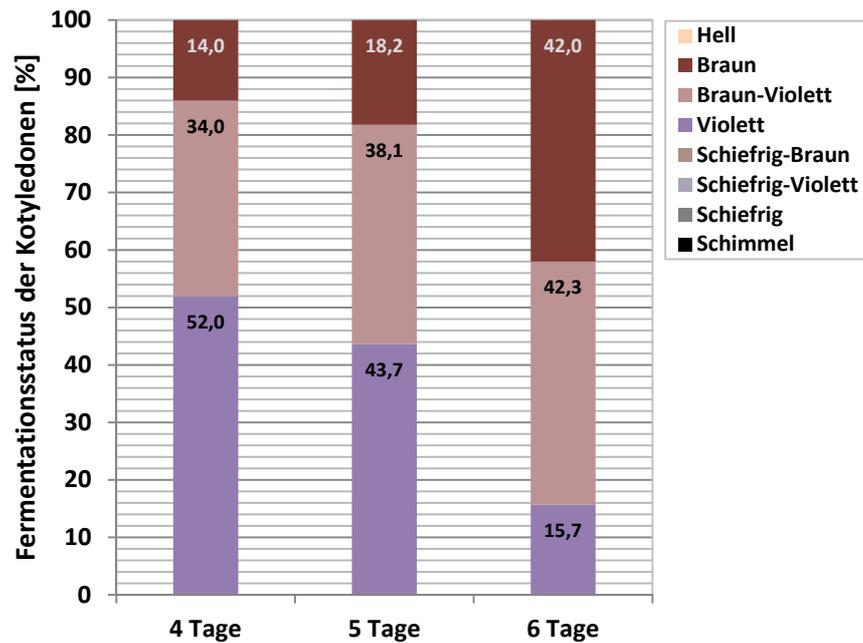
**Abb. 85: Schnittest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R1 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben des Genotyps CATIE-R1. n =100



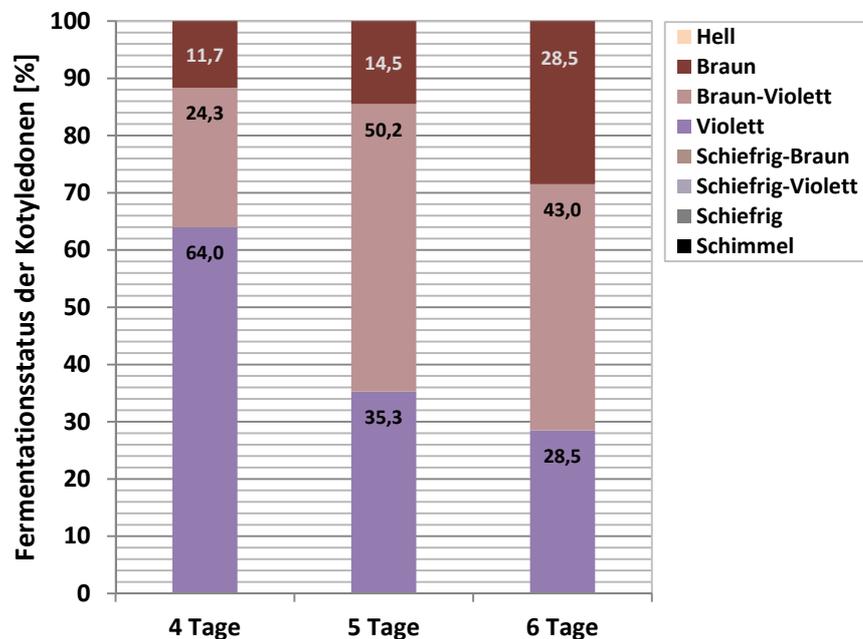
**Abb. 86: Schnittest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R4 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben des Genotyps CATIE-R4. n =100



**Abb. 87: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R6 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben des Genotyps CATIE-R6. n =100



**Abb. 88: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CC-137 während der Trockenzeit**

Dargestellt sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Rohkakaoproben des Genotyps CC-137. n =100

#### 4.3.1.2. Regenzeit

##### 4.3.1.2.1. 1. *Fermentationszyklus*

Die Schnitttestergebnisse der 1. Fermentationsreihe der Regenzeit (Oktober) (Abb. 89-94), zeigen die Veränderung der Kotyledonen-Färbung und -Beschaffenheit von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 mit zunehmender Fermentationsdauer auf. Neben Unterschieden zwischen den Genotypen, wird auch ein Effekt der Kakaowaschung sichtbar: bei ungewaschenen Kakaosamen beträgt der abschließende Violett-Anteil 12,5 % (PMCT-58) bis 49,7 % (CC-137) und bei gewaschenem Material lediglich 4 % (ICS-95 T1) bis 32 % (CC-137).

Je nach Klon, setzen die fermentativen Prozesse zu verschiedenen Zeitpunkten ein. Im frischen Zustand und während der ersten 24 h der Fermentation, ist der überwiegende Anteil der Kakaosamen schiefrig (PMCT-58), teils schiefrig-violett (CATIE-R1, CATIE-R4, CC-137). Nur ICS-95 (T1) (Abb. 90) und CATIE-R6 (Abb.93) zeigen bereits ab dem 1. Tag keine rein schiefrigen Samen mehr, sondern 78 % (ICS-95 (T1)) bzw. 89 % (CATIE-R6) schiefrig-violette und schiefrig-braune Kotyledonen und damit erste Anzeichen von fermentativen Reaktionen. Der Rohkakao von ICS-95 (T1) enthält zudem 22 % hellbrechende Kotyledonen. Bei den Klonen CATIE-R1 (Abb.91) und CATIE-R4 (Abb.92) sind die Entwicklungen untereinander sehr ähnlich: während der ersten 24 h der Fermentation, sind die Kotyledonen schiefrig und schiefrig-violett gefärbt, ab dem 2. Tag reduziert sich der Anteil der schiefrig-violetten Samen zugunsten der braunen Kotyledonen (11 bzw. 22 %) und ab dem 3.Tag zeigen alle Samen typische Fermentationsfärbungen mit 56 % bzw. 44 % violetten, 33 % bzw. 22 % braun-violetten und 11 % bzw. 33 % braunen Kotyledonen. Zwischen Tag 4 und Fermentationsende, steigt der Anteil brauner Kakaosamen kontinuierlich an und erreicht bei CATIE-R1 für ungewaschene und gewaschene Samen 50 % bzw. 55 % (Abb.91) und bei CATIE-R4 36 % bzw. 40 % (Abb.92). Der Genotyp CATIE-R6 zeigt nach den ersten 48 h nach Fermentationsbeginn bereits 50 % violette, braun-violette und braune Kotyledonen (Abb.93). Nach weiteren 24 h, liegen keine schiefrigen oder violett-/braun-schiefrigen Samen mehr vor. Zwischen dem 4. und 6. Fermentationstag sinkt der Anteil violetter Samen von 70 % auf 28 % bzw. 15,6 %. PMCT-58 (Abb.89) weist zunächst ausschließlich schiefrige Samen auf, ab dem 3. Fermentationstag erscheinen dann alle Kotyledonen violett (33 %) bzw. braun-violett (67 %) und ab dem 4. Tag kann ein Braun-Anteil von 44 % beobachtet werden, welcher sich bis zum Fermentationsende auf 58 % (ungewaschen) bzw. 72 % (gewaschen) erhöht. Bei ICS-95 (T1) sind zwischen dem 3. und 4.Tag keine Unterschiede im Fermentationsstatus der Kotyledonen erkennbar; bis zum Fermentationsende sinkt der Violett-Anteil bei den ungewaschenen Proben auf 23 % und bei den Gewaschenen auf 4 %. CC-137 zeigt nach 6 Tagen Fermentation mit fast 50 % einen sehr hohen Violett-Anteil im Vergleich zu den anderen Klonen. Die Waschung reduziert den Anteil unzureichend fermentierter Samen um 17,7 %, auf 32 %.

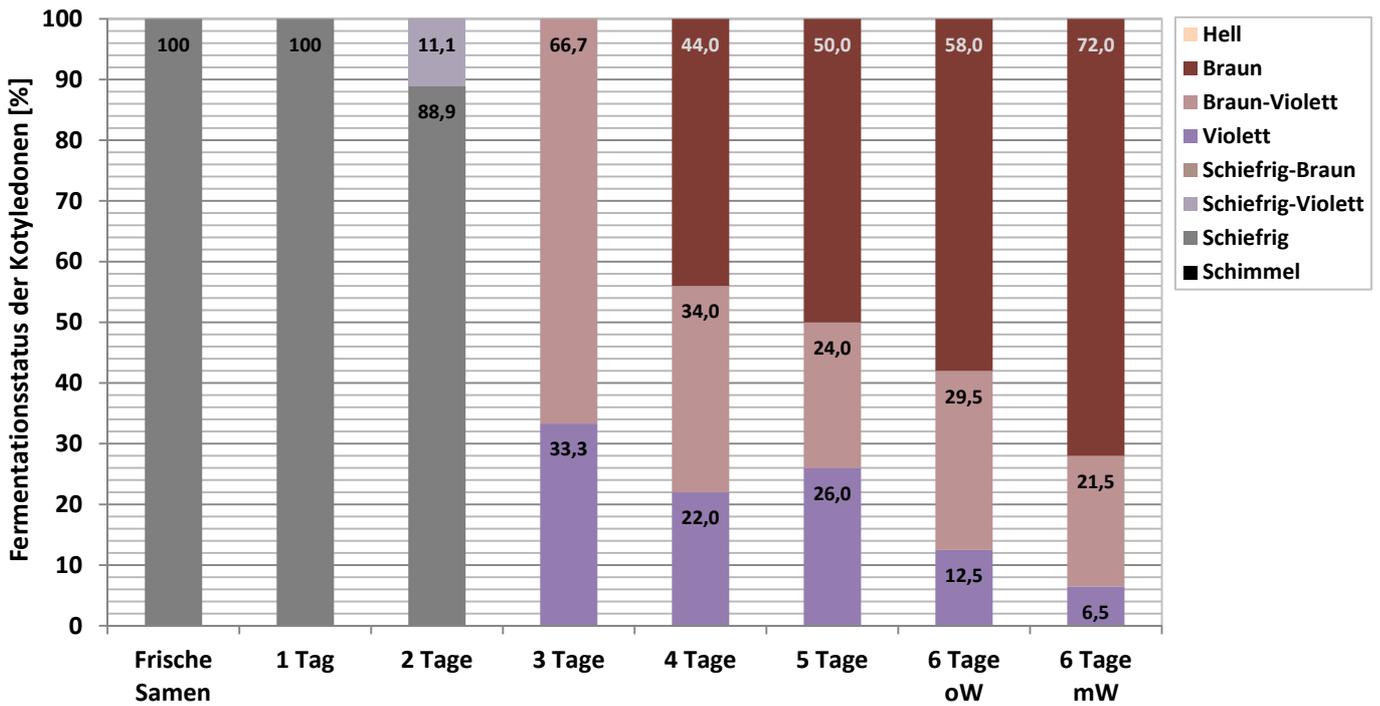


Abb. 89: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von PMCT-58 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps PMCT-58. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n =10-150.

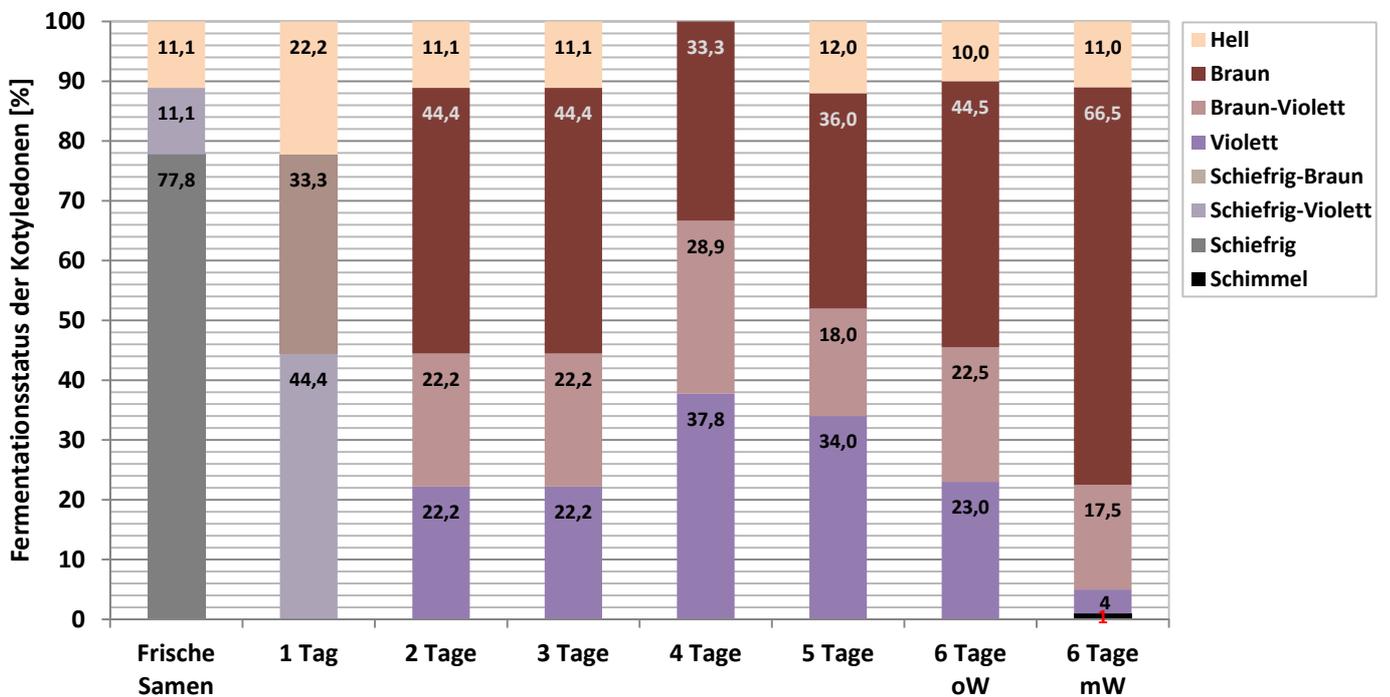


Abb. 90: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von ICS-95 (T1) während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps ICS-95 (T1). oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n =10-150.

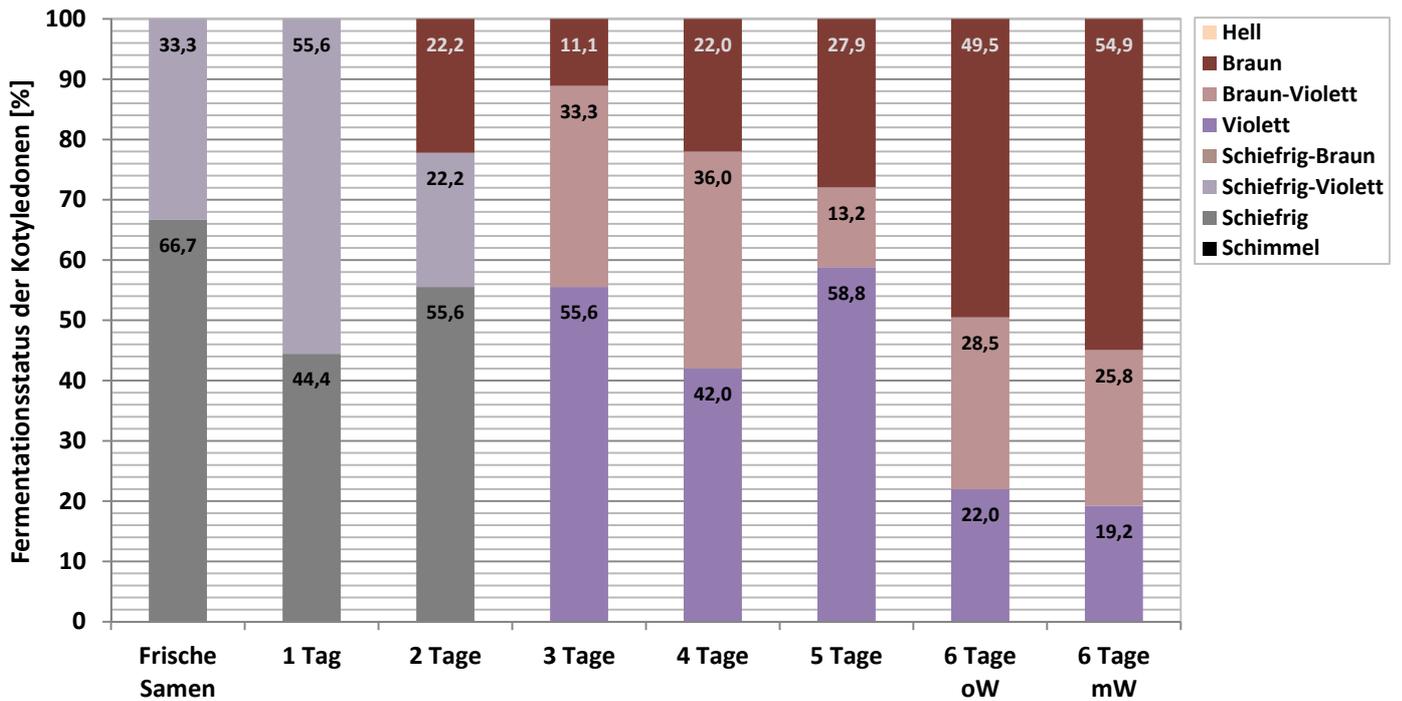


Abb. 91: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R1 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CATIE-R1. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n=10-150.

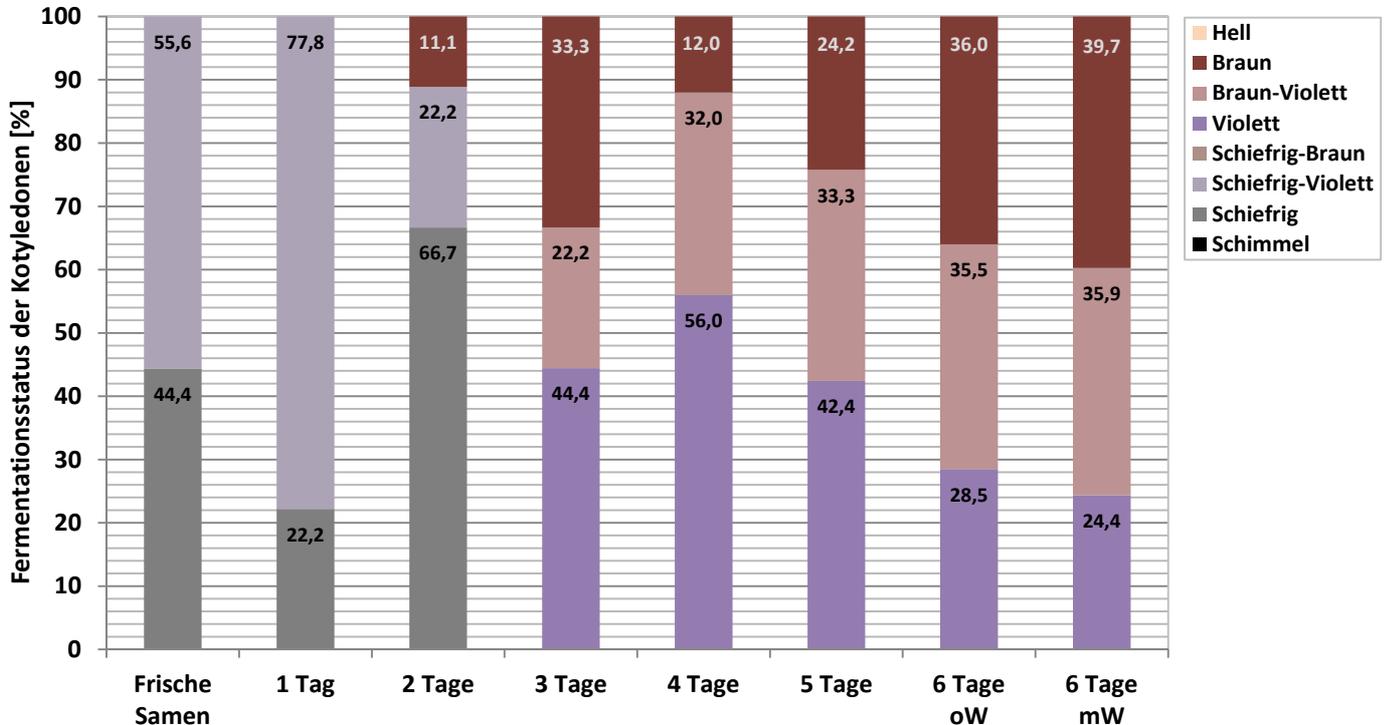


Abb. 92: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R4 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CATIE-R4. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n=10-150.

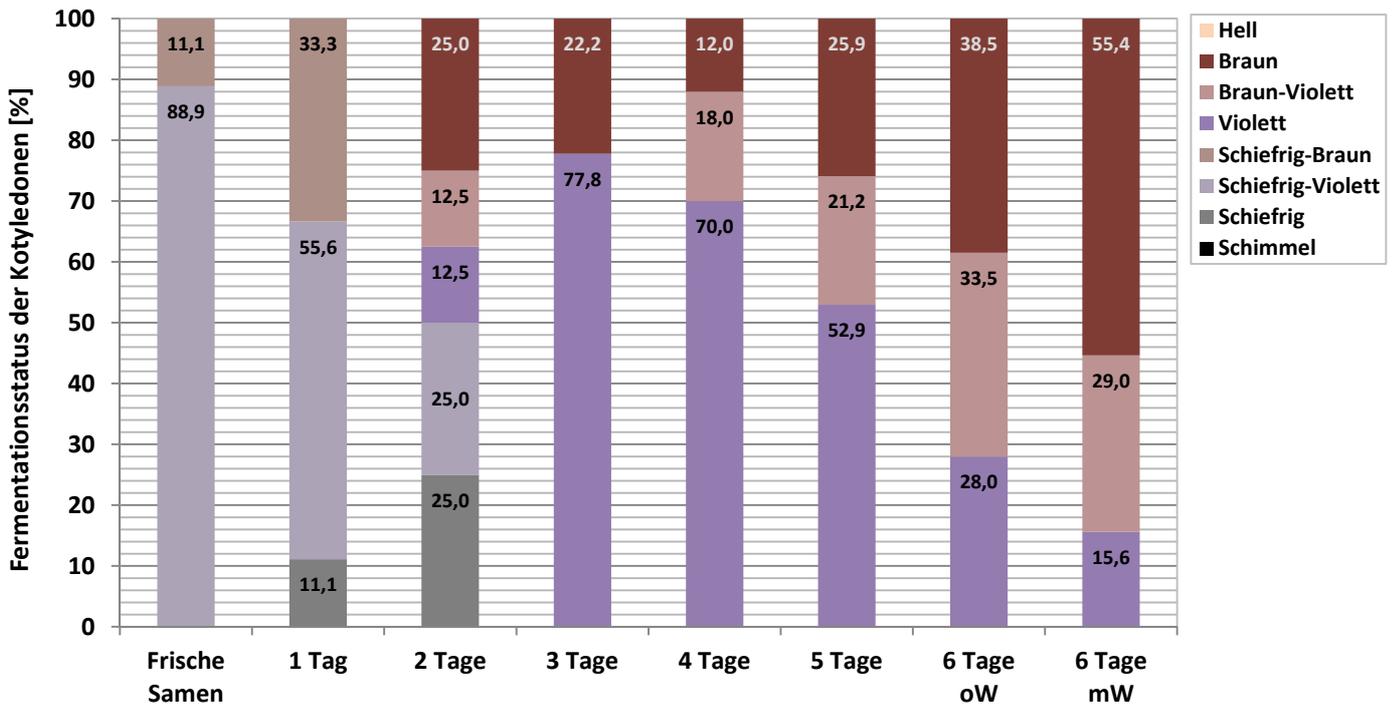


Abb. 93: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R6 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefbrig-brauner, schiefbrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CATIE-R6. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n=10-150.

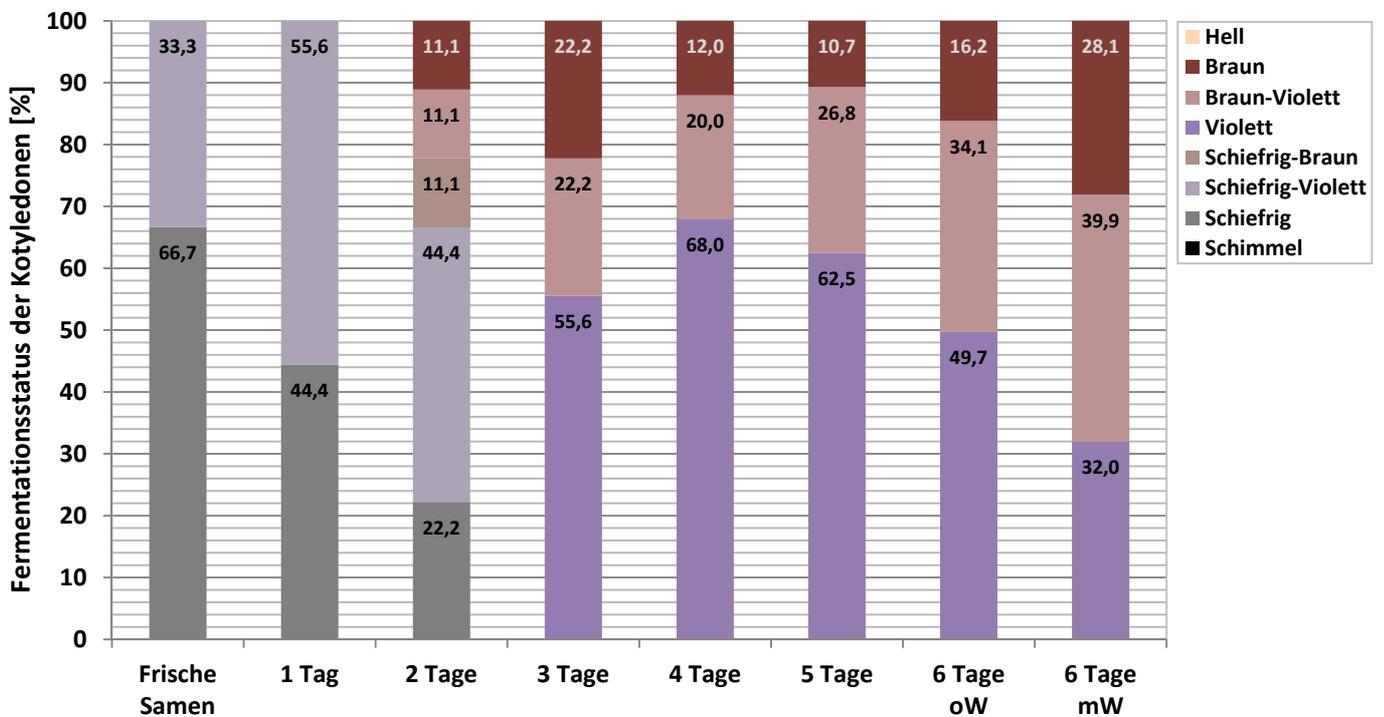


Abb. 94: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CC-137 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefbrig-brauner, schiefbrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CC-137. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n=10-150.

#### 4.3.1.2.2. 2. Fermentationszyklus

Wie bereits in Kapitel 4.3.1.2.2. beobachtet, zeigen auch die Schnitttestergebnisse der Novemberproben optische und strukturelle Veränderungen der Kotyledonen mit fortgeschrittener Fermentationsdauer (Abb. 95 bis 100). Des Weiteren kann eine Reduzierung des Violett-Anteils im Rohkakao durch Waschung bestätigt werden. Vermehrte Bräunungsreaktionen in gewaschenem Kakao sind offenbar abhängig von dem jeweiligen Genotyp: bei PMCT-58 (Abb.95) sinkt der Violett-Anteil von 16 % in ungewaschenen Samen auf 5,9 % in gewaschenen Proben, bei ICS-95 (T1) (Abb.96) von 26 % auf 13 %, bei CATIE-R1 (Abb.97) von 22 % auf 7,5 % und bei CATIE-R4 (Abb.98) von 28 % auf 8,4 %. CATIE-R6 (Abb.99) zeigt lediglich einen minimalen Unterschied im Violett-Anteil (28 % bzw. 26,7 %), dafür aber eine Reduzierung der Braun-Violetten Kotyledonen zugunsten der Braunen, mit einem Anteil von 42 % bei den ungewaschenen und 51,3 % bei den gewaschenen Samen. Bei PMCT-58, CATIE-R1, CATIE-R6 und CC-137 (Abb.100) hat die Waschung in manchen Samen zu Schimmelbildung geführt, der Anteil liegt zwischen 0,5 % und 1 %.

Im Vergleich zum 1.Zyklus, ist der Anteil schiefriger Samen in den frischen Kakaoproben insgesamt deutlich vermindert, bei allen Genotypen sind hier bereits erste Violett-Färbungen erkennbar. PMCT-58 (Abb.95) und ICS-95 (T1) (Abb.96) weisen nach den ersten 24 h 33 % braune bzw. hellbrechende Samen auf. Bis zum Fermentationsende, erhöht sich der Anteil auf 60 % bzw. 44 % im ungewaschenen- und 68,6 % bzw. 65 % im gewaschenen Zustand. Braun-violette Kotyledonen machen einen Anteil von 22-30 % aus. Bei CATIE-R1 (Abb.97) und CATIE-R4 (Abb.98) setzen fermentative Prozesse früher ein als im 1. Zyklus der Regenzeit (Abb. 91 und 92). Bereits nach 48h sind bei CATIE-R1 mehr als die Hälfte der Kotyledonen braun gefärbt und ab dem 3.Tag sind bei beiden Genotypen alle Samen violett, braun-violett oder braun. Der Anteil violetter Samen schwankt bis zum Fermentationsende zwischen 18 % bzw. 30 % am 4.Tag, 34 % bzw. 36 % am 5.Tag und 22 % bzw. 28 % nach Fermentationsende; im Fall der gewaschenen Proben beträgt der Violett-Anteil lediglich 7,5 % bei CATIE-R1 und 8,4 % bei CATIE-R4.

Im Vergleich zu den anderen Genotypen, weist der Kakaoklon CC-137 auch im November sehr hohe Violett-Anteile auf. Letztere schwanken zwischen dem 3. und 6. Tag fast kontinuierlich um 56 %, in den Proben des 5.Tages sind sogar 68 % der Schnittflächen violett (Abb.100).

Bei PCMT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 finden hingegen entscheidende Bräunungsprozesse zwischen dem 5. und 6. Tag statt: jeder Klon zeigt während der letzten 24 Fermentationsstunden einen deutlichen Anstieg des Braunanteils bzw. eine Abnahme der violetten Kotyledonen.

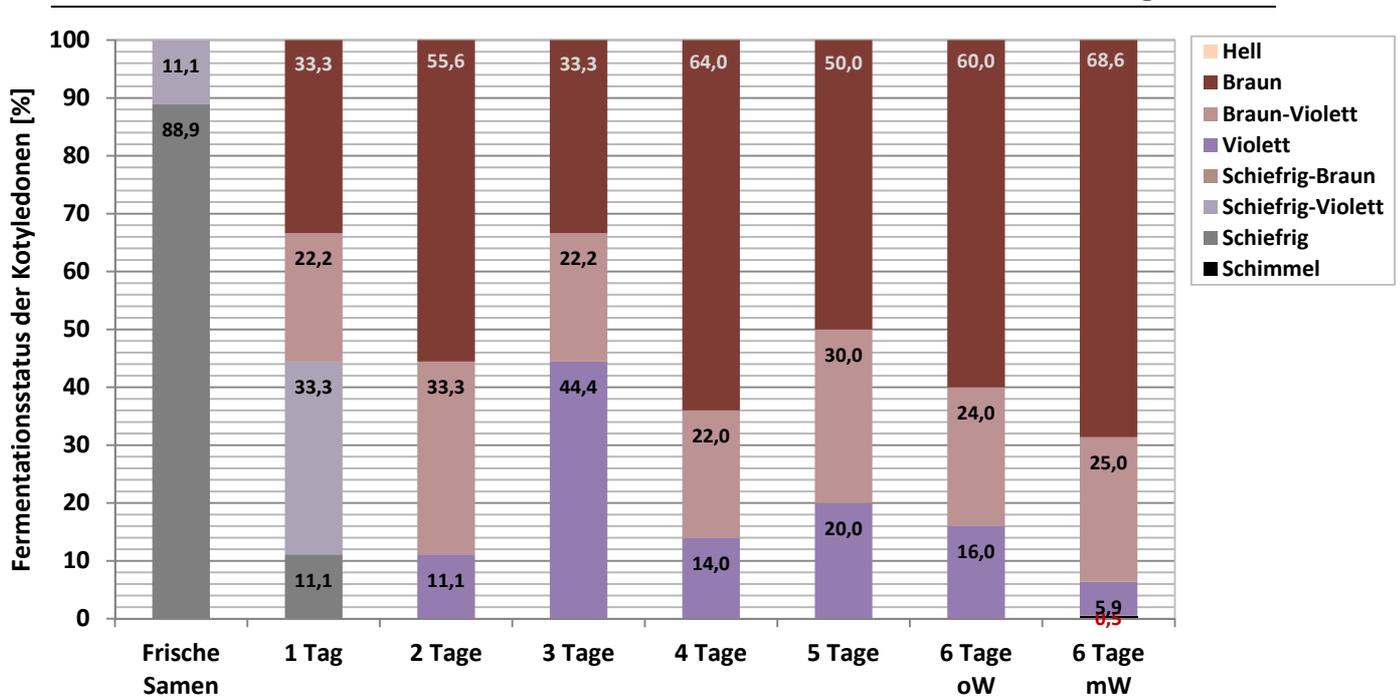


Abb. 95: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von PMCT-58 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps PMCT-58. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n =10-150.

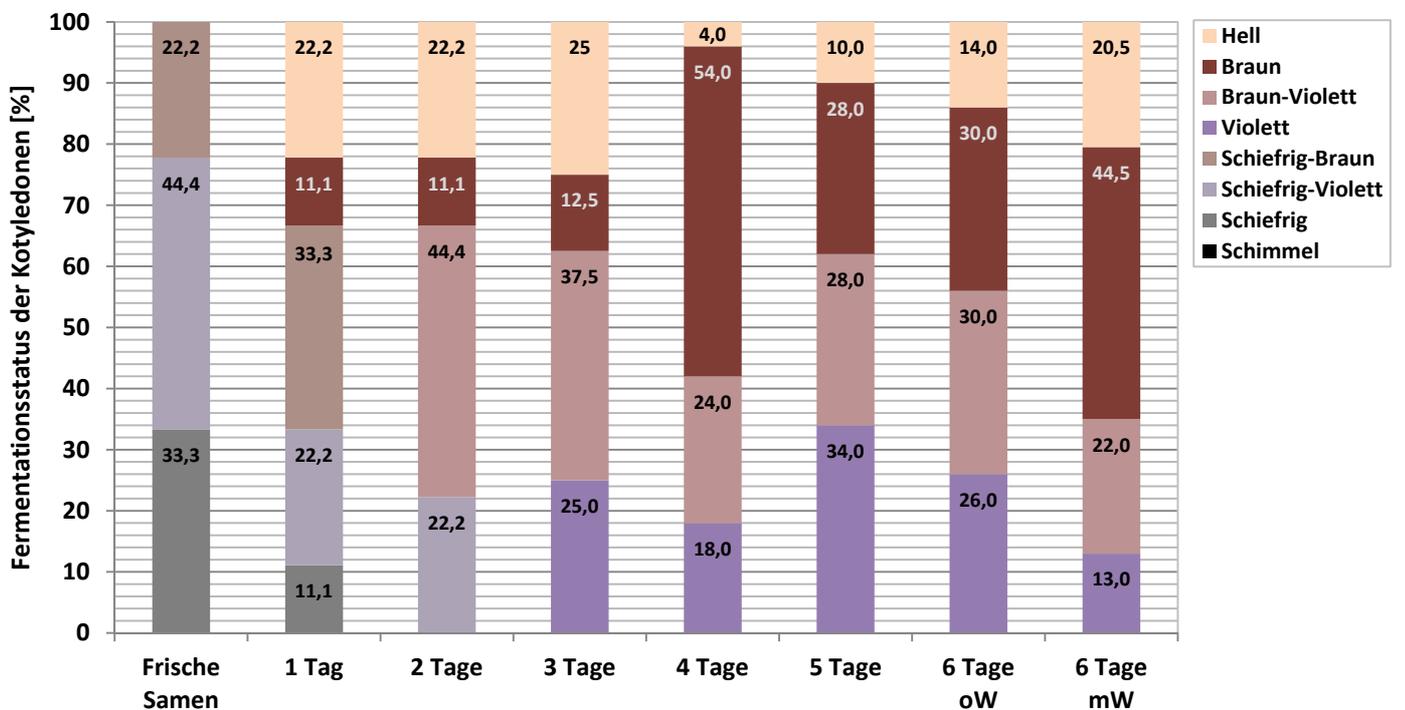


Abb. 96: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von ICS-95 (T1) während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps ICS-95 (T1). oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n =10-150.

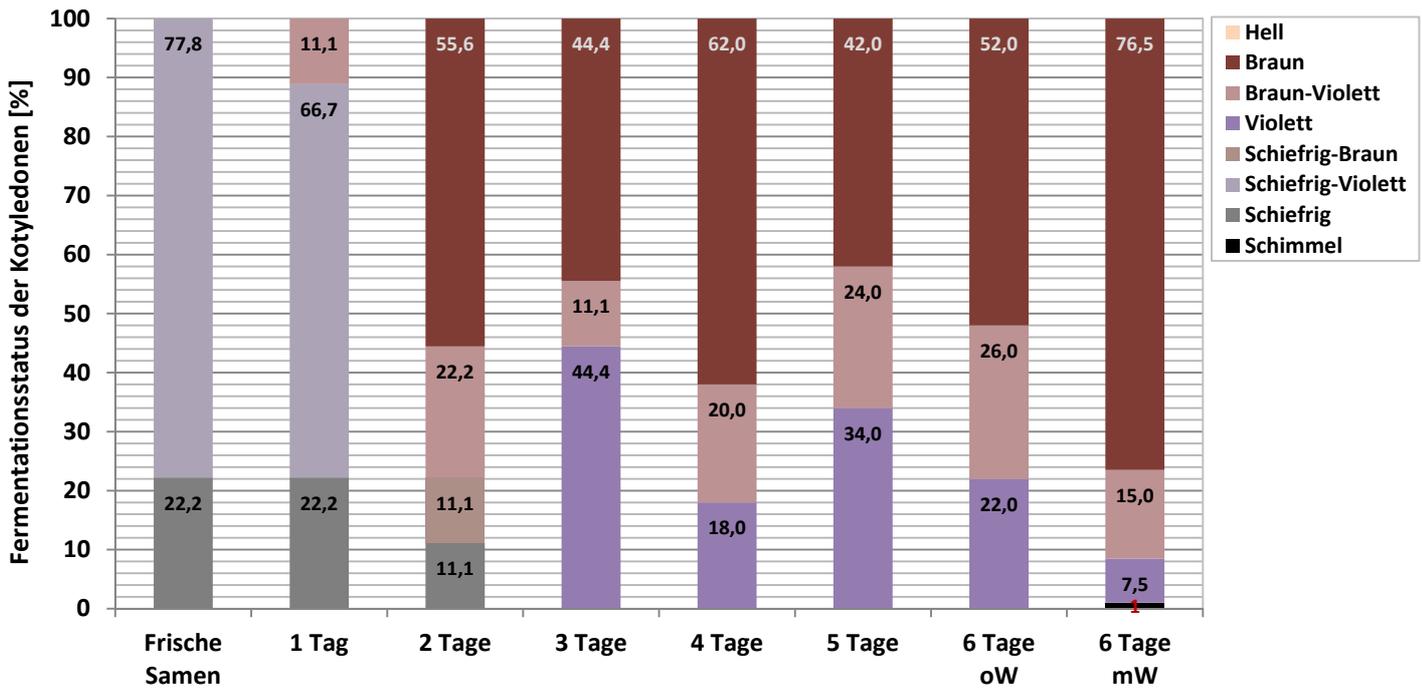


Abb. 97: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R1 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CATIE-R1. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n=10-150.

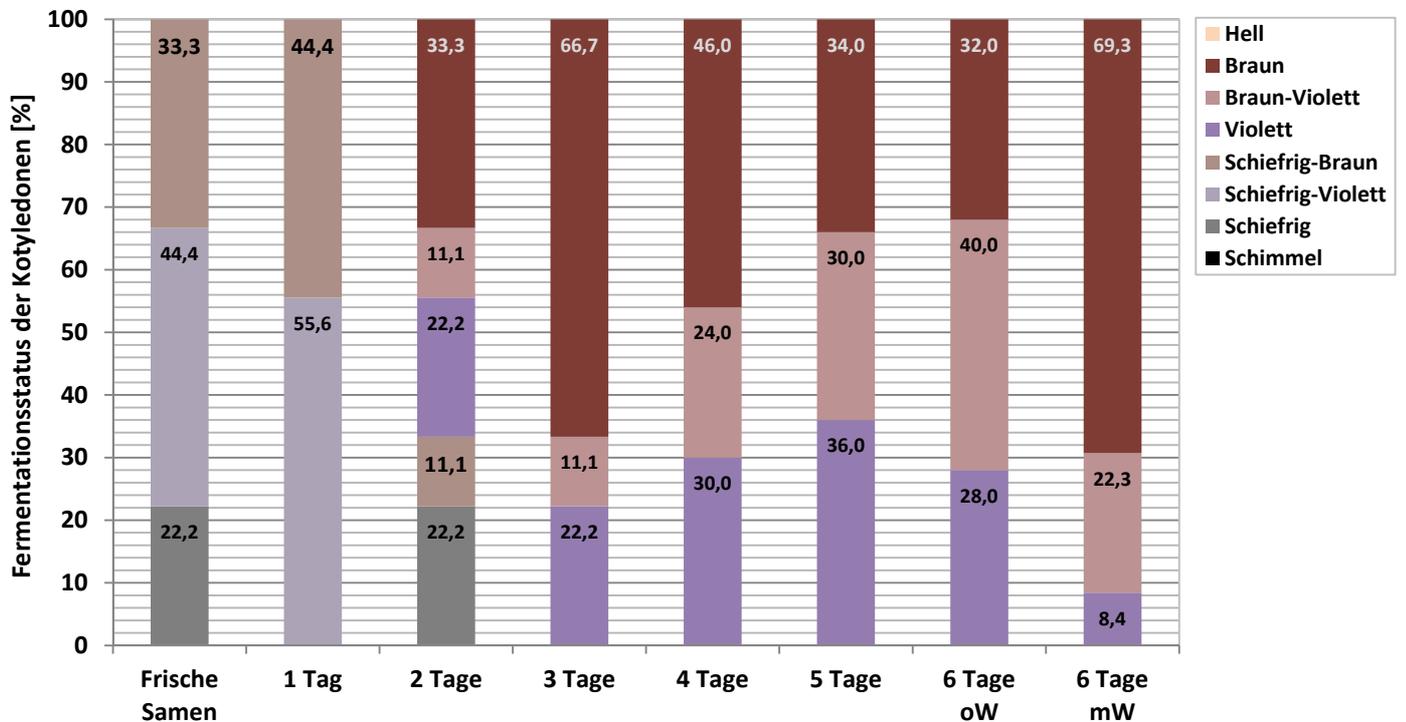


Abb. 98: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R4 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CATIE-R4. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n=10-150.

