

## EVALUACIÓN DE VARIOS FACTORES SOBRE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL GRANO DE CACAO EN FERMENTACIÓN<sup>1</sup>

### EVALUATION OF SOME CHEMICAL CHARACTERISTICS OF COCOA BEANS IN FERMENTATION<sup>1</sup>

Ligia Ortiz de Bertorelli\*, Lucía Graziani de Fariñas\* y Rovedas L. Gervaise\*

<sup>1</sup> Trabajo financiado por FUNDACITE Aragua y por FONACIT.

\* Profesores. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Química y Tecnología. Apdo. 4579. Maracay 2101, estado Aragua. Venezuela. E-mail: ortizl@agr.ucv.ve; ortizl41@cantv.net

#### RESUMEN

Frutos de cacao, *Theobroma cacao* L., tipos criollo y forastero de Cumboto (Aragua) recién cosechados (AM1) y a los 5 días de la recolección (AM2) fueron fermentados sin remover (SR) la masa fermentante (semillas y pulpa) y removiéndola cada 24 y 48 horas, para determinar como afectan el almacenamiento del fruto previo a la fermentación y la frecuencia de remoción de la masa a las características químicas del grano. A la pulpa y cotiledón del grano en fermentación y al grano entero, se les midió la humedad, pH, acidez total titulable, proteínas y taninos. Según los resultados, el almacenamiento del fruto ocasionó una disminución de la humedad y acidez y un incremento de los taninos en los cacao analizados, en cambio el efecto sobre las proteínas fue variable. La remoción también influyó sobre las características químicas de los granos, en ambos cacao se redujeron la humedad, la acidez y los taninos, mientras que el pH y las proteínas aumentaron. Sin embargo, no se observaron variaciones entre los parámetros al remover la masa con más frecuencia. La composición de las dos fracciones de los granos mostró diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ), presentando la pulpa de ambos cacao los mayores valores de humedad y pH, y el cotiledón del forastero la menor acidez y mayor contenido de taninos. En conclusión el almacenamiento del fruto antes del desgrane y la frecuencia de remoción de la masa fermentante afectaron las características químicas del grano en fermentación.

**Palabras Clave:** *Theobroma cacao* L.; cacao; frecuencia de remoción; almacenamiento del fruto; fermentación; características químicas.

#### SUMMARY

Cacao fruits of the criollo and forastero types from Cumboto (Aragua), recently harvested (AM1) and fruits which had 5 days after harvest were fermented without moving (SR) the fermentating mass (seeds and pulp) at whole, and moving it every 24 and 28 hours in order to evaluate how these treatments affect the chemical characteristics of the beans. The moisture content, pH, total titratable acidity, proteins and tannins contents were measured on pulp, grains and grain cotyledons. According to the results, the storage of the fruits induced a reduction of the moisture content and acidity and an increase in the content of tannins, whereas its effect on the proteins content was variable. The movement of the fermentating mass also affected the chemical characteristics of the beans; for both types of cacao there was a reductions in the moisture content, acidity and content of tannins, while the pH and content of proteins was increased. However, there was not variations in the evaluated parameters due to the frequency of mass movement. The composition of the two fractions of beans showed significant differences ( $P \leq 0.05$ ); the pulp of both cacao exhibited the highest values of moisture content and pH, and the cotyledon of the forastero cacao the lowest acidity and the highest content of tannin. As a conclusion the chemical characteristics of fermentating beans were affected by fruit storage and by the frequency of movement of the fermentating mass.

**Key Words:** *Theobroma cacao* L.; cocoa; turning time; storage cocoa fruits; fermentation; chemical characteristics.

## INTRODUCCIÓN

En el beneficio del cacao, *Theobroma cacao* L., la fermentación es muy importante porque durante esta fase se desarrollan los precursores del aroma y sabor a chocolate. Diversos factores afectan esta etapa, entre ellos: el tipo de cacao (Braudeau, 1970; Graziani *et al.*, 2002), tiempo de almacenamiento del fruto o mazorca antes de la apertura y el desgrane (Barel, 1987; Dias y Avila, 1993; Meyer *et al.*, 1989; Samah *et al.*, 1993; Schwan *et al.*, 1990; Torres *et al.*, 2004), así como la frecuencia de remoción de la masa (semillas y pulpa) fermentante (Puziah *et al.*, 1998; Senanayake *et al.*, 1997; Schwan *et al.*, 1990), factores que, en consecuencia, inciden sobre la calidad del producto final.