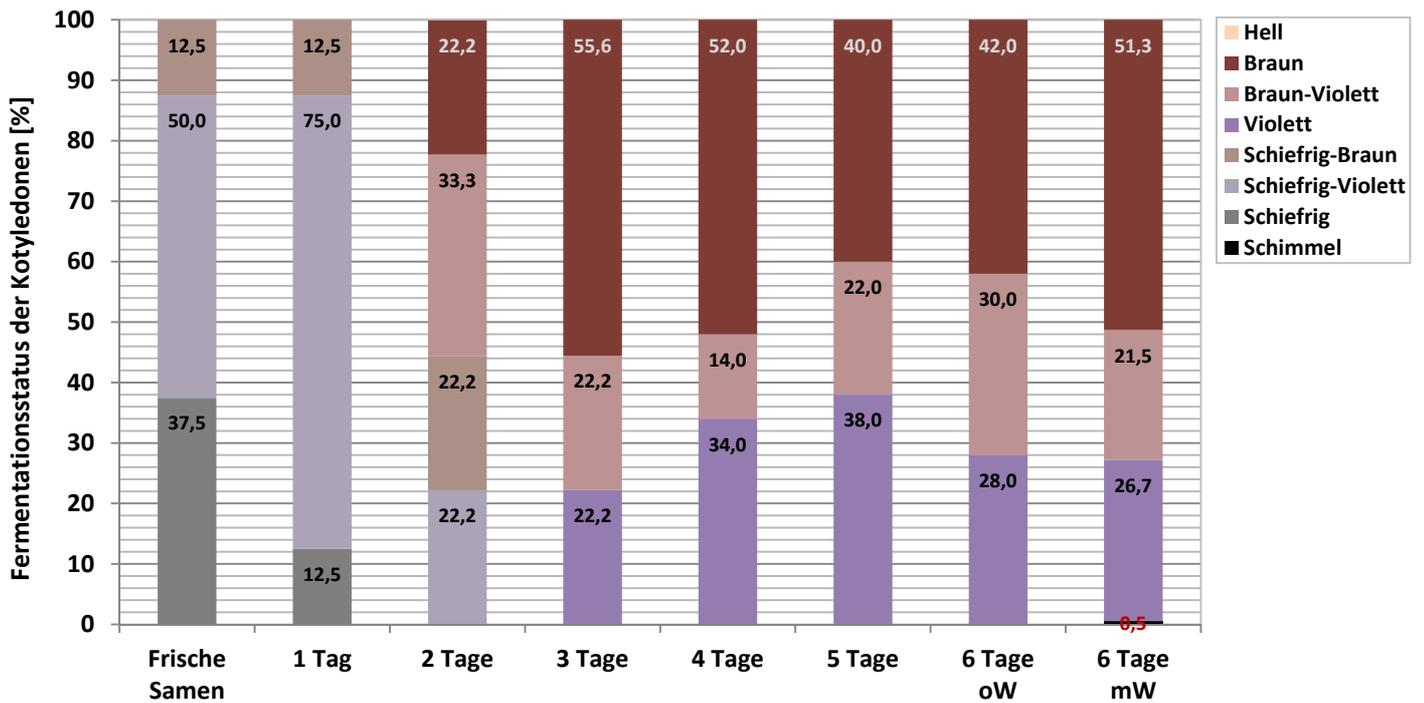


Abb. 99: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R6 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CATIE-R6. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n =10-150.

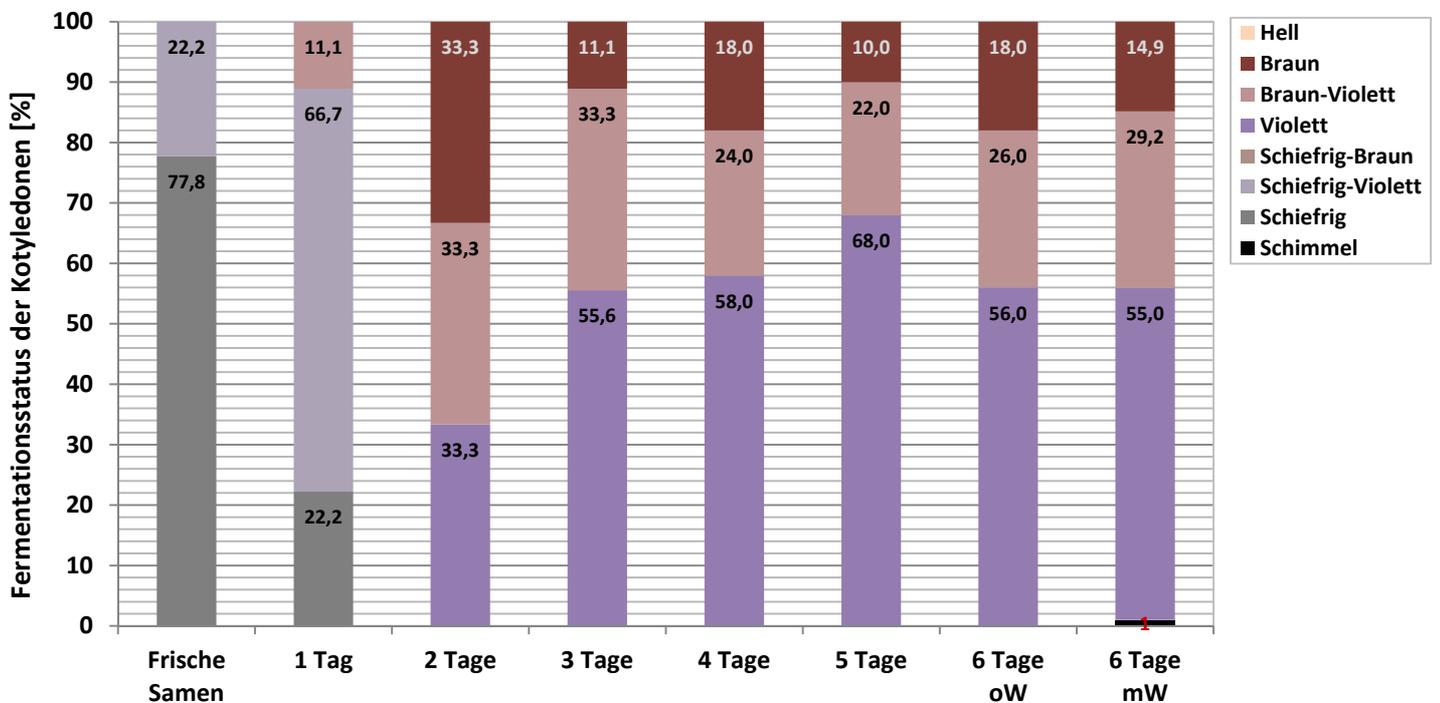
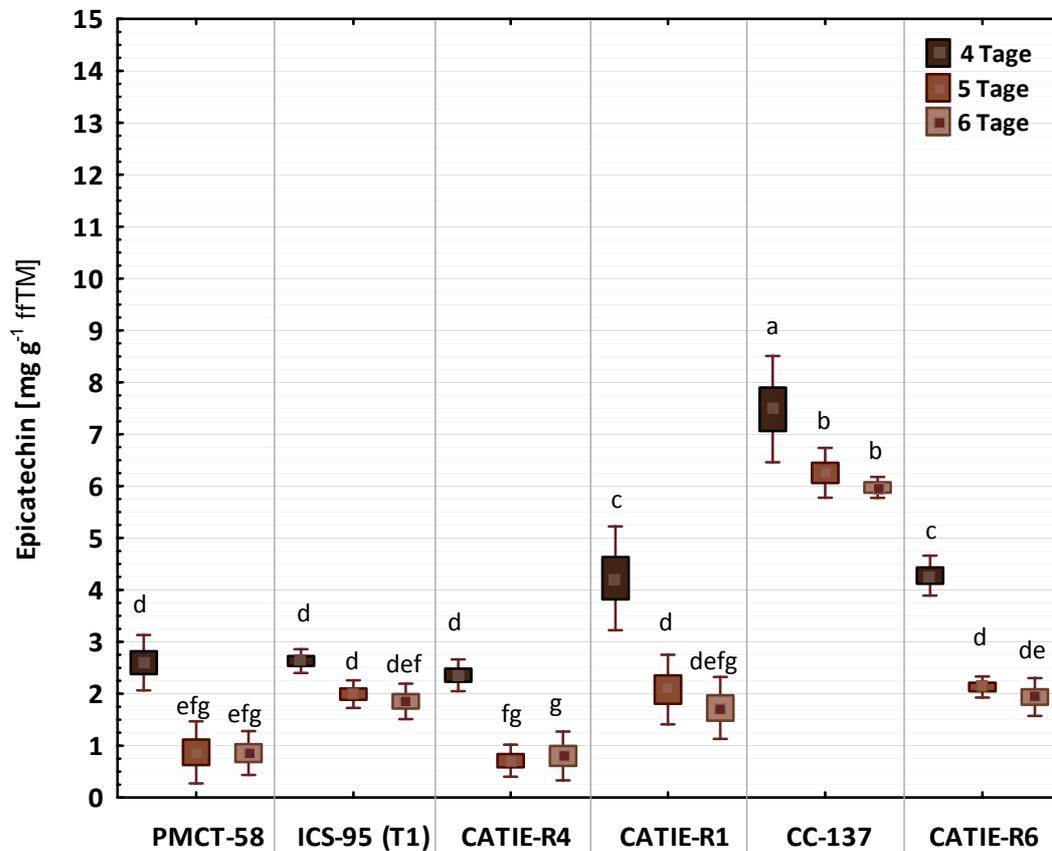


Abb. 100: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CC-137 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November)

Abgebildet sind die Anteile hellbrechender, brauner, braun-violetter, violetter, schiefrig-brauner, schiefrig-violetter, schiefriger und schimmeliger Kakaokotyledonen [%] in frischen sowie 1- bis 6 Tage-fermentierten Kakaoproben des Genotyps CC-137. oW= ohne Waschung, mW= mit Waschung. n =10-150.

### 4.3.2. Epicatechin und Catechin

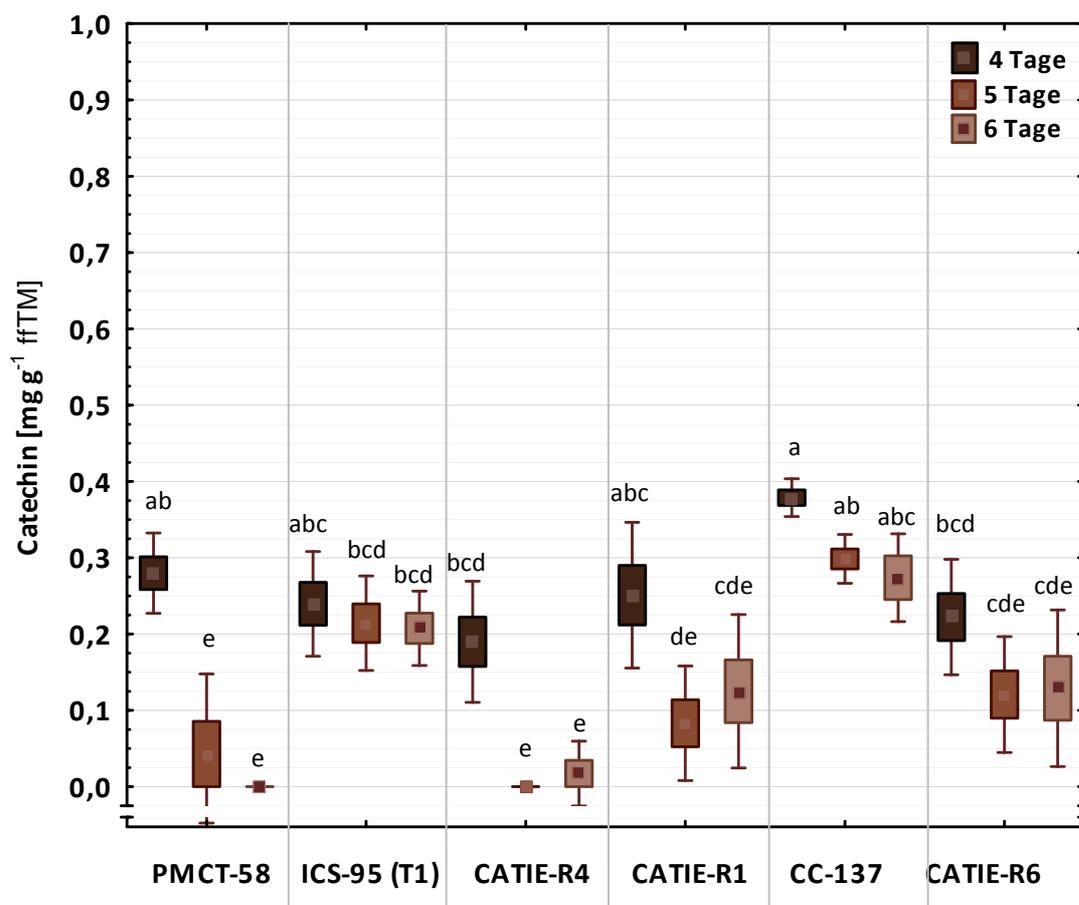
#### 4.3.2.1. Trockenzeit



**Abb. 101: Epicatechin [ $\text{mg g}^{-1}$  fTM] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaosamen der 6 Klone**  
 Dargestellt sind die analysierten Gehalte des Flavonoids Epicatechin (in  $\text{mg g}^{-1}$  fTM), in unterschiedlich lang fermentierten Kakaoproben der Klone PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R4, CATIE-R1, CC-137 und CATIE-R6 während der Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,006$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Dunkelbraune Box: 4 Tage fermentiert. Mittelbraune Box: 5 Tage fermentiert. Hellbraune Box: 6 Tage fermentiert. Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und der Fermentationsdauer sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $F(10, 88) = 2,7026$ .

Bei den 6 Genotypen schwanken die durchschnittlichen Epicatechingehalte zwischen  $1,2\text{--}6,6 \text{ mg g}^{-1}$  fTM. Eine Varianzanalyse (ANOVA) und anschließender *post-hoc* Tukey HSD Test haben zudem einen signifikanten Einfluss der Fermentationsdauer ergeben. Bei allen Kakaoklonen kann eine Abnahme des Epicatechingehalts zwischen dem 4. und 6. Fermentationstag beobachtet werden (Abb. 101). Dabei ist der größte Unterschied vom 4. auf den 5. Tag erkennbar; im Mittel sinkt der Epicatechingehalt hier um mehr als 50 %. Während der letzten 24 h werden lediglich bei CATIE-R1, CC-137 und CATIE-R6 abnehmende Tendenzen sichtbar, diese sind jedoch statistisch nicht signifikant. In Abhängigkeit von dem Genotyp, sind die analysierten Konzentrationen der phenolischen Substanz unterschiedlich hoch. PMCT-58, ICS-95 (T1) und CATIE-R4 weisen am 4. Tag durchschnittlich zwischen  $2,4$  und  $2,6 \text{ mg g}^{-1}$  fTM auf, CATIE-R1 und CATIE-R6 enthalten mit  $4,2$  bzw.  $4,3 \text{ mg g}^{-1}$  fTM signifikant

mehr Epicatechin. Der Klon CC-137 zeigt bei der Fermentation mit durchschnittlich  $7,5 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$  den größten Epicatechingehalt der 6 Genotypen nach 4 Tagen. Obschon der Gehalt bis zum Fermentationsende abnimmt, weist CC-137 noch am 6.Tag am meisten Epicatechin von den Kakaoklonen auf (ca.  $6 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ ). Bei ICS-95 (T1) sind die Unterschiede zwischen den 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaosamen mit durchschnittlich 2,6, 2,0 bzw.  $1,9 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$  nicht signifikant. Am wenigsten Epicatechin wurde mit 0,71 bzw.  $0,86 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$  in CATIE-R4 und PMCT-58 am 5. bzw. 6. Fermentationstag gefunden. Die Kakaosamen von CATIE-R6 und CATIE-R1 enthalten nach Fermentationsende  $1,94 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$  bzw.  $1,73 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$  Epicatechin.



**Abb. 102: Catechin [ $\text{mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ ] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaosamen der 6 Klone**

Dargestellt sind die analysierten Konzentrationen von Catechin (in  $\text{mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ ), in unterschiedlich lang fermentierten Kakaoproben der Klone PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R4, CATIE-R1, CC-137 und CATIE-R6 während der Trockenzeit in Costa Rica. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,003$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Skalenunterbrechung bei  $-0,3$  bis  $-0,125$ . Dunkelbraune Box: 4 Tage fermentiert. Mittelbraune Box: 5 Tage fermentiert. Hellbraune Box: 6 Tage fermentiert. Signifikante Unterschiede zwischen den Klone und der Fermentationsdauer sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $F(10, 88) = 3,0003$ .

Neben Epicatechin, sind auch Spuren von Catechin vorhanden (Abb.102). In Abhängigkeit von dem Genotyp und der Fermentationsdauer, schwanken die detektierten Gehalte signifikant zwischen  $0,02$  und  $0,38 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$ . In den 4 Tage-fermentierten Kakaosamen ist am meisten Catechin enthalten, mit dem größten durchschnittlichen Gehalt von  $0,38 \text{ mg g}^{-1} \text{ ffTM}$  bei CC-137, gefolgt von

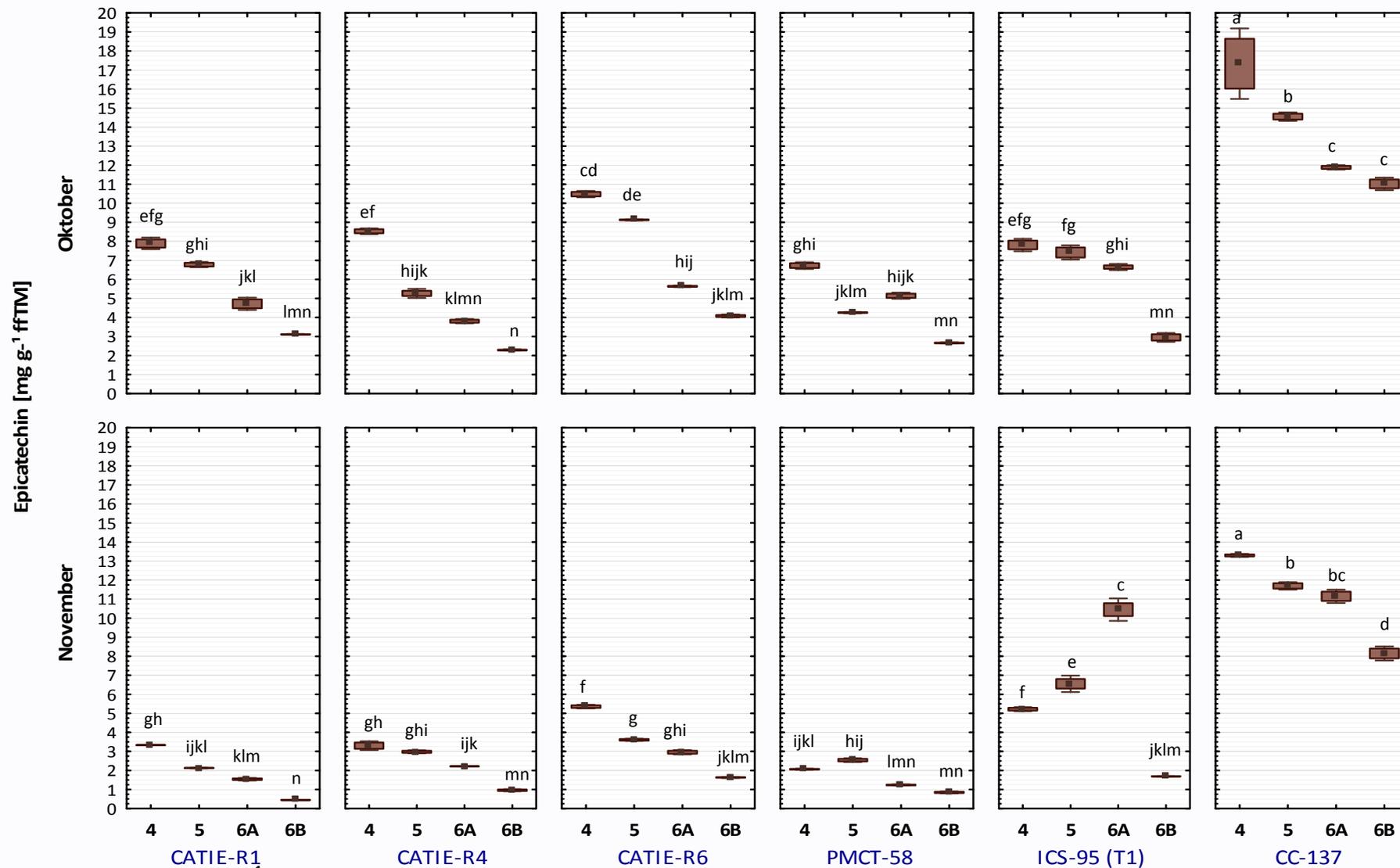
PMCT-58 (0,28 mg g<sup>-1</sup> ffTM), CATIE-R1 (0,25 mg g<sup>-1</sup> ffTM), ICS-95 (T1) (0,24 mg g<sup>-1</sup> ffTM), CATIE-R6 (0,22 mg g<sup>-1</sup> ffTM) und CATIE-R4 (0,19 mg g<sup>-1</sup> ffTM). Alle Genotypen zeigen eine Reduzierung des Catechingehalts mit zunehmender Fermentationsdauer, statistisch signifikant ist diese jedoch lediglich bei PMCT-58 und CATIE-R4. Letztere weisen in den 5- und 6 Tage-Proben weniger als 0,1 mg g<sup>-1</sup> ffTM auf bzw. bei PMCT-58 kann nach Fermentationsende kein Catechin mehr detektiert werden. Die Kakaoklone CC-137, ICS-95 (T1) und CATIE-R6 enthalten in den 6 Tage-fermentierten Kakaosamen noch durchschnittlich 0,27, 0,21 bzw. 0,13 mg Catechin g<sup>-1</sup> ffTM.

#### 4.3.2.2. Regenzeit

Die Kakaoproben der Regenzeit (Abb.103) enthalten signifikant größere Gehalte Epicatechin als die Proben der Trockenzeit. Der durchschnittliche Epicatechingehalt schwankt in den Oktoberproben je nach Klon und Fermentationsdauer zwischen 2,3 und 17,3 mg g<sup>-1</sup> ffTM und im Novemberkakaosamen zwischen 0,4 und 13,3 mg g<sup>-1</sup> ffTM. Die Abnahme des Gehalts phenolischer Substanzen mit zunehmendem Fermentationsgrad, zeigt sich auch hier bei allen Klonen. Ein Effekt der Waschung ist nach einer Varianzanalyse (ANOVA) und *post-hoc* Tukey HSD Test ebenfalls in beiden Fermentationszyklen der Regenzeit bestätigt worden, d.h. der Epicatechingehalt fermentierter Samen wird durch eine Waschung signifikant reduziert (Abb.103).

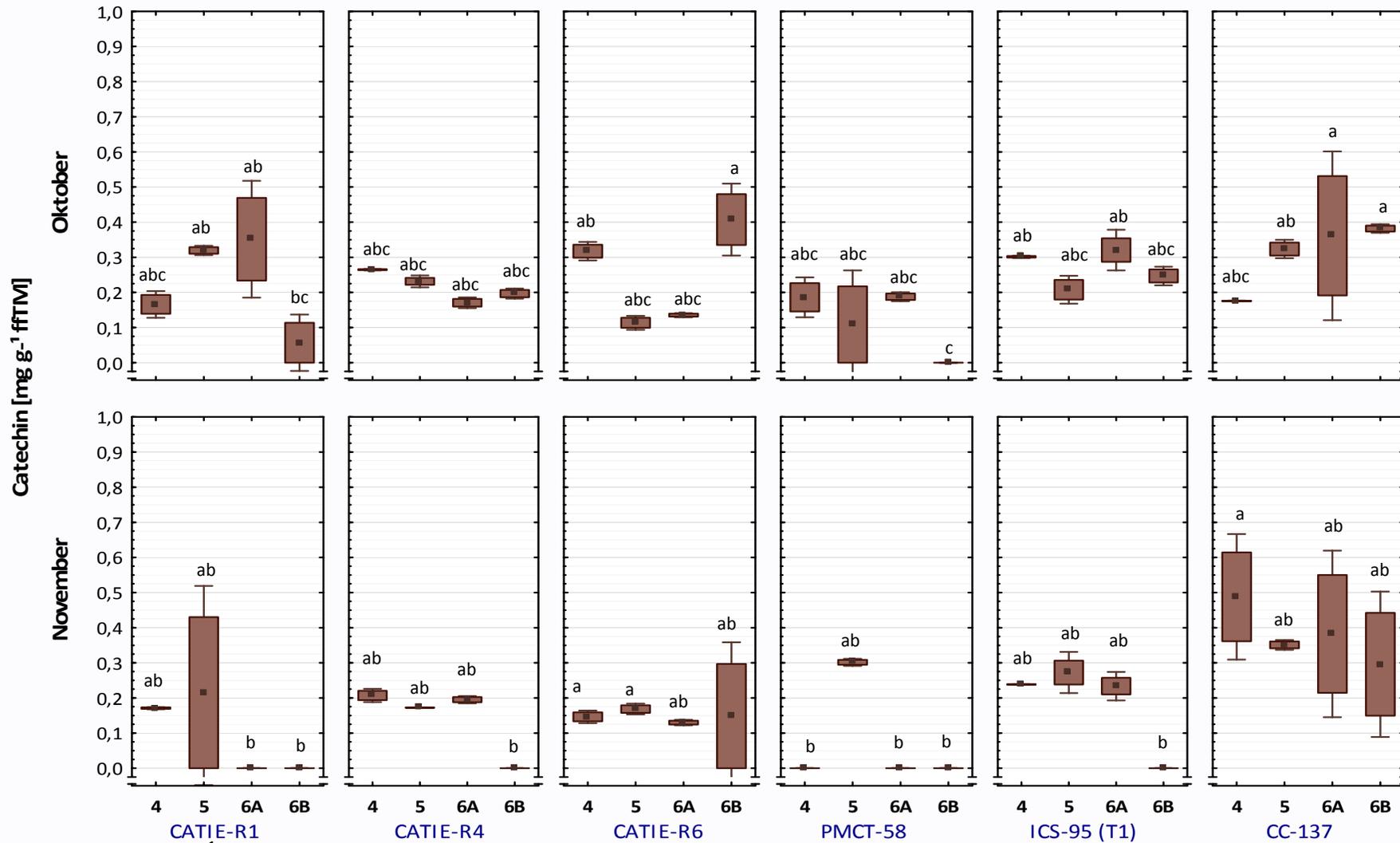
Bei PMCT-58 sind in den ungewaschenen 6 Tage-Proben der Oktoberfermentationen 5,1 mg g<sup>-1</sup> ffTM und in den gewaschenen 2,7 mg g<sup>-1</sup> ffTM Epicatechin gefunden worden, bei ICS-95 T1 6,7 mg g<sup>-1</sup> bzw. 3,0 mg g<sup>-1</sup> ffTM, bei CATIE-R1 4,7 bzw. 3,1 mg g<sup>-1</sup> ffTM, bei CATIE-R4 3,8 bzw. 2,3 mg g<sup>-1</sup> ffTM, bei CATIE-R6 5,6 bzw. 4,1 mg g<sup>-1</sup> ffTM und bei CC-137 11,9 bzw. 11,0 mg g<sup>-1</sup> ffTM. Die 4 Tage-Proben weisen 6,7 mg g<sup>-1</sup> ffTM (PMCT-58), 7,8 mg g<sup>-1</sup> ffTM (ICS-95 T1), 7,9 mg g<sup>-1</sup> ffTM (CATIE-R1), 8,5 mg g<sup>-1</sup> ffTM (CATIE-R4), 10,5 mg g<sup>-1</sup> ffTM (CATIE-R6) und 17,3 mg g<sup>-1</sup> ffTM (CC-137) Epicatechin auf. Bei allen Genotypen, außer ICS-95 (T1), sind die Epicatechingehalte im 2. Fermentationszyklus (November) signifikant geringer als im Oktober. Das Entwicklungsschema des ersten Zyklus wiederholt sich mit einer kontinuierlichen Abnahme der phenolischen Substanz mit zunehmender Fermentationsdauer, allerdings auf niedrigerem Niveau bei CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und PMCT-58, als bei ICS-95 und CC-137. Nach Fermentationsende sinkt der Epicatechingehalt in den gewaschenen Kakaosamen auf 0,4 mg g<sup>-1</sup> ffTM (CATIE-R4) bis 1,7 mg g<sup>-1</sup> ffTM (ICS-95 T1), lediglich CC-137 enthält hier mit 8,1 mg g<sup>-1</sup> ffTM nach wie vor signifikant größere Mengen Epicatechin als die anderen 5 Kakaoklone.

Catechin (im Mittel < 0,5 mg g<sup>-1</sup> ffTM) wurde ebenfalls detektiert (Abb.104). Aufgrund der starken Schwankungsbreite, liegen jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten vor. Tendenziell nehmen die Gehalte mit zunehmender Fermentationsdauer ab.



**Abb. 103: Epicatechin [mg g<sup>-1</sup> fTM] in unterschiedlich lang fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen während der Regenzeit**

Dargestellt sind die Epicatechingehalte von 4, 5 und 6 Tage fermentierten Kakaosamen von CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137. 6A= ohne Waschung, 6B= mit Waschung. Reihe oben: Oktoberproben. Reihe unten: Novemberproben. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und der Fermentationsdauer je Zyklus, sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.  $F(15, 26)=10,712$  (Oktober) und  $F(15, 26)=93,182$  (November).



**Abb. 104: Catechin [mg g<sup>-1</sup> fTMM] in unterschiedlich lang fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen während der Regenzeit**

Dargestellt sind die Catechingehalte von 4, 5 und 6 Tage fermentierten Kakaosamen von CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137. 6A= ohne Waschung, 6B= mit Waschung. Reihe oben: Oktober. Reihe unten: November. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test mit  $\alpha = 0,05$ .  $p = 0,001$  und  $F(15,26) = 4,2385$  für die Kombination der Effekte „Material x Fermentationsdauer“ (Okt).  $p = 0,0001$  und  $F(5,26) = 8,8877$  für „Material“ und  $p = 0,002$  und  $F(3,26) = 6,3734$  für „Fermentationsdauer“ (Nov). Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Signifikante Unterschiede zwischen den Klonen und der Fermentationsdauer je Zyklus, sind durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.

### 4.3.3. Freie Aminosäuren

Die Berechnung der Gehalte freier Aminosäuren (FAA) in den Rohkakaoproben erfolgte mittels Peakflächenintegration gegen die Standardreihe. Die Mengen der einzelnen Aminosäuren wurden anschließend von  $\mu\text{g g}^{-1}$  ffTM (fettfreie Trockenmasse) in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM umgerechnet. Dabei wurden die folgenden Molmassen verwendet:

<b>saure</b> <b>Aminosäuren</b>	Molare Masse [ $\text{gmol}^{-1}$ ]	<b>hydrophobe</b> <b>Aminosäuren</b>	Molare Masse [ $\text{gmol}^{-1}$ ]	<b>andere</b> <b>Aminosäuren</b>	Molare Masse [ $\text{gmol}^{-1}$ ]
Asparagin	132,12	Isoleucin	131,17	Arginin	174,2
Asparaginsäure	133,10	Alanin	89,09	Glycin	75,07
Glutamin	147,13	Leucin	131,17	Lysin	146,19
Glutaminsäure	147,13	Phenylalanin	165,19	Methionin	149,21
		Tyrosin	181,19	Serin	105,09
		Valin	117,15	Threonin	119,12
				Tryptophan	204,23
				Histidin	155,16

Die nichtproteinogene Aminosäure  $\gamma$ -Aminobuttersäure (engl. *gamma-Aminobutyric acid*) wird häufig in Stresssituationen durch Glutamat-Decarboxylase (GAD) aus Glutaminsäure gebildet und wirkt sich auf den Geschmack des Schokoladenproduktes aus (VOIGT und LIEBEREI, 2014). Ihr Gehalt wurde auch in den Rohkakaoproben dieser Studie analysiert. Die Ergebnisse werden jedoch nicht im Detail vorgestellt.

Im Folgenden werden die Gehalte freier, proteinogener Aminosäuren (in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM) in den untersuchten Kakaoproben gezeigt. Der Übersichtlichkeit halber, sind die einzelnen Aminosäuren in den Abbildungen entsprechend der chemischen Eigenschaften ihrer Seitenketten in 3 Gruppen eingeteilt worden:

- Violett: *saure* Aminosäuren = Asparagin, Asparaginsäure, Glutamin, Glutaminsäure
- Rot: *hydrophobe* Aminosäuren = Isoleucin, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin
- Grün: *andere* Aminosäuren = Histidin, Arginin, Glycin, Lysin, Serin, Threonin und Tryptophan

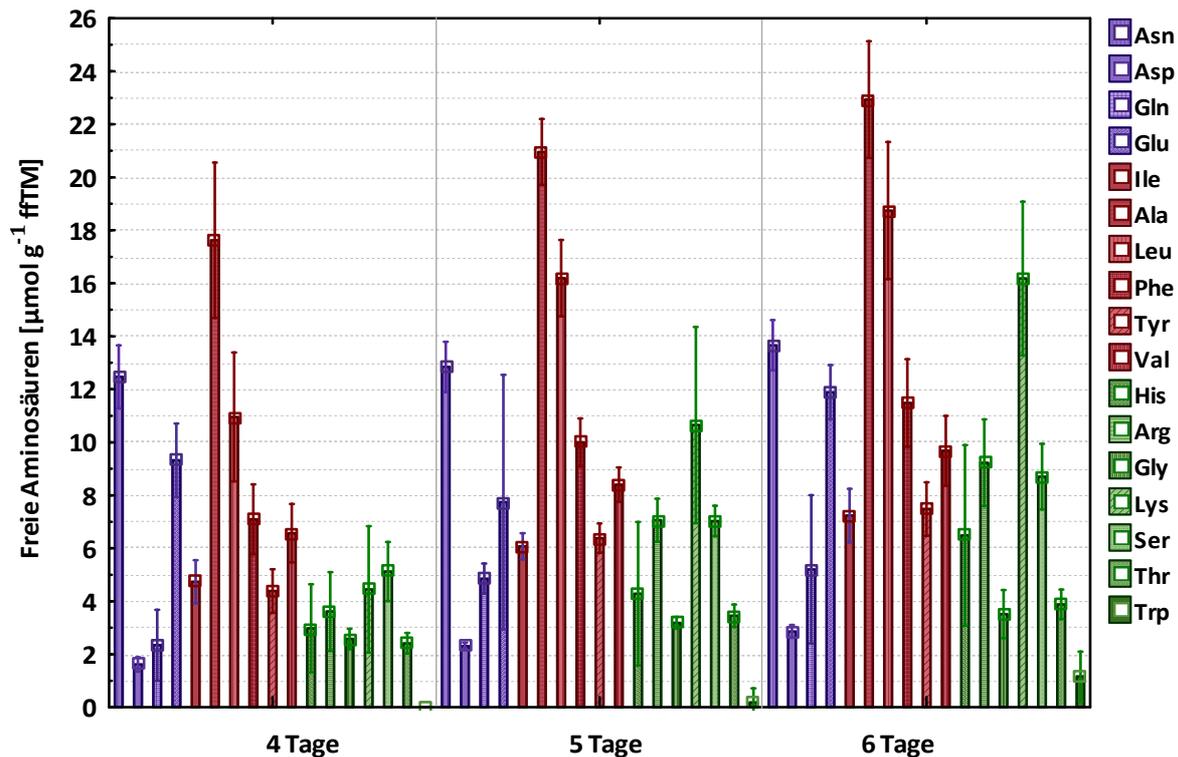
#### 4.3.3.1. Trockenzeit

Der Gehalt an FAA in den 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaoproben von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 aus der Trockenzeit, schwankt in Abhängigkeit von der Fermentationsdauer und dem Genotyp signifikant zwischen 98,3 und 160,4  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. Alle analysierten Proben zeigen eine verstärkte Akkumulation „hydrophober“ Aminosäuren auf, dabei insbesondere Ala und Leu. „Saure“ und „andere“ Aminosäuren sind mehr oder weniger zu gleichen Teilen vorhanden.

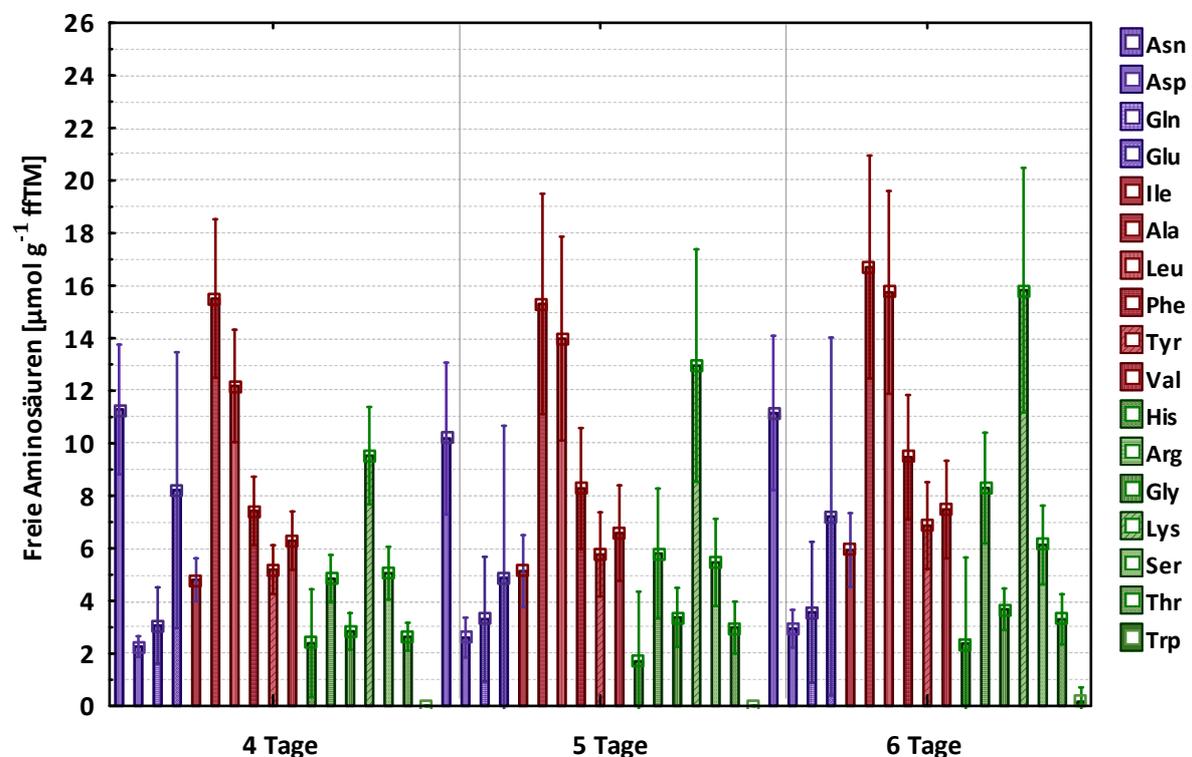
Bei PMCT-58, ICS-95 (T1) und CATIE-R1 kann ein kontinuierlicher Anstieg der FAA in den Kotyledonen mit zunehmender Fermentationsdauer beobachtet werden (Abb.105 bis 110). In den 4 Tage-Proben von PMCT-58 enthalten die Kakaosamen durchschnittlich 98,3  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM FAA, in den 5 Tage-Proben 136,1  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM und am 6. Tag 160,4  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. Bei ICS-95 (T1) steigt der Gehalt freier Aminosäuren vom 4. bis zum 6. Fermentationstag von 108,6 auf 136  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM, bei CATIE-R1 von 115,2 auf 144,8  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. Auffällig ist, dass die Zunahme des Gesamtgehalts freier Aminosäuren bis zum Fermentationsende auf der vermehrten Akkumulation einzelner Aminosäuren basiert. Bei PMCT-58 nimmt vor allem der Anteil der hydrophoben Aminosäuren Ala, Leu, Phe und Val zu sowie aus der Gruppe der Anderen die Aminosäuren His, Arg und Lys. Bei ICS-95 (T1) sind es Arg und Lys und bei CATIE-R1 Asn, Ala, Leu und Lys, die den Gesamtgehalt freier Aminosäuren ansteigen lassen.

Bei CATIE-R4 sind die größten Mengen freier Aminosäuren in den 5 Tage-fermentierten Kakaosamen gefunden worden (140,5  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM), zum 6.Tag sinkt der Gesamtgehalt auf 128,3  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. CATIE-R6 und CC-137 zeigen hingegen keine signifikanten Unterschiede in ihrem Gehalt freier Aminosäuren zwischen dem 4. und 6. Fermentationstag. CATIE-R6 enthält in den 6 Tage-fermentierten Samen der Trockenzeit durchschnittlich 123,8  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM und damit zu diesem Zeitpunkt weniger FAA, als die anderen Genotypen. CC-137 weist mit nur 118,4  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM die geringste durchschnittliche Menge freier Aminosäuren in seinen Kakaosamen auf.

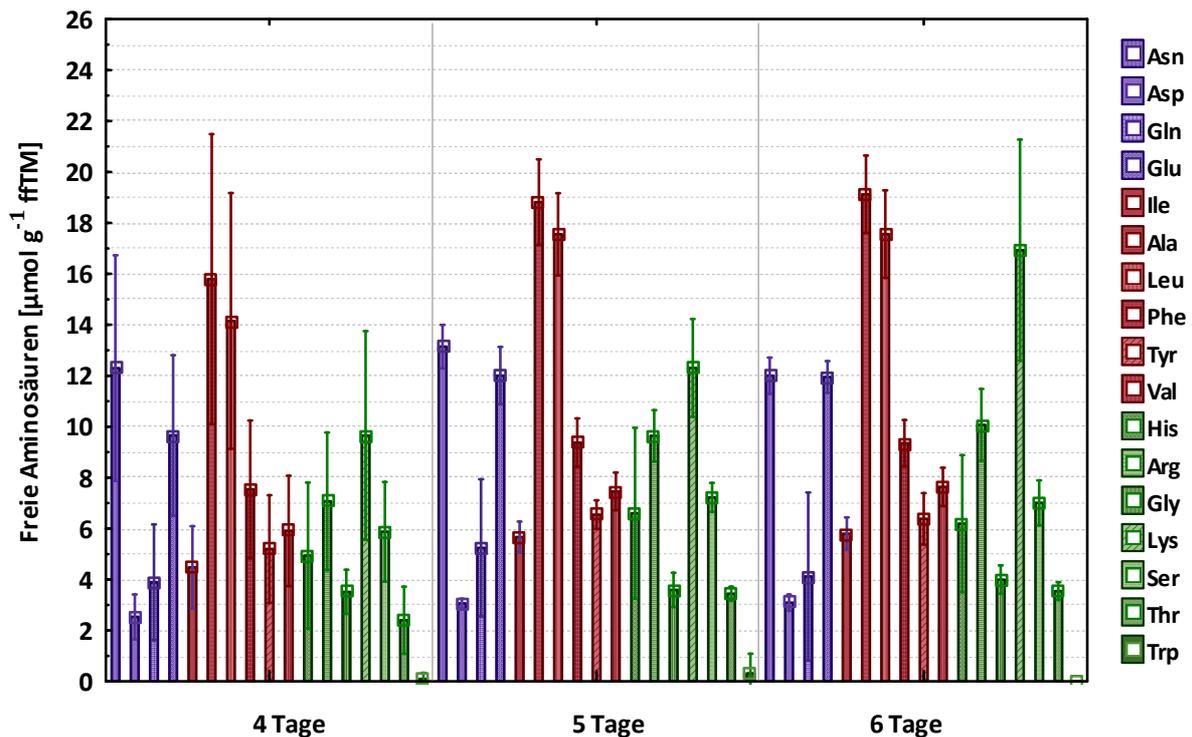
CATIE-R4 zeigt einen vergleichsweise großen Anteil von Glu im Profil der FAA. CATIE-R6 enthält bereits ab dem 4. Fermentationstag viel Lys und Phe. Bei CC-137 tritt ab dem 5. Tag vermehrt Trp auf. Bei dem Klon ICS-95 (T1) können die größten Schwankungen im FAA-Gehalt beobachtet werden und er enthält offenbar geringere Mengen saurer Aminosäuren, als die anderen Genotypen.



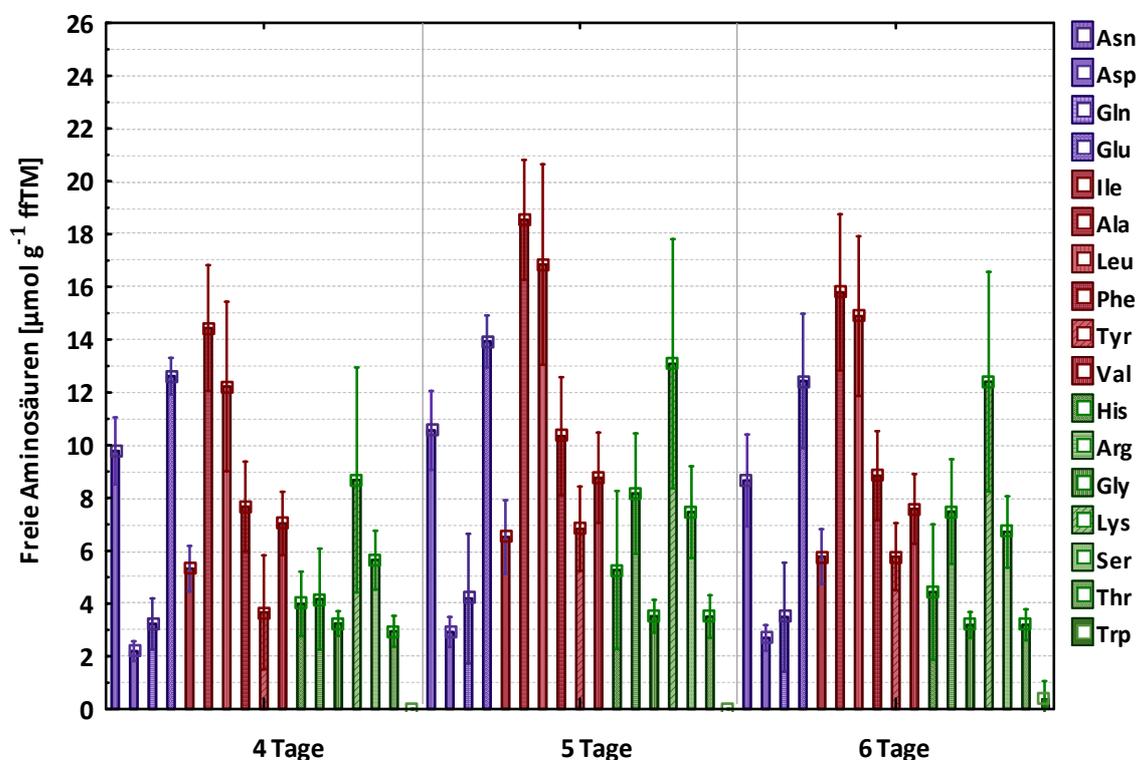
**Abb. 105: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von PMCT-58 während der Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons PMCT-58 während der Trockenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $132 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $98,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $136,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage:  $160,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



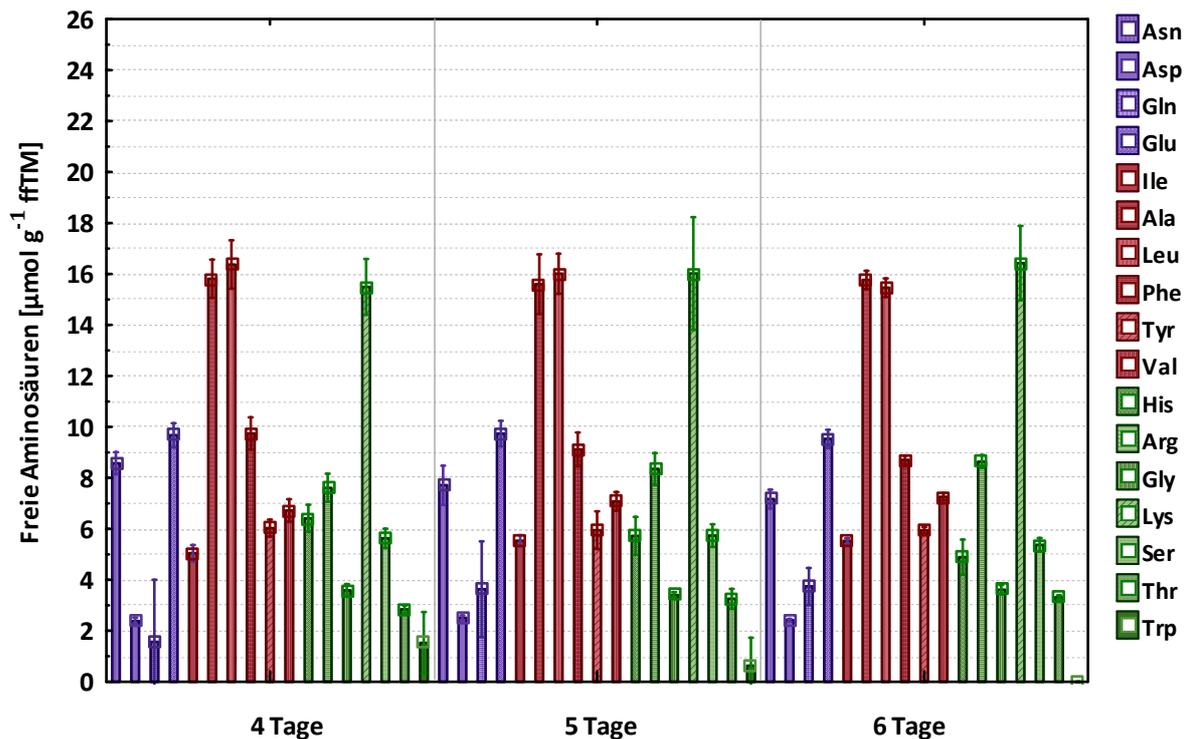
**Abb. 106: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von ICS-95 (T1) während der Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Trockenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $122 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $108,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $118,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage:  $136 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



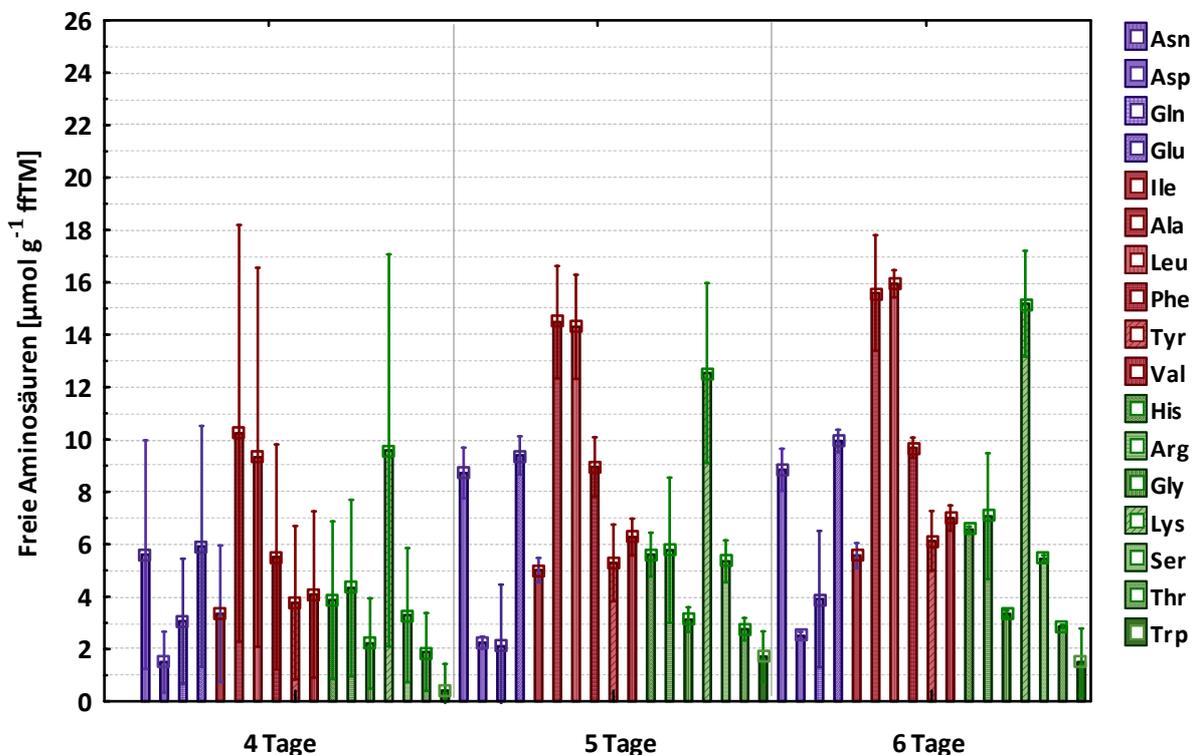
**Abb. 107: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CATIE-R1 während der Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R1 während der Trockenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $122 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $108,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $118,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage:  $136 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



**Abb. 108: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CATIE-R4 während der Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R4 während der Trockenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $123,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $106,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $140,5 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage:  $123,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



**Abb. 109: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CATIE-R6 während der Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R6 während der Trockenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $125 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $125,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $126 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage:  $123,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.

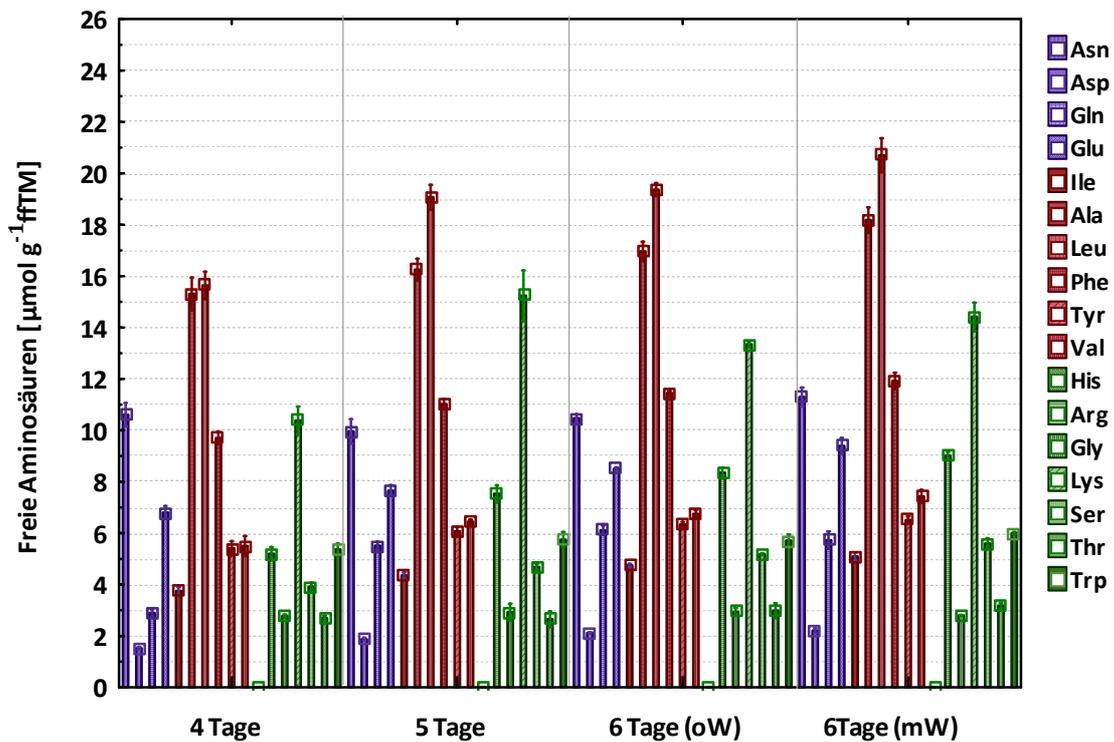


**Abb. 110: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CC-137 während der Trockenzeit**  
 Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CC-137 während der Trockenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $118,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $117 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $113,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage:  $127,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.

#### 4.3.3.2. Regenzeit

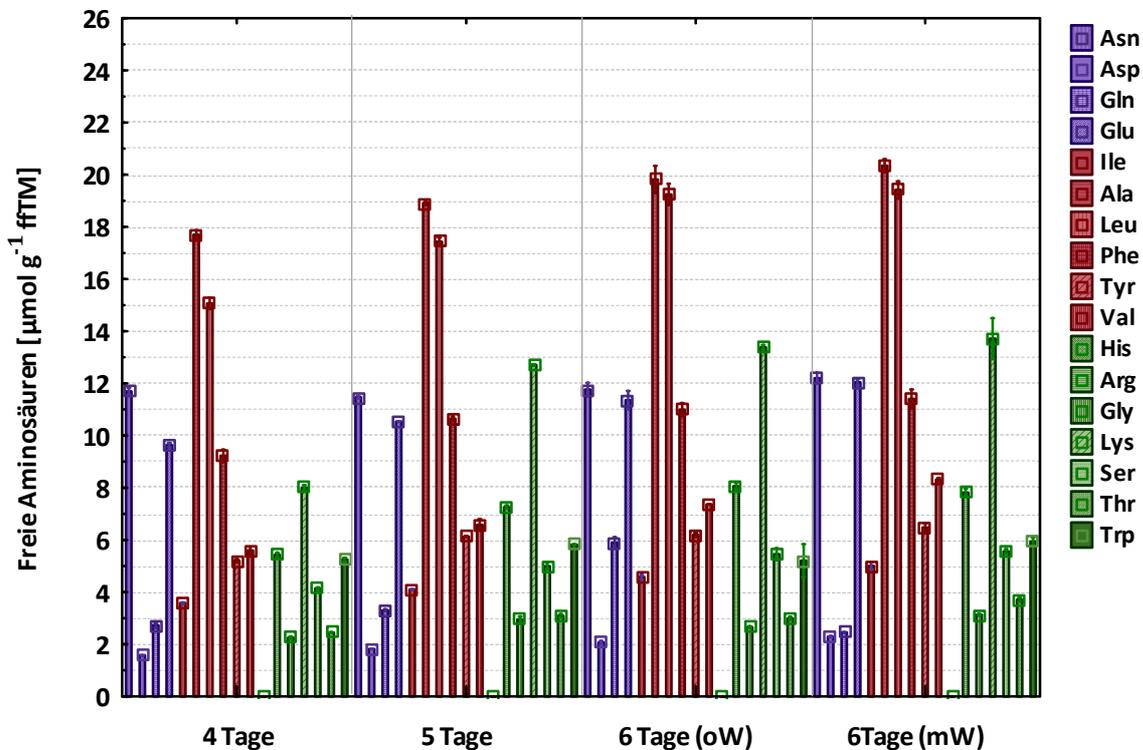
In den Kakaoproben der beiden Versuchszyklen der Regenzeit, sind je nach Genotyp und Fermentationsdauer im Mittel zwischen  $98,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM und  $153,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM FAA gefunden worden (Abb. 111 bis 122) und damit vergleichbare Mengen der Trockenzeit. Dabei ist die Gruppe der hydrophoben Aminosäuren am stärksten vertreten, mit Lys und Ala als Hauptkomponenten. PMCT-58 zeigt erneut ein sehr hohes Potential in der Akkumulation freier Aminosäuren (Abb. 111 und 112), ICS-95 (T1) und CATIE-R6 weisen ebenfalls große Mengen FAA auf. Das vergleichsweise geringe Potential von CC-137 hat sich mit durchschnittlich  $115,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Okt) bzw.  $111,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Nov) in den fermentierten Kakaosamen der Regenzeit bestätigt. Alle Genotypen außer PMCT-58 enthalten in den Proben der Oktoberfermentationen größere Mengen freier Aminosäuren als in den Novemberproben. PMCT-58 ist der einzige Klon, der mit einer leichten Zunahme des Gehalts FAA auf die Waschung reagiert: in den ungewaschenen 6 Tage-fermentierten Kakaosamen sind  $133,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM im Oktober und  $138,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM im November gefunden worden, während die gewaschenen Samen  $141,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Okt) bzw.  $144,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Nov) freie Aminosäuren aufzeigen. Bei den anderen 5 Kakaoklonen hat die Waschung eine teils signifikante Abnahme der freien Aminosäuren in den 6 Tage-fermentierten Kakaosamen bewirkt. Bei ICS-95 (T1) ist der durchschnittliche Gehalt von  $153,3$  auf  $148,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM im Oktober (Abb. 113) und von  $138$  auf  $123,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM im November gesunken (Abb. 114). Bei CATIE-R6 verringert sich die Menge FAA von  $145,1$  auf  $134,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Okt) bzw. von  $136,9$  auf  $120,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Nov). In den Oktoberproben von CATIE-R6 wird das FAA-Potential dieses Klons ersichtlich (Abb. 119); die FAA-Gehalte sind signifikant höher als in den Proben der Trockenzeit, insbesondere der Anteil hydrophober Aminosäuren hat zugenommen: während ihre Summe in der Trockenzeit ca.  $59 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM beträgt, werden in den Oktoberproben  $72 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM erreicht (jeweils 6 Tage-fermentiert). In den Proben von CATIE-R1 (Abb. 115 und 116) können mit durchschnittlich  $122,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Okt) bzw.  $117,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Nov) vergleichbare Gesamtgehalte der FAA zu denen der Trockenzeit beobachtet werden ( $122 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM, Abb. 107). Bei CATIE-R4 (Abb. 117 und 118) ist die Akkumulation freier Aminosäuren in den Fermentationen der Regenzeit deutlich geringer als in der Trockenzeit; in den Kakaoproben beider Zyklen wurden durchschnittliche Maximalgehalte von  $124,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Okt) bzw.  $125,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM (Nov) FAA gefunden, während die Samen der Trockenzeit  $140,5 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM FAA enthielten (Abb.108). Allen Fermentationen gleich ist, dass 5-Tage fermentierte Samen von CATIE-R4 am meisten FAA enthalten.

Es fällt auf, dass alle untersuchten Kakaoproben der Regenzeit-Fermentationen signifikant mehr Trp enthalten ( $< 7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM), dafür jedoch kein bzw. wenig His. Diese Aminosäure wiederum tritt in allen Proben der Trockenzeit auf ( $< 7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM).



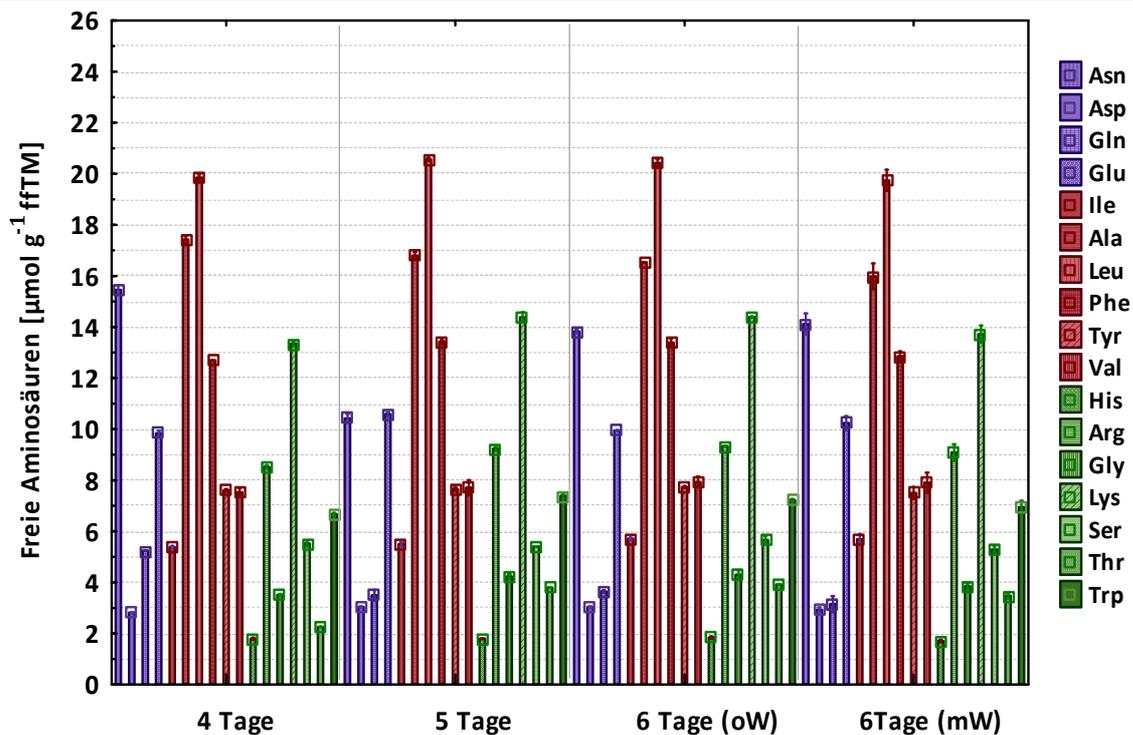
**Abb. 111: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons PMCT-58 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $128,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $110,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $129 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $133,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $141,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



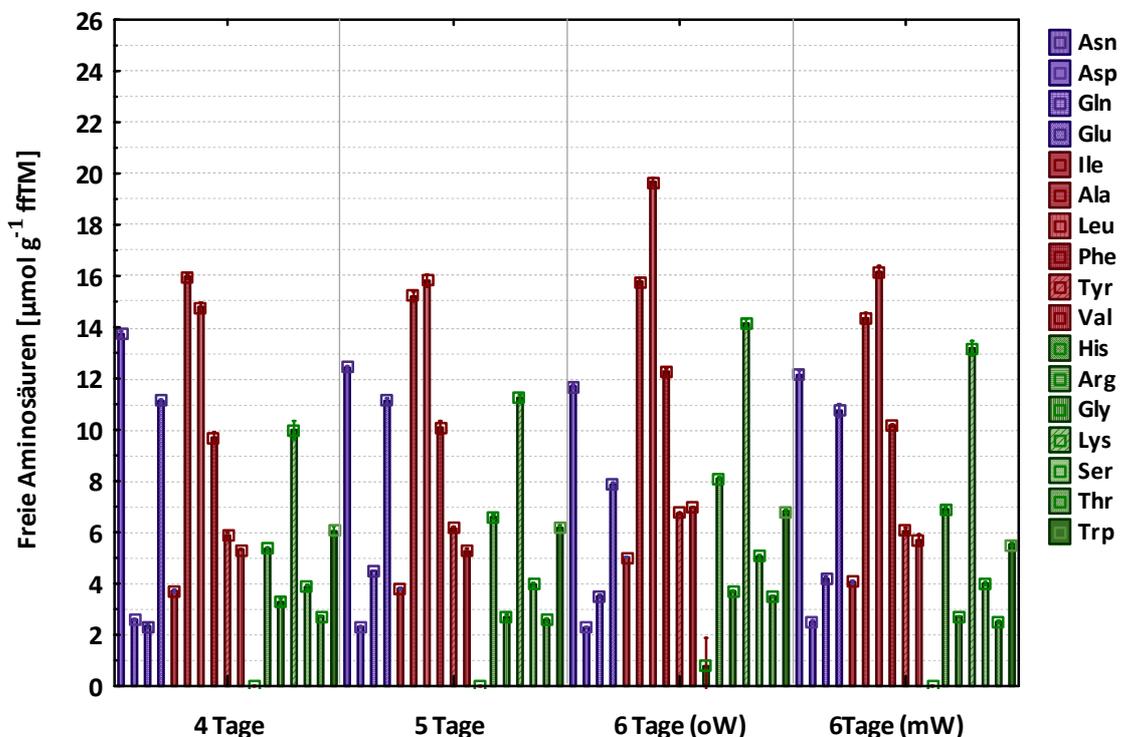
**Abb. 112: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons PMCT-58 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $131,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $112,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $131,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $138,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $144,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



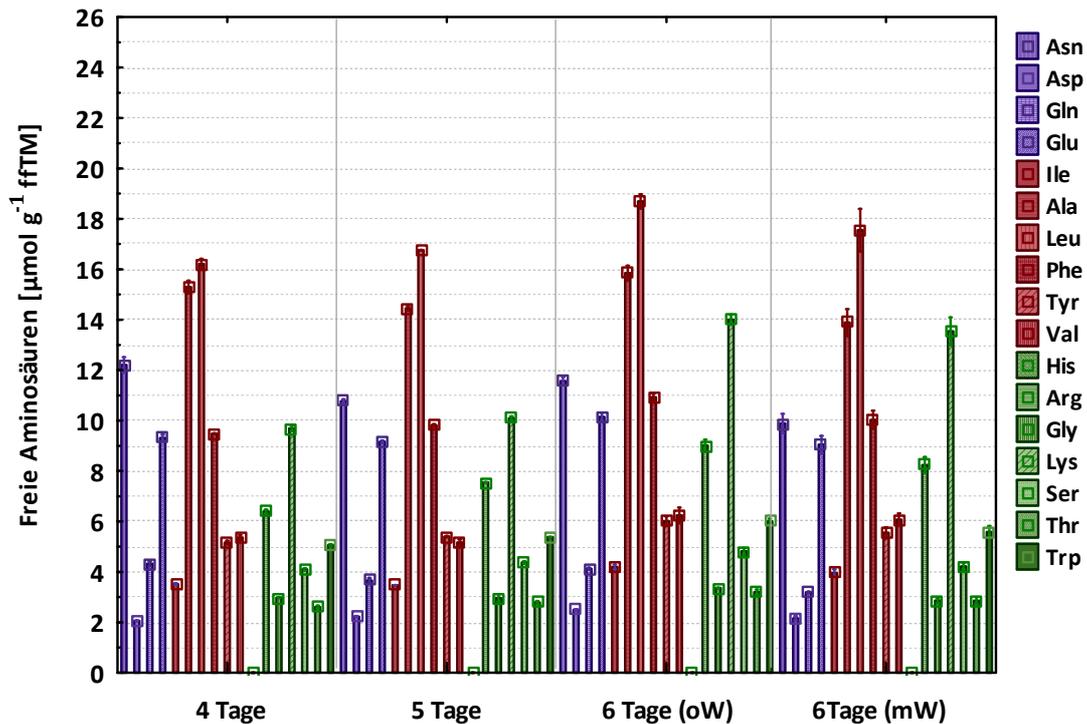
**Abb. 113: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $150,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $148,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $150,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $153,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $148,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



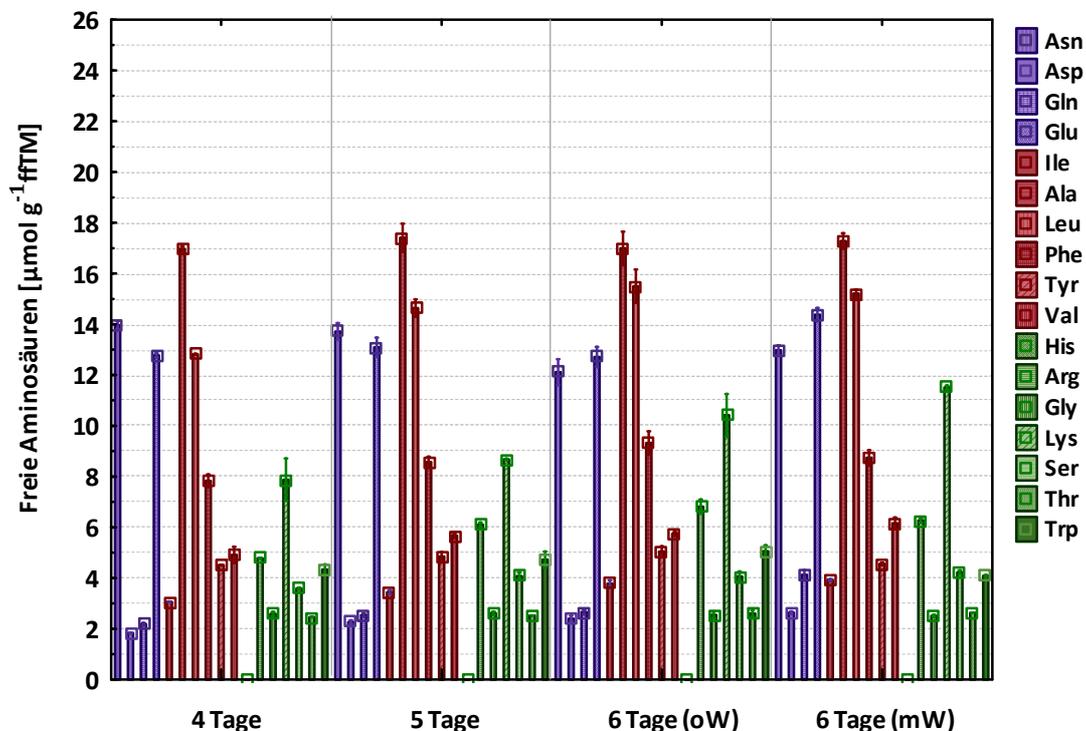
**Abb. 114: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $125,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $119,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $122 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $138 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $123,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



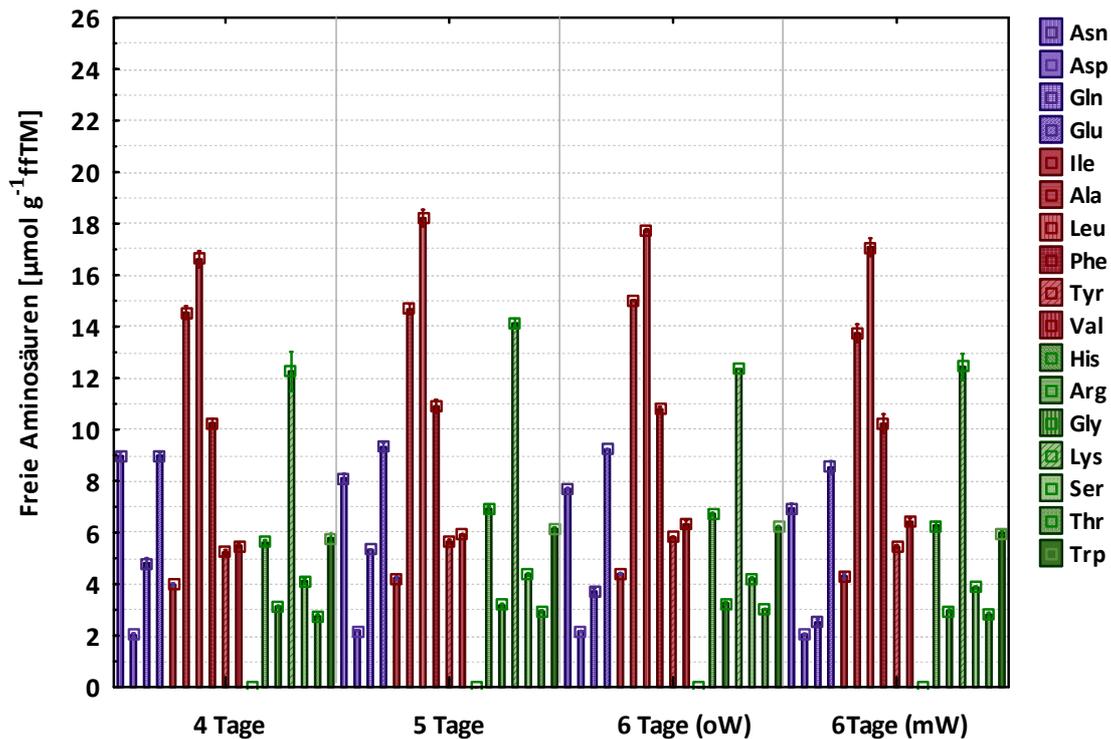
**Abb. 115: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R1 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $122,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $115,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $116,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $133,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $122 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



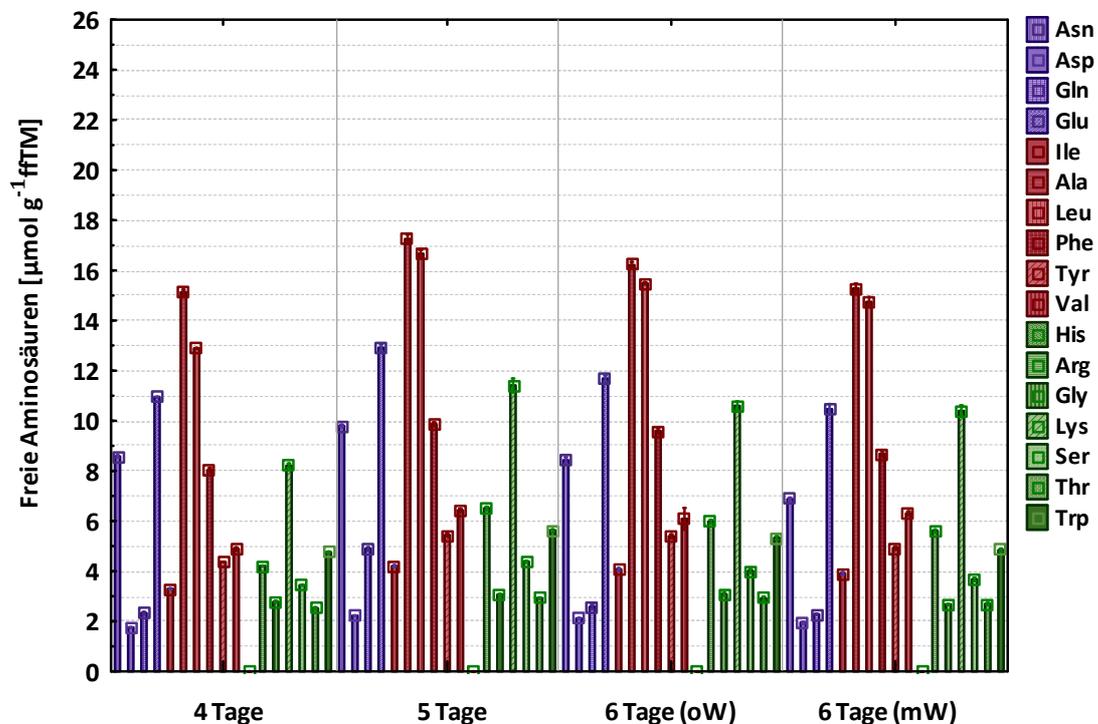
**Abb. 116: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R1 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $117,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $108,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $117,5 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $120,5 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $122,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



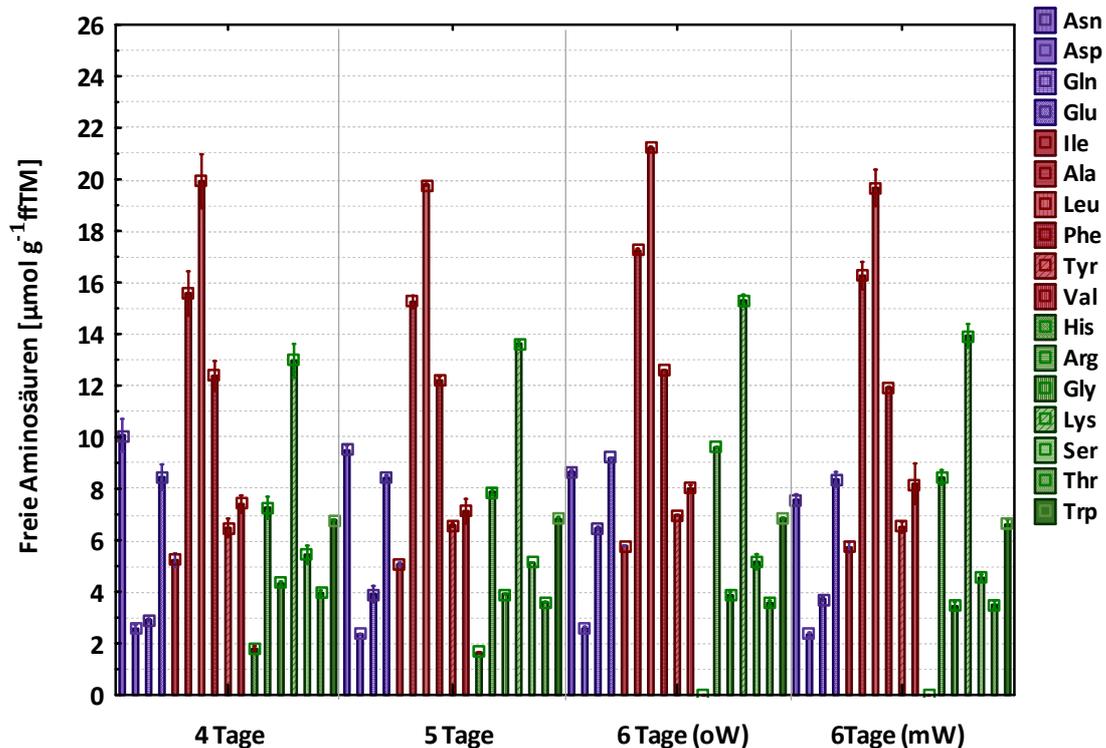
**Abb. 117: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R4 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $119,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 4 Tage:  $116,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 5 Tage:  $124,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 6 Tage oW:  $121,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 6 Tage mW:  $115,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM.



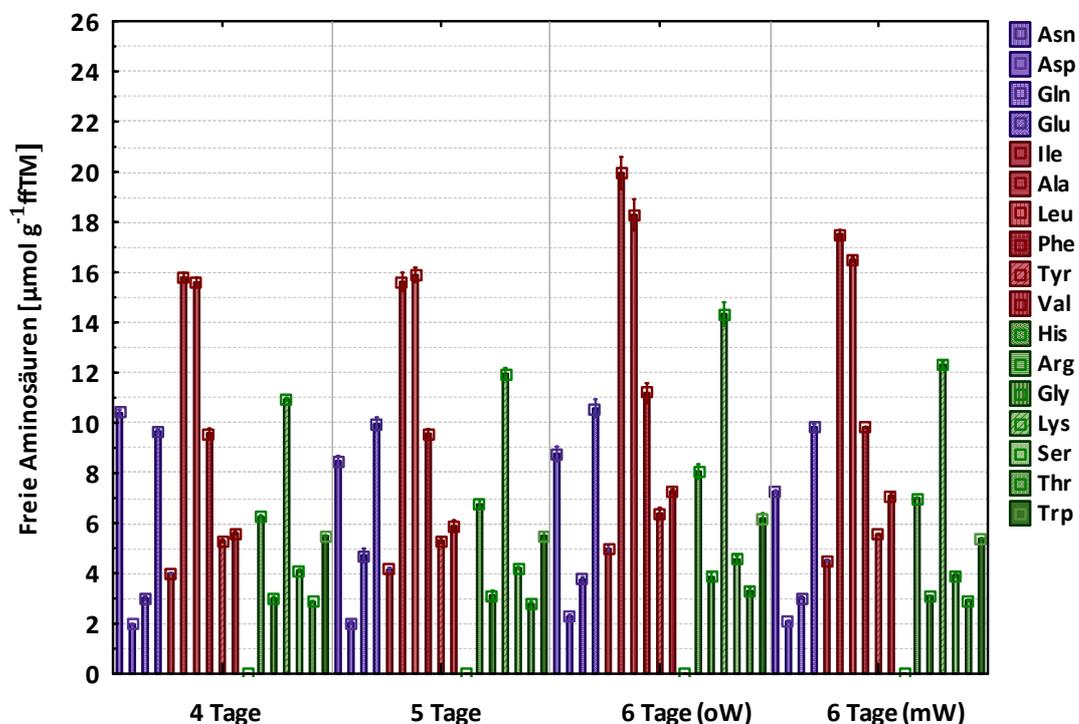
**Abb. 118: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R4 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $112,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 4 Tage:  $100,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 5 Tage:  $125,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 6 Tage oW:  $116,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM. 6 Tage mW:  $108,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  fFTM.



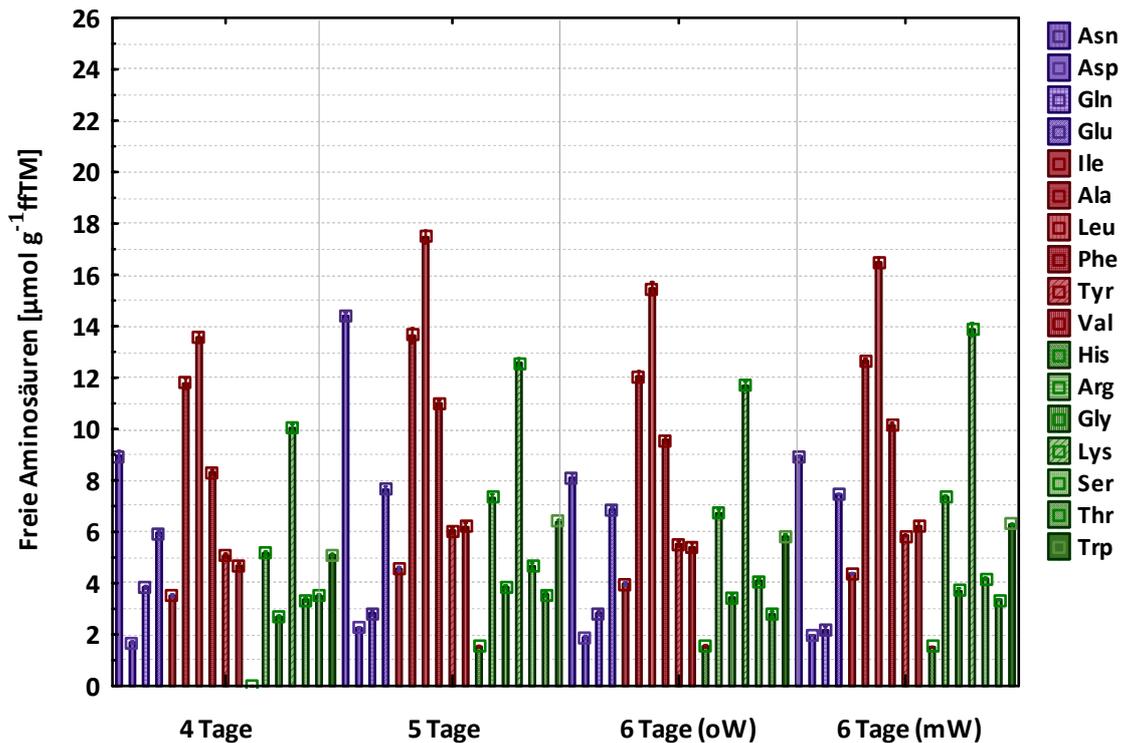
**Abb. 119: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R6 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $138,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $138,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $136,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $145,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $134,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



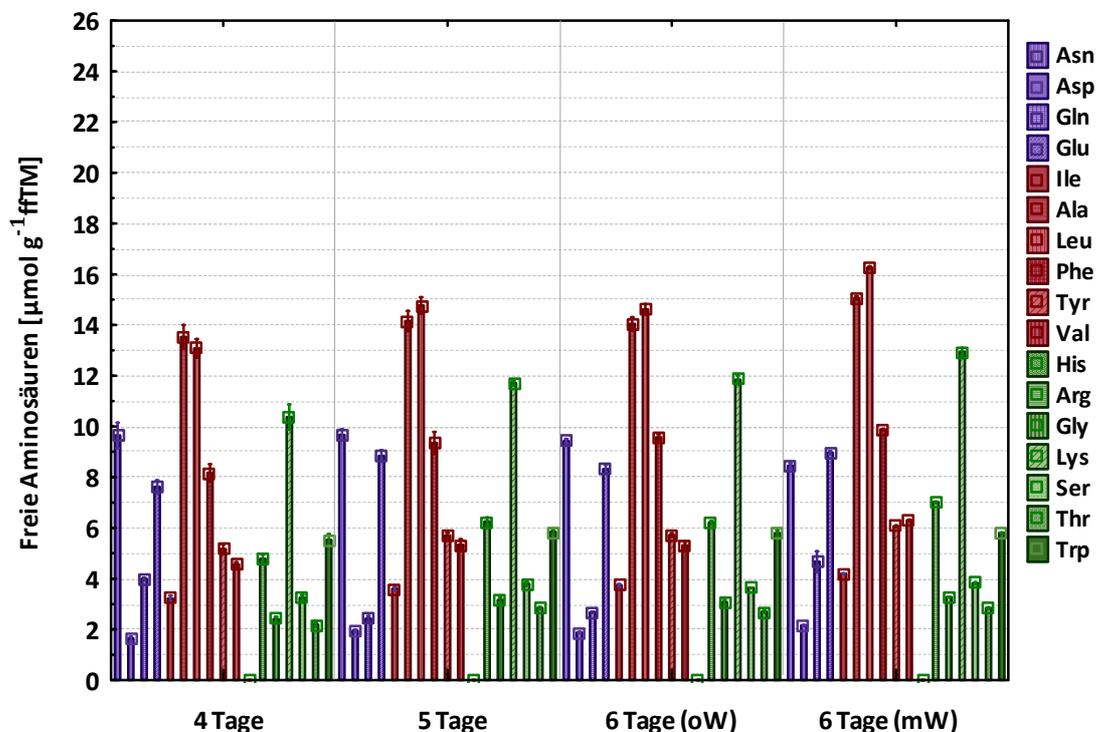
**Abb. 120: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CATIE-R6 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $123 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $116,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $117,5 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $136,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $120,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



**Abb. 121: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CC-137 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $115,2 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $98,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $130 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $111,1 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $120,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.



**Abb. 122: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im November 2013**

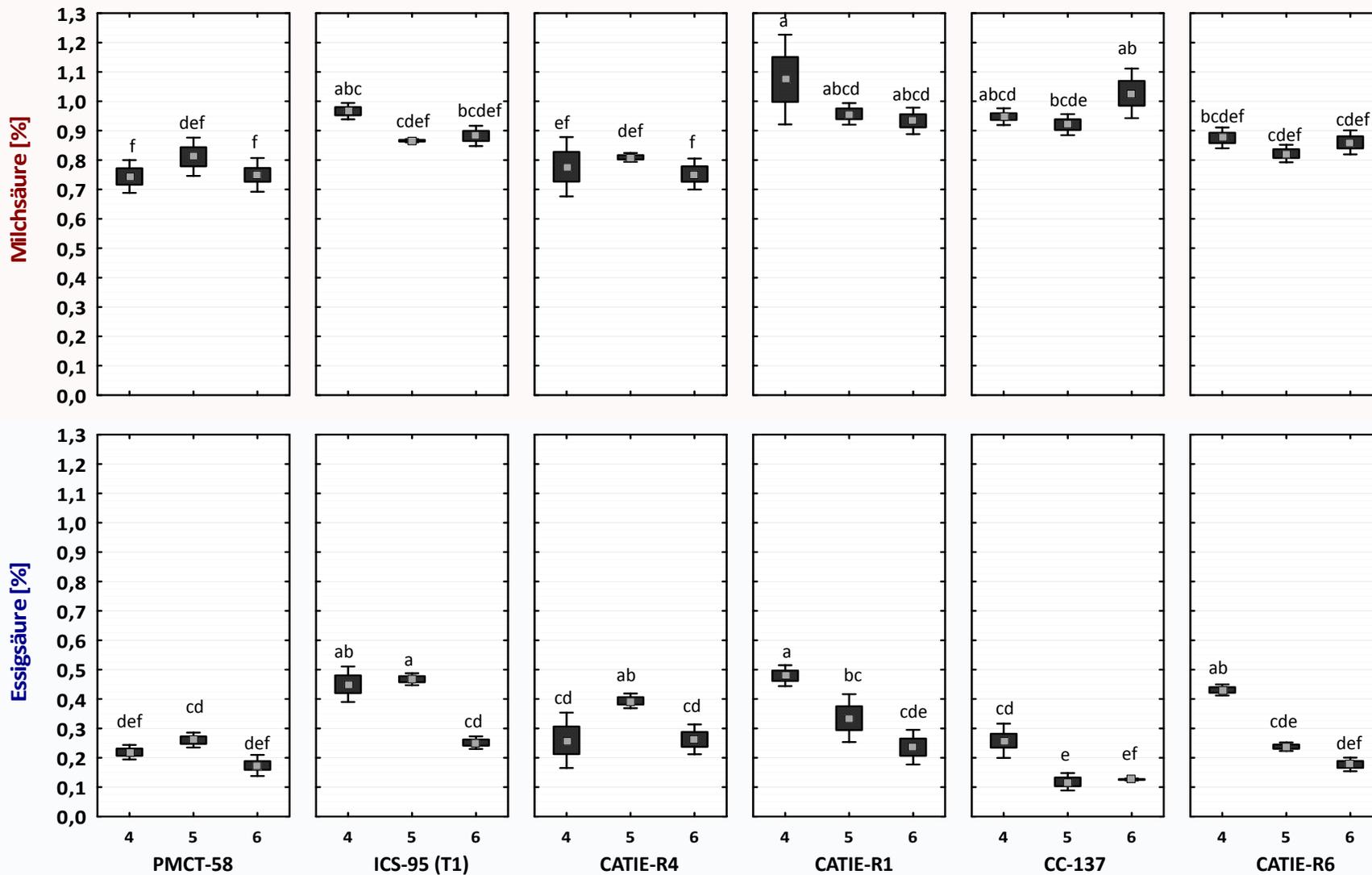
Dargestellt sind die durchschnittlichen Mengen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM] einzelner FAA in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kotyledonen des Kakaoklons CC-137 während der Regenzeit. Violett: saure FAA, Rot: hydrophobe FAA, Grün: andere FAA. oW= ohne Waschung. mW= mit Waschung. Durchschnittlicher Gesamtgehalt FAA (ohne GABA):  $111,3 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 4 Tage:  $100,6 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 5 Tage:  $112,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage oW:  $111,7 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM. 6 Tage mW:  $119,8 \mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM.