El almacenamiento de la mazorca previo al desgrane y fermentación acelera el proceso fermentativo, debido a que la temperatura se eleva más rápidamente y los valores alcanzados son más altos a medida que se incrementa el tiempo entre la cosecha y el desgrane del cacao (Barel, 1987; Torres *et al.*, 2004).

El retardo en el desgrane aumenta los taninos en el cotiledón (Torres *et al.*, 2004), favorece la hidrólisis de la pulpa, reduce la acidez del cacao (Barel, 1987; Meyer *et al.*, 1989), disminuye los niveles de ácido láctico, ácidos volátiles y ácidos totales libres (Dias y Avila, 1993) y realza el sabor del cacao fermentado (Meyer *et al.*, 1989; Samah *et al.*, 1993).

Sin embargo, se ha observado que para obtener un mejor potencial del sabor, es conveniente un ascenso lento de la temperatura, de modo que se forme menos cantidad de ácido acético y no ocurra una sobreacidificación de los granos (Biehl *et al.*, 1985). Además, se ha notado que al extender indebidamente el proceso fermentativo las bacterias aeróbicas causan una sobrefermentación (Meyer *et al.*, 1989), por lo que es recomendable reducir el tiempo del proceso cuando la proporción de mazorcas desgranadas tardíamente es alta (Torres *et al.*, 2004).

La frecuencia de remoción de la masa fermentante durante la fermentación del cacao, también ejerce un efecto significativo sobre los precursores del sabor (Puziah *et al.*, 1998), porque incrementa la aireación, regula la acidez del producto y la velocidad del proceso fermentativo. Así mismo, evita que los granos se aglomeren y con ello el desarrollo de hongos en la superficie y en las esquinas de los fermentadores (Senanayake *et al.*, 1997). Sin embargo, si la masa se

remueve muy frecuentemente se produce mucha aireación y un descenso de la temperatura, y en consecuencia, disminución de la velocidad metabólica y alta concentración de ácido acético en los granos (Puziah *et al.*, 1998). Además, la remoción frecuente de la masa puede alterar la secuencia microbiana apropiada y provocar la aparición de metabolitos, que al difundirse por el interior de los cotiledones afectarían negativamente la calidad del producto final (Schwan *et al.*, 1990), siendo por lo tanto importante el control de dicho factor.

Ahora bien, a pesar de la relevancia de la influencia de dichos factores sobre la calidad final del cacao, la información disponible en el país es limitada, por lo que el objetivo de este estudio consistió en determinar como son afectadas las características químicas de los granos por el almacenamiento del fruto y la frecuencia de remoción de la masa fermentante, durante la fermentación del cacao tipo criollo y tipo forastero de Cumboto (Aragua), conocimiento que beneficiará a los productores y técnicos de cacao en la implementación de métodos adecuados para la obtención de productos de alta calidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el ensayo se utilizaron materiales, fermentados recién cosechados (AM1) y a los 5 días de almacenados (AM2) de cacao tipo criollo y tipo forastero de la localidad de Cumboto (Aragua). Esta zona, ubicada en la Región Central del municipio Costa de Oro, estado Aragua, presenta una precipitación anual de 467 a 988,5 mm anuales, con una marcada diferencia entre el período seco y lluvioso, una temperatura media anual de 25,76 °C y una humedad relativa promedio de 68% (Monagas, 1995).

Los árboles fueron identificados sobre la base de algunos descriptores taxonómicos señalados por Bekele *et al.* (1994) y el grado de madurez de los frutos se estableció según los criterios utilizados por González *et al.* (1999), cosechándose al azar 300 mazorcas sanas y maduras de cada tipo de cacao.

La fermentación de los lotes de los 2 tipos de cacao fue realizada por 5 días en Cumboto, de acuerdo con el método señalado por Graziani de Fariñas *et al.* (2003a), aplicando las siguientes frecuencias en la remoción (FR) de la masa fermentante: cada 24 h, cada 48 horas y sin remover (SR).

El ensayo se estableció de acuerdo con un diseño completamente aleatorizado con 3 observaciones y un arreglo factorial mixto 22x3, en los cuales los factores evaluados fueron: almacenamiento de la mazorca (0 y 5 días) y frecuencia de remoción (0, cada 24 y cada 48 h) para ambos tipos de cacao (TC).

Los análisis químicos: Humedad (N° 931,04), pH (N° 970,21), acidez total titulable (N° 942,15) y proteínas (N° 970,20), este último con la realización de un desgrasado previo de las muestras con éter de petróleo por 4 horas (Graziani de Fariñas *et al.*, 2003b), se efectuaron según los métodos de la AOAC (1997) y los taninos por el método Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). Todos los análisis se realizaron por triplicado en las fracciones (FG) pulpa y cotiledón del grano en fermentación y en el grano entero (GE).

A los resultados obtenidos se les hizo un análisis de varianza y una comparación de medias por la prueba de rangos múltiples de Duncan, mediante el paquete estadístico SAS (1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico, de los resultados de las características químicas del grano en fermentación, reveló diferencias altamente significativas tanto para los efectos simples (AM y FR) como para las interacciones de los factores evaluados (AM x TC y FR x TC), siendo de mayor relevancia las interacciones, las cuales son presentadas en los Cuadros 1 y 2.

**CUADRO 1.** Promedios de las características químicas del grano entero durante la fermentación del cacao tipo criollo.

Factores		Características Químicas				
		Humedad %	pH	Acidez%	Taninos %	Proteínas %
Almacenamiento	0 días (AM1)	58,26a	5,92b	1,16a	0,72b	18,88a
	5 días (AM2)	55,91b	6,45a	0,89b	0,84a	15,94b
Frecuencia de remoción	SR	58,28a	5,36b	2,07a	0,88a	13,65b
	C/48 h	58,14a	6,46a	0,68b	0,76b	18,49a
	C/24 h b	56,91b	6,51a	0,65b	0,73b	19,11a

En cada factor letras distintas en columnas indican diferencias a un nivel de significación del 5%.

**CUADRO 2.** Promedios de las características químicas del grano entero durante la fermentación del cacao tipo forastero.

Factores		Características Químicas				
		Humedad %	pH	Acidez%	Taninos %	Proteínas %
Almacenamiento	0 días (AM1)	60,17a	5,83b	0,95a	0,63b	17,06b
	5 días (AM2)	56,72b	6,61a	0,53b	1,08a	18,34a
Frecuencia de remoción	SR	59,67a	5,40b	1,58a	1,27a	14,72b
	C/48 h	58,37ab	6,45a	0,44b	0,66b	18,51a
	C/24 h	57,28b	6,59a	0,45b	0,73b	18,71a

En cada factor letras distintas en columnas indican diferencias a un nivel de significación del 5%.

### Almacenamiento del fruto

La prueba de rangos múltiples de Duncan indicó diferencias a un nivel de probabilidad del 5% entre los valores correspondientes a los análisis químicos de los cacaos AM1 y AM2 estudiados. El cacao AM2 presentó los menores contenidos de humedad y acidez, así como los mayores valores de pH y taninos, tanto en el tipo criollo (Cuadro 1) como en el forastero (Cuadro 2). En cambio, el contenido de proteínas fue inferior en el cacao AM2 del tipo criollo y superior en este mismo cacao del tipo forastero, variabilidad que podría haber sido ocasionada por posibles diferencias en el desarrollo microbiano durante el proceso. Además, se debe señalar que la diversidad genética tiene un papel resaltante en el contenido proteico.

Al almacenar el fruto antes del desgrane, el incremento de la temperatura en el proceso fermentativo es mayor y ocurre más rápidamente (Barel, 1987; Dias y Avila, 1993; Torres *et al.*, 2004), lo que favorece el proceso al acelerar la descomposición de las células de los cotiledones (Rohan, 1964). La acción microbiana causa desprendimiento de jugos (Braudeau, 1970), lo que conlleva a una pérdida de humedad, que es más alta en el cacao almacenado, debido a la mayor hidrólisis en la pulpa (Barel, 1987). Además, el rápido incremento de la temperatura, aunado a una ausencia de la fase anaeróbica, inhibe el desarrollo de las bacterias lácticas (Meyer *et al.*, 1989), observándose una correlación directa entre la población microbiana relevante y los niveles de los ácidos acéticos y lácticos producidos al fermentar el cacao (Samah *et al.*, 1993).

La ruptura de las paredes celulares permite el contacto entre las enzimas y sus respectivos sustratos (Cros y Jeanjean, 1995), ocasionando cambios en las proteínas, las cuales son degradadas, por acción enzimática, en aminoácidos y péptidos que difunden hacia la pulpa y testa (Braudeau, 1970).