#### 4.3.4. Organische Säuren

##### 4.3.4.1. Trockenzeit

Der Milchsäuregehalt ist bei allen Proben der Trockenzeit signifikant höher als der Essigsäuregehalt und schwankt je nach Fermentationsdauer (4, 5 und 6 Tage) und Klon im Mittel zwischen 0,74 % und 1,07 % (Abb. 123). Die Essigsäurekonzentrationen betragen durchschnittlich 0,12–0,48 %. Am 4. Fermentationstag sind die Unterschiede zwischen den Genotypen signifikant, mit zunehmender Fermentationsdauer gleichen sie sich in ihren Milchsäure- bzw. Essigsäurekonzentrationen an. Die Kolyedonen von CATIE-R1 enthalten mehr Säure als die anderen Klone, bei CC-137 fällt ein verhältnismäßig hoher Milchsäuregehalt (0,92–1,03 %) bei geringen Essigsäurekonzentrationen (0,12–0,26 %) auf. ICS-95 (T1) und CATIE-R6 liegen mit 0,87–0,97 % bzw. 0,82–0,88 % Milchsäure im mittleren Bereich, enthalten aber gleichzeitig zusammen mit CATIE-R1 am meisten Essigsäure von den untersuchten Proben (max. Werte zwischen 0,43 und zu 0,48 %).

Während der Essigsäuregehalt am 6. Tag bei allen Genotypen geringer ist als am 4.Tag, kann bei der Milchsäurekonzentration keine signifikante Abnahme zum Fermentationsende hin beobachtet werden. PMCT-58 und CATIE-R4 weisen mit durchschnittlich 0,74–0,81 % die geringsten Konzentrationen an Milchsäure auf, mit 0,22–0,26 % sind die Mengen an Essigsäure bei PMCT-58 ebenfalls sehr gering. Bei ICS-95 (T1), CATIE-R1, und CATIE-R6 nimmt die Essigsäurekonzentration vom 4. bis zum 6. Fermentationstag um 50 % ab.



**Abb. 123: Organische Säuren [%] in unterschiedlich lang fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen während der Trockenzeit**

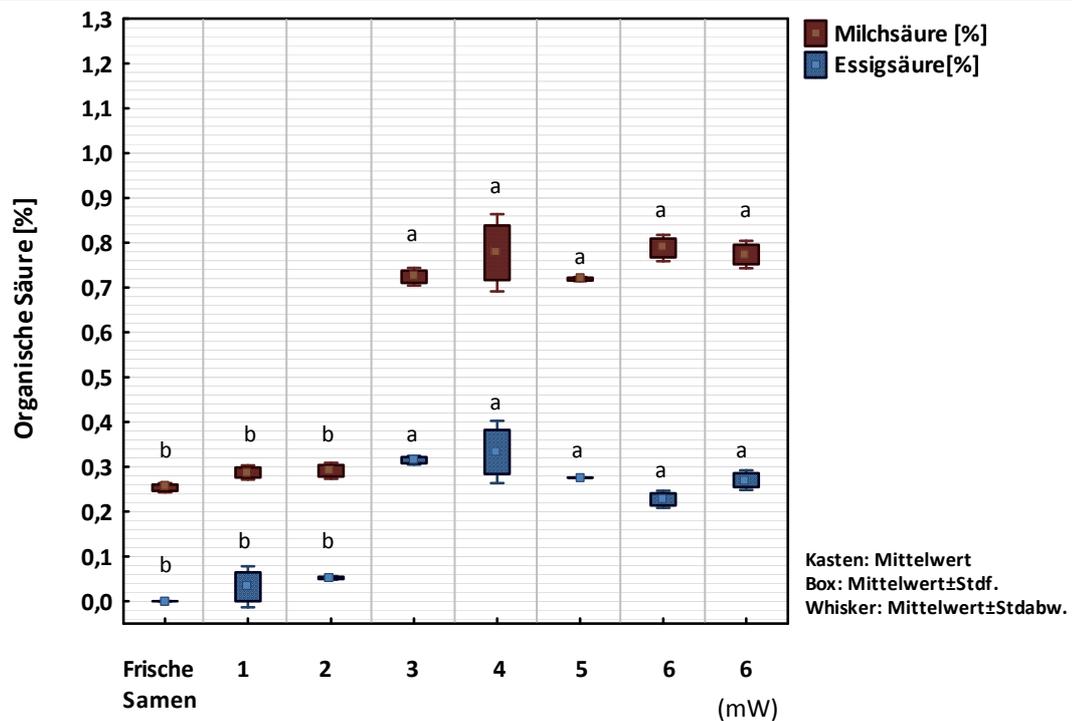
Dargestellt sind die Konzentrationen an Milch- und Essigsäure [%] in 4, 5 und 6 Tage fermentierten Kakaosamen von PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R4, CATIE-R1, CC-137 und CATIE-R6. Reihe oben, rot: Milchsäure. Reihe unten, blau: Essigsäure. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für die Kombination der Effekte „Material x Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,005$  und  $F(10, 58) = 2,9223$  (Milchsäure) bzw.  $p = 0,0000$  und  $F(10, 58) = 11,299$  (Essigsäure). Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen Klonen und Fermentationsdauer durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.

#### 4.3.4.2. Regenzeit

In frischen sowie 1 bis 6 Tage-fermentierten Kotyledonen der Regenzeitproben, sind je nach Genotyp und Fermentationsdauer zwischen 0,25–1,02 % (Milchsäure) bzw. 0–0,73 % (Essigsäure) gefunden worden (Abb. 124-135). Obschon Differenzen zwischen den Genotypen PMCT-58, ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6 und CC-137 vorliegen, kann bei allen ein ähnliches Schema beobachtet werden: bereits in frischen Kakaosamen treten je nach Klon zwischen 0,35 und 0,45 % Milchsäure auf, Essigsäure kann nicht bzw. es können lediglich Spuren (<0,1 % bei ICS-95 T1) detektiert werden. Die Novemberprobe von CC-137 (Abb. 135) weicht an dieser Stelle leicht ab, die frischen Kotyledonen enthalten bereits 0,78 % Milchsäure und 0,42 % Essigsäure.

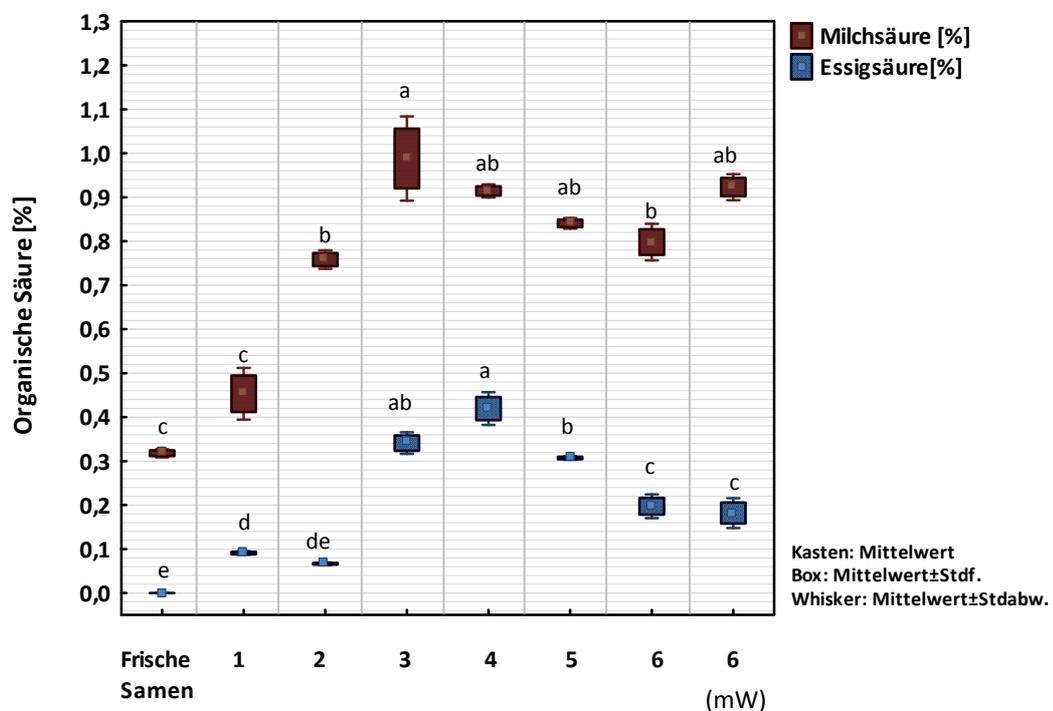
In den ersten 48 Stunden der Fermentation, sind die Konzentrationen beider organischen Säuren fast konstant auf einem signifikant niedrigeren Niveau als zwischen dem 3. und 6. Fermentationstag. Mit der ersten Wendung (zwischen Tag 2 und Tag 3) kann ein exponentieller Anstieg bei beiden Säuren beobachtet werden (Abb. 124-135). Maximale Milchsäuregehalte weisen die 3 Tage-fermentierten Kotyledonen auf, höchste Essigsäurekonzentrationen werden mit wenigen Ausnahmen (ICS-95 T1, CATIE-R6) erst am 4. Tag sichtbar. Es fällt auf, dass die Konzentrationen der Milch- und Essigsäure in beinahe allen Versuchsreihen wie kongruente Bahnen zueinander verlaufen. Dabei ist die Milchsäure auf einem kontinuierlich höheren Niveau, als die Essigsäure. Erst ab Tag 5 wird bei manchen Proben eine Abnahme der Essigsäure sichtbar, während sich die Milchsäurekonzentration kaum verändert bzw. sogar leicht ansteigt.

Die Waschung hat sich nicht bedeutend auf den Anteil der Säuren in den Kotyledonen ausgewirkt. Bei PMCT-58, CATIE-R1 und CATIE-R4 treten in den Novemberproben leicht höhere Milchsäuregehalte in den 6 Tage-fermentierten, gewaschenen Kotyledonen auf, während sie bei CATIE-R6 im Vergleich zu den ungewaschenen Samen, geringer ausfallen



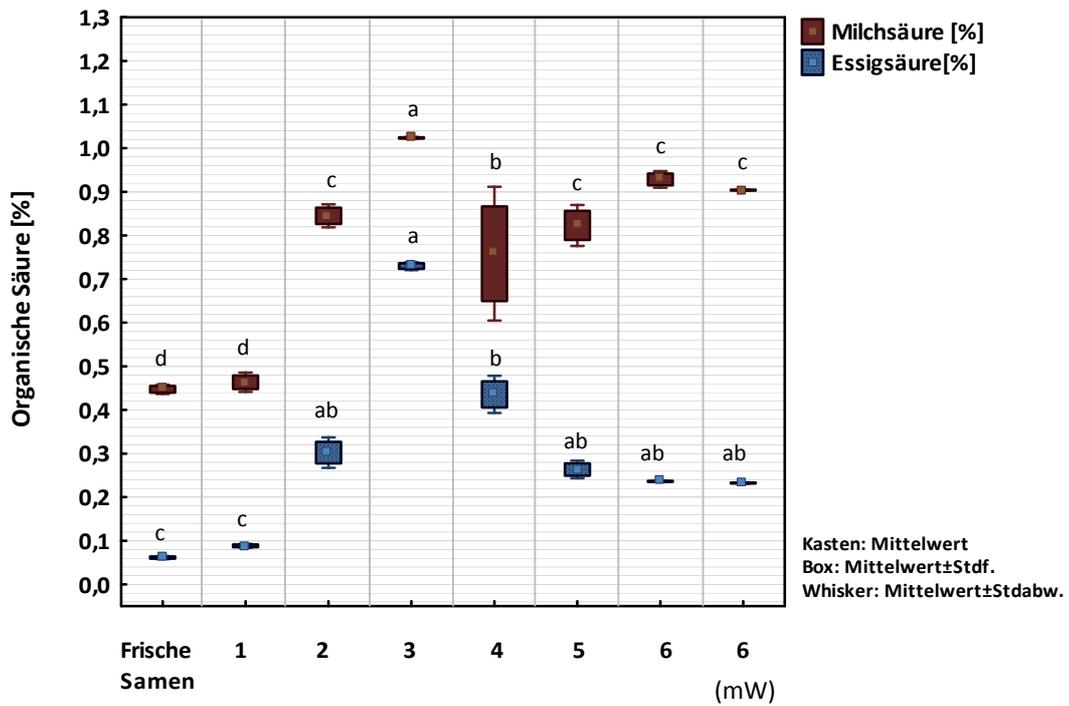
**Abb. 124: Organische Säuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons PMCT-58 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 96,3704$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 38,1046$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



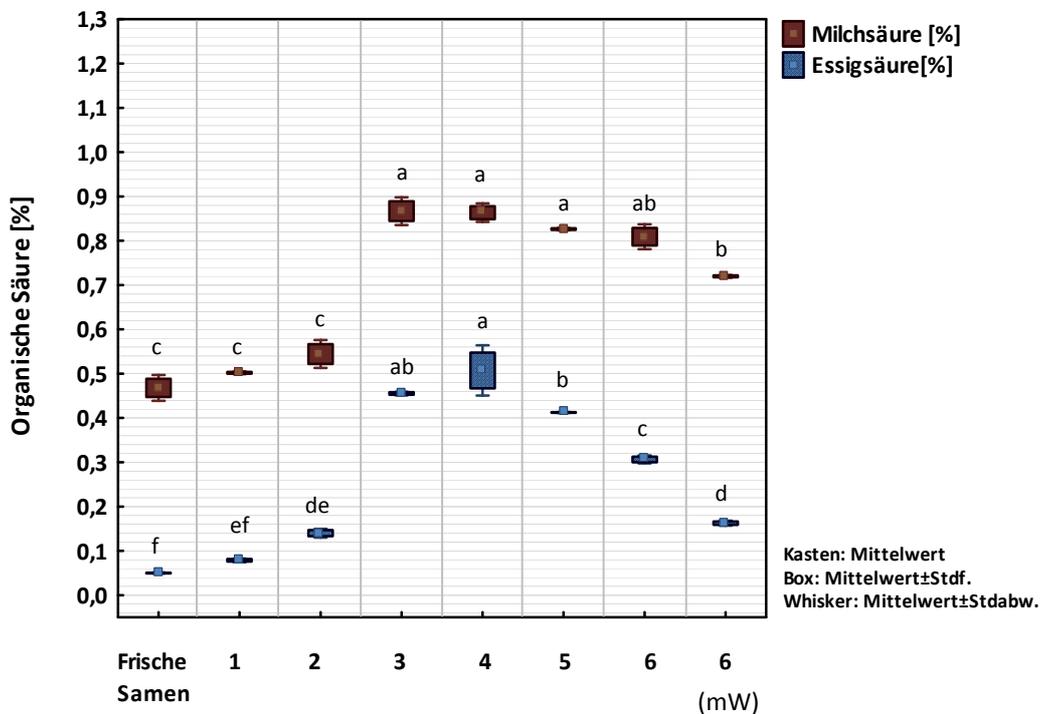
**Abb. 125: Organische Säuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons PMCT-58 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 56,5205$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 87,2782$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



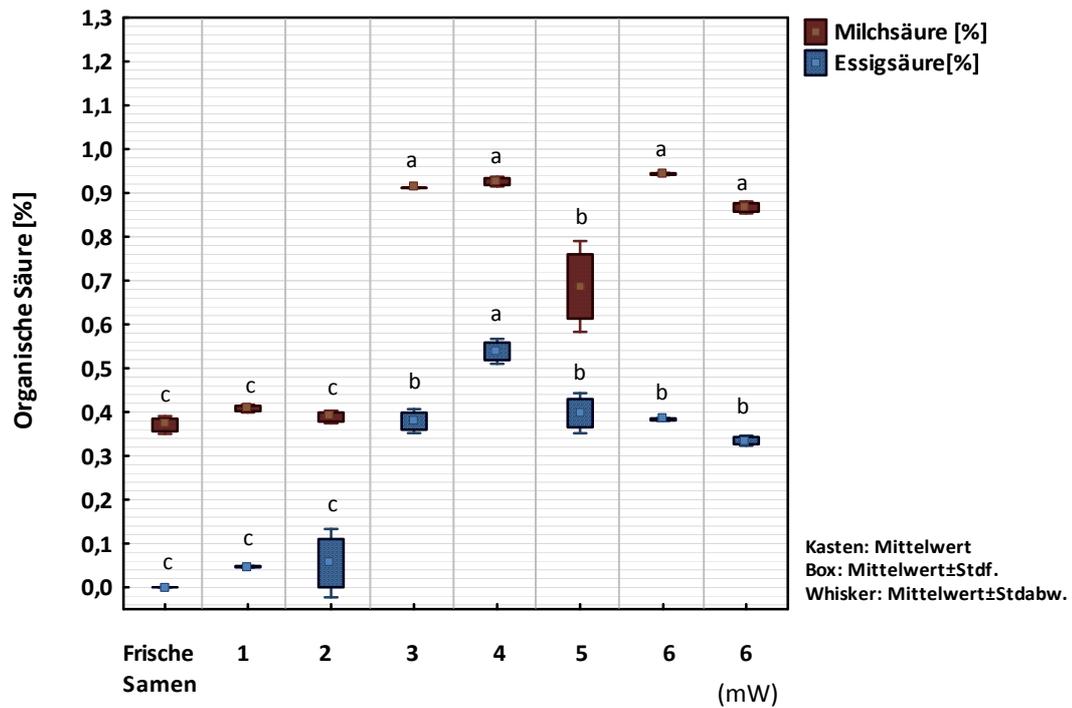
**Abb. 126: Organische Säuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittl. Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$ . Milchsäure:  $p = 0,0001$ ;  $F(7;8) = 26,1415$ . Essigsäure:  $p = 0,0000$ ;  $F(7;8) = 202,549$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box), Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



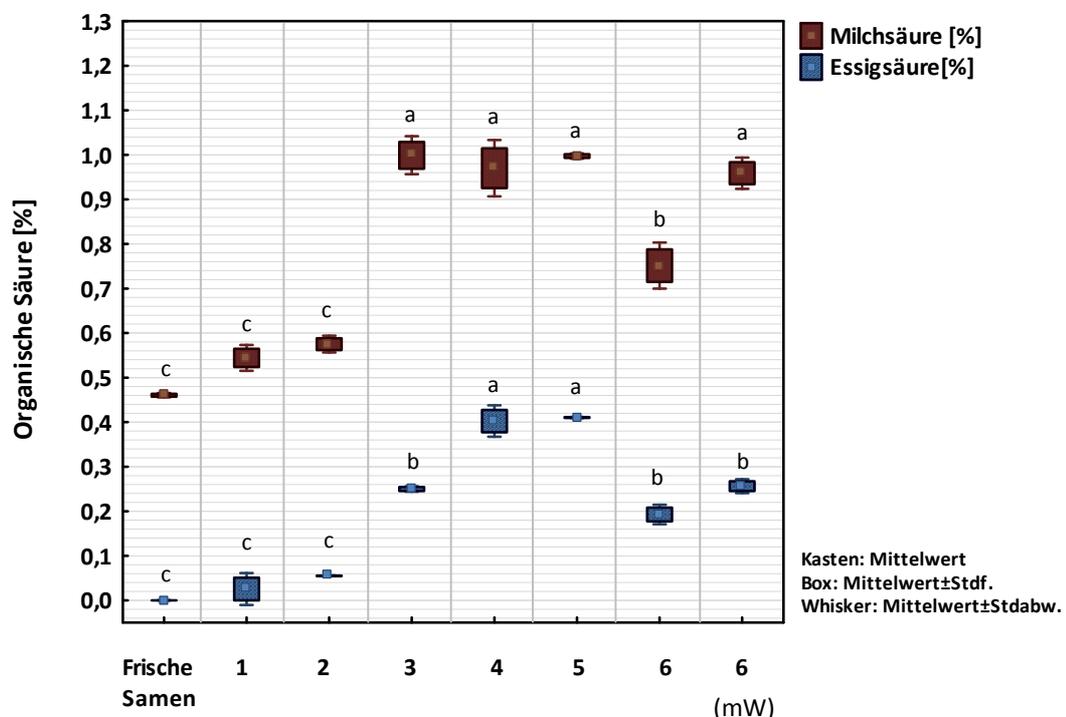
**Abb. 127: Organische Säuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 112,085$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 148,097$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



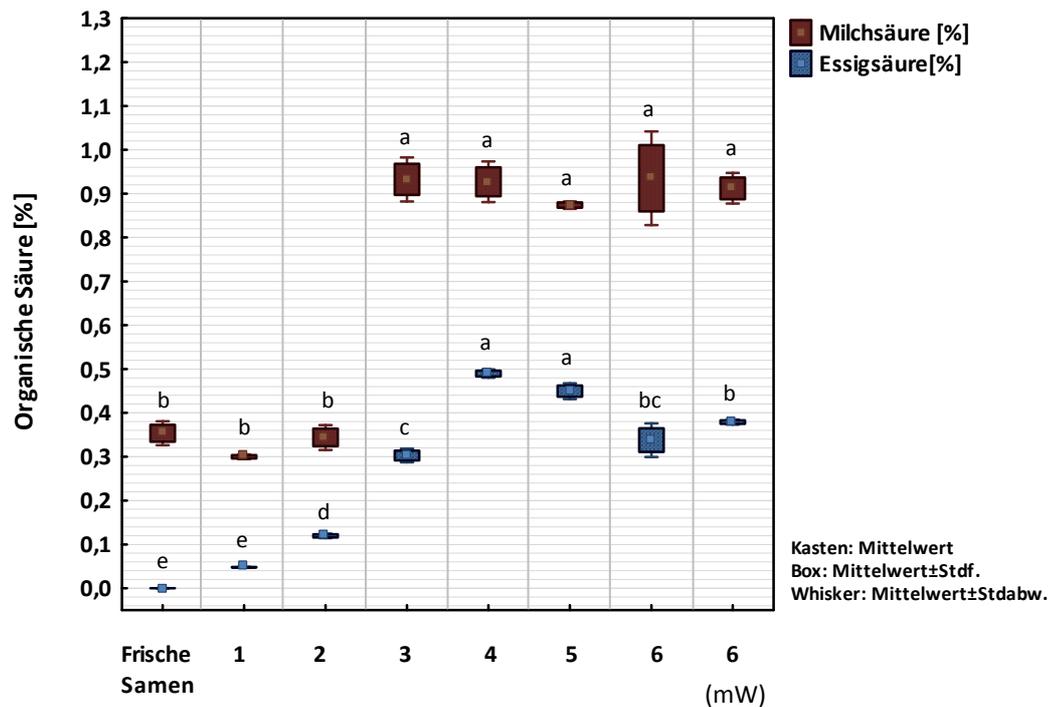
**Abb. 128: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot, gestreift) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CATIE-R1 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 91,9311$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 66,3518$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



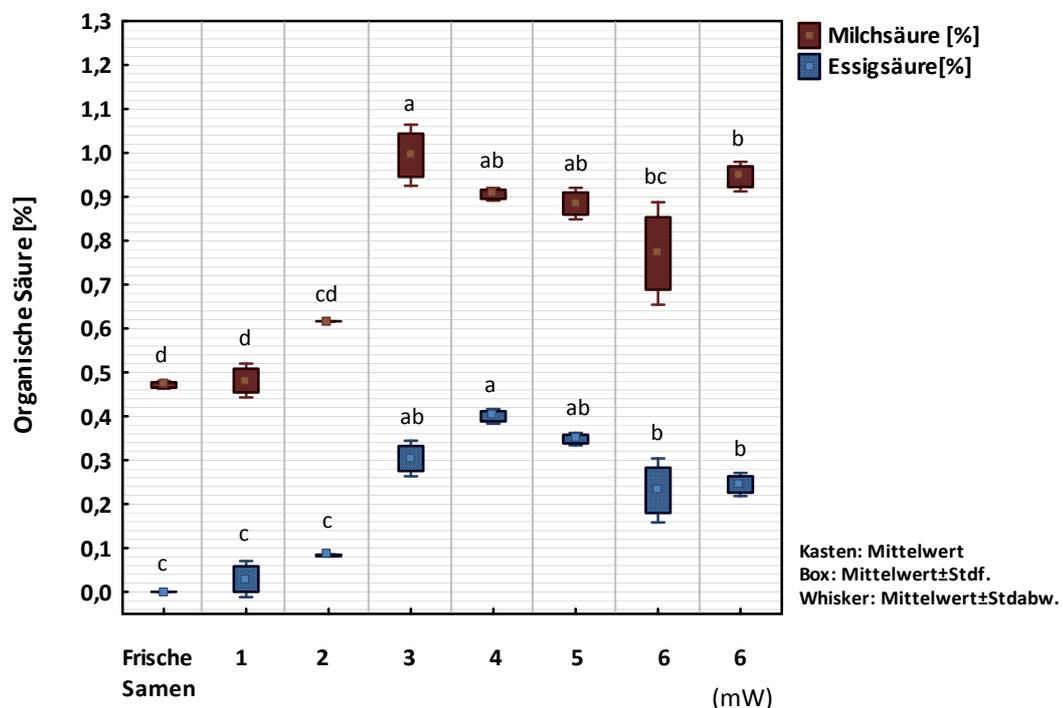
**Abb. 129: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot, gestreift) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CATIE-R1 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 75,9466$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 127,0527$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



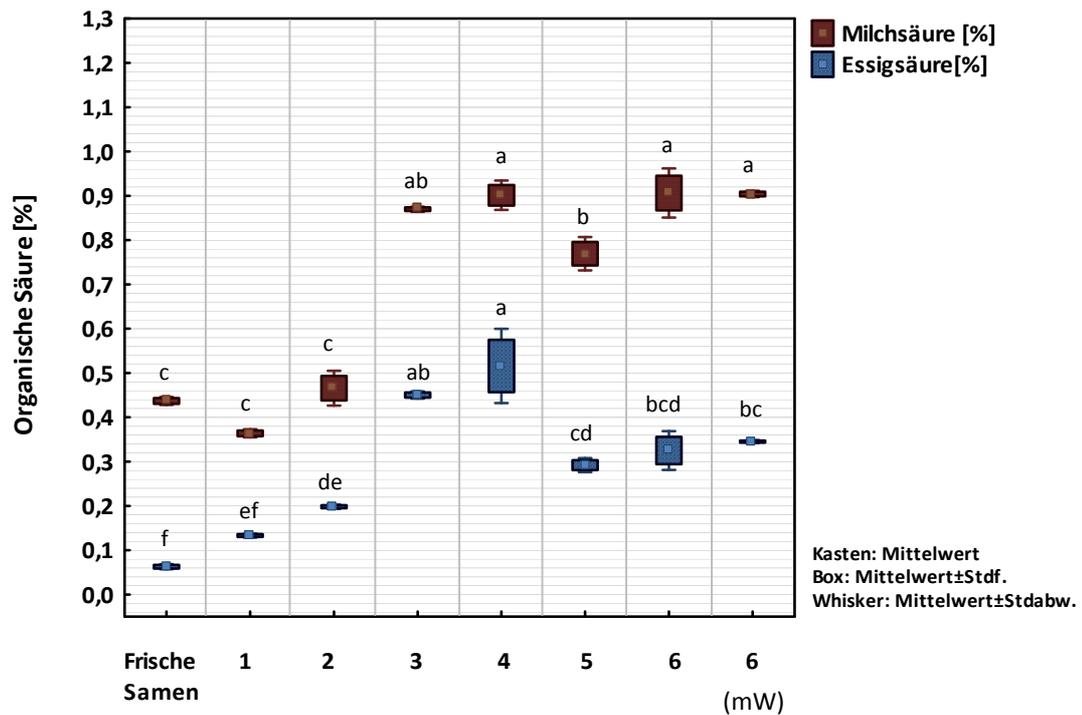
**Abb. 130: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CATIE-R4 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 77,3869$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 254,4937$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



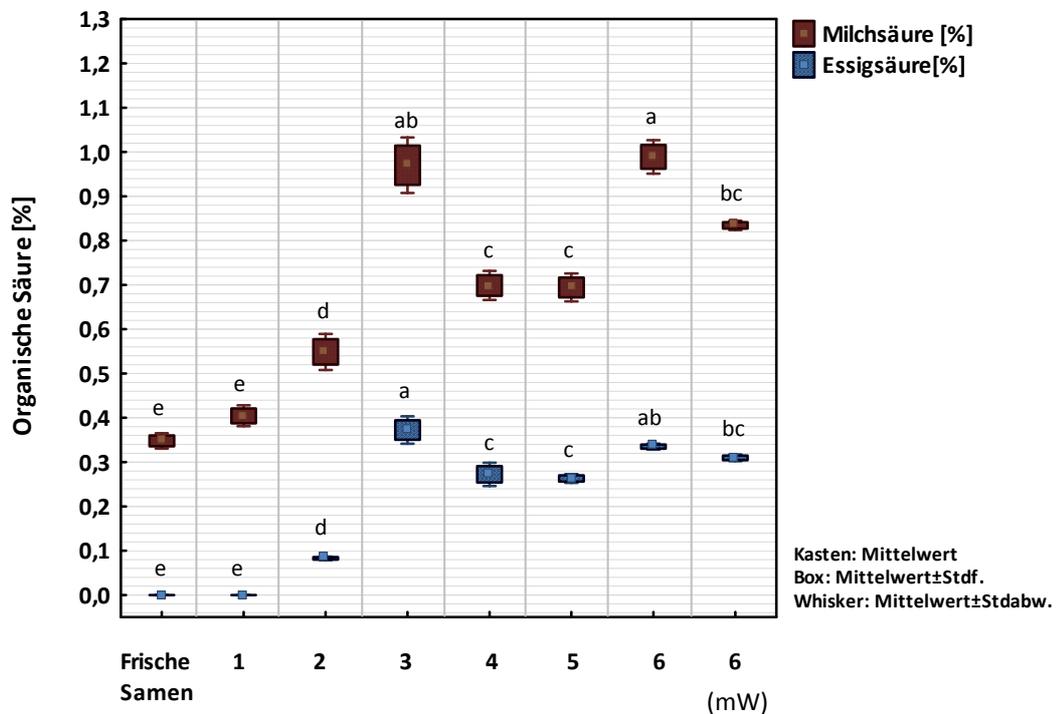
**Abb. 131: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CATIE-R4 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 31,0209$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 36,8414$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



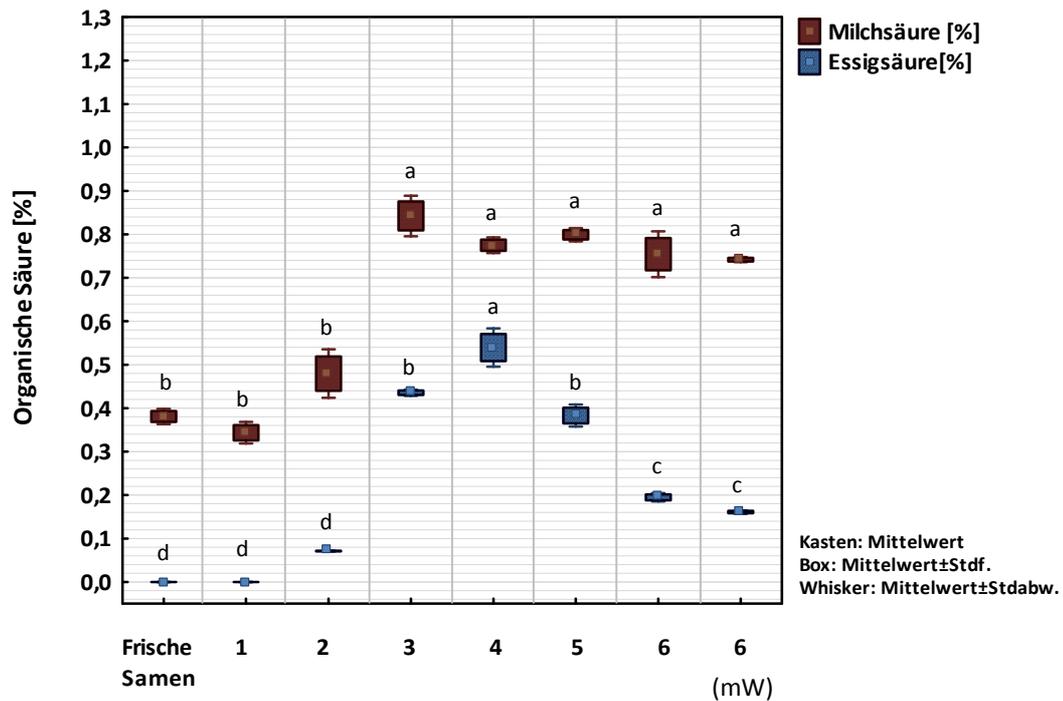
**Abb. 132: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CATIE-R6 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 122,9086$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 40,5878$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



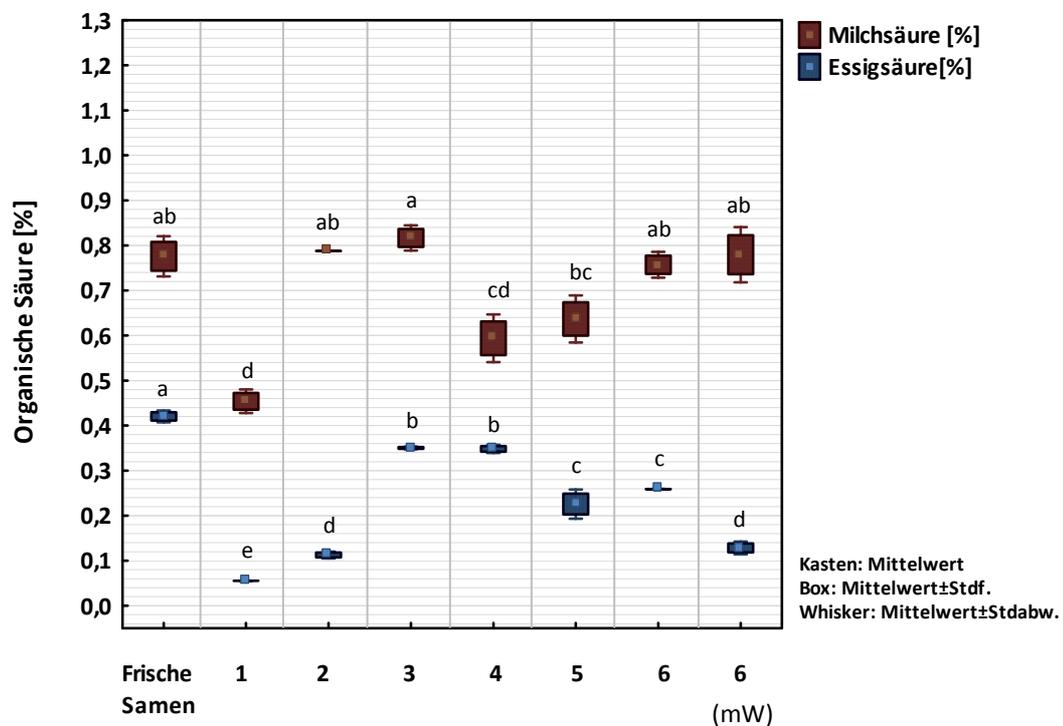
**Abb. 133: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CATIE-R6 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 92,6777$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 198,4111$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



**Abb. 134: Organische Säuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im Oktober 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CC-137 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$  und  $p = 0,0000$ . Milchsäure:  $F(7;8) = 68,7043$ . Essigsäure:  $F(7;8) = 247,1929$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.



**Abb. 135: Organische Säuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im November 2013**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Konzentrationen [%] von Milchsäure (rot) und Essigsäure (blau, gestreift) in frischen Kotyledonen sowie 1- bis 6 Tage fermentierten Samen des Kakaoklons CC-137 während der Regenzeit. mW= mit Waschung. ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test für den Effekt „Fermentationsdauer“ mit  $\alpha = 0,05$ . Milchsäure:  $p = 0,0002$  und  $F(7;8) = 18,906$ . Essigsäure:  $p = 0,0000$  und  $F(7;8) = 172,3544$ . Box plots: Mittelwert (kleines Quadrat), Standardfehler (Box) und Standardabweichung (Whisker). Je Säure sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern durch verschiedene Buchstaben gekennzeichnet.

#### 4.3.5. Reduzierende Zucker

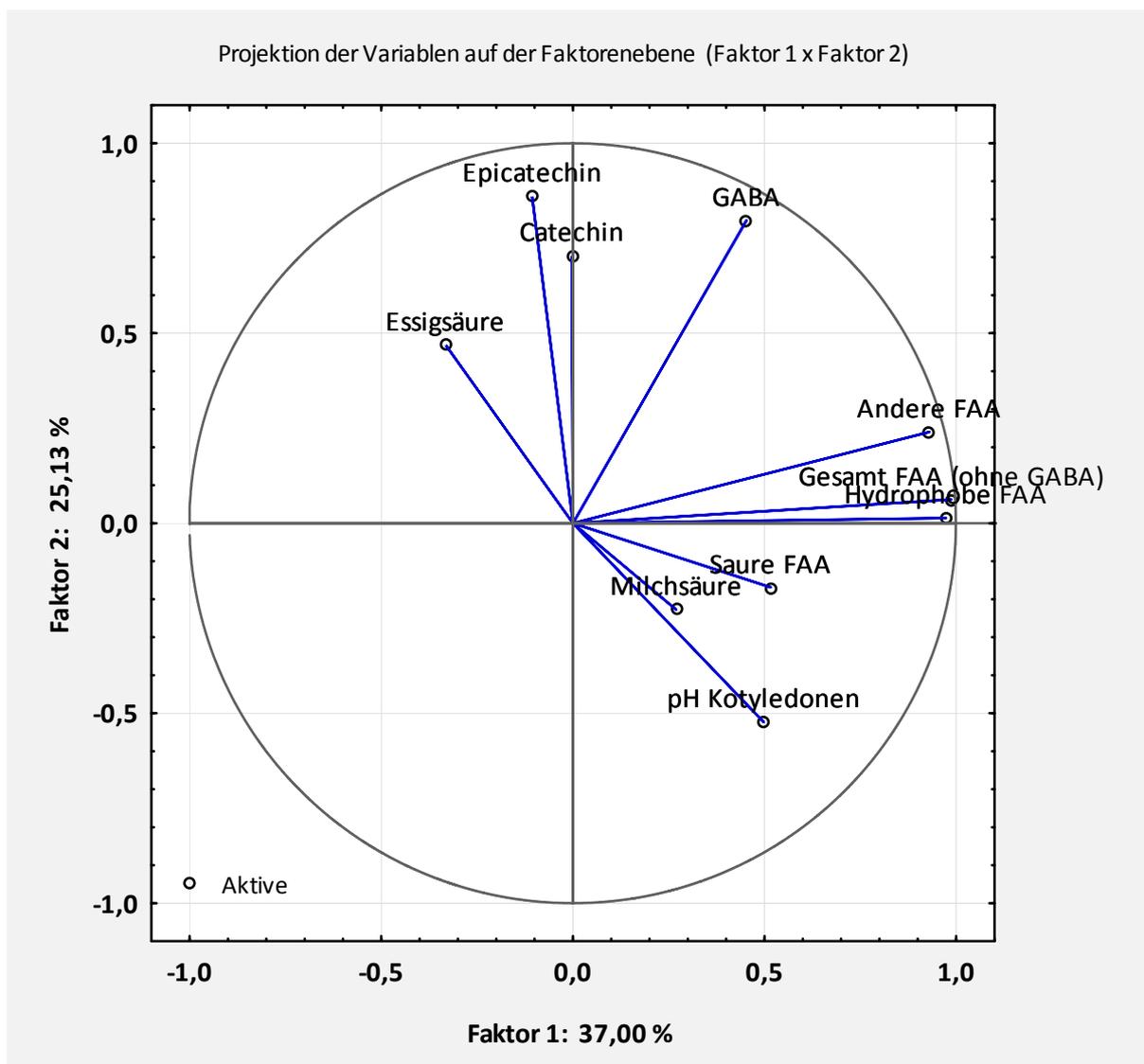
Von den gewaschenen und ungewaschenen, 6 Tage-fermentierten Kakaosamen der Regenzeitfermentationen wurde auch der Gehalt an reduzierenden Zucker [in %] bestimmt (Abb.136 A). Die fermentierten Kotyledonen enthalten lediglich Fructose, Glucose konnte nicht gefunden werden (nicht in den Abb. 136 A) und 136 B) enthalten). Zwischen den Genotypen liegen teils deutliche Unterschiede im Zuckergehalt vor. In den Oktoberproben zeigt CATIE-R6 als einziger Klon einen statistisch signifikanten Einfluss der Waschung auf die finale Fructose-Konzentration: die ungewaschenen Samen enthalten durchschnittlich 0,89 % Fructose, die gewaschenen Samen lediglich 0,51 %. Bei CATIE-R4 und ICS-95 (T1) sind die Konzentrationen des reduzierenden Zuckers ebenfalls in den ungewaschenen Kotyledonen höher (0,62 % bzw. 0,61 %), der Unterschied zu den Gewaschenen (0,41 % bzw. 0,52 %) ist jedoch nicht signifikant. Im Mittel enthält PMCT-58 am wenigsten Fructose (ca. 0,4 %), CATIE-R1 weist ca. 0,6 % auf.

In den Novemberproben ergibt sich ein etwas abweichendes Bild. Hier kann mit durchschnittlich 1,23 % am meisten Fructose in den ungewaschenen Kotyledonen von ICS-95 (T1) beobachtet werden (Abb.136 B). Die gewaschenen Samen von ICS-95 (T1) enthalten signifikant weniger Zucker (0,74 %), aber auch hier ist die Konzentration im Mittel noch höher, als bei den anderen Genotypen. CC-137 nähert sich diesen Werten am ehesten an (0,73 %). CATIE-R1 und CATIE-R6 weisen ähnliche Fructose-Konzentrationen in den ungewaschenen (0,67 %) bzw. gewaschenen (0,54 bzw. 0,57 %) Samen auf, bei CATIE-R1 ist der Effekt der Waschung gemäß ANOVA und *post-hoc* Tukey HSD Test signifikant. Die Kotyledonen von PMCT-58 zeigen mit durchschnittlich 0,47 % erneut die geringsten Mengen des reduzierenden Zuckers.



#### 4.3.6. Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Regenzeit-Proben

Zur Veranschaulichung der Korrelationen zwischen den verschiedenen untersuchten Variablen, wurde mit den in der Regenzeit gewonnenen Daten der 4- bis 6 Tage-fermentierten Kakaosamen eine PCA durchgeführt, deren Ergebnis in Abbildung 137 dargestellt wird. Folgende Variablen wurden geprüft: Epicatechin und Catechin (jeweils in  $\text{mg g}^{-1}$  ffTM),  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA, in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM), Gesamtgehalt FAA (ohne GABA, in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM), die Summe aller hydrophoben FAA, sauren FAA bzw. anderen FAA (jeweils in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  ffTM), Milchsäure und Essigsäure (jeweils in %) sowie der pH-Wert der Kotyledonen.



**Abb. 137: PCA der Regenzeit-Proben**

Abgebildet sind die aktiven Variablen, welche der Hauptkomponentenanalyse zu Grunde liegen: Gehalt an Essigsäure, Milchsäure, Epicatechin, Catechin,  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA), Gesamt FAA (ohne GABA), Hydrophobe FAA, Saure FAA, Andere FAA sowie der pH-Wert der Kotyledonen. Probenmaterial: 4- bis 6 Tage fermentierte Kakaosamen der 6 Genotypen. Erklärte Gesamt-Varianz durch Faktor 1: 37,00 %, durch Faktor 2: 25,13 %, durch Faktor 3 (nicht dargestellt): 16,67 %.