La endoproteinasa aspártica y la carboxipeptidasa, al actuar sobre las proteínas, ocasionan una disminución de la concentración de las globulinas (Amin *et al.*, 1998; Ortiz de Bertorelli *et al.*, 2006; Voigt *et al.*, 1994), generándose oligopéptidos hidrofílicos y amino ácidos hidrofóbicos libres, compuestos considerados como precursores del aroma específico del cacao fermentado (Voigt *et al.*, 1994).

En cuanto a los taninos, estos compuestos participan en reacciones de polimerización oxidativa y de oscurecimiento (Cros y Jeanjean, 1995), reacciones que

son afectadas positivamente por las temperaturas más elevadas que se alcanzan al fermentar mazorcas almacenadas (Rohan, 1964; Braudeau, 1970).

Los resultados de este estudio son concordantes con los de varios autores, quienes han observado que la demora en el desgrane de la mazorca causa una reducción de la humedad (Graziani de Fariñas *et al.*, 2003a) y un aumento de los taninos en el cotiledón (Torres *et al.*, 2004). Además, ocasiona una baja acidez al disminuir la formación de los ácidos acético y láctico en la pulpa y su absorción por el grano durante la fermentación del cacao (Meyer *et al.*, 1989), y también al reducir la producción de ácidos volátiles y totales libres (Dias y Avila, 1993), presentando mayor pH los granos de los cacaos almacenados antes de la fermentación (Meyer *et al.*, 1989).

### Frecuencia de remoción de la masa

Al aplicar la prueba de Duncan a los resultados de las características químicas del cacao tipo criollo (Cuadro 1) y tipo forastero (Cuadro 2) se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre los valores, al variar la frecuencia de remoción. En ambos tipos de cacao, la humedad, la acidez y los taninos disminuyeron al remover la masa en el proceso, mientras que el pH y las proteínas aumentaron. Sin embargo, no se observaron variaciones entre las características al incrementar la frecuencia de remoción de cada 48 h a cada 24 h, lo que podría deberse al volumen de masa usado.

Varios autores han observado que el volumen de masa y la frecuencia de remoción influyen significativamente sobre los precursores del sabor. De forma que una alta cantidad de masa y alta frecuencia de remoción incrementan la concentración de las trimetil y tetrametil pirazinas, así como de las pirazinas totales (Puziah *et al.*, 1998). Además, ha sido detectada una disminución de la acidez (Schwan *et al.*, 1990; Dias y Avila, 1993; Senanayake *et al.*, 1997) y un aumento de la actividad proteolítica (Puziah *et al.*, 1998) al remover la masa durante la fermentación.

La remoción incrementa la aireación de la masa, lo cual afecta la temperatura de fermentación y la acidez del producto (Rohan, 1964; Schwan *et al.*, 1990; Dias y Avila, 1993; Senanayake *et al.*, 1997). Al remover la masa fermentante la temperatura se eleva, siendo menor dicha elevación cuando se aumentan los intervalos con que se remueve la masa (Senanayake *et al.*, 1997). Así mismo, la concentración de ácidos libres totales disminuye con el aumento de la frecuencia de la

remoción (Dias y Avila, 1993). El incremento de la temperatura y la aireación favorecen el desarrollo y la actividad de las bacterias acéticas, las cuales son responsables de la oxidación del etanol a ácido acético y de la ulterior formación de dióxido de carbono y agua (Senanayake *et al.*, 1997). Además, la aireación, al controlar la acidez del medio y elevar la temperatura, influye sobre la actividad enzimática necesaria para el desarrollo del sabor y aroma a chocolate, obteniéndose un producto con buenas características organolépticas cuando se fermenta el cacao con remociones frecuentes (Schwan *et al.*, 1990), ya que propicia la actividad proteolítica (Puziah *et al.*, 1998).

La aireación favorece la hidrólisis de la pulpa y el desprendimiento de jugos, lo que ocasiona una mayor pérdida de humedad. Igualmente, propicia la reducción de los taninos al promover la oxidación de los polifenoles por la acción de la polifenol oxidasa, reacción que requiere oxígeno externo (Senanayake *et al.*, 1997).

### Fraciones de los granos

El análisis estadístico, realizado a los valores promedios correspondientes a las características químicas de las fracciones de los granos de los dos tipos de cacao en fermentación, determinó la existencia de diferencias altamente significativas para la interacción TC x FG en la mayoría de las variables analizadas.