Die PCA hat ergeben, dass ca. 62 % der Gesamtvarianz durch Faktor 1 und Faktor 2 erklärt werden können (Abb.137). Es fällt auf, dass die phenolischen Substanzen Epicatechin und Catechin eine Gruppe mit der Essigsäure bilden und anders positioniert sind, als die restlichen Variablen. Die Milchsäure ist positiv mit der Summe der sauren FAA sowie mit dem pH-Wert der Kotyledonen korreliert und steht tendenziell in ähnlichem Verhältnis zum Faktor 1, wie die Summe der hydrophoben und anderen FAA. Letztere sind zudem stark positiv mit dem Gesamtgehalt an FAA korreliert. Zwischen den phenolischen Substanzen liegt eine positive Korrelation mit dem Essigsäuregehalt vor. Die 3 Variablen Epicatechin, Catechin und Essigsäure befinden sich in orthogonaler Position zu den hydrophoben FAA, anderen FAA und dem Gesamtgehalt FAA und weisen somit keine Abhängigkeit zu ihnen auf. Zwischen dem Essigsäuregehalt und dem pH-Wert der Kotyledonen liegt eine stark negative Korrelation vor.

Die nicht-proteinogene Aminosäure GABA ist sowohl im positiven Bereich des Faktors 1, als auch Nähe 1 des Faktors 2 positioniert. Damit verhält sie sich anders als alle anderen Variablen. Tendenziell nähert sich der GABA-Wert der Gruppe der phenolischen Substanzen an, die Korrelationsmatrix weist auf eine positive Korrelation mit Epicatechin hin.

#### **4.4. Misch-Fermentationen mit und ohne TA-Schleim**

Während der Regenzeit wurden neben monoklonalen Fermentationen auch Misch-Fermentationen der 6 Genotypen implementiert. BAHMANN (2014) konnte zeigen, dass die unterhalb der Epidermis lokalisierten Schleimkavernen nach (enzymatischem) Pulpaabbau ein großes Wasserbindungspotential aufweisen. Durch den Kontakt mit Wasser beginnen sie zu quellen und schaffen eine physikalische und biochemische Barriere zwischen Samen und Umwelt (BAHMANN 2014). Eine Hemmung von Pilzen, u.a. verschiedener Hefen, durch die im TA-Schleim vorhandene Chitinase und Glucanase, wird ebenfalls beschrieben. Essigsäure- und Milchsäurebakterien werden biochemisch offenbar nicht beeinträchtigt (BAHMANN 2014). Während der ersten 48 h der Fermentation wird die Kakaopulpa pektinolytisch abgebaut, da Hefen die Zucker zur Ethanolproduktion nutzen, so dass die Schleimkavernen potentiell freiliegen und möglicherweise den weiteren Fermentationsverlauf beeinflussen.

Im Rahmen der Mikro-Fermentationen der Regenzeit wurde eine Hemmwirkung des TA-Schleims während der Fermentation, insbesondere während der von Hefen dominierten ersten Phase, untersucht. Vor diesem Hintergrund wurden sowohl Mischfermentationen ohne Zugabe von TA-Schleim (Mix 1), als auch mit Zugabe von 300 ml (Mix 2) bzw. 600 ml (Mix 3) TA-Schleims (Kapitel 3.2.2.3.1) durchgeführt. Beim Verlauf der Fermentationstemperatur konnten keine signifikanten Abweichungen beobachtet werden. Die Auswertungen der Proben des ersten Zyklus (Oktober 2013)

weisen auf einen verzögerten Abbau der Pulpazucker während der ersten 24 h hin (nicht dargestellt), diese Beobachtung konnte im 2. Zyklus jedoch nicht bestätigt werden. In beiden Zyklen stieg der pH-Wert bei den Schleim-Fermentationen zwischen Tag 5 und Tag 6 auf 6,7 bis 7, während die Fermentationen ohne Schleim saurer blieben (5,4 bzw. 5,7). Weitere Versuche sind notwendig, um die genauen Mechanismen und Auswirkungen des Schleims auf die Fermentationsmasse zu untersuchen.

Bei Fermentationen von Nacional-Kakao in Ecuador, führten große Schleimmengen zu verlangsamten fermentativen Prozessen (Abb.138). Die Fermentationstemperatur stieg nicht bzw. sehr ungleichmäßig innerhalb des Kakaomaterials an; die Samen wiesen am 2. Fermentationstag eine grau-bläuliche Färbung auf und der Kakao war sehr feucht (pers. Beobachtung).

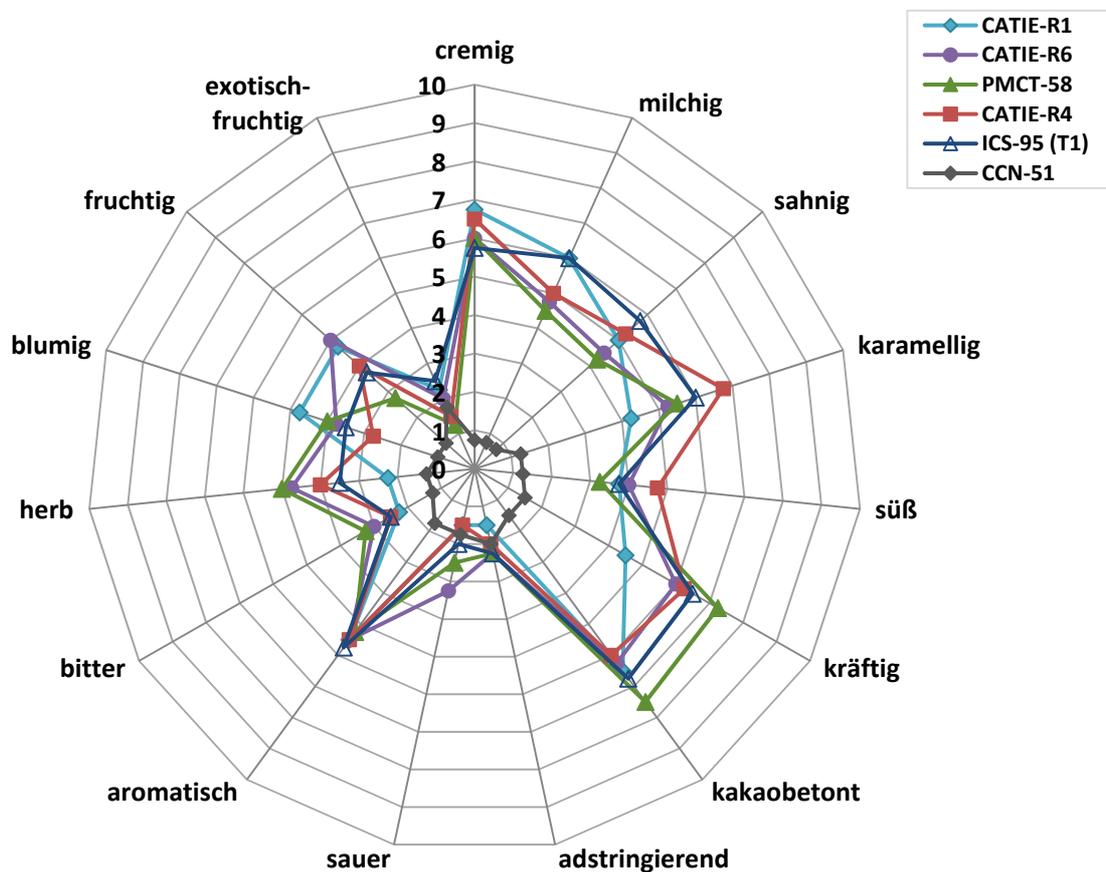


**Abb. 138: TA-Schleim in fermentierender Kakaomasse**  
Schleimbildung während der Fermentation von Nacional-Kakao in Ecuador

#### 4.5. Aromaprofile monoklonaler Probeschokoladen

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Blindverkostung der Probeschokoladen durch das Expertenpanel der Firma Rausch Schokoladen GmbH vorgestellt. Neben den 5 Schokoladenmustern der neuen Kakaoklone, wurde auch das Geschmacksprofil des Konsum-Kakaoklons CCN-51 evaluiert. Zur Kontrolle diente die Dunkle Vollmilchschokolade „Costa Rica“ der Firma Rausch Schokoladen GmbH. Zum direkten Vergleich werden die Verkostungsergebnisse zunächst gemeinsam dargestellt und beschrieben (Abb. 139) und anschließend mit den entsprechenden sensorischen Anmerkungen des Qualität-Panels einzeln vorgestellt (Abb. 140-145).

##### 4.5.1. Alle Klone im Vergleich



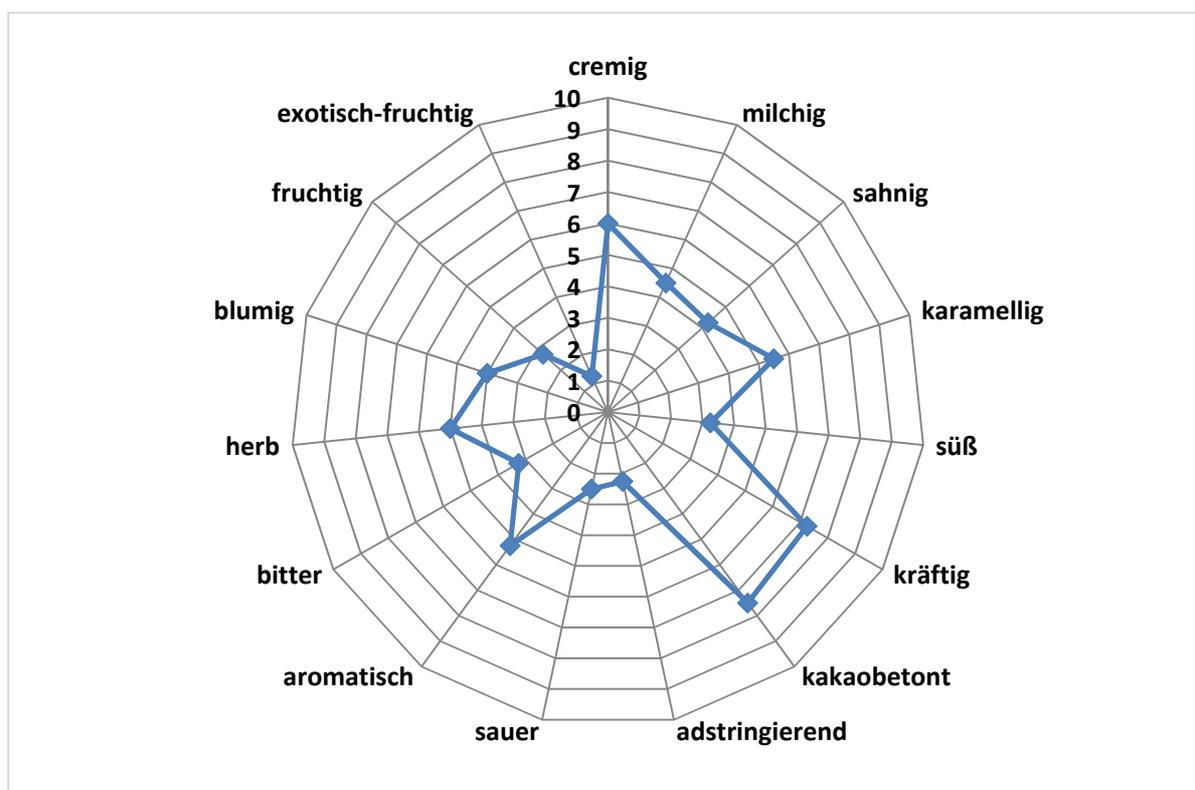
**Abb. 139: Geschmacksprofile der monoklonalen Schokoladen**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Ergebnisse der sensorischen Evaluierung der Schokoladen der Kakaoklone CATIE-R1 (türkis, Karo), CATIE-R6 (lila, Kreis), PMCT-58 (grün, Dreieck), CATIE-R4 (rot, Viereck), ICS-95 T1 (dunkelblau, leeres Dreieck) sowie des Kontrollklons CCN-51 (dunkelgrau, kleines Karo). 0-10: Intensität des Aromattributs, mit 0= nicht wahrgenommen und 10 = dominierend. n =5

Die Blindverkostung der monoklonalen Probeschokoladen hat große Unterschiede im Geschmackprofil der einzelnen Genotypen ergeben (Abb.139). Die größte Differenz kann zwischen den Kakao-Eliteklonen aus Costa Rica und dem Konsumkakao CCN-51 beobachtet werden. Letzterer

wird vorrangig als *adstringierend* beschrieben, insgesamt ist das Aroma sehr flach im Vergleich zu den anderen Genotypen. Letztere sind allesamt *aromatisch*, divergieren jedoch hinsichtlich einzelner Attribute. Die Schokolade von PMCT-58 tritt durch die Eigenschaften *kakaobetont*, *kräftig*, *herb* in den Vordergrund, bei *bitter* und *blumig* gehört er ebenfalls zu den Vorreitern. CATIE-R1 entwickelt offenbar ein *fruchtig-blumiges* Aroma, die Schokolade schmeckt zudem *cremig-milchig* und ist weniger *kräftig* und *karamellig*, als die der anderen Feinkakaos. Adstringenz und Bitterkeit sind bei diesem Klon am geringsten vorhanden. CATIE-R6 zeichnet sich durch einen *fruchtig-herben* Geschmack mit leichter *Säure* aus. *Blumige* Noten sind ebenfalls wahrgenommen worden. Die Schokolade von CATIE-R4 wird als besonders *karamellig-cremig* beschrieben, sie ist *süß* und *fruchtig*, dafür weniger *kakaobetont* und *blumig* als die der anderen Elite-Klone. Diese Schokolade enthält am wenigstens Säure. Bei ICS-95 (T1) treten vor allem die Eigenschaften *sahnig-milchig-karamellig* hervor und der Klon erreicht bei *exotisch-fruchtig* die höchste Punktzahl. Die Schokolade ist zu einem gewissen Grad *adstringierend*, dafür aber weder besonders *sauer* noch *bitter*. Insgesamt treten die Elite-Klone mit kräftigem Aroma auf, das facettenreicher ist, als das des Konsumkakaos CCN-51.

#### 4.5.2. PMCT-58



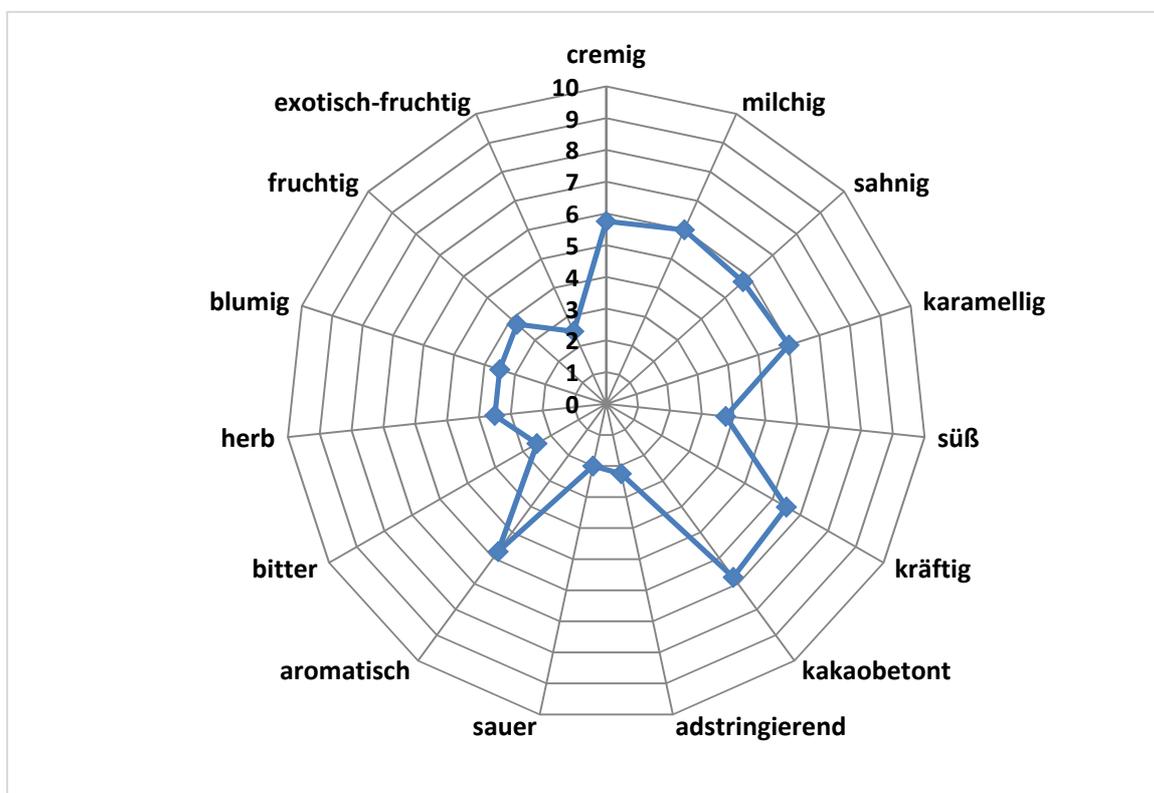
**Abb. 140: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons PMCT-58**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Punktzahlen je Geschmacks-Attribut, welche aus der Blindverkostung und sensorischen Evaluierung der Probeschokolade von PMCT-58 resultieren.

**Tab. 13: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von PMCT-58**

<b>Beginn</b>	deutlicher Peak, sanfter Anstieg, herbe Kakaonote, gleich
<b>Mitte</b>	Charakter bleibt, sahniger Kakaoschmelz, gleich
<b>Nachgeschmack</b>	stark im Abgang, etwas unrund, wird im Abgang intensiver, kräftige herbe Kakaonote
<b>Allg. Bemerkung</b>	relativ eindimensionaler Geschmacksverlauf
<b>Aromabeschreibung</b>	ansteigend, nicht so voll wie z.B. 33 (Anmerkung Autor: 33 = CATIE-R1)

#### 4.5.3. ICS-95 (T1)



**Abb. 141: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons ICS-95 (T1)**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Punktzahlen je Geschmacks-Attribut, welche aus der Blindverkostung und sensorischen Evaluierung der Probeschokolade von ICS-95 (T1) resultieren.

**Tab. 14: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von ICS-95 (T1)**

<b>Beginn</b>	kräftig kakaobetont, sehr schnell einsetzender Geschmack, mild, milchig, kakaorig, ungleich
<b>Mitte</b>	rund kräftig, kakaobetont, Mitte kommt eher später zum Vorschein, kakaorig, karamellig
<b>Nachgeschmack</b>	Stehen bleibende Note nicht unangenehm, relativ mild, bleibt lange stehen, etwas unrund, sehr mild, karamellig, Kakaonote
<b>Allg. Bemerkung</b>	eher milde Kakaonote, Karamell-betont
<b>Aromabeschreibung</b>	ausgeglichen, süß, karamellig, milchig, milder Kakao

## 4.5.4. CATIE-R1

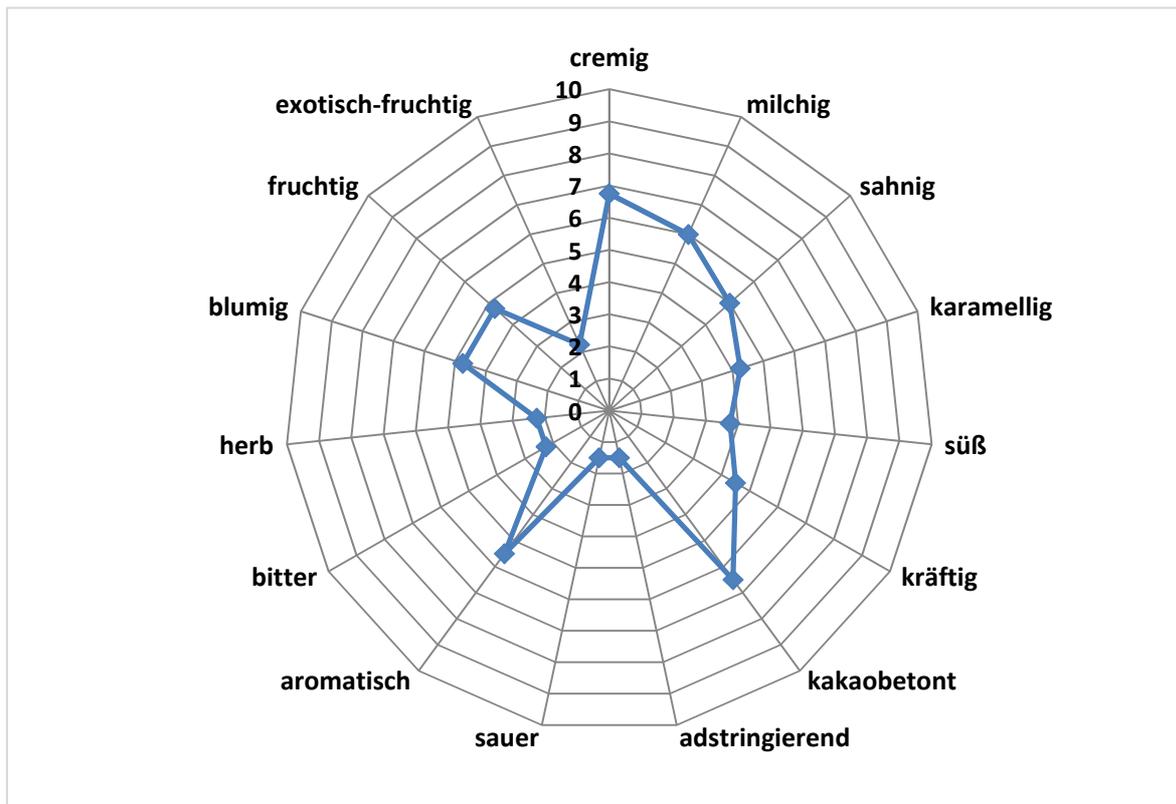


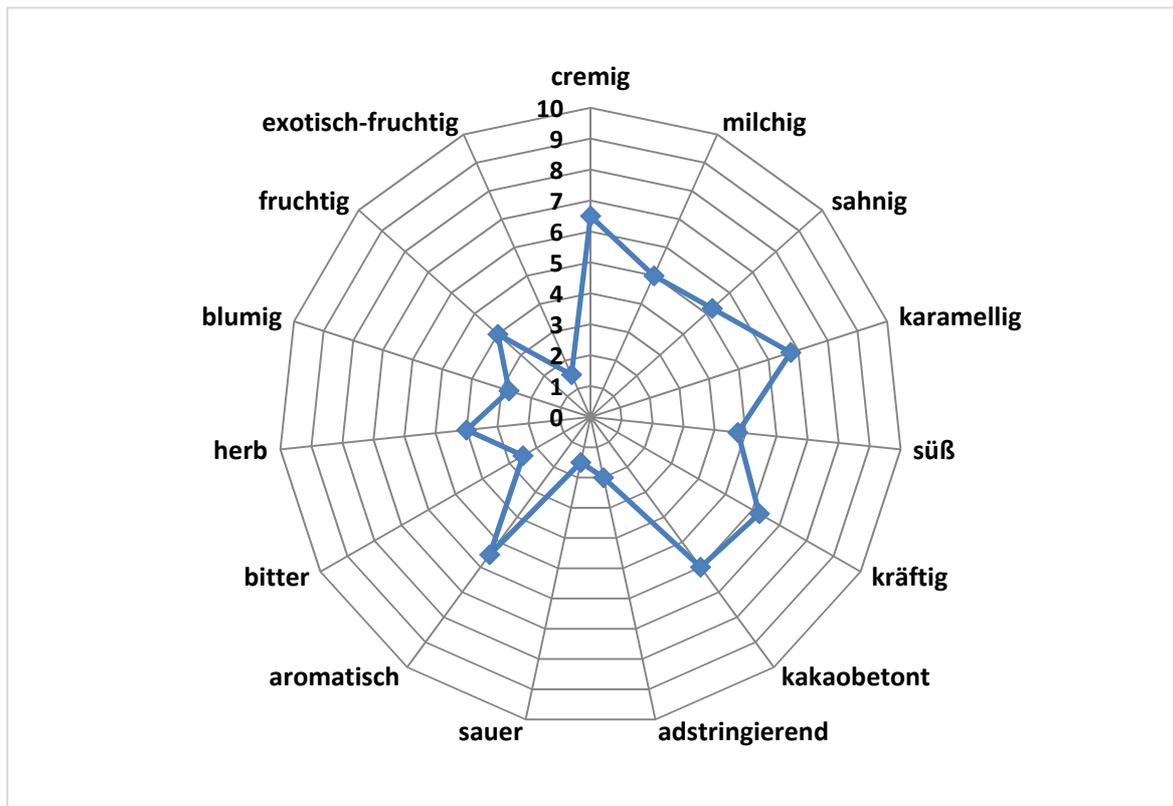
Abb. 142: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CATIE-R1

Dargestellt sind die durchschnittlichen Punktzahlen je Geschmacks-Attribut, welche aus der Blindverkostung und sensorischen Evaluierung der Probeschokolade von CATIE-R1 resultieren.

Tab. 15: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CATIE-R1

<b>Beginn</b>	mild Kakao, sanfter Anstieg, kräftig, kakaorig, sahniger Schmelz
<b>Mitte</b>	gleich, dominanter Geschmack, jedoch sanft im Aroma, sehr gleichmäßiger Geschmacksverlauf
<b>Nachgeschmack</b>	kakaorig, etwas Schärfe bleibt stehen, linearer Nachgeschmack, blumige Kakaonote
<b>Allg. Bemerkung</b>	rund, runder Geschmacksverlauf
<b>Aromabeschreibung</b>	typisch Costa Rica, ausgeglichen

## 4.5.5. CATIE-R4



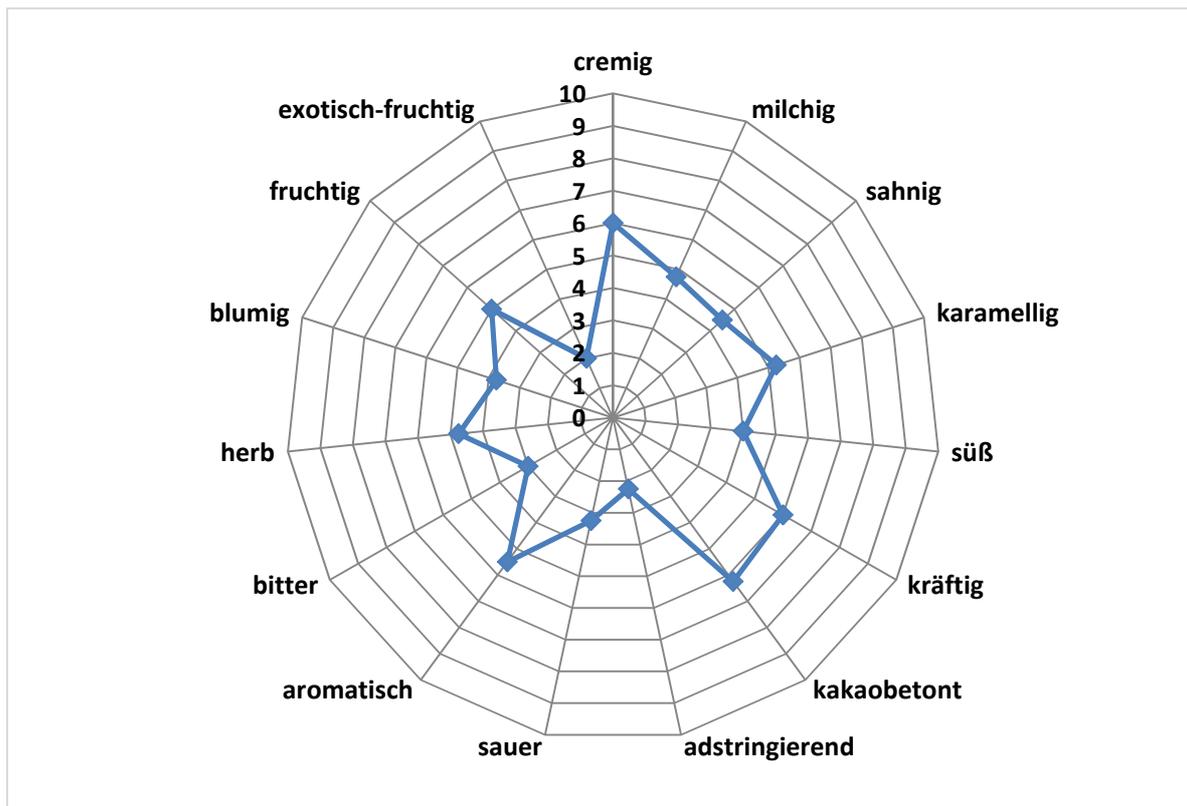
**Abb. 143: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CATIE-R4**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Punktzahlen je Geschmacks-Attribut, welche aus der Blindverkostung und sensorischen Evaluierung der Probeschokolade von CATIE-R4 resultieren.

**Tab. 16: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CATIE-R4**

<b>Beginn</b>	schwach, leichter Anstieg, sehr milde Kakaonote
<b>Mitte</b>	langsam aufbauend, gleich, bleibt lange stehen, karamellig
<b>Nachgeschmack</b>	sehr starker Abgang, kräftige Note bleibt stehen, mild karamellig, ok
<b>Allg. Bemerkung</b>	wertvoll, relativ gleichmäßig, sehr mild
<b>Aromabeschreibung</b>	ausgeglichen, in Ordnung

## 4.5.6. CATIE-R6



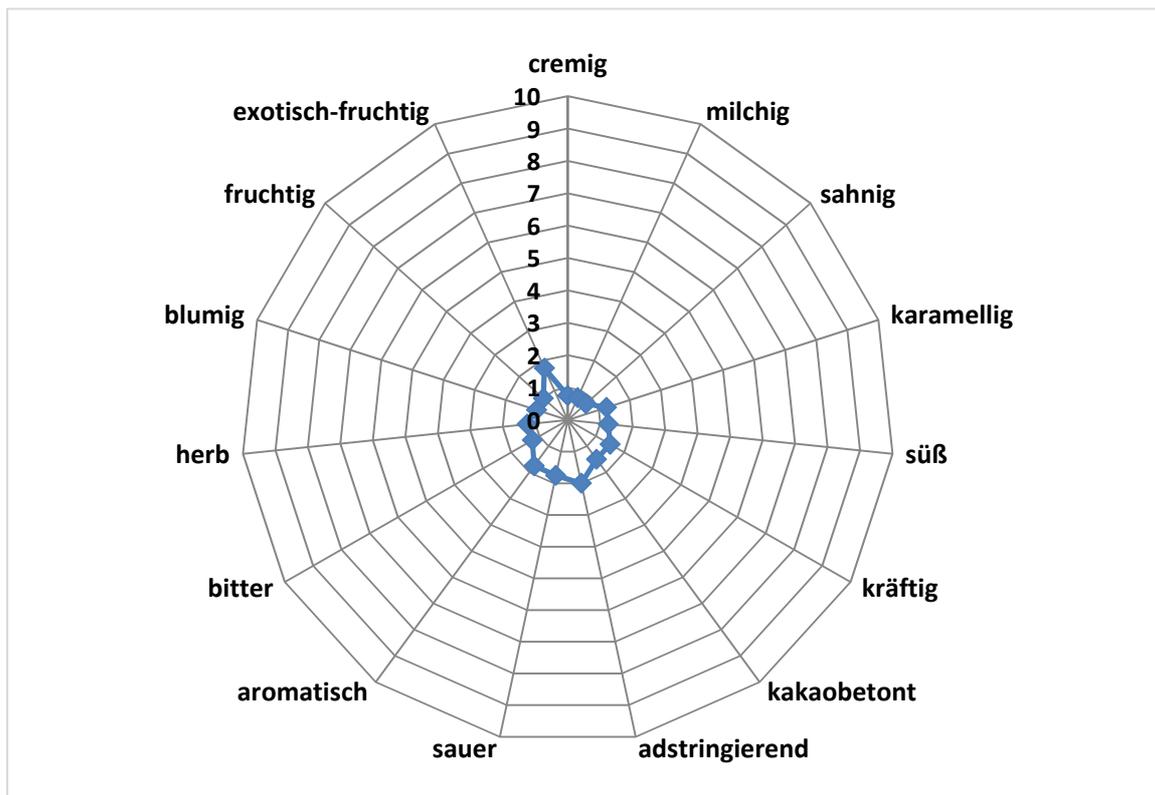
**Abb. 144: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CATIE-R6**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Punktzahlen je Geschmacks-Attribut, welche aus der Blindverkostung und sensorischen Evaluierung der Probeschokolade von CATIE-R6 resultieren.

**Tab. 17: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CATIE-R6**

<b>Beginn</b>	kräftiger Kakao, spät eintretender Geschmack, kakaorig herb
<b>Mitte</b>	gleich, Füllig im Geschmack, sahnig, karamellig
<b>Nachgeschmack</b>	Kakaonote, gewisse Herbe verbleibt, unrund, guter Nachgeschmack
<b>Allg. Bemerkung</b>	Geschmacksverlauf wird sowohl als unrund als auch als rund beschrieben
<b>Aromabeschreibung</b>	ansteigend, in Ordnung

## 4.5.7. CCN-51



**Abb. 145: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CCN-51**

Dargestellt sind die durchschnittlichen Punktzahlen je Geschmacks-Attribut, welche aus der Blindverkostung und sensorischen Evaluierung der Probeschokolade von CCN-51 resultieren.

**Tab. 18: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CCN-51**

<b>Beginn</b>	starke unangenehme Peaks, sauer, unrund, kratzig
<b>Mitte</b>	nach wie vor sauer, leicht bitter
<b>Nachgeschmack</b>	Fremdgeschmack, unangenehm, sauer, unharmonisch
<b>Allg. Bemerkung</b>	nicht brauchbar, Fremdgeschmack
<b>Aromabeschreibung</b>	sauer, schwach adstringierende Fehl-Note

## 5. Diskussion

### 5.1. Aromagebende Komponenten in Kakao

Im globalen Rohkakaohandel wird unterschieden zwischen Konsumkakaos und Feinkakaos (SUKHA et al., 2007). Letztere weisen neben dem typischen Schokoladenaroma zusätzlich Feinaromen auf, die u.a. als blumig, fruchtig oder würzig beschrieben werden und den organoleptischen Charakter des abschließenden Schokoladenliquors maßgeblich prägen (AFOAKWA et al., 2008, 2009; SUKHA et al., 2006, 2013; ZIEGLER, 1990a, 1990b). Die wichtigsten volatilen und nicht-volatilen Feinromakomponenten lassen sich entsprechend ihrer Synthesewege und chemischen Eigenschaften in verschiedene Gruppen einteilen: u.a. Terpene, Alkohole, Aldehyde, Carbonsäuren, Methylketone und Ester (BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009). Bei dem Aroma von Schokoladenliquors, spielen zusätzlich zu den genannten Verbindungen Pyrazine und Furanderivate eine wichtige Rolle (SCHIEBERLE und PFNUER, 1999; RODRIGUEZ-CAMPOS et al. 2011, AFOAKWA et al., 2008; BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009). Der Ursprung von Feinaromen in Edelschokoladen ist noch nicht eindeutig geklärt, verschiedene Studien belegen heute jedoch einen wesentlichen Einfluss der Kakaopulpa (ESKES et al. 2007, 2009; KADOW et al. 2013; AFOAKWA et al. 2008). Sekundären Stoffwechselprodukten von Hefen werden ebenfalls aromagebende Eigenschaften zugeschrieben (RAMOS et al., 2014, SCHWAN und WHEALS, 2004). Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit lag nicht, ebenso wie bei KADOW et al. (2013), auf einer genauen Quantifizierung aromagebender Kakaopulpa-Komponenten. Vielmehr sollte die Heterogenität von *Theobroma cacao* L. am Beispiel 6 moderner Kakao-Selektionen und deren Pulpaaromen exemplarisch aufgezeigt werden.

#### 5.1.1. Mögliche Herkunft und Ausbildung der aromagebenden Komponenten

Aldehyde können aus primären Alkoholen entstehen, die bei Autoxidation oder enzymatischer Lipidperoxidation von gesättigten- und ungesättigten Fettsäuren gebildet wurden (BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009). Aufgrund des Fettsäuremusters von *Theobroma cacao* L. (mit Palmitin-, Stearin-, Olein- und Linoleinsäure im Verhältnis 25:37:34:3) ist Autoxidation jedoch weitgehend ausgeschlossen (BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009). Aldehyde können aber auch im Rahmen der *Strecker* Degradation aus Aminosäuren entstehen (BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009, AFOAKWA et al., 2008). Sekundäre Alkohole können zu Ketonen oxidiert werden und unter Einfluss von Carbonsäuren zu Estern reduziert werden.

Die Chromatogramme aller analysierten Pulpen zeigten größte Peakflächen bei den Estern 2-Pentanolacetat und 2-Heptanolacetat. Bei einer vergleichbaren Untersuchung der Kakaopulpen von SCA-6, EET 62 (Feinkakaos) und CCN 51 (Konsumkakao), wiesen die beiden Ester ebenfalls den größten Anteil am Gesamtpulpaaroma auf (KADOW et al., 2013). Demnach muss gefolgert werden,

dass die Ausbildung der Genotyp-spezifischen Aromabouquets zusätzlich zu diesen hauptsächlich aromagebenden Verbindungen, durch eine Kombination diverser Minorkomponenten bewirkt wird.

### 5.1.2. Reifespezifische Entwicklung der aromagebenden Komponenten in der Pulpa

Die Minorkomponenten variieren in Abhängigkeit vom Reifegrad der Früchte stark, wie in dieser Studie erstmals analytisch gezeigt werden konnte. Mit zunehmender Fruchtreife nimmt die Komplexität geringer konzentrierter Aromaverbindungen deutlich zu. Der Anteil pflanzlich, krautig, grün riechender Stoffe nimmt zugunsten würziger, fruchtiger, blumiger Komponenten ab. Es ist zu vermuten, dass dieser Wechsel der Aromaeigenschaften mit einer biologischen Funktion verbunden ist. In dem Zusammenhang ist der Bericht von WARREN und EMAMDIE (1992) interessant, dass Eichhörnchen reife Früchte gegenüber unreifen Früchten bevorzugt annagen und eine Schlüsselfunktion in der Samenverbreitung von Kakao einnehmen. Die überwiegend lipophilen und volatilen Fein aromakomponenten diffundieren mit zunehmendem Dampfdruck durch Fruchtwände nach außen und können olfaktorisch wahrgenommen werden; oft beurteilen erfahrene Kakaobauern den Reifegrad der Früchte nach dem Geruch am Stielansatz (persönl. Kommunikation LIEBEREI, 2015). Dies erklärt auch die Beobachtungen und Annahmen von WARREN und EMAMDIE (1992), dass Eichhörnchen Früchte aufgrund des Geruchs und der Farbe selektieren und bestimmte Genotypen (SCA-6) bevorzugen. Das Pulpaaroma von SCA-6 wurde sowohl in der vorliegenden Studie als auch bei den Studien von KADOW et al. (2013) analysiert. Es ist charakterisiert durch vergleichsweise hohe Anteile würziger und blumiger Terpene und Alkohole und zeigt damit ähnliche Eigenschaften wie die hier untersuchten Kakaoklone CATIE-R4 und CATIE-R6 auf. Letztere sind genetisch eng miteinander verwandt; beide haben die gleichen Kreuzungseltern (UF 273 (T1) x PA-169). Dies wirkt sich offenbar auch auf den Aromacharakter des Fruchtfleisches aus, denn im Vergleich zu den anderen Selektionen des CATIE weisen beide die höchsten Konzentrationen der Monoterpene trans-Ocimen,  $\alpha$ -Ocimen und Myrcen sowie des blumigen Terpenalkohols Linalool auf. Zudem sind in ihren Pulpen Spuren der Sesquiterpene  $\alpha$ -Bergamoten,  $\alpha$ -Copaen (beide holzig-würzig) und trans- $\beta$ -Farnesen (fruchtig) sowie des Esters Linalylacetat (pflanzliche Aromanote) gefunden worden.

Das Pulpaaroma von CATIE-R1 besteht vorrangig aus Alkoholen, Estern und Ketonen. Der hohe Anteil fruchtiger Aromen basiert auf 2-Pentanolacetat und 2-Pentanon. Blumige und erdige Noten liefern u.a. cis-Linalooloxid, trans-Linalooloxid und Epoxyllinalool (SUBURG und PANTEN, 2006). Monoterpene spielen bei dem Klon eher eine untergeordnete Rolle. Dafür weist CATIE-R1 viele Spuren komplexer Sesquiterpene auf, so wie auch CATIE-R4 und CATIE-R6. Diese Übereinstimmungen könnten darin begründet sein, dass alle 3 Klone den Genotypen UF-273 (T1) als weiblichen Kreuzungselter haben. Eigenschaften der Pulpagewebe werden unter anderem über Organell- lokalisierte Erbinformationen codiert (Plastom, Mitochondriom) und sind aus dem Gewebe der Mutterpflanze (Mesokarp und

Endokarp) gebildet (ANDERSSON et al., 2006). KADOW et al. (2013) nennen 2-Heptanolacetat, 2-Heptanol, 2-Heptanon und 2-Nonanon als Schlüsselkomponenten des Aromas von EET 62. Diese Stoffe sind weder beim Konsumkakao CCN-51 noch bei SCA-6 in vergleichbaren Mengen detektiert worden. Dies stimmt überein mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, in der zusätzlich zu den von KADOW et al. (2013) benannten Schlüsselkomponenten die Duftstoffe 2-Octanolacetat und 2-Nonanol bei EET 62 und auch ICS-95 (T1) gefunden wurden. Beide Verbindungen ergänzen die Aromacharaktere der Klone um Zitrusnoten (MOSCIANO, 1990, THE GOOD SCENT COMPANY). Generell können viele Parallelen in der Aromakomposition von EET 62 und ICS-95 (T1) beobachtet werden. Besonders sekundäre Alkohole, Ester und Methylketone sind an der Ausprägung des Pulpaaromas beteiligt (s. auch KADOW et al. (2013)).

PMCT-58 zeigt zwar von allen untersuchten Genotypen die geringste Aromaintensität, enthält jedoch Spuren vieler verschiedener Duftstoffe, u.a. des süßlich und an Orangenblüte erinnernden Methylketons Acetophenon sowie dessen Derivat Styrallylalkohol und Styrallylacetat, die ebenfalls als blumig beschrieben werden (SUBURG und PANTEN, 2006).

Die Konzentrationen einzelner Minorkomponenten könnten unter der olfaktorischen Wahrnehmungsschwelle liegen (KADOW et al. 2013), aber in Kombination mit anderen volatilen Duftstoffen eine neue Aromaqualität liefern. Diese aromagebenden Komponenten sind offensichtlich für Kakaopulpa typisch, aber während der Reifungsvorgänge veränderbar und ergeben interessante sogenannte „additive Effekte“, die für das endgültige Gesamtaroma entscheidend sein können (BELITZ, GROSCH und SCHIEBERLE, 2009).

### 5.1.3. Lokalisierung der Aromakomponenten im Gewebe

Viele Aromakomponenten sind lipophil. Daher liegt die Vermutung nahe, dass es zu einem Transfer dieser Duftstoffe aus der Kakaopulpa in die Kotyledonen und einer Anreicherung in den dortigen Speicherfetten kommt. Dieses Phänomen ist u.a. von KADOW et al. (2013) postuliert worden. Kakaosamen enthalten je nach Genotyp, Jahreszeit und Region zwischen 45-60 % Fett (PIRES et al., 1998; LOCKWOOD und ESKEs, 1996), so dass große Mengen der wenig polaren Aromastoffe aus den Pulpen in den Lipid-Vakuolen der Mesophyllzellen gespeichert werden könnten (ROHSIUS, 2007). ELWERS (1998) hat bei histologischen und cytologischen Untersuchungen der Kotyledonen von *Theobroma cacao* L., *Theobroma grandiflorum* (WILLD EX SPRENG.) SCHUM. und *Theobroma bicolor* H.B.K. Trichome der Epidermen beschrieben. Wie bei vielen höheren Pflanzen gibt es auch bei *Theobroma cacao* L. verschiedene Typen dieser mehrzelligen Auswüchse, die durch epidermale Zellen von Blatt-, Spross- oder Blütenorganen gebildet werden (YANG et al., 2012). Kakaokotyledonen haben sowohl Trichome ohne als auch mit Drüsen (BAILEY, et al. 2009; YANG et al., 2012). Letztere dienen u.a. der Speicherung ätherischer Öle unter der Cuticula, die bei Verletzungen oder

Quellungen in der Keimungsphase freigesetzt werden (TAIZ und ZEIGER, 2007; KULL, 2005; LARCHER, 1994; YOUNG, 2007). ELWERS (1998) postuliert das Vorhandensein phenolischer Substanzen in Vakuolen von Trichom-Zellen.