Al comparar las medias de los análisis químicos, se detectaron variaciones a un 5% de probabilidad entre las dos fracciones de los cacaos tipo criollo y forastero (Cuadro 3), presentando los mayores contenidos de humedad y pH la pulpa de ambos cacaos. En el criollo, los taninos y las proteínas no difirieron entre las dos fracciones y la acidez fue más baja en la pulpa, en

cambio en el forastero la mayor cantidad de taninos y la menor acidez le correspondieron al cotiledón.

Se ha señalado que la pulpa, constituida principalmente por agua, presenta un contenido promedio de humedad de 79% en estado fresco, mientras que el cotiledón sólo tiene un 36% (Graziani de Fariñas, *et al.*, 2003b). La diferencia en este componente se mantiene entre las fracciones del cacao en fermentación, con un descenso del contenido de humedad en la pulpa y un aumento en el cotiledón (Graziani de Fariñas *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2004), causado por la difusión de los productos de la descomposición microbiana de la pulpa (Rohan, 1964), que produce una fuerte emisión de líquidos (Dougan, 1981), los cuales son eliminados, en parte, en el exudado (Rohan, 1964).

En la pulpa mucilaginosa, ácida y azucarada del cacao sin fermentar, se ha obtenido una acidez total de 3,40% y en el cotiledón 0,31% (Graziani de Fariñas *et al.*, 2003b). En el proceso fermentativo, esta acidez disminuye en la pulpa y aumenta en el cotiledón (Graziani de Fariñas *et al.*, 2003a; Torres *et al.*, 2004), debido a la absorción de los ácidos producidos por la degradación microbiana de la pulpa (Schwan *et al.*, 1990), difiriendo la variación entre los tipos de cacaos (Graziani de Fariñas *et al.*, 2002).

En el cacao fresco, se ha encontrado un contenido de taninos de 0,84% en la pulpa y en el cotiledón 0,68% en el tipo criollo y 0,80% en el forastero (Graziani de Fariñas *et al.*, 2003b), concentraciones que varían en la fermentación por su participación en las reacciones que ocurren en el proceso, siendo el comportamiento distinto entre los tipos de cacao (Graziani de Fariñas *et al.*, 2002; Graziani de Fariñas *et al.*, 2003a; Torres *et al.*, 2004).

**CUADRO 3.** Promedios de las características químicas de las fracciones del grano durante la fermentación del cacao.

Tipo de cacao	Fracción	Características Químicas				
		Humedad %	pH	Acidez %	Taninos %	Proteínas %
Criollo	Pulpa + testa	70,21a	6,61a	0,89b	0,79a	17,61a
	Cotiledón	43,96b	5,75b	1,16a	0,77a	17,19a
Forastero	Pulpa + testa	74,27a	6,29a	0,88a	0,76b	17,63a
	Cotiledón	42,63b	6,16b	0,60b	0,95a	17,77a

Para cada tipo de cacao, letras distintas en columnas indican diferencias a un nivel de significación del 5%.

Para finalizar se puede señalar que el almacenamiento del fruto antes del desgrane y fermentación y la frecuencia de remoción de la masa fermentante afectaron las características químicas del grano en fermentación. El almacenamiento, previo al desgrane, ocasionó una disminución de la humedad y de la acidez y un incremento de los taninos en los cacaos analizados, en cambio el efecto sobre las proteínas fue variable. La frecuencia de remoción también influyó sobre las características químicas de los granos, en el criollo afectó sólo a la humedad, mientras que en el forastero al pH y a la acidez. La composición de las dos fracciones de los granos difirió significativamente ( $P \leq 0,05$ ), presentando la pulpa de ambos cacaos los mayores valores de humedad y pH, en tanto que al cotiledón del forastero le correspondió la menor acidez y el mayor contenido de taninos.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la técnico Boni Escorche y al señor Rafael Osorio, la colaboración prestada.