WANG et al. (2008) haben Drüsen-Trichome bei Hopfen untersucht und zwei Mono- sowie zwei Sesquiterpensynthesen identifiziert, die die Biosynthese von Terpenen in den Trichomen katalysieren. Eine der beiden Monoterpensynthesen hat die Bildung von Myrcen reguliert, welches - neben anderen Terpenen- auch in der vorliegenden Studie in Kakaopulpen detektiert wurde. Es ist zu vermuten, dass auch in den drüsenreichen Kakaotrichomen derartige Synthesen aktiv sind, die zumindest einen Teil der Terpenbiosynthese regulieren und Terpene dort anreichern.

YOUNG (2007) hat bei der Destillation von Kakaoblütenbestandteilen nicht nur zahlreiche volatile Aromakomponenten (u.a. Linalool) gefunden, sondern auch große Differenzen in der Komposition des Blütenaromas zwischen verschiedenen Genotypen aufgedeckt. Diese biochemische Variabilität ist insofern sehr interessant, als das sie der Aromavariabilität nahekommt, die in dieser Studie für Kakaopulpen gefunden wurde.

Ein Transfer der Feinaromakomponenten aus der Pulpa in die Kotyledonen während der Fermentation ist von ESKES et al. (2009) und KADOW et al. (2013) diskutiert worden. AMORES (2006, zitiert in VOIGT und LIEBEREI, 2014) beobachtete, dass der blumige Terpenalkohol Linalool am 3. Fermentationstag in den Kotyledonen auftaucht und ESKES et al. (2009) konnten zeigen, dass Aromen der Fruchtpulpen von Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) und Stachelannone (*Annona muricata*), die zuvor der Fermentation beigemischt wurden, in der Schokolade sensorisch wahrgenommen werden. Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie sowie der Beobachtungen der genannten Autoren, bestätigt sich der Zusammenhang zwischen Genotyp, Pulpaaroma und Schokoladenqualität. Eine Selektion auf Pulpaeigenschaften bei der Entwicklung neuer Feinkakaogenotypen ist dadurch geboten (ESKES et al., 2007; KADOW et al., 2013). Diese sollte auch eine Genotyp-spezifische Prüfung der Testeigenschaften und des Pulpa-Samen-Verhältnisses beinhalten. Allerdings ist eine Selektion auf Pulpaeigenschaften erst dann sinnvoll, wenn die Transfermechanismen der am Feinaroma beteiligten Schlüsselkomponenten eindeutig verstanden und identifiziert sind (VOIGT UND LIEBEREI, 2014). Einen ersten Schritt in diese Richtung werden die Ergebnisse der Genomsequenzierung von *Theobroma cacao* L. ermöglichen, welche durch die Zusammenarbeit zahlreicher Wissenschaftler realisiert werden konnte (ARGOUT et al., 2011). Erste Ergebnisse zur Analyse der Gene zur Expression der Enzyme, die an den Stoffwechselwegen von Flavonoiden und Terpenen beteiligt sind – und damit aromarelevante Eigenschaften ermöglichen und regulieren, wurden im Zusammenhang mit der Genomanalyse von *Theobroma cacao* L. im Jahr 2008 veröffentlicht (ARGOUT et al., 2008). Man hat nicht nur DNA-Sequenzen identifizieren können, die die wichtigsten Enzyme der Terpenoid-Synthese codieren, sondern auch solche, die speziell an

der Bildung von Linalool und anderen volatilen Feinaromen beteiligt sind (ARGOUT et al., 2008). Langfristig könnte dies die Selektion neuer Genotypen mit hohem Aromapotential erleichtern, da bereits auf molekularer Ebene bestimmte potentielle Qualitätseigenschaften geprüft und langwierige manuelle Selektionen zielgerechter gestaltet werden können.

#### 5.1.4. Der Einfluss des saisonalen Klimas auf das Pulpaaroma

Das während der Fruchtreife vorherrschende Klima wirkt sich eindeutig auf das Aroma von Kakaopulpen aus. Die höchsten Feinaromakonzentrationen in den Fruchtpulpen der sechs Kakaoklone wurden in den Proben der in der Regenzeit geernteten Früchte gefunden. Es ist bekannt, dass Gewürz- und Arzneipflanzen bei Trockenstress mit einer Zunahme aromagebender Komponenten aus dem Sekundärstoffwechsel reagieren (AL-GABBIESH et al., 2014; NOWAK et al., 2010). Es stellt sich demnach die Frage, welche ökophysiologischen Mechanismen sich bei *Theobroma cacao* L. auf die Pulpaeigenschaften auswirken. Möglicherweise schließt *Theobroma cacao* L., als Pflanze der humiden Regionen, die Stomata in der Trockenzeit schneller bzw. öffnet diese kaum, um Transpiration zu minimieren und einer negativen Wasserbilanz entgegenzuwirken (LARCHER, 1994). Bei Wassermangel ist der Proteinstoffwechsel früh eingeschränkt (LARCHER, 1994). Dementsprechend ist auch von einer verminderten Synthese volatiler Feinaromakomponenten aus Aminosäuren auszugehen. Da die Kohlenstoffassimilation limitiert ist und der Pflanze weniger Energie zur Verfügung steht, wird der Kakao die Energie zunächst für die Bildung von Lipidreserven und Strukturelementen (Phospholipide in Membranen) nutzen (TAIZ und ZEIGER, 2007). In der Regenzeit hingegen bieten Bewölkung und Niederschläge optimale Wachstumsbedingungen für die Schattenpflanze, so dass auch für die Synthese aromagebender Pulpakomponenten ausreichend Energie zur Verfügung steht. Andererseits muss berücksichtigt werden, dass mit Beginn der Regenzeit Wasser und Nährstoffe zunächst in die neuen Wachstumszonen verlagert werden (junge Früchte, wachsendes Blattwerk, Feinwurzeln, Blüten) und der Signaltransfer zwischen Kakaobaum und Frucht aufgehoben ist bzw. ausgewachsene Früchte zu diesem Zeitpunkt keine „sinks“ mehr darstellen. Erwärmen sich gleichzeitig die Blätter aufgrund hoher Außentemperaturen und Strahlung, steigt die Transpirationsrate an (LARCHER, 1994) und der ausgewachsenen Frucht wird ggf. sogar Wasser entzogen. Die zunehmende Wasserabnahme in der Kakaofrucht trägt so möglicherweise auch zu den beobachteten Veränderungen in der Synthese aromagebender Komponenten bei, wie sie bereits für andere aromatische Pflanzen beschrieben wurden (AL-GABBIESH et al., 2014; NOWAK et al., 2010).

### 5.1.5. Schlussfolgerungen und Ausblick

Von der Pflanze gegebene Pulpaaromen sind Genotyp-abhängig. Es gibt Kakaoklone mit wenig, mehr und viel Aroma und man kann sie anhand ihrer volatilen Komponenten kategorisieren: bei der einen Gruppe von Feinkakaos basiert das Aroma vorrangig auf Alkoholen und Alkoholderivaten (Aldehyde, Methylketone, Ester), während bei der anderen Terpene charaktergebend sind. Bei einer solchen Kategorisierung ist jedoch Vorsicht geboten, da sich Gehalte und Komponenten mit der Fruchtreife und den damit gewählten Erntezeitpunkten ändern. Letztere sollten in der Praxis nicht zu früh erfolgen, da sich das Feinaroma der Pulpa erst im reifen bis überreifen Zustand vollständig entwickelt. Es wäre interessant zu untersuchen, wie die alterungsspezifischen Veränderungen des Kakaopulpaaromas zustande kommen. Möglich sind unterschiedliche Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Reifegrad der Pulpa, allerdings liegen bisher weder cytologische Daten noch Informationen zu den vorherrschenden Schlüsselenzymen vor. Sofern kein Sauerstoff in die Früchte gelangt ist und diese intakt sind (keine Verletzungen oder kleinere Öffnungen in der Fruchtschale aufweisen), besteht auch bei überreifen Früchten keine Gefahr bereits induzierter Keimungsprozesse, da endogene Inhibitoren eine Keimung der rekalzitranen<sup>6</sup> Samen unterbinden (ROHSIUS 2007). Dementsprechend könnte ein Anteil überreifer Früchte in der Fermentationsmasse für das spätere Schokoladenaroma empfehlenswert sein.

Nicht allein der Reifegrad bestimmt die Aromausprägungen der Pulpa. Das während der Fruchtreife vorherrschende Klima (Trockenzeit-Regenzeit) wirkt sich signifikant auf die Zusammensetzung des Pulpaaromas und deren Intensität aus. Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie und den Erkenntnissen zum Influx von Feinaromen in die Kotyledonen während der Fermentation und einer möglichen Anreicherung in lipophilen Zellkompartimenten (KADOW et al., 2013; ESKEs et al., 2009), muss davon ausgegangen werden, dass Schokoladen aus Rohkakao von Feinkakaogenotypen der Nebenernte andere Aromaqualitäten aufweisen als die der Haupternte.

Da die Fettsynthese in Plastiden stattfindet (TAIZ und ZEIGER, 2007) und Fettsäuren eine wichtige Basis für die Bildung volatiler Aromastoffe darstellen, lässt sich annehmen, dass das Plastom für die Züchtung neuer Klone mit hohem Feinaromapotential von zentraler Bedeutung sein wird.

---

<sup>6</sup> s. Kapitel 2.2.

## 5.2. Mikrofermentationen mit klonalem Kakaomaterial

Zur Klärung der Bedeutung von definiertem Ausgangsmaterial für die resultierende Rohkakaqualität, wurden frisch geerntete Kakaosamen jeweils eines Klons in ein Holzkisten-Fermentationssystem gebracht, das als experimentelles Klein-System erarbeitet wurde (s. Kapitel 3.2.2.), um mit limitierten Mengen mehrere Wiederholungen ausführen zu können. Die Eingrenzung des Materials auf jeweils einen Kakaoklon (CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1), CC-137) wurde gewählt, um zu untersuchen, ob genotypische Eigenschaften von Samen und Pulpa die Fermentationsverläufe wesentlich bedingen.

In verschiedenen Studien mit klonal definiertem Material (RAMOS et al., 2014; MAGALHÃES DA VEIGA MOREIRA et al., 2013; CLAPPERTON, 1994; SUKHA, 2008) waren die Fermentationsansätze sehr klein, so dass Parallelschlüsse zu größeren Fermentationen in der Praxis nur begrenzt möglich sind. Demzufolge hat der Ansatz der vorliegenden Arbeit bislang keine direkt vergleichbaren Studien in der Kakaoforschung. Erst über die neuen Selektionsaktivitäten und Experimental-Pflanzungen am CATIE (s. Kapitel 2.5.) stand Klonmaterial in ausreichender Menge zur Verfügung und über die Finca Peralta ein optimaler Versuchsstandort zur Implementierung monoklonaler Fermentationen (s. Kapitel 3.2.2.1.).

Eine Vielzahl von abiotischen Faktoren, wie Standort (SUKHA, 2008; LOCKWOOD und ESKES, 1996), Klima (AFOAKWA et al., 2008) und Fermentationsmethode (WOOD und LASS 2001; THOMPSON, MILLER und LOPEZ, 2001), können den Fermentationsverlauf und folglich die abschließende Rohkakaqualität beeinflussen. Gleichzeitig besteht die Frage, inwieweit sich auch das genetische Material auf die Fermentationsprozesse auswirkt.

### 5.2.1. Biotische Faktoren in der Kakaofermentation

Die Mikrofermentationen belegen eindeutig, dass die Samen der 6 Kakao-Selektionen des CATIE die typischen Phasen einer Kakaofermentation durchlaufen (s. Kapitel 2.6.). Sowohl die Temperaturentwicklungen als auch die Veränderungen der Pulpazuckerkonzentrationen und des pH-Werts verlaufen für alle Ansätze direkt vergleichbar. Alle Klone zeigten einen schnellen Abbau von Saccharose der Pulpa innerhalb der ersten 48 h, der vor allem durch Hefen erfolgt sein muss, die unter Freisetzung von CO<sub>2</sub> Ethanol produzierten. Bei den Restzuckeranteilen in der Fermentationsmasse traten geringe, aber je nach Klon und Jahreszeit reproduzierbare Unterschiede auf, wie in Kapitel 4.2.1.2. und 4.2.2.2. dargestellt. Besonders auffällig ist der Verlauf des Zuckerabbaus in den Fermentationen von ICS-95 (T1). Bereits am 2. Fermentationstag verblieb der Restzuckeranteil auf einem höheren Niveau, wohingegen z.B. bei PMCT-58 über weitere 24 h Zucker bis zu einem niedrigeren Gehalt abgebaut wurden. Dieser qualitative Verlauf kann sowohl in der

Regenzeit als auch in der Trockenzeit in diesem komplexen System beobachtet werden, wobei keine ausreichenden Datenmengen für eine statistische Absicherung vorliegen. Es ist jedoch ableitbar, dass offensichtliche klonale Unterschiede im Pflanzenmaterial diese Verläufe bewirken.

Basierend auf Erkenntnissen aus aktuellen, mikrobiologischen Untersuchungen von Kakaofermentationen, liegen für die Veränderungen der Fermentationstemperatur, der Pulpazuckerkonzentrationen und der pH-Werte weitere Vermutungen nahe:

1. Es gibt einen Einfluss des Genotyps auf die vorherrschende mikrobielle Population, wie u.a. von RAMOS et al. (2014) gezeigt werden konnte. Anders als FAHRURROZI (2015) und MAGALHÃES DA VEIGA MOREIRA et al. (2013), haben RAMOS et al. (2014) nur genotypische Differenzen hinsichtlich der Bakterien- aber nicht der Hefestämme beobachtet. Demnach ist einerseits möglich, dass das Samenmaterial der 6 Kakao-Selektionen unterschiedlich besiedelt war oder die gleichen Hefestämme anwesend waren, diese jedoch in ihrem Stoffwechsel durch die Eigenschaften des Genotyps beeinflusst waren. Einen Einfluss der Pulpaeigenschaften auf die Hefeaktivität diskutieren u.a. auch RAMOS et al. (2014).
2. Die Pilze-hemmende Schleimschicht der Testa (TA-Schleim) (s. Kapitel 2.1. sowie BAHMANN, 2014 und FAHRURROZI, 2015) lag erst zu einem späteren Zeitpunkt bei dem Klon PMCT-58 frei, d.h. die Pulpa wurde langsamer abgebaut und Hefen wurden dadurch erst ab dem 3.Tag in ihrer Aktivität durch Chitinase, Glucanase und Osmotin der TA-Schleime (BAHMANN, 2014; FAHRURROZI, 2015) gehemmt. Mikrobiologische Untersuchungen der 6 CATIE-Klone werden Aufschluss darüber geben können, ob genotypische Differenzen sowohl in der Quantität als auch in der Qualität des TA-Schleims vorliegen. Ebenfalls können Unterschiede in der jeweiligen Besiedlung mit- und Anreicherung von Hefestämmen bestehen, denn nach FAHRURROZI (2015) inhibiert der TA-Schleim das Wachstum einzelner Hefestämme unterschiedlich stark. Dementsprechend könnte die Hemmung in Abhängigkeit vom Kakaogenotyp variieren. Nach dieser Vorstellung sollte z.B. der Klon ICS-95 (T1) eine frühere Quellung des TA-Schleims aufweisen. Dabei ist jedoch nicht ausgeschlossen, dass auch andere Komponenten das Hefewachstum beeinträchtigen.
3. Bevor die Studien zum TA-Schleim veröffentlicht wurden, sah man die Hauptursachen für das Absterben der Hefen in einer zunehmenden Ethanol- und Sauerstoffkonzentration und einem ansteigenden pH-Wert der Fermentationsmasse (SCHWAN und WHEALS, 2004). Es ist möglich, dass der Alkoholgehalt in Fermentationen von PMCT-58, CATIE-R4 und CC-137 nach 48h geringer war als bei den anderen Klonen. Demnach war das Milieu (noch) nicht toxisch für die Hefen und sie haben weitere Zucker metabolisieren können. Dies würde die Beobachtungen während der Fermentationen bestätigen, wo insbesondere bei PMCT-58 erst nach 48 h der charakteristische Alkoholgeruch und die aus der CO<sub>2</sub> Freigabe resultierende

Bläschenentwicklung wahrgenommen werden konnten. Letztere wurde bei ICS-95 (T1) sehr früh festgestellt, genauso auch Bräunungsreaktionen an der äußeren Samenschicht. Dies deutet auf eine sehr frühe Freisetzung von phenolischen Substanzen hin.

Der Einfluss des Genotyps auf den Fermentationsverlauf wird insbesondere in der ersten, anaeroben und mikroaeroben Phase deutlich. Später, nach der ersten Wendung des Samenmaterials am Mittag des 2. Fermentationstages, verlaufen die Temperatur-, Zucker- und pH-Wert Kurven bei den 6 Klonen nach einem ähnlichen Schema. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von FAHRURROZI (2015) aus denen hervorgeht, dass der TA-Schleim keine Hemmwirkung auf Essigsäure- und Milchsäurebakterien hat und somit kein direkter Einfluss des schleimbildenden Kakaogenotyps auf die Aktivität der Bakterienstämme zu erwarten ist. Essigsäurebakterien metabolisieren allerdings den von Hefen produzierten Ethanol. Demzufolge kann vermutet werden, dass eine verminderte Hefeaktivität zu Beginn der Fermentation mit einer geringeren Säureproduktion bzw. verspäteten Ansäuerung des Kotyledonengewebes einhergeht.

### Enzymatische Bräunung: Polyphenoloxidase

STOLL (2010) hat in fermentationsähnlichen Inkubationen die Aktivität der Polyphenoloxidase (PPO) untersucht. PPO wird vorrangig zur Abwehr von Phytopathogenen exprimiert, ist daher besonders in jungem Gewebe in hoher Aktivität vorhanden. In intaktem Gewebe liegt das Enzym, welches im Zusammenhang mit Kakaofermentationen wichtige Bräunungsreaktionen katalysiert (HANSEN et al., 1998) sowohl frei als auch membrangebunden in Thylakoiden vor (STOLL, 2010). HANSEN et al. (1998) zitieren verschiedene Studien zum pH Optimum der Oxidase; es werden pH-Optima von 6,4 und 5,4 genannt.

Mit zunehmendem Fermentationsverlauf nimmt die Aktivität der weitgehend hitzestabilen PPO schnell ab (ELWERS, 2008). Dies bedeutet, dass die zahlreichen Bräunungsreaktionen, welche insbesondere zum Fermentationsende hin und während der Trocknung stattfinden, auf einer geringen Rest-PPO-Aktivität basieren (HANSEN et al. 1998).

Die früh einsetzende Verbräunung der Samen von ICS-95 (T1), wird voraussichtlich mit einer hohen Genotyp-spezifischen PPO-Aktivität einhergehen, denn zum gleichen Zeitpunkt wies keiner der anderen Klone eine solche Färbung der Kakaosamen auf. Betrachtet man bei den Oktoberproben weiterhin die Verlaufskurven der Kotyledonen pH-Werte sowie die dazugehörigen CUT-Test Ergebnisse (zur makroskopischen Verfolgung der morphologischen Änderungen der Keimblattgewebe), wird sichtbar, dass eine Ansäuerung des Kotyledonengewebes - und damit einhergehend die Zerstörung der endogenen Kompartimente (ROHSIUS et al., 2006; BAHMANN, 2014) - bei den Samen von ICS-95 (T1) ca. 24 h früher einsetzte als bei den anderen Klonen, insbesondere bei

PMCT-58, CATIE-R1 und CATIE-R4. Etwas abgeschwächt, aber dennoch vergleichbar mit ICS-95 (T1) sind die Entwicklungen bei CATIE-R6 und CC-137. Dementsprechend kann vermutet werden, dass die Hemmwirkung des TA-Schleims einen verminderten Pulpazuckerabbau bei ICS-95 (T1) und CATIE-R6 bewirkte, aber die Säuremenge ausreichte, um die notwendigen biochemischen Reaktionen in den Kotyledonen hervorzurufen, die für das spätere Schokoladenaroma unabdingbar sind. Bei CC-137 hingegen wird ein anderes Phänomen sichtbar, denn bei den Samen der Oktoberproben von CC-137, PMCT-58 und CATIE-R4 wurde zwar viel Pulpazucker metabolisiert, demzufolge auch Säure produziert, aber nur bei CC-137 wiesen ca. 30 % der Samen bereits am 2. Fermentationstag braune Färbungen im Kotyledonengewebe auf (s. Kapitel 4.3.1.2.) Demnach ist anzunehmen, dass die Testaeigenschaften/-beschaffenheit von CC-137 einen früheren Säureeintritt in das Kotyledonengewebe ermöglichte, als beispielsweise die Testen von PMCT-58 und CATIE-R4. Dies stützt die Aussagen von ANDERSSON et al. (2006), ELWERS (1998) und BAHMANN (2014), wonach die Permeabilität und Struktur der Testa maßgeblich von der *Theobroma*-Art bzw. vom Kakaogenotyp beeinflusst wird.

In diesem Zusammenhang ist das Verhalten von PMCT-58 sehr interessant. Bis zum 3. Tag waren die Kotyledonen schiefrig (CUT-Test Oktober). In den frühen Nachmittagsstunden des 3. Tages erwärmten sich alle Schichten der Fermentationsmasse auf 45 °C und erreichten damit die höchste Temperatur während des gesamten Fermentationsverlaufs. 45 °C bewirken eine Beschleunigung der biochemischen Reaktionen, die an der Bildung von Aromavorstufen beteiligt sind (WOOD und LASS, 2001). Dem CUT-Test nach zu urteilen, müssen zu diesem Zeitpunkt Hitze und Säure die inneren Zellkompartimente zerstört haben, denn zwischen dem 3. und 4. Fermentationstag ist es zu zahlreichen Bräunungsreaktionen im Keimblattgewebe von PMCT-58 gekommen. Der pH-Wert der Kotyledonen war mit 5,3 nicht im Optimum der PPO, so dass die endogenen Verbräunungen auf Kompartimentierungen im Gewebe oder auf andere Gründe zurückzuführen sind.

Bei dem Kakaoklon CC-137 hat die Ansäuerung des Gewebes zwar früh stattgefunden (s.o.), aber zu den gewünschten Verbräunungen ist es nur in geringem Maße gekommen. Offenbar blieb die Aktivität wichtiger Oxidasen während der gesamten aeroben Phase niedrig. Dies könnte darin begründet sein, dass Säure über die Mikropyle und mazerierte Testa in das Keimblattgewebe eingedrungen sind (BAHMANN, 2014), aber nicht genau an den Stellen, wo beispielsweise PPO in aktiver Form an Wand- und Zellstrukturen gebunden sind (STOLL, 2010). ELWERS (2008) hat eine schnelle Verbräunung der Keimblattepidermis beobachtet und begründet dies ebenfalls mit einer lokal erhöhten Aktivität von PPO und Peroxidasen.

Die vergleichsweise hohen Pulpa-pH Werte (>5 bis ≤7) am 5. und 6. Tag der Fermentation sind Voraussetzungen für die Entwicklung von off-flavours, welche bei CC-137 wiederholt auftraten. Pulpa-Reste mit anhaftendem Schleim, stellen als Proteinquelle auf den Samen (BAHMANN, 2014;

FAHRURROZI, 2015) ein leicht verfügbares Substrat für sporenbildende, aerobe Fäulnisbakterien (*Bacillus* spp., SCHWAN und WHEALS, 2004) dar. Diese finden im zunehmend alkalischen Milieu optimale Bedingungen für die Decarboxylierung freier Aminosäuren und führen zur Anreicherung von biogenen Aminen bei gleichzeitiger Freisetzung volatiler Fettsäuren (LOPEZ und QUESNEL, 1973; SCHWAN und WHEALS, 2004). Durch vorzeitiges Abbrechen der Fermentation und/oder weniger Wendungen des Samenmaterials könnte der Sauerstoffeintrag minimiert- und dieser Entwicklung entgegengewirkt werden, allerdings besteht dann die Gefahr, dass die Polyphenoloxidation unzureichend ist und Adstringenz und Bitterkeit dominieren bzw. der endgültige Violett-Anteil hoch ist.

Wie in dieser Studie erstmals gezeigt werden konnte, könnte an dieser Stelle vielmehr eine Waschung der fermentierten Kakaosamen die resultierende Rohkakaqualität verbessern- sofern es die klimatischen Standortbedingungen zulassen und die Fermentationsmasse noch keine Symptome einer Überfermentation aufzeigt („off-flavours“). Da bei der Waschung Pulpa- und TA-Schleim Reste, die den fermentierten Samen noch anhaften, weitgehend entfernt werden und somit Zucker- bzw. eiweißreiches Substrat vermindert wird, ist das Risiko einer Anreicherung mit aeroben Fäulnisbakterien minimiert (SCHWAN und WHEALS, 2004). In dauerhaften Niederschlagsperioden birgt die Waschung allerdings ein Risiko. Durch die drastische Abkühlung und Wiederbefeuchtung der fermentierten Samen können Trocknungsprozesse stark verlangsamt ablaufen. Demzufolge birgt eine Waschung fermentierter Kakaosamen in Verbindung mit andauernder, hoher Luftfeuchtigkeit und niedrigen Außentemperaturen ein potentiell Risiko für Schimmelbildung im Keimblattgewebe (ICCOB, 2015).

### 5.2.2. Abiotische Faktoren in der Kakaofermentation

Die vorherrschenden Klimabedingungen und damit verbundenen saisonalen Schwankungen im Niederschlag, haben lediglich in einem Punkt Unterschiede zwischen den Verläufen der Fermentationstemperatur der Regenzeit und der Trockenzeit hervorgerufen. In den Ansätzen der Trockenzeit hat die Wendung des Samenmaterials stets einen kurzfristigen Temperaturabfall um ca. 5°C bewirkt. Die durch den Sauerstoffeintrag erhöhte mikrobielle Aktivität führte dann jedoch zu einem erneuten Temperaturanstieg innerhalb der nachfolgenden 12 Stunden. Dieses Phänomen der Temperaturabnahme konnte bei den Fermentationsansätzen der Regenzeit nicht beobachtet werden. Letztere wurden aus Platzgründen im Gewächshaus fermentiert, während die Fermentationsansätze der Trockenzeit in der Fermentationsanlage standen. Obschon die Außentemperatur im Gewächshaus im Tagesverlauf stark schwankte, konnte keine besonderen Temperaturabweichungen in der Fermentationsmasse beobachtet werden. Es ist demnach zu vermuten, dass die hohe Luftfeuchtigkeit der Regenzeit als wichtiger Wärmespeicher diente und

einen Einfluss der Wendung des Kakaomaterials auf die Fermentationstemperatur verhinderte. Für zukünftige Forschungsansätze wäre es interessant, neben anderen Faktoren, auch die relative Luftfeuchte zu messen und ihren potentiellen Einfluss auf den Fermentationsverlauf genauer zu untersuchen.

### 5.2.3. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die vorliegende Studie belegt, dass Kakaofermentationen sowohl in der Trockenzeit als auch in der Regenzeit zufriedenstellend verlaufen können, sofern das Material ausreichend von externen Faktoren isoliert ist. Letzteres ist für alle Witterungsbedingungen wichtig, insbesondere während der letzten beiden Fermentationstage, wenn die Essigsäureproduktion langsam nachlässt und die Temperatur leicht abfällt. Zu diesem Zeitpunkt können kühle Nächte und starke Winde die Rohkakaqualität massiv beeinträchtigen, da eine Gefahr durch Anreicherung von Fäulnisbakterien besteht.

Es ist weniger das vorherrschende Klima als vielmehr der Genotyp, der mit seinen spezifischen Eigenschaften, wie Pulpa-Samen-Verhältnis, Testaeigenschaften, Permeabilität und Enzymaktivität den Fermentationsverlauf beeinflusst. Demnach sollten folgende Faktoren bei den 6 Kakao-Selektionen untersucht werden, um potentielle klonspezifische Differenzen zu prüfen und um weitere, für die Praxis relevante Aussagen treffen zu können.

1. Synthesepotential von TA-Schleim
  - Es ist nicht auszuschließen, dass beispielsweise CATIE-R6, der sich durch eine besonders hohe Resistenz gegenüber *Phytophthora* und *Moniliophthora roreri* auszeichnet (PHILLIPS et al., 2013), die von BAHMANN (2014) und FAHRURROZI (2015) identifizierte Chitinase, Glucanase und Osmotin exprimiert und ggf. sogar weitere Proteine mit Relevanz in der Abwehr von phytopathogenen Pilzen in seinem TA-Schleim enthält.
2. Entwicklung mikrobieller Populationen
3. Morphologische Eigenschaften der Testa und Pulpa
4. Aktivitäten wichtiger Schlüsselenzyme (PPO, Proteasen)

### 5.3. Qualitätsbestimmende Eigenschaften

Die modernen Forschungen beim Kakao stützen sich auf die Selektion und Entwicklung hochresistenter, gut produzierender Genotypen, die zusätzlich ein hohes (Fein-)Aromapotential aufweisen. Zu diesen Klonen gehören auch die 6 Kakao-Selektionen aus den Züchtungsarbeiten am CATIE, die Grundlage dieser Arbeit sind.

Die Analysen der monoklonal fermentierten Kakaoproben von CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137 haben einen bedeutenden Einfluss des Genotyps, der Fermentationsdauer und der Jahreszeit auf qualitätsbestimmende Eigenschaften in fermentierten Kakao-Kotyledonen aufgezeigt. Die Feinkakaoeigenschaften beruhen auf dem Gehalt wichtiger Vorstufen für späteres Schokoladenaroma - demzufolge freien Aminosäuren, hydrophilen Oligopeptiden und reduzierenden Zuckern - sowie Verbindungen aus dem sekundären Stoffwechsel. Diese werden vom Genotyp des Kakaoklons beeinflusst (s. Kapitel 4.1.). Auch die Fähigkeit Polyphenole zu oxidieren und damit Bitterkeit und Adstringenz abzubauen, beruhen auf klonspezifischen Enzymaktivitäten sowie einer Veränderung der biochemischen Strukturen an den Stellen im Keimblattmesophyll, wo die katalysierenden Enzyme (Polyphenoloxidase, Peroxidase) lokalisiert sind (BAHMANN, 2014; STOLL, 2010; ELWERS, 2008).

Genotyp-spezifische Enzymaktivitäten wurden bereits von HANSEN et al. (2000) im Labormaßstab mittels Mikro-Netzbeutelfermentationen untersucht. Mit der vorliegenden Studie können jedoch erstmalig Aussagen zu Enzymaktivitäten in den Kakaokotyledonen getroffen werden, die aus fermentiertem Samenmaterial stammen, welches unter natürlichen Bedingungen während monoklonaler Fermentationsstudien im Ursprungsland hergestellt wurde.

Insbesondere bei der Anreicherung freier Aminosäuren als auch bei der Oxidation von Polyphenolen (Epicatechin, Catechin und Anthocyanen) sind teils große Differenzen zwischen den untersuchten Kakaoklonen gefunden worden. Zudem konnte hinsichtlich der phenolischen Substanzen bei einzelnen Genotypen ein Einfluss der Jahreszeit beobachtet werden, wohingegen die Akkumulation freier Aminosäuren sowie die Bildung von organischen Säuren weitgehend unabhängig von der vorherrschenden Jahreszeit ablief.

#### 5.3.1. Freie Aminosäuren

ROHSIUS et al. (2010) haben die Heterogenität von *Theobroma cacao* L. anhand zahlreicher Rohkakaoproben aus 30 verschiedenen Ländern untersucht. Neben anatomischen und morphologischen Differenzen- wie der Größe und Beschaffenheit der Kakaosamen- konnten die Autoren auch biochemische Unterschiede zwischen den Kotyledonen verschiedener Herkünfte aufzeigen, so z.B. hinsichtlich ihrer Säurekonzentrationen, dem Verhältnis Theobromin zu Coffein und

dem Gehalt freier Aminosäuren. Letztere schwankten je nach Herkunft sehr und zwischen den Genotypen der vorliegenden Studie lagen teilweise ebenfalls große Differenzen vor. Deshalb besteht die Frage, worin die unterschiedlichen Mengen freier Aminosäuren begründet sein können.

Nach WHITLOCK und BAUM (1999) gibt es keine Variabilität in der Nucleotidsequenz des codierenden Gens für das Reserveprotein Vicilin und demzufolge in der Aminosäuresequenz des 7S Globulin. Qualitative Unterschiede im 7S Globulin sind daher zwischen Kakaogenotypen nicht zu erwarten. Differenzen in der Anreicherung von freien Aminosäuren und Oligopeptiden während der Fermentation können also lediglich auf verschiedenen Aktivitäten der Reserveprotein-spaltenden Enzyme Aspartylendoprotease (Optimum pH 3,4) und Carboxypeptidase (Optimum pH 5,8) basieren (VOIGT et al., 1994 a, c; BIEHL und VOIGT, 1994).

Offenbar hat die Ansäuerung des Keimblattgewebes bei ICS-95 (T1) und PMCT-58 ausgereicht, um Aspartylendoprotease stark zu aktivieren, die im Rahmen einer spezifischen Spaltung des 7S Globulins zu hydrophoben Oligopeptiden führte. Ohne diesen Schritt wären die Gehalte akkumulierter Aminosäuren bei ICS-95 (T1) und PMCT-58 nicht so hoch ausgefallen, denn hydrophobe Oligopeptide ihrerseits dienen als Substrat für Carboxypeptidasen, die bei einem pH Optimum von 5,8 diese hydrophoben Oligopeptide in hydrophobe Aminosäuren und hydrophile Peptide spalten (VOIGT et al., 1994 a, c). Nur durch das Zusammenspiel beider Proteasen kann eine hohe Akkumulation freier Aminosäuren und hydrophiler Oligopeptide in Kakaokotyledonen erfolgen (VOIGT und LIEBEREI, 2014). Beide nehmen als Aromavorstufen eine wichtige Rolle ein, da sie während der Röstung mit reduzierenden Zuckern im Rahmen sogenannter *Maillard*-Reaktionen AMADORI-Verbindungen bilden, die als Zwischenprodukte für das Schokoladenaroma entscheidend sind (AFOAKWA et al., 2008; ZIEGLER, 1994).

Verschiedene Studien zeigen allerdings, dass nicht allein die Wirkungsmechanismen der beiden Proteasen für Schokoladenaroma von zentraler Bedeutung sind. *In vitro*-Untersuchungen mit Globulinen aus Kokosnuss, Haselnuß und Sonnenblumenkernen, unter Zugabe von Kakao-Proteasen, haben Getreidearomen bzw. Noten von Kräutern oder Nuss hervorgerufen (VOIGT et al. 1994d). Dementsprechend ist die Gegenwart des 7S Globulins für späteres Schokoladenaroma unabdingbar.

Die Klone CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 haben ebenfalls ein erhöhtes Potential in der Anreicherung freier Aminosäuren, wenngleich CATIE-R4 stets am meisten freie Aminosäuren in 5 Tage-fermentierten Samen aufzeigte (s. Kapitel 4.3.3.). Die Kotyledonen von CC-137 enthielten in allen Ansätzen wesentlich geringere Mengen freier Aminosäuren. Den CUT-Test Ergebnissen nach zu urteilen, liegt dies weniger in oxidativen Vergerbungsvorgängen begründet als vielmehr in einer geringen Proteaseaktivität. Es kann vermutet werden, dass das Zeitfenster mit optimalem pH-Wert für die Carboxypeptidase bei CC-137 zu kurz war. Möglicherweise haben Aspartylendoproteasen

7S Globulin in hydrophobe Oligopeptide gespalten, diese wurden dann jedoch nicht weiter abgebaut. Bei CATIE-R4 hingegen trifft eine Abnahme freier Aminosäuregehalte zwischen dem 5. und 6. Tag durch Vergerbung zu. Bei der durch die PPO katalysierte Reaktion kommt es zu einer Bindung von Proteinen oder Peptiden an die Chinonstruktur oxidiertes phenolischer Substanzen und somit zur Bildung polymerer Komplexe, die den Kakaokotyledonen ihre braune Färbung verleihen (STOLL, 2010).

#### Anreicherung und Bedeutung einzelner Aminosäuren

Aufgrund der Spaltungsspezifität der Endo- und Exoprotease werden bei Kakao vermehrt hydrophobe Aminosäuren angereichert. Saure Aminosäuren sowie Aminosäuren mit anderen Wirkungen ihrer Seitenketten entstehen in geringeren Mengen. Dieses Phänomen ist bereits in vielen Forschungsarbeiten beschrieben worden (Übersichtsartikel VOIGT und LIEBEREI, 2014; BAHMANN, 2014; ROHSIUS, 2007; STOLL, 2010) und war auch in der vorliegenden Studie deutlich erkennbar.

Auffällig war hier jedoch die Anreicherung bestimmter Aminosäuren in Abhängigkeit vom Kakaogenotyp und der Jahreszeit. Am deutlichsten wurden die Unterschiede hinsichtlich Tryptophan und Histidin.

Tryptophan konnte nicht oder lediglich in kleinsten Mengen in den Proben der Trockenzeit detektiert werden ( $< 0,5 \text{ mg g}^{-1} \text{ fTM}$ ), wohingegen die Gehalte in den Fermentationsproben der Regenzeit bis zu 3 Mal so hoch waren ( $< 1,5 \text{ mg g}^{-1} \text{ fTM}$ ).

Tryptophan ist für jegliche Wachstumsprozesse der Pflanze unabdingbar, da diese Aminosäure und seine Vorstufe (Indol-3-glycerinphosphat) die wichtigsten Vorstufen des Phytohormons Auxin (Indol-3-Essigsäure) darstellen (TAIZ und ZEIGER, 2007). Auxin ist als Tryptophan-Derivat u.a. an der Streckung der Sprossachse, der Wurzelbildung und der Fruchtentwicklung beteiligt und wird vorrangig in jungen Blättern synthetisiert (LJUNG et al., 2001, zitiert in TAIZ und ZEIGER, 2007). Da die Kakaopflanze mit einsetzender Regenzeit viele „sinks“ hat (junge Blätter, Austrieb, Entwicklung neuer Früchte) ist das Wachstumshormon Auxin - und damiteinhergehend ein ausreichender Pool von Tryptophan - zu diesem Zeitpunkt von zentraler Bedeutung. Das Keimblattgewebe und der dortige Abbau von Reserveproteinen stellen eine mögliche Quelle dar.

Tryptophan ist auch eine essentielle Aminosäure für die Massenentwicklung der Mikroorganismen. Die resultierenden Gehalte an freien Aminosäuren während- und am Ende der Fermentation - wie in den Graphen in Kapitel 4.3.3. dargestellt - unterliegen den Einflussgrößen auf den Aminosäure-Pool im jeweiligen Fermentationsansatz.

Histidin ist eine basische Aminosäure mit einem heterocyclischen 5-Ring-System, in dem sich zwei reduzierte Stickstoffatome befinden. Im Gegensatz zu Tryptophan konnte Histidin in fast keiner der

Fermentationsproben der Regenzeit detektiert werden (Ausnahmen:  $< 0,3 \text{ mg g}^{-1}$  ffTM). In den Kotyledonen der Trockenzeitfermentationen hingegen mit Mengen bis zu  $1,5 \text{ mg g}^{-1}$  ffTM.

Histidin nimmt in Mitochondrien bei oxidativer Phosphorylierung zur Gewinnung von ATP eine wichtige Rolle ein und wird u.a. als Lieferant für reduzierten Stickstoff im mikrobiellen Stoffwechsel verwendet und durch bakterielle Histidin-decarboxylase abgebaut (HAYASHI, 1995).

Die Unterschiede im Tryptophan- und Histidingehalt in Proben der Regenzeit und Trockenzeit können nicht auf Veränderungen der Speicherproteine beruhen. Es muss davon ausgegangen werden, dass mikrobielle Populationen die Veränderungen hervorrufen. Um diese Hypothese zu erhärten, müssen in jedem Fall stoffwechselphysiologische Untersuchungen zu den Mikroben-Populationen in Fermentationsansätzen folgen.

### 5.3.2. Phenolische Substanzen

Frische Kakaokotyledonen enthalten in Idioblasten des Keimblattmesophylls ca. 14–20 % phenolische Substanzen, mit ca. 37 % Catechinen (Epicatechin/Catechin), 4 % Anthocyanen und 58 % Proanthocyanidinen (ELWERS, 2008; RUSCONI und CONTI, 2010). Zusätzlich wurde eine Vielzahl verschiedener Hydroxyzimtsäure-Derivate, die zur Gruppe der Phenylpropane gehören, in unfermentierten Kakaokotyledonen sowie gerösteten Rohkakao-Nibs detektiert (STARK et al., 2005; STARK und HOFMANN, 2005b). Alle Verbindungen werden im Rahmen des sekundären Pflanzenstoffwechsels im Shikimisäure-Weg und Acetat-Malonat-Weg aus der Aminosäure Phenylalanin synthetisiert (HEß, 2008). Von den Catechinen spielen Epicatechine im Kakao mengenmäßig die wichtigste Rolle (WOLLGAST und ANKLAM, 2000). Gemeinsam mit Alkaloiden (Coffein, Theobromin, Theophyllin) verleihen sie dem Kakao seine Bitterkeit. Adstringenz hingegen basiert auf Anthocyanen, Catechinen und Hydroxyzimtsäure-Derivaten (SOTELO und ALVAREZ, 2002; STARK und HOFMANN, 2005b). Diese Eigenschaften sind vermutlich für die Abwehr von Phytopathogenen wichtig (LARCHER, 1994; TAIZ und ZEIGER, 2007), für die Herstellung von Schokoladen jedoch meist unerwünscht, da sie sich negativ auf den Geschmack auswirken können. Nur wenige Produzenten verarbeiten Rohkakao mit erhöhten Polyphenolgehalten. Dabei stehen das antioxidative Potential der phenolischen Verbindungen und somit die gesundheitsfördernden Eigenschaften von *Theobroma cacao* L. im Vordergrund (zusammenfassend beschrieben in ELWERS, 2008). Der mögliche Einfluss des genetischen Ursprungs auf die Gehalte phenolischer Substanzen im Keimblattgewebe ist untersucht worden. Während ELWERS et al. (2009) keinen signifikanten Einfluss der Kakaogruppierungen Criollo, Trinitario, Nacional, LAF und UAF (s. Kapitel 2.2.) auf den

Epicatechingehalt in frischen, unfermentierten Kotyledonen finden konnten, hat ROHSIUS (2007) Unterschiede in Kakaoproben verschiedener Länder nach abgeschlossener Fermentation entdeckt.

In der vorliegenden Studie wurden die Epicatechin- und Catechingehalte in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137 aus Fermentationsansätzen der Regenzeit und Trockenzeit analysiert (s. Kapitel 4.3.2.).

Es lagen teils große Unterschiede zwischen den Genotypen vor, besonders der Klon CC-137 differenzierte sich in seinem Gehalt an Epicatechin stark von den anderen 5 Kakaoklonen. Je nach Fermentationsansatz, enthielten die 4 Tage-fermentierten Samen von CC-137 mit durchschnittlich  $7,5 \text{ mg g}^{-1}$  ffTM in der Trockenzeit und  $13\text{-}17 \text{ mg g}^{-1}$  ffTM in der Regenzeit, die doppelte bis vierfache Menge an Epicatechin im Vergleich zu den anderen Genotypen. CATIE-R6 näherte sich CC-137 am meisten an, am wenigsten Epicatechin wurde hingegen in den Samen von PMCT-58 gefunden. ROHSIUS (2007) hat in den Rohkakaoproben unterschiedlicher Herkünfte zwischen  $0,96$  und  $24,57 \text{ mg g}^{-1}$  ffTM detektiert. Demnach liegt der hier untersuchte Klon CC-137 je nach Fermentationsansatz teils weit über dem Mittelwert.

Um der Frage auf den Grund zu gehen, warum CC-137 im Vergleich zu den anderen 5 Kakaoklonen signifikant höhere Gehalte des bitteren und adstringierenden Epicatechins speichert, ist ein Exkurs über den genetischen Ursprung von CC-137 notwendig.

Bei diesem Kakaoklon handelt es sich um einen offen bestäubten UF-12, ein Genotyp, der in den 1940er Jahren im Rahmen von Kreuzungs-Aktivitäten der *United Fruit Company* (nachfolgend UF Comp.) an der Atlantikküste Costa Ricas selektiert wurde (JOHNSON et al., 2006; YOUNG, 2007). Die UF Comp. war seit Beginn des 20. Jahrhunderts vor allem im Bananenanbau aktiv, gewann dann jedoch zunehmend Interesse an der Kultivierung von Kakao, als verheerende Krankheiten - insbesondere Fusariosen wie die „Panamakrankheit“- begannen, Bananenplantagen zu befallen (JOHNSON et al., 2006). Zunächst wurde ein Züchtungsprogramm etabliert, das auf offenen Bestäubungen und damit natürlicher Hybridisierung von Kakaovarietäten basierte. Nach JOHNSON et al. (2006) lag der Selektionsdruck zu dieser Zeit fast ausschließlich auf Samengröße, Fruchtgröße und Erntepotential. Erst später, im Jahre 1936, hat die UF Comp. Klongärten angelegt und auch auf Krankheitsresistenz selektiert. In diesem Zusammenhang entstand UF-12, maternaler Kreuzungselter von CC-137 (JOHNSON et al., 2006; PHILLIPS et al., 2013). Die Selektion auf Krankheitsresistenz geht oft mit einer erhöhten Anreicherung phenolischer Substanzen einher, da diese bekanntlich in der Abwehr von Phytopathogenen eine zentrale Rolle spielen (LARCHER, 1994; TAIZ und ZEIGER, 2007).

Sowohl bei Epicatechin als auch Catechin lagen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsdauern (4, 5, 6 Tage) vor. Ein Einfluss der Jahreszeit konnte nur bei einzelnen Klonen

beobachtet werden (CC-137, ICS-95 (T1)). Hinsichtlich des Catechingehalts gab es je nach Fermentationsansatz starke Streuungen, sodass die Unterschiede zwischen den Genotypen nicht signifikant waren. Catechin nimmt mengenmäßig eine untergeordnete Rolle ein.

Bei allen Proben nahmen die Epicatechingehalte mit zunehmender Fermentationsdauer ab, wenngleich je nach Genotyp auf unterschiedliches Niveau. Im Kakaosamenmaterial der Trockenzeit erfolgte die größte Abnahme an Epicatechin zwischen dem 4. und 5. Tag. Dabei verringerte sich die Menge im Keimblattgewebe um teilweise mehr als 50 % (s. Kapitel 4.3.2.1.). Während der letzten 24 h der Fermentation ist es in diesen Samen dann zu keiner weiteren, statistisch signifikanten Verminderung des Epicatechingehalts gekommen. Dies ist anders in den Proben der Regenzeit, dort nahm der Epicatechingehalt (-mit einer Ausnahme) in allen Kotyledonen kontinuierlich ab, sodass auch zwischen dem 5. und 6. Tag wichtige Reaktionen stattgefunden haben, die Epicatechin in eine immobile Form überführten.

Die fortschreitende Abnahme von Epicatechin im Verlauf der Fermentation wurde bereits von ROHSIUS (2007) und STOLL (2010) im Rahmen fermentationsähnlicher Inkubationen beobachtet und basiert auf enzymatischen Bräunungsreaktionen (s. Kapitel 4.3.1) oder Auswaschungen.

Der Zusammenhang zwischen der Abnahme des Epicatechingehalts und der Zunahme des Braunanteils der fermentierten Kotyledonen, wird bei einer parallelen Betrachtung der CUT-Test Ergebnisse deutlich. Zwar sind für die Färbung der Kotyledonen im Wesentlichen die Anthocyane und nicht Catechine verantwortlich, aber es ist anzunehmen, dass bei oxidativen Bräunungsreaktionen sowohl Anthocyane als auch Epicatechine mit Proteinen gebunden werden.

Bei allen Ansätzen sank der Anteil violetter Samen zugunsten brauner Kotyledonen bis zum Fermentationsende signifikant ab. Der Klon CC-137 wies auch in den 6 Tage-fermentierten Rohkakaos hohe Violett-Anteile auf (s. Kapitel 4.3.1.). Dies kann einerseits durch geringere Aktivität der Oxidasen (PPO, Peroxidase) bedingt sein, andererseits aber auch an der höheren Anzahl phenolischer Substanzen im Speichergewebe liegen. Dies könnte in einer histologischen Untersuchung des Keimblattmesophylls überprüft werden.

Um die Oxidation von Polyphenolen bei CC-137 zu erhöhen und dementsprechend den Gehalt adstringierender Verbindungen zu minimieren, müsste die Anzahl aktiver Enzyme (insbesondere der PPO) erhöht werden bzw. die aerobe Phase länger andauern. Wie in Kapitel 6.3.1. beschrieben, würde eine erweiterte aerobe Phase jedoch mit einem erhöhten Risiko der Anreicherung von Fäulnisbakterien einhergehen und ist demnach mit Vorsicht zu betrachten.

### 5.3.3. Organische Säuren

Ohne die Anwesenheit bzw. Wirkungsmechanismen von organischen Säuren in der Kakaofermentation, können keine Vorstufen für späteres Schokoladenaroma gebildet werden: erst durch das Zusammenspiel hoher Temperaturen und einer Ansäuerung des Keimblattgewebes, kommt es zur Zerstörung der inneren Zellkompartimente. Diese ist notwendig, um wichtige biochemische Reaktionen zwischen Enzymen und Speicherstoffen auszulösen, die maßgeblich an der Bildung von Aromavorstufen beteiligt sind.

Bei der sensorischen Bewertung von Rohkakao werden hohe Säurekonzentrationen häufig als qualitätsmindernd eingestuft, da sie den Geschmack einer Schokolade dominieren- und Feinaromen überdecken können. Essigsäure ist volatil und entweicht zu einem Großteil bereits während der Trocknung aus den Kakaokotyledonen. Milchsäure hingegen ist nicht-volatil (sie benötigt ein Lösungsmittel) und ist daher als problematischer für die organoleptische Qualität einer Schokolade anzusehen (WOOD und LASS, 2001; AFOAKWA et al., 2008). Wird das Nacherntemanagement adäquat durchgeführt, verringert sich die Gefahr hoher Säuregehalte im Rohkakao stark (SCHWAN und WHEALS, 2004). Nach ROHSIUS (2007) erhöhen eine ausgedehnte anaerobe und mikroaerobe Phase zu Beginn der Fermentation, das Risiko hoher Milchsäurekonzentrationen im resultierenden Rohkakao. Weiterhin kann eine schnelle Trocknung, die vorrangig auf Hitze und unzureichender Luftzirkulation basiert, zu frühzeitiger Trocknung der Testa führen und den Austritt der Milchsäure, gemeinsam mit dem Trägerstoff Wasser, verhindern.

In der Literatur werden Essig- und Milchsäure stets im Zusammenhang mit mikrobieller Aktivität während der Kakaofermentation genannt (SCHWAN und WHEALS, 2004). Andere organische Säuren, wie Citronensäure und Äpfelsäure stammen u.a. aus der Pulpa und werden während der Fermentation von Hefen und Milchsäurebakterien metabolisiert (RATHSACK, 2013; SCHWAN und WHEALS, 2004).

In der vorliegenden Studie konnte anhand der 6 Genotypen erstmalig gezeigt werden, dass bereits in frischen Kakaosamen Milchsäure auftritt (0,25–0,81 %; MW 0,42 %). Demzufolge kann ihr Vorkommen in Rohkakao nicht allein auf einer Aktivität von Milchsäurebakterien während der Fermentation beruhen. BAHMANN (2014) konnte im Rahmen fermentationsähnlicher Inkubationen und anschließender Rasterelektronenmikroskopie aufzeigen, dass exogene Faktoren während der ersten 48 h der Fermentation keinen Einfluss auf biochemische Prozesse im Kotyledonengewebe haben können, da die Testa bis dahin intakt ist und Kotyledonen samt Embryo gänzlich umschließt. Demnach kann die hier in frischen Samen sowie in 24 h- und 48 h fermentierten Kotyledonen detektierte Milchsäure nur auf endogene Faktoren zurückzuführen sein. Alle untersuchten Kakaoklone zeigten das gleiche Phänomen auf: je nach Genotyp unterschiedlich hohe, aber

konstante Milchsäurekonzentrationen während der ersten 48 h, gefolgt von einem signifikanten Anstieg zwischen dem 2. und 3. Fermentationstag. Demnach ist der Wechsel von endogen produzierter Milchsäure hin zu einer Anreicherung des Kotyledonengewebes mit mikrobiell produzierter Milchsäure, deutlich erkennbar.

In Pflanzengewebe muss bei Sauerstoffmangel Energie bereitgestellt werden, um lebenserhaltende, biochemische Prozesse aufrechterhalten zu können. Als Energiequelle dienen Glucose-Moleküle aus den Speicherzuckern, die im Rahmen der Glykolyse zunächst zu Pyruvat abgebaut werden. Dabei werden pro Mol Glucose 2 Mol ATP freigesetzt. Pyruvat wird im Anschluss unter  $\text{NADH} + \text{H}^+$ -Verbrauch enzymatisch zu Lactat reduziert. Dieser Vorgang wird in der Pflanzenphysiologie auch als Milchsäure-Gärung bezeichnet (HEß, 2008).

Eine mögliche Erklärung für das Auftreten von Milchsäure in frischen Kakaokotyledonen könnte der Fruchtreifegrad sein. Es ist anzunehmen, dass die Bedingungen in der Frucht ab einem bestimmten Reifegrad zunehmend anaerob werden und Kakaosamen Energie mobilisieren müssen, um ein Absterben der Embryos zu verhindern.

Zwar verlaufen die Essig- und Milchsäurekonzentrationen in allen Proben auf unterschiedlichen Niveaus, aber über die gesamte Fermentation hinweg fast parallel - mit höchsten Werten am 3. und 4. Fermentationstag. Die Unterschiede zu den 5 und 6 Tage-fermentierten Proben waren nicht bei allen Ansätzen statistisch signifikant, dennoch kann beobachtet werden, zu welchem Zeitpunkt die Ansäuerung der Gewebe durch exogene Säuren stattgefunden haben muss (s. Kapitel 4.3.4.2.). Die Bedeutung dieses Säure-Influx für die endogenen, biochemischen Veränderungen im Keimblatt, wird besonders deutlich an der Zunahme des Braunanteils (s. Kapitel 4.3.1.2.) und der freien Aminosäuren (s. Kapitel 4.3.3.2) sowie der Abnahme der Epicatechingehalte ab dem 3. bzw. 4. Fermentationstag.

#### 5.3.4. Waschung

Eine Waschung 6 Tage-fermentierter Kakaosamen (s. Kapitel 2.7. und 3.2.2.3.2), hat sich bei allen Genotypen signifikant auf den Gehalt phenolischer Substanzen und das resultierende CUT-Test Ergebnis ausgewirkt. Alle Ansätze führten zu höheren Braunanteilen im Rohkakao, wenn das Material vor der Trocknung gewaschen wurde. Hinsichtlich der Fructose-Konzentrationen konnte ebenfalls ein Effekt der Waschung beobachtet werden, dieser ist jedoch nur in einzelnen Ansätzen statistisch signifikant (s. Kapitel 4.3.5.). Die Konzentrationen organischer Säuren (Essigsäure, Milchsäure) waren in gewaschenen und ungewaschenen Kotyledonen ähnlich. Hinsichtlich der Gehalte freier Aminosäuren reagierten die Genotypen unterschiedlich auf die Waschung. Während bei PMCT-58 und CC-137 eine Zunahme beobachtet werden konnte, zeigten die anderen Klone keine Veränderungen (CATIE-R1) oder die Mengen freier Aminosäuren nahmen durch eine Waschung leicht ab (ICS-95 (T1), CATIE-R4, CATIE-R6).

Durch die Waschung kam es zu einer Modifizierung der biotechnologischen Bedingungen an der mazerierten Testa und im Keimblattgewebe. Der als physiko-chemische Barriere funktionierende, eiweißreiche TA-Schleim (s. Kapitel Kapitel 2.1.) wurde zusammen mit anderen Testazellen im Waschvorgang entfernt.

Demnach konnten während der Trocknung:

1. Diffusionsvorgänge ungehinderter ablaufen.
2. die aus dem TA-Schleim resultierenden schwefelhaltigen Verbindungen keine Hemmwirkung mehr auf enzymatische Aktivität haben, insbesondere auf die Aktivität der PPO.

Die signifikanten Abnahmen des Epicatechingehalts und teilweise der freien Aminosäuren und Fructose-Konzentrationen, können auf Substratverlust durch Auswaschung basieren. Hinsichtlich der phenolischen Substanzen und der freien Aminosäuren ist jedoch vielmehr anzunehmen, dass die Waschung eine Verschiebung des pH-Werts in einen für die PPO optimaleren Bereich bewirkte, so dass Anthocyane und Catechine vermehrt oxidiert wurden. Diese pH-Verschiebung dürfte im Fall von ICS-95 (T1), CATIE-R4 und CATIE-R6 (neben einer Auswaschung) die Abnahme der freien Aminosäuren in den gewaschenen Proben erklären: sie wurden im Rahmen der enzymatischen Bräunungsreaktionen an phenolische Substanzen gebunden und waren somit nicht mehr frei verfügbar. Bei CC-137 und PMCT-58 wurden möglicherweise weitere Carboxypeptidasen durch den Waschvorgang aktiviert. Diese Proteasen haben vermehrt hydrophobe Oligopeptide spalten können und dadurch eine Anreicherung freier Aminosäuren im Kotyledonengewebe bewirkt.

#### 5.4. Aromaprofile der Schokoladen

Aus 6 Tage-fermentierten, gewaschenen Kakaosamen von CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58 und ICS-95 (T1) sowie einer ebenfalls monoklonal fermentierten Rohkakaoprobe des Konsumkakaos CCN-51, wurden von der Firma Rausch Schokoladen GmbH dunkle Vollmilchschokoladen mit einem Kakaoanteil von 47 % produziert und anschließend durch das Qualitätspanel der Firma blind verkostet (s. Kapitel 3.2.4.). Zur Beschreibung wurden die Attribute *cremig, milchig, sahnig, karamellig, süß, kräftig, kakaobetont, adstringierend, sauer, aromatisch, bitter, herb, blumig, fruchtig* und *exotisch-fruchtig* verwendet.

Nach SUKHA (CRC, persönl. Kommunikation, 2015) sind Aromaeigenschaften von Milchschokoladen schwieriger zu beurteilen, da Karamell- und Milchnoten dominieren. Die Verkostung und sensorische Beurteilung der Probeschokoladen durch die Rausch Schokoladen GmbH zeigte jedoch große Differenzen im organoleptischen Charakter der einzelnen Schokoladen auf (s. Kapitel 4.5.).

Da sich die CATIE-Klone nicht nur untereinander, sondern auch vom Kontrollklon CCN-51 deutlich unterscheiden, ist eine Klassifizierung der neuen Selektionen als Feinkakaos zulässig.

Die Schokolade aus Rohkakao von CCN-51 wies ein vergleichsweise flaches Aroma auf, mit betonter Adstringenz und „off-flavours“. Die Eigenschaft *kakaobetont* im Aromaprofil von PMCT-58, könnte auf die hohen Gehalte freier Aminosäuren zurückzuführen sein (s. Kapitel 4.3.3.2.), die zusammen mit Zuckern während der Röstung, im Rahmen sogenannter *Maillard*-Reaktionen, AMADORI-Produkte bildeten (AFOAKWA et al., 2008; ZIEGLER, 1994). Zum Vergleich und ggf. einer detaillierteren Beschreibung der (Fein-)Aromaprofile von Schokoladen aus CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58 und ICS-95 (T1), wäre es interessant, Bitterschokoladen mit erhöhtem Kakaoanteil (> 60 %) zu produzieren.

Da die meisten aromagebenden Komponenten lipophil sind und offenbar in der Fettphase der Kakaokotyledonen gespeichert sind, muss von einem Verlust an Feinaromen durch Waschung nicht ausgegangen werden. Wenn, dann würde sich dieser potentielle Verlust auf einen geringen Anteil hydrophiler und ggf. amphibiler Verbindungen beschränken. Eine Vergleichsstudie mit Schokoladen aus gewaschenen und ungewaschenen Rohkakaoprobe wird zeigen können, ob es Aromaeinbußen gibt bzw. Schokoladen aus gewaschenen Samen ein flacheres Aroma aufweisen als solche aus ungewaschenem Rohkakao.

#### **5.4.1. Schlussfolgerungen und Ausblick**

Aufgrund der Biologie (Standortansprüche, Bestäubung) von *Theobroma cacao* L. und zur Minderung des Krankheitsdrucks, werden im Anbau meist mehrere Kakaogenotypen gemischt angebaut. Dementsprechend gibt es bis dato keine wirtschaftlich bedeutende Herstellung von sortenreinen Schokoladen. Langfristig könnte dies eine interessante Komponente für Schokoladenhersteller sein, die auf Exklusivität und Nischenmärkte ausgerichtet sind, denn wie die vorliegende Arbeit zeigen konnte, variiert das Aroma in Abhängigkeit vom Feinkakaoklon stark. Andererseits ist es evtl. gerade die Kombination dieser Sorten, die zu einem runden Aromabouquet führt.

## 6. Zusammenfassung

Am Beispiel sechs neuer Kakao-Selektionen des CATIE in Costa Rica (CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137) wurde die Komplexität der Aromabildung bei *Theobroma cacao* L. untersucht. Dabei konnten neue Erkenntnisse über die maßgeblich an der Ausbildung von Feinaroma beteiligten Komponenten gewonnen werden. Die Vielzahl an Faktoren lässt sich in drei Oberkategorien zusammenfassen, die in Wechselwirkung zueinander stehen: Genotyp, Standort und Nacherntemanagement.

Das Feinaromapotential ist je nach Kakaogenotyp sehr verschieden und basiert auf einer Vielzahl von Terpenen, Alkoholen, Estern, Aldehyden und Methylketonen die in unterschiedlichen Konzentrationen und Zusammensetzungen auftreten. Neben den zwei dominierenden Estern 2-Pentanolacetat und 2-Heptanolacetat waren vor allem Mischungen geringer konzentrierter Duftstoffe an der Ausbildung der klonspezifischen Aromacharaktere beteiligt. Demnach treten genotypisch bedingte Qualitätsfaktoren in den Vordergrund. Die Aromakomponenten sind unterschiedlicher Herkunft im Gewebe, insbesondere aber in der Pulpa vorhanden.

### **Die Bedeutung des Kakaofruchtfleischs (Pulpa) in der Aromaausbildung von Rohkakao**

Die Pulpaanalytik und die sensorische Beurteilung der Probeschokoladen weisen auf einen Transfer aromagebender Komponenten aus der Kakaopulpa in den Kakaosamen während der Fermentation hin, denn offenbar prägen diese Aromastoffe den organoleptischen Charakter der Schokolade maßgeblich.

Wie in dieser Studie erstmalig gezeigt wurde, nehmen

1. das vorherrschende Klima während der Fruchtreife
2. der Reifegrad der Früchte

eine Schlüsselrolle in der Veränderung der Aromakomposition und -intensität der Kakaopulpa ein. Aufgrund des offensichtlichen Zusammenhangs zwischen der Kakaopulpa und dem organoleptischen Charakter des Endprodukts, kann mit diesen neuen Erkenntnissen postuliert werden, dass

1. sowohl Aromaintensität als auch Aromakomposition einer Edelschokolade, je nach prozentualem Feinkakaoanteil, zwischen der Haupternte und Nebenernte variieren
2. ein Anteil überreifer Früchte - d.h. je nach Genotyp 1 bis 1,5 Wochen nach Erreichen des erntereifen Zustands - das Feinaromapotential der Schokolade erhöhen kann.

Weitere Untersuchungen auf biochemischer Ebene werden notwendig sein, um die genauen Zusammenhänge sowie Wirkungs- und Transfermechanismen in der Ausbildung von Feinaroma bei *Theobroma cacao* L. zu verstehen.

### **Die Rolle des Genotyps beim Nacherntemanagement**

Die Nacherntebehandlung stellt neben dem Kakaogenotyp und dem Erntezeitpunkt den Schlüsselfaktor für die endgültige Produktqualität dar. Durch monoklonale Fermentationen konnten biotechnologische Variablen identifiziert werden, die unterschiedliche Fermentationsverläufe bedingten. Letztere divergierten in Abhängigkeit vom Kakaogenotyp deutlich.

Die auf den Genotyp zurückzuführenden Differenzen beruhen auf unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften des jeweiligen Samenmaterials: u.a. Gehalt phenolischer Substanzen, Enzymaktivitäten, Pulpa-Samen-Verhältnis, Testabeschaffenheit, Freisetzung von TA-Schleim (s. Kapitel 3.1.). Diese Eigenschaften sind genetisch bedingt, ebenso wie deren Änderung während der Samenreife.

### **Eigenschaften der sechs neuen Kakao-Selektionen des CATIE in Costa Rica**

Der Kakaoklon CC-137 weist vergleichsweise große Samen und einen hohen Gehalt an Epicatechin auf. Er könnte für die Herstellung von Schokoladen mit hohem antioxidativem Potential gute Verwendung finden, sollte aber bei der Nacherntebehandlung mit den anderen 5 CATIE-Klonen separat fermentiert werden. Die Klone ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4 und CATIE-R6 zeichnen sich hingegen durch ein hohes Feinaromapotential aus. ICS-95 (T1) fermentiert insgesamt schneller, benötigt also eine kürzere Fermentationszeit. Grundsätzlich könnten die Klone als einzelnes oder gemischtes Klonmaterial fermentiert werden. Es ist abschließend noch nicht geklärt, ob das endgültige Aromabouquet nach Mischfermentationen sogar zufriedenstellender ist. Der Klon PMCT-58 fällt durch ein hohes Potential der Bildung freier Aminosäuren auf und hat ein kräftiges Aroma. Da sein Fermentationsverhalten allerdings von dem der anderen Klone stark abweicht, muss in weiteren Untersuchungen geprüft werden, ob es besser ist, seine Samen separat zu fermentieren.

Die Formulierung eines einzigen Standardprotokolls ist für die Nacherntebehandlung der 6 Kakaogenotypen - mit Hinblick auf Qualitätsfaktoren - nicht sinnvoll. Fermentationsmethode und -dauer sowie die Trocknung der Kakaosamen müssen stets an die gegebene Situation angepasst werden. Eine kontinuierliche Überwachung der Prozesse, z.B. durch 2-3 Mal tägliche Temperaturmessungen und wenn möglich tägliche Bestimmung des pH-Werts, sind für die resultierende Rohkakaoqualität unabdingbar. Der Einfluss der Witterungsbedingungen auf den Fermentationsverlauf kann und sollte durch eine gute Isolierung minimiert werden.

Bei allen Klonen ist je nach Standort und Witterung eine Waschung der fermentierten Samen für den Trocknungsprozess und damit die Rohkakaqualität empfehlenswert (s. Kapitel 4.2.2.3.2. und 6.3.4.). Aufgrund des lipophilen Charakters vieler Aromastoffe besteht nur ein geringes Risiko einer Auswaschung von Feinaromen. Bei andauernden Regenperioden muss allerdings eine trockene bzw. feuchtigkeitsarme Umgebung gesichert sein, um potentielle Bildung von Schimmel und „off-Flavours“ zu verhindern.

### **Ausblick**

Monoklonale Fermentationen - bisher in der Praxis noch nicht üblich - ermöglichen die Produktion einer sortenreinen Rohkakaqualität. Weiterhin können „Blends“ aus monoklonal fermentierten Rohkakaos den organoleptischen Charakter des Endprodukts unterschiedlich gestalten. Demzufolge erlauben diese Ansätze eine neue Komposition von Aromaqualitäten bei *Theobroma cacao* L. .

## 7. Abstract

The complexity of fine aroma formation in *Theobroma cacao* L. was studied using six new cacao tree selections (CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) and CC-137) of the international cacao collection at CATIE in Costa Rica. New insights in the multiple components contributing to fine aroma were gained. The main categories which interact and define the fine aroma characteristics are genotype, cultivation site and post-harvest treatment.

The genotype dependent fine aroma potential is based on a combination of plant secondary compounds: terpenes, alcohols, esters, aldehydes and methyl ketones in differing concentrations and combinations. All genotypes contained a basic content of the two dominating esters 2-pentanol acetate and 2-heptanol acetate, combined with a mixture of various minor compounds which form the clone specific aroma. The aroma components may derive from different tissues, but most of them are formed or stored in the pulp.

### **The importance of fruit pulp in the aroma formation of raw cocoa**

Pulp analytics and sensory properties of test chocolate samples support the hypothesis that aroma forming components are transferred out of the pulp to the fermenting cocoa seeds. These components are key factors which essentially form the organoleptic character of the chocolate.

Within this study it could be shown that

1. the prevailing climate in the phase of fruit ripening and
2. the ripening status of the fruits

play a decisive role in the change of the fruit pulp's aroma composition and aroma intensity.

This interdependence of pulp quality and the organoleptic character of the end product allows to postulate that

1. both, aroma intensity and aroma composition of fine chocolates may vary depending on the raw cocoa being used from main crop and mid-crop, resp..
2. a certain amount of cocoa from overripe fruits in the fermentation mass may enhance the final fine aroma of the chocolate.

Further investigations of the biochemical background are needed in order to understand the detailed mechanisms and transfer processes for the formation of fine aroma in *Theobroma cacao* L. .

### **The impact of the genotype on the post-harvest management**

The post-harvest treatment, the genotype and the exact time of harvest are the key factors for the product quality of raw cocoa. By comparison of monoclonal fermentations it became clear that the biochemical and biophysical sequences in course of fermentation vary with the clonal material. The varying factors are based on seed characteristics, for instance amount of phenolic compounds, activities of key enzymes, pulp to seed relations, testa characteristics, swelling of testa associated slimes. These factors are mostly genetically determined and may be modified by ripening stage.

### **Characteristics of the six new cacao selections of the CATIE collection**

Clone CC-137 typically forms larger seeds than the other clones under study and is characterized by a high content of epicatechin. This raw cocoa may be suitable for chocolates with high antioxidative potential, provided that the post-harvest process is adapted to these properties. The other clones tested ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4 and CATIE-R6 reveal a special fine aroma potential. Genotype ICS-95 (T1) needs shorter fermentation time than the other clones, but it is not clear if the clones form even a better aroma, when fermented as a mixture. The clone PMCT-58 is characterized by a high potential for the formation of free amino acids and a strong aroma. The fermentation process of this clone is different from the fermentation of the other clones and it has to be analyzed if separate fermentation will lead to a favorable result.

The formulation of only one fermentation standard protocol for all six clones is not recommendable with respect to develop the highest quality per clone. Fermentation method and duration of the treatment has to be adjusted to material and environmental condition. A continuous process monitoring by temperature control and pH measurement are advisable for product quality optimization. The impact of climate can be minimized by good insulation of the fermentation facility. For all clones a short washing procedure of the seeds after fermentation and before drying may enhance product quality. The risk to loose aroma factors by washing is low, because almost all fine aroma components seem to be located in the lipophilic compartments. After washing the seeds are humid and this may favour growth of molds and off flavor formation, therefore, weather conditions have to be favourable for this additional step in the post-harvest treatment of cocoa.

### **Outlook**

Monoclonal fermentations are so far not used in cocoa quality formation steps, but they allow to produce a new clonally defined “true-to-type” raw cocoa. On this product basis blends can be produced to create new chocolate end products. Under these aspects this study opens new ways to produce new chocolate qualities.

## 8. Resumen

La complejidad de la formación de aroma fino en *Theobroma cacao* L. fue estudiado por seis nuevos clones de cacao (CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) y CC-137) seleccionados en la colección internacional de cacao del CATIE, Costa Rica.

Se logró adquirir nuevos conocimientos sobre los componentes decisivos participando en la formación de aroma fino de cacao. La gran cantidad de factores pertenecen a tres grupos principales los cuales interactúan y definen las características del aroma fino: genotipo, ubicación y manejo de poscosecha.

El potencial del aroma fino depende del genotipo y se basa en una diversidad y multiplicidad de terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos y metilcetonas que aparecen en concentraciones y combinaciones diferentes. Todos los genotipos estudiados presentaron dos ésteres dominantes, acetato de 2-pentilo y acetato de 2-heptilo, combinados con una mezcla de varios componentes menores que forman el aroma específico y característico del clon presente. Los componentes aromáticos pueden provenir de tejidos diferentes, sin embargo, la mayoría está formada y almacenada en la pulpa del fruto de cacao.

### **La importancia de la pulpa para la formación de aroma del cacao en oro**

El análisis de la pulpa en conjunto con la evaluación sensorial de las muestras de chocolate respaldan la hipótesis de que componentes aromáticos localizados en la pulpa están transferidos al cotiledón durante la fermentación y finalmente forman el carácter organoléptico del chocolate.

Por primera vez se pudo demostrar en el presente estudio que

1. el clima durante la maduración del fruto y
2. el estado de maduración del fruto en el momento de la cosecha

juegan un papel clave en el cambio de la composición e intensidad del aroma de la pulpa del cacao.

Debido al nuevo conocimiento y la aparente relación entre la pulpa y el carácter organoléptico del producto final se puede decir que

1. la intensidad y la composición del aroma de un chocolate fino varían (dependiendo del cacao utilizado) entre las temporadas altas y las temporadas bajas de cosecha
2. el material de unos frutos sobremaduros en la masa pueda aumentar el potencial del aroma fino en el chocolate.

Estudios adicionales bioquímicos serán necesarios para poder entender mejor y más detallado los mecanismos y procesos involucrados en una transferencia de componentes aromáticos y en la formación del aroma fino de *Theobroma cacao* L.

### **El significado del genotipo para la poscosecha de cacao**

El genotipo de cacao, el momento de la cosecha y el manejo de la poscosecha juegan los papeles claves para la calidad del cacao en oro. Una comparación de las fermentaciones monoclonales implementadas permitió observar cambios bioquímicos y biofísicos en el transcurso de la fermentación que varían dependiendo del genotipo presente. Las diferencias están basadas en las distintas propiedades fisicoquímicas del material genético, entre otras: el contenido de sustancias fenólicas, las actividades de enzimas principales, la relación entre la pulpa y la semilla, las características de la testa, la liberación y el hinchamiento de mucilagos asociados con la testa (véase capítulo 3.1.). Dichas propiedades están determinadas genéticamente, al igual sus cambios durante la maduración de la semilla.

### **Propiedades de las seis selecciones nuevas de cacao del CATIE en Costa Rica**

El clon CC-137 presenta semillas relativamente grandes y su alto contenido de epicatequina le permite ser utilizado para la producción de chocolates con un alto potencial antioxidativo, a condición de que haya un protocolo adaptado. Sin embargo, con respecto al manejo de poscosecha se debería fermentar el material del CC-137 separado de los otros cinco clones. Los clones ICS-95 (T1), CATIE-R1, CATIE-R4 y CATIE-R6 se destacan por un alto potencial de aroma fino. El material del ICS-95 (T1) se fermenta más rápido y así requiere menos tiempo de fermentación. Las semillas de los clones podrían ser fermentadas de ambas formas, monoclonal o en una mezcla. Sin embargo, en este momento falta más información sobre posibles cambios en la composición del aroma, quizás esté aún más satisfactoria cuando el material de los clones ha sido fermentado en una mezcla.

El clon PMCT-58 llama la atención por su alto potencial en la formación y acumulación de aminoácidos libres y por su aroma fuerte. No obstante, su comportamiento durante la fermentación es muy distinto a los demás clones; estudios adicionales serán necesarios para averiguar si sea mejor fermentar el material del PMCT-58 individualmente.

Con respecto a factores de calidad, no es razonable formular un sólo protocolo estándar para el manejo de poscosecha de los seis nuevos génotipos de cacao. El método y la duración de la fermentación, al igual el secado de las semillas de cacao, siempre deberían estar adaptados a las

condiciones presentes. Para poder obtener una alta calidad del cacao en oro, hay que monitorear los procesos en la masa de manera continua, por ejemplo por mediciones de la temperatura 2 a 3 veces al día y si fuera posible, también por determinación diaria del pH. Se puede minimizar la influencia de las condiciones ambientales en el transcurso de la fermentación por un buen y adecuado aislamiento de la masa. Dependiendo de la ubicación de la plantación y del clima, es recomendable lavar las semillas fermentadas de los seis clones para optimizar el secado y así la calidad final (véase capítulo 4.2.2.3.2. y 6.3.4.). Por el carácter lipofílico de la mayoría de los componentes aromáticos, el riesgo de una pérdida de aromas finos por lavado es bajo. Sin embargo, en caso de una temporada lluviosa o constante precipitación hay que asegurar un entorno seco o aislado de la humedad excesiva para evitar una formación de moho y de aromas desagradables.

### **Perspectiva**

En la cacaocultura aún no es común implementar fermentaciones monoclonales, los cuales permiten la producción de una calidad de cacao en oro „pura”, hecho de un solo génotipo. Además, con mezclas específicas de cacaos anteriormente fermentados en sistemas monoclonales se podría formar caracteres organolépticos diferentes en el producto final. En resumidas cuentas, estos enfoques permiten una nueva composición de calidades de aroma en *Theobroma cacao* L. .

## 9. Verzeichnisse

### 9.1. Abkürzungen

*	statistisch signifikant
<	kleiner als
>	größer als
≤	kleiner gleich
≥	größer gleich
±	plus minus
∅	Durchschnitt
%	Anteil in Prozent
°Brix	Saccharosegehalt in Grad Brix
°C	Temperatur in Grad Celsius
α	Signifikanzniveau
$\lambda_{em}$	Emissionswellenlänge in Nanometer
$\lambda_{ex}$	Extinktionswellenlänge in Nanometer
μg	Mikrogramm ( $10^{-6}$ gramm)
μl	Mikroliter ( $10^{-9}$ m <sup>3</sup> )
μmol	Mikromol
μm	Mikrometer ( $10^{-6}$ m)
a	Jahr
Abb.	Abbildung
ACRI	American Cocoa Research Institute (USA)
Ala	Alanin
ANOVA	Varianzanalyse (engl. Analysis of Variance)
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
CAS	Chemical Abstracts Service
CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (Costa Rica)
CC	Centro de Cacao (Versuchsstandort La Lola, CATIE, Costa Rica)
CCN	Cacao Castro Naranjal, Bezeichnung bestimmter Kakaogenotypen (Ecuador)
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
cm	Zentimeter
CIRAD	Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Frankreich)
CRC	Cocoa Research Center (Trinidad und Tobago)
dest.	destilliert
DF	Freiheitsgrade (engl. Degrees of Freedom)
et al.	und andere
E	Exponent
EET	Estación Experimental Tropical, Bezeichnung bestimmter Kakaogenotypen (Ecuador)
F	Signifikanzprüfung im Rahmen der Varianzanalyse
FAA	freie Aminosäuren

---

FAOSTAT	Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database
FCC	Federation of Cocoa Commerce Ltd.
ffTM	fettfreie Trockenmasse
g	Gramm
GABA	gamma-Aminobuttersäure
GCMS	Gaschromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie
GCMSChr	GCMS Chromatogramm
Gln	Glutaminsäure
Glu	Glutamin
Gly	Glycin
h	Stunde
H <sub>2</sub> O	chemische Strukturformel für Wasser
His	Histidin
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. High-Performance Liquid Chromatography)
HSD	Honestly-Significant-Difference-test (post hoc-Test nach Varianzanalyse)
Ile	Isoleucin
ha	Hektar
IC3	International Cocoa Collection, CATIE (Costa Rica)
ICCO	International Cocoa Organization
ICS	Imperial College Selections (Trinidad)
IMC	Iquitos Mixed Calabacillo, Bezeichnung bestimmter Kakaogenotypen (Peru)
kg	Kilogramm
km	Kilometer
kPa	Kilopascal
L	Liter
L.	Linné
LAF	Lower Amazon Forastero , Kakaogenotypen im Gebiet des unteren Amazonas
Leu	Leucin
Lys	Lysin
m	Meter
mbar	Milibar (10 <sup>-3</sup> bar)
min	Minuten
mm	Milimeter
MQ	Mitllere Quadratsumme
MS	Massenspektrometrie
mW	mit Waschung
MW	Mittelwert
n	Stichprobenumfang
N	Nord
NADH <sub>2</sub>	Nicotinamid-Adenin Dinucleotid
ng	Nanogramm
N.N.	Normalnull, über dem Meeresspiegel
OPA	<i>ortho</i> -phthaldialdehyde
oW	ohne Waschung
p	p-Wert

PCA	Hauptkomponentenanalyse (engl. principal component analysis)
PCC	Proyecto Cacao Centroamerica
PDA	Fotodiodenarray (engl. Photo Diode Array)
PMCT	Programa Mejoramiento de Cultivos Tropicales, CATIE (Costa Rica)
PPO	Polyphenoloxidase
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVPP	Polyvinylpyrrolidon
RP-HPLC	Reversed Phase - High-Performance Liquid Chromatography
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl. revolutions per minute)
SCA	Scavina, Bezeichnung bestimmter Kakaogenotypen (Peru)
Ser	Seroin
SPME	Festphasenmikroextraktion (engl. solid phase micro extraction)
sp.	Art (engl. species)
Std.	Standardfehler
Stdabw.	Standardabweichung
SQ	Quadratsumme
t	Tonnen
T1	Typ 1
T2	Typ 2
TA	Testaassoziiert
Tab.	Tabelle
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
UAF	Upper Amazon Forastero, Kakaogenotypen aus dem oberen Amazonasgebiet
UF	United Fruit
USDA	United States Department of Agriculture (USA)
UV	Ultraviolettes Licht
UWI	University of the Western Indies (Trinidad und Tobago)
Val	Valin
W	West
WAA	West African Amelonado
WCF	World Cocoa Foundation

## 9.2. Abbildungen

Abb. 1: Durchschnittliche globale Kakaoproduktion in Tonnen (1993-2013) (FAOSTAT, 2015) .....	7
Abb. 2: Dynamik des Angebots und der Verarbeitung von Rohkakao (ICCO, 2015c) .....	7
Abb. 3: Kakaoanbau in ruralen Regionen Zentralamerikas (nach SOMARRIBA, 2013, modifiziert) .....	9
Abb. 4: Rohkakaoproduktion in Costa Rica zwischen 1975 und 2013 (FAOSTAT, 2015) .....	10
Abb. 5: Partnerkooperativen und Institutionen des <i>Proyecto Cacao Centroamerica</i> (CATIE, 2015, modifiziert) .	12
Abb. 6: Fermentationsmethoden bei Kakao .....	16
Abb. 7: Eine Auswahl an Trocknungsverfahren bei Kakao .....	17
Abb. 8: Eine Auswahl an Formen der Fruchtspitze bei <i>Theobroma cacao</i> L. ....	19
Abb. 9: Typische Fruchtformen bei <i>Theobroma cacao</i> L.....	20
Abb. 10: Früchte und Samen des Kakaoklons PMCT-58 .....	21
Abb. 11: Früchte und Samen des Kakaoklons ICS-95 (T1).....	23
Abb. 12: Früchte und Samen des Kakaoklons CATIE-R1.....	25
Abb. 13: Früchte und Samen des Kakaoklons CATIE-R4.....	27
Abb. 14: Früchte und Samen des Kakaoklons CATIE-R6.....	29
Abb. 15: Früchte und Samen des Kakaoklons CC-137.....	31
Abb. 16: Ablaufschema der .....	36
Abb. 17: Anfertigung der Holzkisten für monoklonale Mikrofermentationen .....	37
Abb. 18: Geographische Lage Costas Ricas und des Versuchsstandorts Finca Peralta (WIKIPEDIA, 2015).....	38
Abb. 19: Kakaoanbausystem der Finca Peralta.....	38
Abb. 20: Versuchsvorbereitung Frühjahrsfermentationen.....	39
Abb. 21: Vorbereitete Mikrofermentationskisten mit frischem Kakaosamenmaterial, Herbst 2013.....	41
Abb. 22: Enzymatische Entpulpung von Kakaotesten und Quellung der Schleimkavernen .....	41
Abb. 23: Schleimgewinnung aus frischen Kakaotesten.....	42
Abb. 24: Waschung fermentierter Kakaosamen .....	42
Abb. 25: Trocknung der Kakaoproben .....	43
Abb. 26: Schnitt-Test von Rohkakao mithilfe der "Kakao-Guillotine" .....	45
Abb. 27: Farbe und Beschaffenheit unterschiedlich lang fermentierter Rohkakaosamen .....	46
Abb. 28: 2-Pentanolacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit. 56	
Abb. 29: 2-Heptanolacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit . 57	
Abb. 30: trans-Ocimen in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit 58	
Abb. 31: alpha-Ocimen in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit 59	
Abb. 32: Linalool in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit..... 60	
Abb. 33: Myrcen in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	62
Abb. 34: 2-Methyl-3-buten-2-ol in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone in der Regen- und Trockenzeit..... 63	
Abb. 35: 2-Nonanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .... 64	
Abb. 36: 2-Pentanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit ... 65	
Abb. 37: 2-Heptanol in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .... 66	

Abb. 38: Styrallylacetat in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit	67
Abb. 39: 2-Heptanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit ...	68
Abb. 40: 2-Pentanol in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit.....	69
Abb. 41: 2-Octanolacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit ...	70
Abb. 42: 2-Nonanol in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	71
Abb. 43: 5-Methyl-3-heptanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit.....	72
Abb. 44: Linalylacetat in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit..	73
Abb. 45: 2-Undecanon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit.	74
Abb. 46: trans-Linalooloxid in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit.	75
Abb. 47: Acetophenon in der frischen Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit.	76
Abb. 48: Styrallyl alcohol in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	77
Abb. 49: $\alpha$ -Bergamoten in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	78
Abb. 50: alpha-Copaen in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	79
Abb. 51: trans- $\beta$ -Farnesen in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit..	80
Abb. 52: 2,3-Butandioldiacetat in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	81
Abb. 53: Epoxylinool in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit .....	82
Abb. 54: cis-Linalooloxid in frischer Pulpa verschiedener Kakaoklone während der Regen- und Trockenzeit.....	83
Abb. 55: Absolute Flächen der einzelnen Aromagruppen am jeweiligen Gesamtaromaprofil (Gesamtpeakfläche) der Pulpa von reifen und überreifen Früchten der 7 untersuchten Kakaogenotypen.....	86
Abb. 56: Aromaprofil von PMCT-58 während der Trockenzeit und der Regenzeit.....	88
Abb. 57: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons PMCT-58 während der Trockenzeit.....	90
Abb. 58: Aromaprofil von ICS-95 (T1) während der Trockenzeit und der Regenzeit .....	92
Abb. 59: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons ICS-95 (T1) während der Trockenzeit.....	94
Abb. 60: Aromaprofil von CATIE-R1 während der Trockenzeit und der Regenzeit.....	96
Abb. 61: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R1 während der Trockenzeit.....	98
Abb. 62: Aromaprofil von CATIE-R4 während der Trockenzeit und der Regenzeit.....	100
Abb. 63: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R4 während der Trockenzeit.....	102
Abb. 64: Aromaprofil von CATIE-R6 während der Trockenzeit und der Regenzeit.....	104
Abb. 65: Aromaspektrum in unreifen, reifen und überreifen Früchten des Kakaoklons CATIE-R6 während der Trockenzeit.....	106
Abb. 66: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons PMCT-58.....	109
Abb. 67: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons ICS-95 (T1) .....	109
Abb. 68: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CATIE-R1.....	110

Abb. 69: Temperaturentwicklung in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CATIE-R4.....	110
Abb. 70: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CATIE-R6.....	111
Abb. 71: Temperaturentwicklung [°C] in den Frühjahrsfermentationen des Kakaoklons CC-137 .....	111
Abb. 72: Veränderung des Zuckergehalts [°Brix] und des pH-Werts [°C] der Pulpa während der Fermentation.....	112
Abb. 73: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons PMCT-58 .....	114
Abb. 74: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons ICS-95 (T1).....	114
Abb. 75: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CATIE-R1 .....	115
Abb. 76: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CATIE-R4 .....	115
Abb. 77: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CATIE-R6 .....	116
Abb. 78: Temperaturentwicklung [°C] in einer Herbstfermentation (Oktober) des Kakaoklons CC-137.....	116
Abb. 79: Veränderung des Pulpazuckergehalts [°Brix] und des pH-Werts der Kakaopulpa und -kotyledonen verschiedener Kakaogenotypen während der Fermentation .....	117
Abb. 80: Fermentierte und gewaschene Kakaosamen von CATIE-R1 und CATIE-R4, frisch und getrocknet .....	118
Abb. 81: Fermentierte und gewaschene Kakaosamen von CATIE-R6, PMCT-58, ICS-95 (T1) und CC-137, frisch und getrocknet.....	119
Abb. 82: Optische und strukturelle Unterschiede zwischen Genotypen am 3. Fermentationstag.....	120
Abb. 83: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von PMCT-58 während der Trockenzeit.....	122
Abb. 84: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von ICS-95 (T1) während der Trockenzeit.....	122
Abb. 85: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R1 während der Trockenzeit.....	123
Abb. 86: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R4 während der Trockenzeit.....	123
Abb. 87: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R6 während der Trockenzeit.....	124
Abb. 88: Schnitttest-Ergebnisse unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CC-137 während der Trockenzeit.....	124
Abb. 89: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von PMCT-58 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober).....	126
Abb. 90: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von ICS-95 (T1) während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober).....	126
Abb. 91: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R1 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober).....	127
Abb. 92: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R4 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober).....	127
Abb. 93: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R6 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober).....	128