### BIBLIOGRAFÍA

- Amin, I., S. Jinap and B. Jamilah. 1998. Proteolytic activity (aspartic endoproteinase and carboxypeptidase) of cocoa bean during fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 76:123-128.
- Association Of Official Analytical Chemists (AOAC). 1997. Official methods of analysis. 16th Edition. Gaithersburg, Maryland, USA. Cap.312. pp1-17.
- Barel, M. 1987. Délai d'écabossage. Influence sur les rendements et la qualité du cacao marchand et du cacao torréfié. *Café Cacao The.* 31(2):141-150.
- Bekele, F., A. Kennedy, C. Mc David, F. Lauckner and I Bekele. 1994. Numerical taxonomic studies on cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad. *Euphytica.* 75(39):231-240.
- Biehl, B., E. Brunner, D. Passern, L. Quesnel and D. Adomako. 1985. Acidification, proteolysis and flavour potential in fermenting cocoa beans. *J. Sci. Food Agric.* 36:583-598.
- Braudeau, J. 1970. El Cacao. Primera edición. Editorial BLUME. Barcelona, España. 292 p.
- Cros, E. and N. Jeanjean. 1995. Cocoa quality: effect of fermentation and drying. *Plantations, recherché, développement.* 24:25-27.
- Dias, J. e M. Avila. 1993. Influência do período de pós-colheita do fruto, sistema de revolvimento da massa e tempo de fermentação sobre a acidez do cacau. *Agrotrópica.* 5(2):25-30.
- Dougan, J. 1981. Methods for monitoring degree of aeration and the production and dissimilation of alcohol, acetic and lactic acids during cocoa fermentation. 8th International Cocoa Research Conference. Cartagena, Colombia. Pp 814-816.
- Graziani de Fariñas, L., L. Ortiz de Bertorelli, M. Lemus y P. Parra. 2002. Efecto del mezclado de granos de dos tipos de cacaos sobre algunas características químicas durante la fermentación. *Agronomía Trop.* 52(3):325-342.
- Graziani de Fariñas, L., L. Ortiz de Bertorelli, N. Álvarez y A. Trujillo de L. 2003a. Fermentación del cacao en dos diseños de cajas de madera. *Agronomía Trop.* 53(2):175-187.
- Graziani de Fariñas, L., L. Ortiz de Bertorelli y P. Parra. 2003b. Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua. *Agronomía Trop.* 53(2):133-144.
- González, F., L. Ortiz de Bertorelli, L. Graziani de F. y E. Monteverde-Penso. 1999. Influencia del índice de cosecha de la mazorca sobre algunas características de la grasa de dos cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Rev. Fac. Agron. (UCV)* 25(2):159-171.
- Meyer, B, B. Biehl, M. Bin Said and R. Samarakoddy. 1989. Post-harvest pod storage: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *J. Sci. Food Agric.* 48:285-304.
- Monagas, O. 1995. Estudio socio económico y agronómico de los productores y las parcelas agrícolas de la población de Cumboto, Municipio Mario Briceño Iragorry, estado Aragua. Trabajo de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 64p.

- Ortiz de Bertorelli, L, H. Maldonado, P. Parra y L. Graziani de Fariñas. 2006. Caracterización electroforética de las globulinas del grano fermentado de tres tipos de cacao. *Interciencia*. 31(6):441-445.
- Puziah, H., S. Jinap, M. Kharidah and A. Asbi. 1998. Effect of mass and turning time on free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 78:543-550.
- Rohan, T. 1964. El beneficio del cacao bruto destinado al mercado. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 223 p.
- Samah, A, N. Ibrahim, H. Alimon and M. Abdul Karim. 1993. Fermentation studies of stored cocoa beans. *World J. Microbiol. Biotechn.* 9:603-604.
- Schwan, R, A. López, D. Silva e M. Vanetti. 1990. Influência da frequência e intervalos de revolvimentos sobre a fermentação do cacau e qualidade do chocolate. *Agrotrópica*. 2(1):22-31.
- Senanayake, M, E. Jansz and K. Buckle. 1997. Effect of different mixing intervals on the fermentation of cocoa beans. *J. Sci. Food Agric.* 74:42-48.
- Singleton, V, J. Rossi. 1965. Determination of tannins in wines. *J. Enology and viticulture*. 6(3):114.
- Statistical Analysis Systems (SAS). 1998. SAS/STAT User's Guide. Release 6.132 edition. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 1028 p.
- Torres O, L. Graziani de Fariñas, L. Ortiz de Bertorelli y A. Trujillo. 2004. Efecto del tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca del cacao tipo forastero de Cuyagua sobre características del grano en fermentación. *Agronomía Trop.* 54(4):481-495.
- Voigt J, H. Heinrichs, G. Voigt and B. Biehl. 1994. Cocoa-specific aroma precursors are generated by proteolytic digestion of the vicilin-like globulin of cocoa seeds. *Food Chem.* 50:177-184.