Abb. 94: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CC-137 während des 1.Fermentationszyklus der Regenzeit (Oktober).....	128
Abb. 95: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von PMCT-58 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November).....	130
Abb. 96: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von ICS-95 (T1) während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November).....	130
Abb. 97: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R1 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November).....	131
Abb. 98: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R4 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November).....	131
Abb. 99: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CATIE-R6 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November).....	132
Abb. 100: Schnitttest-Ergebnisse frischer und unterschiedlich lang fermentierter Kakaosamen von CC-137 während des 2.Fermentationszyklus der Regenzeit (November).....	132
Abb. 101: Epicatechin [ $\text{mg g}^{-1}$ ffTM] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaosamen der 6 Klone.....	133
Abb. 102: Catechin [ $\text{mg g}^{-1}$ ffTM] in 4, 5 und 6 Tage-fermentierten Kakaosamen der 6 Klone.....	134
Abb. 103: Epicatechin [ $\text{mg g}^{-1}$ ffTM] in unterschiedlich lang fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen während der Regenzeit.....	136
Abb. 104: Catechin [ $\text{mg g}^{-1}$ ffTM] in unterschiedlich lang fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen während der Regenzeit.....	137
Abb. 105: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von PMCT-58 während der Trockenzeit.....	140
Abb. 106: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von ICS-95 (T1) während der Trockenzeit.....	140
Abb. 107: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CATIE-R1 während der Trockenzeit	141
Abb. 108: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CATIE-R4 während der Trockenzeit	141
Abb. 109: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CATIE-R6 während der Trockenzeit	142
Abb. 110: Gehalt Freier Aminosäuren in fermentierten Kakaosamen von CC-137 während der Trockenzeit ...	142
Abb. 111: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im Oktober 2013.....	144
Abb. 112: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im November 2013.....	144
Abb. 113: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im Oktober 2013.....	145
Abb. 114: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im November 2013.....	145
Abb. 115: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im Oktober 2013.....	146
Abb. 116: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im November 2013.....	146
Abb. 117: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im Oktober 2013.....	147
Abb. 118: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im November 2013.....	147
Abb. 119: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im Oktober 2013.....	148
Abb. 120: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im November 2013.....	148
Abb. 121: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im Oktober 2013.....	149

Abb. 122: Gehalt Freier Aminosäuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im November 2013.....	149
Abb. 123: Organische Säuren [%] in unterschiedlich lang fermentierten Kakaosamen der 6 Genotypen während der Trockenzeit .....	151
Abb. 124: Organische Säuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im Oktober 2013 .....	153
Abb. 125: Organische Säuren in Kakaosamen von PMCT-58, fermentiert im November 2013.....	153
Abb. 126: Organische Säuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im Oktober 2013.....	154
Abb. 127: Organische Säuren in Kakaosamen von ICS-95 (T1), fermentiert im November 2013 .....	154
Abb. 128: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im Oktober 2013 .....	155
Abb. 129: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R1, fermentiert im November 2013.....	155
Abb. 130: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im Oktober 2013 .....	156
Abb. 131: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R4, fermentiert im November 2013.....	156
Abb. 132: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im Oktober 2013 .....	157
Abb. 133: Organische Säuren in Kakaosamen von CATIE-R6, fermentiert im November 2013.....	157
Abb. 134: Organische Säuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im Oktober 2013.....	158
Abb. 135: Organische Säuren in Kakaosamen von CC-137, fermentiert im November 2013 .....	158
Abb. 136: Reduzierende Zucker (Fructose) in gewaschenen und ungewaschenen Samen der 6 Kakaoklone ...	160
Abb. 137: PCA der Regenzeit-Proben.....	161
Abb. 138: TA-Schleim in fermentierender Kakaomasse.....	163
Abb. 139: Geschmacksprofile der monoklonalen Schokoladen.....	164
Abb. 140: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons PMCT-58 .....	165
Abb. 141: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons ICS-95 (T1) .....	166
Abb. 142: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CATIE-R1 .....	167
Abb. 143: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CATIE-R4 .....	168
Abb. 144: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CATIE-R6 .....	169
Abb. 145: Geschmacksprofil der Schokolade des Klons CCN-51.....	170

### 9.3. Tabellen

Tab. 1: Handelsübliche Gruppierungen von Rohkakao (basierend auf ROHSIUS, 2007 und AFOAKWA, 2014):.....	4
Tab. 2: Agronomische Merkmale PMCT-58 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert).....	22
Tab. 3: Agronomische Merkmale ICS-95 (T1) (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert).....	24
Tab. 4: Agronomische Merkmale CATIE-R1 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert).....	26
Tab. 5: Agronomische Merkmale CATIE-R4 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert).....	28
Tab. 6: Agronomische Merkmale CATIE-R6 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert).....	30
Tab. 7: Agronomische Merkmale CC-137 (nach PHILLIPS et al. 2013, modifiziert).....	32
Tab. 8: Probenübersicht der Feinaromaanalytik von Fruchtpulpen unterschiedlicher Reifegrade verschiedener Kakao-Genotypen.....	33
Tab. 9: Ergebnis der einfaktoriellen ANOVA und anschließendem <i>post-hoc</i> Test Tukey HSD (ungleiches N) für die Variablen Linalool und Klon, nur unter Berücksichtigung der Trockenzeit.....	61
Tab. 10: Andere volatile Aromastoffe (Minorkomponenten) in der Kakaopulpa reifer und überreifer Früchte..	84
Tab. 11: Andere volatile Aromastoffe (Minorkomponenten) in der Kakaopulpa unreifer Früchte.....	85
Tab. 12: Durchschnittliche prozentuale Anteile [%] der Aromagruppen am Pulpaaroma reifer und überreifer Früchte der sieben Kakaoklone.....	87
Tab. 13: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von PMCT-58 .....	166
Tab. 14: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von ICS-95 (T1).....	166
Tab. 15: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CATIE-R1.....	167
Tab. 16: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CATIE-R4.....	168
Tab. 17: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CATIE-R6.....	169
Tab. 18: Sensorische Anmerkungen des Qualitätspanels zum Geschmacksverlauf der Schokolade von CCN-51 .....	170

#### 9.4. Literatur

- ADLUNG, L., HOPP, C., KÖTHE, A., SCHNELLBÄCHER, N., STAUFER, O. (2014): „Tutorium Mathe für Biologen“. Kapitel 4, S.114. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN 978-3-642-37786-0
- AFOAKWA, E.O., PATERSON, A., FOWLER, M., RYAN, A. (2008): „Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate: A Critical review“. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 48, S. 840-857. Taylor
- AFOAKWA, E.O., PATERSON, A., FOWLER, M., RYAN, A. (2009): „Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC-mass spectrometry and GC-olfactometry“. *Food Chemistry*, Vol. 113, S. 208-215. Elsevier Ltd.
- AFOAKWA, E.O. (2014): „Cocoa Production and Processing Technology“. CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN-13: 978-1-4665-9823-2.
- ALLISON, H.W.S, ROHAN, T.A. (1958): „A new approach to the fermentation of West Africa Amelando cocoa“. *Tropical Agriculture, Trinidad*. Vol. 35, S. 279-288.
- ANDERSSON, M., KOCH, G., LIEBEREI, R. (2006): „Structure and function of the seed coat of *Theobroma cacao* L. and its possible impact on flavour precursor development during fermentation“. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, Vol. 80, S. 48-62
- AL-GABBIESH, A., KLEINWÄCHTER, M., SELMAR, D. (2014): „Influencing the Contents of Secondary Metabolites in Spice and Medicinal Plants by Deliberately Applying Drought Stress during their Cultivation“. *Jordan Journal of Biological Sciences*, Vol.8, Nr.1, S. 1-10.
- ARGOUT, X., FOUET, O., WINCKER, P., GRAMACHO, K., LEGAVRE, T., SABAU, X., RISTERUCCI, A.M., et al. (2008): „Towards the understanding of the cocoa transcriptome: Production and analysis of an exhaustive dataset of ESTs of *Theobroma cacao* L. generated from various tissues and under various conditions“. *BMC Genomics*, 9:512-530. DOI: 10.1186/1471-2164-9-512.
- ARGOUT, X., SALSE, J., AURY, J.M., GUILTINAN, M.J., DROC, G., GOUZY, J., ALLEGRE, M., et al. (2011): „The genome of *Theobroma cacao*“. *Nature Genetics* 43, 101-108. DOI: 10.1038/ng.736
- BAHMANN, C. (2014): „Biotechnologie von *Theobroma cacao* L.“ Dissertation. Universität Hamburg, Deutschland.
- BAILEY, B.A., STREM, M.D., WOOD, D. (2009): „*Trichoderma* species form endophytic associations within *Theobroma cacao* trichomes“. *Mycological Research*, Vol. 113, S. 1365-1376, Elsevier.
- BELITZ, H.-D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P. (2009): „Food Chemistry“. 4<sup>th</sup> Edition, Springer-Verlag
- BIEHL, B., PASSERN, D., SAGEMANN, W. (1982): „Effect of acetic acid on subcellular structures of cocoa bean cotyledons“. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 33, S. 1101-1109.

- BIEHL, B., VOIGT, J. (1994): „Nacherntebehandlung, Fermentation, Proteolyse und Bildung der Aromavorstufen beim Kakao“. Angewandte Botanik Berichte 5 (Applied Botany Reports), Symposium Tropische Nutzpflanzen, 1993. S. 124-137. Institut für Angewandte Botanik, Universität Hamburg.
- BONAPARTE, A., ALIKHANI, Z., MADRAMOTOO, C.A., RAGHAVAN, V. (1998): „Some Quality Characteristics of Solar dried Cocoa Beans in San Lucia“. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 76, S. 553-558.
- BONVEHI, J. (2005): „Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder“. European Food Research and Technology, Vol. 221, S. 19-29. DOI 10. 1007/s00217-005-1147-y
- CAMU, N., DE WINTER, T., ADDO, S.K., TAKRAMA, J.S., BERNAERT, H., DE VUYST, L. (2008): „Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate“. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 88, S. 2288-2297.
- CAS (2015a): „What is CAS?“. <http://www.cas.org/about-cas/faqs#>
- CAS (2015b): „Chemical CAS Database with Global Chemical suppliers - ChemNet“. URL, abgerufen am 01.06.2015: <http://cas.chemnet.com/>
- CATIE (2015): „Proyecto Cacao Centroamerica (PCC) - competitividad, ambiente y cultura“. Programa Agroambiental Mesoamerica, CATIE, Costa Rica. URL, abgerufen am 01.06.2015: <http://orton.catie.ac.cr/reprodoc/A4950E/A4950E.PDF>
- CBI (2015): „CBI Product Factsheet: Fine Flavor Cocoa in Europe“. Ministry of Foreign Affairs of the Netherlands. URL, abgerufen am 19.05.2015: <http://www.cbi.eu/sites/default/files/product-factsheet-fine-flavour-cacao-europe-cacao-2014.pdf>
- CERDA, R., DEHEUVELS, O., CALVACHE, D., NIEHAUS, L., SAENZ, Y., KENT, J., VILCHEZ, S., VILLOTA, A., MARTINEZ, C., SOMARRIBA, E. (2014): „Contribution of cocoa agroforestry systems to family income and domestic consumption: looking toward intensification“. Agroforestry Systems. Vol. 88, S. 957-981. DOI: 10.1007/s10457-014-9691-8
- CHEESMAN, E. (1944): „Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cocoa populations“. Trop. Agric. Vol.21, S. 144- 159.
- CLAPPERTON, J.F., Lockwood, R. Yow, S.T.K., Lim, D.H.K. (1994): „ Effects of planting materials on flavor“. Cocoa Growers' Bulletin, Vol. 48, S. 47-63.
- DELGADO, R.A., SOLÍS, Z.K., SUÁREZ-CAPELLO, C., PERES GRAMACHO, K., GELAPE FALEIRO, F., VANDERLEI LOPES, U. (2003): „Genetic diversity among cocoa (*Theobroma cacao* L.) Elite Clones from Ecuador“. 14<sup>th</sup> International Cocoa Research Conference Vol.1, 13-17 October 2003, Ghana.
- ELWERS (1998): „Histologische und cytologische Studien an Samen von *Theobroma*-Arten“. Diplomarbeit. Institut für Angewandte Botanik, Universität Hamburg.

- ELWERS (2008): „Zusammensetzung und histologische Verteilung der phenolischen Substanzen in Samen von Massen- und Edelkakao-Varietäten (*Theobroma cacao* L.)“. Dissertation. Department Biologie an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Universität Hamburg.
- ELWERS, S., ZAMBRANO, A., ROHSIUS, C., LIEBEREI, R. (2009): „Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.)“. European Food Research Technology, Vol. 229, S. 937-948.
- ENGELS, J.M.M. (1981): „Genetic Resources of Cacao. A catalogue of the CATIE collection“. Technical Bulletin No.7, S.5 und S.43. Tropical Agricultural Research and Training Center, CATIE, Plant Genetic Resources Unit, Turrialba, Costa Rica.
- ERFKAMP, J., RITZENHOFF, S., SCHOLZ, G., METTERNICH, H.J., OLECHOWSKI, M. (2007): „Grundlagen der Chromatographie“. e-learning für Chemieberufe. Version 1.020508. URL, abgerufen am 22.05.2015: <http://www.e-learning-chemie.de/demos/chromatographie/>
- ESKES, B., GUARDA S., D., GARCÍA C., L., GARCÍA R., P. (2007): „Is genetic variation for sensory traits of cocoa pulpa related to fine-flavour cocoa traits?“ INGENIC Newsletter, Vol.11, S. 22-28.
- ESKES, B, AHNERT, D., ASSEMAT, S., SEGUINE, E. (2009): „Evidence for the Effect of the Cocoa Bean Flavour Environment during Fermentation on the Final Flavour Profile of Cocoa Liquor and Chocolate“. INGENIC Newsletter, abgerufen am 11.05.2015 bei ResearchGate.
- FAHRURROZI (2015): „Microbiological and Biochemical Investigations of Cocoa Bean Fermentation“. Dissertation. Department Chemie an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Universität Hamburg.
- FAOSTAT (2015): „Food and Agriculture Organization of the United Nations - Statistics Division“. URL, abgerufen am 01.06.2015: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>  
Eingabe: Item: Cocoa, beans. Area: World. Years: 1993-2013. Aggregation: Average.
- FCC (2015): „Key features of Drying cocoa“. Federation of Cocoa Commerce. URL, abgerufen am 01.06.2015: <http://www.cocoafederation.com/education/cocoa-production#Drying>
- FORESTFINANCE (2010): persönliche Bereitstellung durch Frau Dr. Silke Elwers.
- FRANKE, G. (1994): „Nutzpflanzen der Tropen und Subtropen; Bd.2: Spezieller Pflanzenbau.“ UTB, Stuttgart.
- FUCHS, G. (2014): „Allgemeine Mikrobiologie“. Begründet von SCHLEGEL, H. G. (1969). 9. Auflage. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart. S. 416-417. ISBN 978-3-13-4444609-8
- GUITTARD (2015): „Bean to Bar– Fermenting Beans“. URL, abgerufen am 24.05.2015: <https://www.guittard.com/bean-to-bar>
- HANSEN, C.E., DEL OLMO, M., BURRI, C. (1998): „Enzyme Activities in Cocoa Beans During Fermentation“. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 77, S. 273-281.

- HANSEN, C.E., MANEZ, A., BURRI, C., BOUSBAINE, A. (2000): „Comparison of enzyme activities involved in flavour precursor formation in unfermented beans of different cocoa genotypes”. *Journal of the Science and Food Agriculture*, Vol. 80, S. 1193-1198.
- HAYASHI, H. (1995): “Pyridoxal enzymes: mechanistic diversity and uniformity.” *Journal of Biochemistry*, Vol. 118 (3), S. 463-473.
- HPFL (2015): „Styrallyl acetat“. Hindustan Polyamides & Fibres Ltd. URL, abgerufen am 19.05.2015: [http://www.hpfl-india.com/products/product\\_sa.html](http://www.hpfl-india.com/products/product_sa.html)
- HEGMANN, E. (2012): „The impact of different post-harvest management strategies on the quality potential of raw cocoa in Costa Rica”. M.Sc. Thesis. Georg-August-Universität Göttingen und Universität Kassel, Deutschland.
- HEINZLER, M., EICHNER, K. (1991): „Verhalten von Amadori-Verbindungen während der Kakaoverarbeitung“ *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. 192, S. 445-450
- HEß, D. (2008): „Pflanzenphysiologie“. 11.Auflage, UTB. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart. ISBN: 978-3-8001-2885-3.
- HUI, Y. (2010): „Handbook of Fruit and Vegetable Flavors“. John Wiley & Sons, S. 407
- ICCO (2013): „Origins Of Cocoa And Its Spread Around The World“. URL, abgerufen am 24.05.2015: <http://www.icco.org/about-cocoa/growing-cocoa.html>
- ICCO (2015): „Fine or Flavour cocoa“. URL, abgerufen am 28.05.2015: <http://www.icco.org/about-cocoa/fine-or-flavour-cocoa.html>
- ICCO (2015 b): „Drying cocoa beans“. URL, abgerufen am 28.05.2015: <http://www.icco.org/faq/59-fermentation-a-drying/110-drying-cocoa-beans.html>
- ICCO (2015 c): „Supply & Demand\_QBCS XLI No. 1. Supply & Demand – Latest figures from the Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLI, No.1, Cocoa year 2014/15. Published: 27-02-2015“. URL, abgerufen am 01.06.2015: [http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/doc\\_download/247-supply-demand-latest-figures-from-the-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics.html](http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/doc_download/247-supply-demand-latest-figures-from-the-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics.html)
- INDIANA JUNE (2012): „Chocolate cycle: From bean to bar blog“. URL, abgerufen am 24.05.2015: <http://www.indianajune.com/chocolate-cycle-from-bean-to-bar-to-blog.aspx>
- ISO (2014): „ISO 2451:2014 Cocoa beans – Specification“. International Organization for Standardization, 11 Seiten, Dezember 2014.
- JINAP, S, THIEN, J., YAP, T.N. (1994): „Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans“. *Journal of the science of Food and Agriculture*. Vol. 65 (1), S. 67-75.
- JOHNSON, E.S., PHILLIPS, W., BEKELE, F.L., ZHANG, D., SCHNELL, R.J. (2006): „Field Guide to the UF Clones of Costa Rica“. 15<sup>th</sup> International Cocoa Conference: Cocoa Productivity, Quality, Profitability, Human Health and the Environment, 9.-14. Oktober 2006, San José, Costa Rica

- KADOW, D., BOHLMANN, J., PHILLIPS, W., LIEBEREI, R. (2013): „Identification of main flavour components in two genotypes of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.)“. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, Vol. 86, S. 90-98. DOI:10.5073/JABFQ.2013.086.013
- KADOW, D., NIEMENAK, N., ROHN, S., LIEBEREI, R. (2015): „Fermentation-like incubation of cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) – Reconstruction and guidance of the fermentation process“. *LWT- Food Science and Technology*, Vol. 62, S. 357-361, Elsevier.
- KAUFMANN-HORLACHER, I. (2008): „Kakaoerzeugnisse“. CVUA Stuttgart, Baden-Württemberg. URL, abgerufen am 31.05.2015:  
[http://www.untersuchungsämter-bw.de/pub/beitrag.asp?ID=837&subid=0&Thema\\_ID=2&lang=DE](http://www.untersuchungsämter-bw.de/pub/beitrag.asp?ID=837&subid=0&Thema_ID=2&lang=DE)
- KRÄMER, J. (2011): „Lebensmittel-Mikrobiologie“. 6. Auflage, völlig überarbeitet. Verlag Eugen Ulmer KG, Stuttgart. S.219-222. ISBN 978-3-8252-3607-6.
- KUCKUCK, H., KOBABE, G., WENZEL, G. (1985): „Grundzüge der Pflanzenzüchtung“. Walter de Gruyter & Co. 5<sup>te</sup> Auflage. ISBN: 3-11-008682-4, Berlin; New York.
- KULL, U. (2005): „Grundrisse der Allgemeinen Botanik“. 2. Auflage, Nachdruck. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller). ISBN 3-510-65218-5.
- LAN-PHI, N.T., SHIMAMURA, T., UKEDA, H., MASAYOSHI, S. (2009): „Chemical and Aroma Profiles of Yuzu (*Citrus junos*) Peel Oils of Different Cultivars“. *Food Chemistry*, 115(3). DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.12.024
- LARCHER, W. (1994): „Ökophysiologie der Pflanzen: Leben, Leistung und Streßbewältigung der Pflanzen in ihrer Umwelt“. 5. Auflage. UTB für Wissenschaft. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart. ISBN 3-8252-8074-8
- LIEBEREI, R., REISDORFF, C. (2012): „Nutzpflanzen“. Begründet von FRANKE, W. (1976). 8. Auflage, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart. ISBN 978-3-13-530408-3.
- LIEBEREI, R. (2013): „Die Einteilung des Kakaos in 10 genetische Gruppen und ihre Bedeutung- Kakaodiversität nach Motamayor 2008“. Vortrag beim *Runder Tisch Kakao V*, 13.06.2013. Biozentrum Klein Flottbek, Universität Hamburg.
- LOCKWOOD, G., ESKES, A.B. (1996): „Relationship between cocoa variety and quality“. In: *Cocoa Meetings – The various aspects of quality. Seminar Proceedings*. Montpellier, France, 1995. S. 159-167. CIRAD, France.
- LOPES, U.V., PIRES, J.L. (2014): „Botany and Production of Cocoa“. In: *Cocoa and Coffee Fermentations*, S. 43-70, Eds.: SCHWAN, R.F., FLEET, G.H.; CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN: 9781439847916.
- LOPEZ, A.S., QUESNEL, V.C. (1973): „Volatile fatty acid production in cocoa fermentation and the effect on chocolate flavour“. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol.24, S. 319-326.

- MAGALHÃES DA VEIGA MOREIRA, I., DA CRUZ PEDROZO MIGUEL, M.A., FERREIRA DUARTE, W., RIBEIRO DIAS, D., FREITAS SCHWAN, R. (2013): „Microbial succession and the dynamics of metabolites and sugars during the fermentation of three different cocoa (*Theobroma cacao* L.) hybrids”. Food Research International, Vol. 54, S.9-17. Elsevier Ltd.
- MOSCIANO, G. (1989): Perfumer & Flavorist Magazine 14, No. 6, p. 47
- MOSCIANO, G. (1990a): Perfumer & Flavorist Magazine 15, No. 2, p. 69
- MOSCIANO, G. (1990b): Perfumer & Flavorist Magazine 15, No. 4, p. 59
- MOSCIANO, G. (1991a): Perfumer & Flavorist Magazine 16, No. 2, p. 49
- MOSCIANO, G. (1991b): Perfumer & Flavorist Magazine 16, No. 3, p. 79
- MOSCIANO, G. (1991c): Perfumer & Flavorist Magazine 16, No. 4, p. 45
- MOSCIANO, G. (1991d): Perfumer & Flavorist Magazine 16, No. 5, p. 71
- MOSCIANO, G. (1992a): Perfumer & Flavorist Magazine 17, No. 4, p. 33
- MOSCIANO, G. (1992b): Perfumer & Flavorist Magazine 17, No. 5, p. 127
- MOSCIANO, G. (1993a): Perfumer & Flavorist Magazine 18, No. 2, p. 38
- MOSCIANO, G. (1993b): Perfumer & Flavorist Magazine 18, No. 4, p. 51
- MOSCIANO, G. (1995a): Perfumer & Flavorist Magazine 20, No. 1, p. 31
- MOSCIANO, G. (1995b): Perfumer & Flavorist Magazine 20, No. 4, p. 23
- MOSCIANO, G. (1995c): Perfumer & Flavorist Magazine 20, No. 5, p. 49
- MOSCIANO, G. (1996a): Perfumer & Flavorist Magazine 21, No. 1, p. 33
- MOSCIANO, G. (1996b): Perfumer & Flavorist Magazine 21, No. 5, p. 49
- MOSCIANO, G. (1997a): Perfumer & Flavorist Magazine 22, No. 2, p. 69
- MOSCIANO, G. (1997b): Perfumer & Flavorist Magazine 22, No. 6, p. 41
- MOSCIANO, G. (1998): Perfumer & Flavorist Magazine 23, No. 5, p. 49
- MOSCIANO, G. (2000): Perfumer & Flavorist Magazine 25, No. 6, p. 26
- MOSCIANO, G. (2001a): Perfumer & Flavorist Magazine 26, No. 2, p. 40
- MOSCIANO, G. (2001b): Perfumer & Flavorist Magazine 26, No. 3, p. 80
- MOSCIANO, G. (2009): Perfumer & Flavorist Magazine 6, p. 52.
- MOTAMAYOR, J.C., RISTERUCCI, A.M., LOPEZ, P.A., ORITZ, C.F., MORENO, A., LAUNAUD, C. (2002): „Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas”. Heredity, Vol. 89, S. 380-386
- MOTAMAYOR, J.C., LACHENAUD, P., WALLACE DA SILVA DE MOTA, J., LOOR, R., KUHN, D. N., BROWN, J.S., SCHNELL, R.J. (2008): „Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L.)”. PLoS ONE, Vol.3., Issue 10, e3311.

- NOWAK, M., KLEINWÄCHTER, M., MANDERSCHIED, R., WEIGEL, H.-J., SELMAR, D. (2010): „Drought stress increases the accumulation of monoterpene in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration”. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, Vol. 83, S. 133-136.
- NOZAKI, M., SUZUKI, N., OSHIKUBO, S. (1997) „Production of Chiral Flavour components by enzymic methods”. In *Flavour Science: Recent Developments*, S. 168-171, Eds.: TAYLOR, A.J., MOTTRAM, D.S.; Elsevier. ISBN: 978-1-85573-779-2.
- PETTIPHER, G.L. (1986): „Analysis of Cocoa Pulp and the Formulation of a Standardised Artificial Cocoa Pulp Medium”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol.37, S. 297-309.
- PHILLIPS-MORA, W., CAWICH, J., GARNETT, W., AIME, M.C. (2006a): „First report of frosty pod rot (moniliasis disease) caused by *Moniliophthora roreri* on cacao in Belize”. *Plant Pathology*, Vol. 55, S. 584. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2006.01378.x
- PHILLIPS-MORA, W., COUTIÑO, A., ORITZ, C.F., LÓPEZ, A.P., HERNÁNDEZ, J., AIME, M.C. (2006b): „First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico”. *Plant Pathology*, Vol. 55, S. 584. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2006.01418.x
- PHILLIPS-MORA, W., WILKINSON, M.J. (2007): „Frosty Pod of Cacao: A Disease with a Limited Geographic Range but Unlimited Potential for Damage”. In: *Symposium, Cacao Disease: Important Threats to Chocolate Production Worldwide*. *Phytopathology*, Vol. 97, No.12, S. 1644-1647. DOI: 10.1094/PHYTO-97-12-1644
- PHILLIPS, W., CASTILLO, J., ARCINIEGAS, A., MATA, A., SÁNCHEZ, A., LEANDRO, M., ASTORGA, C., MOTAMAYOR, J., GUYTON, G., SEGUINE, E., SCHNELL, R. (2009): „Overcoming the Main Limiting Factors of Cocoa Production in Central America through the Use of Improved Clones Developed at CATIE”.
- PHILLIPS-MORA, W., ARCINIEGAS-LEAL, A., MATA-QUIRÓS, A., MOTAMAYOR-ARIAS, J.C. (2013): „Catalogue of cacao clones selected by CATIE for commercial plantings”. 1. Edition. CATIE, Turrialba, Costa Rica, ISBN 978-9977-57-590-2.
- PIRES, J.L., MATTOS CASCARDO, J.C., LAMBERT, S.V., FIGUIERA, A. (1998): „Increasing cocoa butter yield through genetic improvement of *Theobroma cacao* L.: Seed fat variability, inheritance and association with seed yield”. *Euphytica*, Vol. 103, S. 115-121. Kluwer Academic Publishers.
- PLENIO, H., FLECKENSTEIN, C., AN DER HEIDEN, M. (2009): „Grundlagen der Chromatographie”. S.35. Script zum Modul *Instrumentelle Analytik*, Chromatographisches Praktikum, Technische Universität Darmstadt. URL, abgerufen am 22.05.2015: [http://www.chemie.tu-darmstadt.de/media/ak\\_plenio/pdf/Script\\_Geraeteanalytik\\_2009.pdf](http://www.chemie.tu-darmstadt.de/media/ak_plenio/pdf/Script_Geraeteanalytik_2009.pdf)
- PRABHAKARAN NAIR, K.P. (2010): „The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing world”. 1. Edition, Kapitel 5, S.131-180, Elsevier Inc. DOI: 10.1016/B978-0-12-384677-8.00005-9

- PURDY, L.H., SCHMIDT, R.A. (1996): „Status of cacao witches’ broom: Biology, Epidemiology, and Management”. Annual Review of Phytopathology, Vol. 34, S. 573-594.  
DOI: 10.1146/annurev.phyto.34.1.573
- RATHSACK, R., (2013): “Organische Säuren in Pulpa und Samen von *Theobroma cacao* L.-Etablierung einer Bestimmungsmethode mittels Festphasenextraktion/Hochleistungsflüssigkeitschromatographie”. Masterarbeit, Universität Hamburg.
- READING (2015): „International Cocoa Germplasm Database”. University of Reading, UK. Search ICGD, Clone Name PMCT-58, held in Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE):  
[http://www.icgd.reading.ac.uk/all\\_data.php?nocode=12339&&clone=PMCT%2058&&tables=ALL](http://www.icgd.reading.ac.uk/all_data.php?nocode=12339&&clone=PMCT%2058&&tables=ALL)
- READING (2015b): „International Cocoa Germplasm Database”. University of Reading, UK. Search ICGD, Clone Name CC-137, held in Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE):  
[http://www.icgd.reading.ac.uk/all\\_data.php?nocode=2331&&clone=CC%20137&&tables=ALL](http://www.icgd.reading.ac.uk/all_data.php?nocode=2331&&clone=CC%20137&&tables=ALL)
- RODRIGUEZ-CAMPOS, J., ESCALONA-BUENDÍA, H.B., CONTRERAS-RAMOS, S.M., OROZCO-AVILA, I., JARAMILLO-FLORES, E., LUGO-CERVANTES, E. (2011): „Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa”. Food Chemistry, Elsevier Ltd. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.10.078
- ROHAN, T.A. (1958): „Observations on the fermentation of West African Amelonado Cocoa”. Proceedings of the Cocoa Conference, London 1957, S. 203-207.
- ROHSIUS, C., ANDERSSON, M., NIEMENAK, N., SUKHA D., LIEBEREI, R. (2006): „Fermentation quality and its dependence on the testa structure and transport processes”. 15<sup>th</sup> International Cocoa Conference: Cocoa Productivity, Quality, Profitability, Human Health and the Environment, 9.-14. Oktober 2006, San José, Costa Rica
- ROHSIUS, C. (2007): „Die Heterogenität der biologischen Ressource Rohkakao (*Theobroma cacao* L.)“. Dissertation. Department Biologie an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Universität Hamburg.  
[http://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/2008/3817/pdf/C\\_Rohsius\\_Dissertation.pdf](http://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/2008/3817/pdf/C_Rohsius_Dissertation.pdf)
- ROHSIUS, C., ELWERS, S., LIEBEREI, R. (2010): „Cocoa Atlas Edition 2010”, DVD. German Cocoa and Chocolate Foundation. <http://www.thecocoa-atlas.com/>
- RUSCONI, M., CONTI, A. (2010): „*Theobroma cacao* L., the food of the gods: A scientific approach beyond myths and claims”. Pharmacology Research, Vol. 61, S. 5-13.
- SAID, M. B., JAYAWARDENA, M. P. G. S., SAMARAKODDY, R. J., PERERA, W. T. (1990): „Preconditioning of fresh cocoa beans prior to fermentation to improve quality: A commercial approach”. The Planter, Vol. 66, No.772, S. 332–345

- SCHIEBERLE, P., PFNUER, P. (1999): „Characterization of key odorants in chocolate“. In *Flavor Chemistry: 30 Years of Progress*, S. 147-153, Eds. TERANISHI, R. et al., Kluwer Academic/Plenum, New York.
- SCHWAN, R.F, WHEALS, A.W. (2004): „The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality“. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 44, S. 205-221.
- SMITH, S., FORBES, J. (2011): Voyage of the Solstice– Exploring Grenada; Blog, 11.02.2011; Cocoa Drying at Belmont Estate. <http://svsolstice.blogspot.de/2011/02/exploring-grenada.html>
- SOMARRIBA, E. (2013): „Oferta mundial de tecnologías de producción de cacao prioritarias para elevar los rendimientos, mejorar la calidad del cacao y asegurar la sostenibilidad y seguridad alimentaria de las familias cacaoteras de Centroamérica“. Programa Agroalimentario Sostenible, USAID, Unidad Regional para el Desarrollo Sostenible (RUTA).
- SOTELO, A., ALVAREZ, R.G. (2002): „Chemical composition of wild *Theobroma* species and their comparison to the cocoa bean“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39 (11). DOI: 10.1021/jf00011a009
- STARK, T., BAREUTHER, S., HOFMANN, T. (2005): „Sensory-guided decomposition of roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*) and structure determination of taste-active polyphenols“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53 (13), S. 5407-5418. DOI: 10.1021/jf050457y
- STARK, T., HOFMANN, T. (2005b): „Isolation, Structure Determination, Synthesis, and Sensory Activity of *N*-Phenylpropenoyl-L-amino Acids from Cocoa (*Theobroma cacao*)“. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 53, S. 5419-5428.
- STATSOFT (2015): „Levene Test (Varianzhomogenität)“. URL, abgerufen am 19.05.2015: <http://www.statsoft.de/glossary/L/LeveneandBrownForsythetestsforhomogeneityofvariancesHOV.htm>
- STOLL, L. (2010): „Biochemische Indikatoren für Keimung und Fermentation in Samen von Kakao (*Theobroma cacao* L.)“. Dissertation. Department Biologie an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Universität Hamburg
- SUBURG, H., PANTEN, J. (2006): „Common Fragrance and Flavor Materials“. 5<sup>te</sup> Edition. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN: 3-527-31315-X.
- SUKHA, D.A., BUTLER, D.R., PATHMANATHAN, U., BOULT, E. (2007): „The use of an optimized organoleptic assessment protocol to describe and quantify different flavor attributes of cocoa liquors made from Ghana and Trinitario beans“. *European Food Research and Technology*. DOI 10.1007/s00217-006-0551-2.
- SUKHA, D. (2008): „The Influence of Processing Location, Growing Environment and Pollen Donor Effects on the Flavour and Quality of Selected Cacao (*Theobroma cacao* L.) Genotypes“. Dissertation. Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, St. Augustine Campus, University of the West Indies.

- SUKHA, D.A., BHARATH, S.M., ALI, N.A., UMAHARAN, P. (2014): „An Assessment of the Quality Attributes of the Imperial College Selections (ICS) Cacao (*Theobroma cacao* L.) Clones. Acta Hort. (ISHS) 1047:237-243. URL, abgerufen am 18.05.2015: [http://www.actahort.org/books/1047/1047\\_29.htm](http://www.actahort.org/books/1047/1047_29.htm)
- TAIZ, L., ZEIGER, E. (2007): „Plant Physiology“. 4. Edition, Spektrum Akademischer Verlag, Springer. ISBN 978-3-8274-1865-4.
- THOMPSON, S., MILLER, K., LOPEZ, A. (2001): „Cocoa and Coffee“. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 2<sup>nd</sup> edition. Edited by Doyle, M.P. et al. ASM Press, Washington, D.C. Vol.35, S. 721-730.
- THE GOOD SCENTS COMPANY: URL, abgerufen am 15.05.2015: <http://www.thegoodscentscompany.com/search2.html>
- ULRICH, D., HOBERG, E., RAPP, A., KECKE, S. (1997): „Analysis of strawberry flavour - discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds“. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, Vol. 205, S.218-223, Springer-Verlag.
- ULRICH, D., KOMES, D., OLBRICHT, K., HOBERG, E. (2007): „Diversity of aroma patterns in wild and cultivated *Fragaria* accessions“. Genetic Resources and Crop Evolution, Vol. 54, S.1185-1196, Springer Science+Business Media B.V..
- VAN DER KOOJI, S. (2013): „Market study on fine flavor cocoa in 11 selected countries - revised version“. Inforum. Royal Tropical Institute, KIT Delevopment Policy & Practice, Amsterdam, October 2013.
- VOIGT, J., HEINRICHS, H., VOIGT, G., BIEHL, B. (1994a): „Cocoa-specific aroma precursors are generated by proteolytic digestion of the vicilin-like globulin of cocoa seeds“. Food Chemistry, Vol. 50, S. 177-184. Elsevier Science Limited.
- VOIGT, J., BIEHL, B., HEINRICHS, H., KAMARUDDIN, S., GAIM MARSONER, G., HUGI, A. (1994b): „In-vitro formation of cocoa-specific aroma precursors: aroma-related peptides generated from cocoa seed protein by co-operation of an aspartic endoprotease and a carboxypeptidase.“ Food Chemistry, Vol. 49, S. 173-80.
- VOIGT, J., BIEHL, B., HEINRICHS, H., VOIGT, G. (1994c): „Die Bildung kakaospezifischer Aromavorstufen aus dem Reserveglobulin des Kakaosamens“. Angewandte Botanik Berichte 5 (Applied Botany Reports), p. 138-147. Symposium Tropische Nutzpflanzen, 1993. Institut für Angewandte Botanik, Universität Hamburg.
- VOIGT, J., Wrann, D., Heinrichs, H., Biehl, B. (1994d): „The proteolytic formation of essential cocoa-specific aroma precursors depends on particular chemical structures of the vicilin-class globulin of the cocoa seeds lacking in the globular storage proteins of coconuts, hazelnuts and sunflower seeds.“ Food Chemistry, Vol. 51, S. 197-205. Elsevier Science Limited.

- VOIGT, J., LIEBEREI, R. (2014): „Biochemistry of Cocoa Fermentation“. In: *Cocoa and Coffee Fermentations*, S. 185-217, Eds.: SCHWAN, R.F., FLEET, G.H.; CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN: 9781439847916.
- YANG, C., ZHIBIAO, Y. (2012): „Trichomes as models for studying plant cell differentiation“. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Springer Verlag. DOI 10.1007/s00018-012-1147-6
- YOUNG, A.M. (2007): „The Chocolate Tree“. Überarbeitete und erweiterte Auflage. University Press of Florida. ISBN 13:978-0-8130-3044-9.
- WANG, G., TIAN, L., AZIZ, N., BROUN, P., XINBIN, D., JI, H., KING, A., ZHAO, P. T., DIXON, R.A. (2008): „Terpene Biosynthesis in Glandular Trichomes of Hop“. *Plant Physiology*, Vol. 148, S. 1254-1266.
- WHITLOCK, B.A., BAUM, D.A. (1999): „Phylogenetic Relationships of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae) Based on Sequences of the Nuclear Gene *Vicilin*“. *Systematic Botany*, Vol. 24 (2), S. 128-138.
- WOLLGAST, J, ANKLAM, E. (2000): „Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, Vol. 33, S. 423-447.
- WOLTERS, B. (2006): „Kakaobaumarten in Lateinamerika (Gattungen *Theobroma* und *Herrania*) - Nichtmedizinische und arzneiliche Nutzung“. *Ethnologia Americana*, Band 12, Sonderheft Nr.7. Düsseldorf Institut für amerikanische Völkerkunde e.V. ISBN-10; 3-00-018814-2
- WOOD, G.A.R., LASS, R.A. (2001): „Cocoa“. Kapitel 13: *From harvest to store*, S.444-493., Kapitel 14: *Quality and Inspection* S.505-527. 4.Edition, Nachdruck 2001. Blackwell Science Ltd.
- ZIEGLER, G. (1990a): „Linalool contents as characteristic of some flavour grade cocoas“. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und -Forschung*. Vol 191, S.306-309. Springer Verlag.
- ZIEGLER, G. (1990b): „Composition of flavor extracts of raw and roasted cocoas“. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und -Forschung*. Vol 192, S.521-525. Springer Verlag.
- ZIEGLER, G. (1994): „Untersuchungen über die Reaktion von Aromavorstufen des Kakaos“. *Angewandte Botanik Berichte 5 (Applied Botany Reports)*, S. 138-147. Symposium Tropische Nutzpflanzen, 1993. Institut für Angewandte Botanik, Universität Hamburg

### 10. Danksagung

Viele großartige Menschen haben mich über die Landesgrenzen hinweg unterstützt und mit Rat und Tat maßgeblich zu der Realisierung dieser Arbeit beigetragen. Bei ihnen möchte ich mich an dieser Stelle herzlichst bedanken.

Allen voran danke ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Reinhard Lieberei, für die Betreuung meiner Promotion. Mit viel Geduld führte er mich in anregenden Gesprächen an die biologischen Facetten von *Theobroma cacao* L. heran und gab mir immer wieder Impulse für das Verständnis komplexer Zusammenhänge. Ich wünsche alles Gute für den wohlverdienten Ruhestand!

Ein großes Dankeschön an Frau Prof. Angelika Ploeger (Universität Kassel-Witzenhausen) für die Übernahme des Koreferats.

Herrn Wilfred Zeuner und dem gesamten Team der Finca Peralta der Hacienda Azul S.A., möchte ich meinen tiefsten Dank für die Bereitstellung des Fruchtmaterials und der Einrichtungen sowie der tatkräftigen Unterstützung bei der Durchführung der Fermentationsstudien aussprechen. Ohne ihre Hilfe bei der Ernte und Vorbereitung der Versuchsansätze, in der oft gnadenlosen Hitze und stechenden Sonne Costa Ricas, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Eine Zeit, die ich trotz aller Anstrengung nicht missen möchte. Muchas, muchas gracias Edward y compañeros!

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. Wilberth Phillips danken, Vorsitzender des *Cocoa Genetic Improvement Program* am CATIE (Costa Rica), für die bereichernden Gespräche sowie die Bereitstellung von Hilfspersonal und von Fruchtmaterial für die Aromaanalysen der Pulpa.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Christina Rohsius, die mich über den gesamten Zeitraum hinweg mit vielen wissenschaftlichen Ratschlägen und aufmunternden Gesprächen - sowohl in Costa Rica als auch Deutschland - bei der Realisierung dieser Arbeit begleitet hat.

Ein großes Dankeschön gilt zudem Dr. Helmut Kassner für die sehr sorgfältige Durchsicht meiner Arbeit - in kürzester Zeit. Bitte entschuldige, falls ich die eine oder andere Korrektur übersehen habe. Ebenfalls herzlich bedanken möchte ich mich bei Thomas Tumforde und Detlef Böhm, die mich bei allen Laboranalysen mit ihrem technischen „know-how“ unterstützten und mir bei vielen organisatorischen Fragen hilfsbereit zur Seite standen.

Ich danke Herrn Prof. Sascha Rohn (Institut für Lebensmittelchemie und Biochemie der Universität Hamburg), dass ich die Aromaanalytik meiner Proben in seinem Arbeitskreis durchführen durfte. In diesem Zusammenhang bedanke ich mich herzlichst bei Katrin Ulbrich für ihre tatkräftige Unterstützung bei den Analysen. Viele heitere Momente während der langen Tage in der

Lebensmittelchemie sind ihrem großartigen Humor zu verdanken. Auf dass auch deine Arbeit bald beendet sein möge!

Herrn Dr. Darin Sukha und dem gesamten Team des *Cocoa Research Center* (CRC) der University of the Western Indies (Trinidad und Tobago) danke ich für die sensorische Beschreibung der Probeschokoladen.

Ein riesengroßes Dankeschön gilt Janine Peikert für die vielen, sonnigen Momente die sie mir im Institutsalltag bescherte, für ihre aufbauenden Worte und unsere Freundschaft, die sich über die Jahre hinweg entwickelt hat.

Bei Dr. Claudia Bahmann möchte ich mich für ihre vielseitige Hilfe bedanken. Stets mit großartigem Humor und sonnigem Gemüt beantwortete sie mir meine zahlreichen Fragen, insbesondere zum testaassoziierten Schleim.

Roswitha Noack, Katharina Zug, Ralf Rathsack und Eileen Zacharias sei an dieser Stelle für die Unterstützung bei Analysen in unterschiedlichen Phasen meiner Doktorarbeit gedankt.

Herrn Prof. Dr. Arne Cierjacks und der gesamten Arbeitsgruppe danke ich für die Hilfsbereitschaft bei allen organisatorischen Angelegenheiten, die zuletzt mit dieser Arbeit verbunden waren und danke für eine insgesamt unvergessliche Zeit.

Diese Promotion war von unzähligen Standortwechseln zwischen Costa Rica und Deutschland geprägt, erforderte viel Kraft und Durchhaltevermögen. Ohne die kontinuierliche und unermüdliche Unterstützung meiner Familie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Susanne, Chester und Moritz Hegmann danke ich aus tiefstem Herzen, dass sie - auch über die räumliche Distanz hinweg - zu jeder Tages- und Nachtzeit für mich da waren, mich motivierten und mitfieberten. DANKE.

La persona que más merece mi profundo agradecimiento por su apoyo incondicional a pesar de la distancia es Andrés Navarro Umaña. Nada de esta obra hubiera sido posible sin ti a mi lado. No hay palabras que puedan expresar la felicidad imensa que siento por empezar un capítulo nuevo - juntos.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Jürgen Rausch und Herrn Robert Rausch.

Ich möchte mich bei Ihnen und der Firma Rausch Schokoladen GmbH für die Übernahme des Großteils der Labor-, Material- und Versandkosten sowie vor allem der Reisekosten bedanken.

## Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich keine früheren Promotionsversuche mit dieser oder einer anderen Dissertationsschrift unternommen habe. Diese Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde im In- oder Ausland vorgelegt.

Hamburg, den

---

Unterschrift

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Hamburg, den

---

Unterschrift