

## **Análisis Químico del Cacao Criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo**

Chemical analysis of Criollo Porcelana Cocoa (*Theobroma cacao* L.) in the South of Maracaibo Lake

E. Portillo<sup>1</sup>, L. Graziani de Farinas<sup>2</sup> y E. Betancourt<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomía. Facultad de Agronomía. LUZ Apdo. Postal

<sup>2</sup>Departamento de Química. Facultad de Agronomía. UCV

<sup>3</sup>Ingeniero agrónomo Asistente de Investigación egresado de la Facultad de Agronomía de LUZ.

### **Resumen**

El estudio de algunos compuestos químicos, tiene gran relevancia en la calidad y desarrollo aromático del cacao, ya que en función del tratamiento al cual sean sometidas las almendras, dependerá el contenido de estos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la evolución de algunos compuestos químicos en función de la fermentación, tomando en cuenta los siguientes factores: tipo de fermentador (TF), frecuencia de remoción (FR), aguate de la mazorca (AM) y el tiempo de fermentación (TPF). La metodología consistió en un arreglo factorial  $2^3 \times 5$  donde se estudiaron tres factores (TF, FR y AM), a dos niveles y el tiempo de fermentación a cinco. Las variables estudiadas fueron: pH, acidez, taninos, azúcares reductores y totales. Los resultados reflejan para el cotiledón y pulpa + testa mayores valores de pH y taninos en el fermentador rectangular y de acidez, azúcares reductores y totales en el cuadrado. La frecuencia de remoción cada 24 horas, mostró mayor pH, azúcares y taninos y menor acidez en el cotiledón y menores valores en la pulpa + testa y un aumento en los azúcares y taninos en este. El aguate determinó un incremento del pH para cinco días y un descenso de la acidez y azúcares. En la pulpa + testa se observó la misma tendencia. Para el tiempo de fermentación hubo variación de todas las variables durante el proceso para ambas fracciones, donde el contenido de ellas disminuyó durante fermentación en su gran mayoría. Estos resultados tienen relación con la calidad final del cacao.

**Palabras clave:** Post Cosecha, *Theobroma cacao*, calidad, químico.

---

Recibido el 4-5-2004 • Aceptado el 19-1-2007

Autor de correspondencia e-mail: elvisportillo@hotmail.com; ticoet@net.uno.net; elebetafe@hotmail.com

## Abstract

This study has as purpose the evaluation of the biochemical parameters that allow to establish the fermentation conditions for producing the best quality chocolate for the "Criollo Porcelana" cacao, by evaluating the chemical compounds through the parameters used during the fermentation like: Ferment Type (FT) square and rectangular drawer, Removal Frequency (RF) 12 and 24 hours, Ear Endurance (EE) at zero and five days and the fermentation time (FTT) at the 0, 24, 48, 72 and 96 hours. The methodology consisted on a factorial arrangement  $2^3 \times 5$  in where three factors were studied (TF, FR and AM), at two levels and the time of fermentation at five. The studied variables were: pH, acidity, tannins, sugars reducers and total of sugars. Results reflect for the cotyledon and pulp and testa makes a will bigger pH values and tannins in the rectangular fermenting and of acidity, sugars reducers and total in the square. The removal frequency each 24 hours, it showed bigger pH, sugars and tannins and littler acidity in the cotyledon and littler values in the pulp and testa makes a will and an increase in the sugars and tannins in this. The endurance determined an increment of the pH for five days and a descent of the acidity and sugars. In the pulp and testa makes a will the same tendency it was observed. With regard to the fermentation time, there was a variation of all the variables during the process for both fractions. These results are related with the final quality of chocolate.

**Key words:** Post harvest, Theobroma cocoa, quality, chemical.

## Introducción

Venezuela ha sido considerada un país con una gran tradición cacaotera, especialmente en la producción de los cacaos tipos extrafinos y finos. Estos cacaos de sabor y aroma son utilizados principalmente para la fabricación de chocolates oscuros "Premium" y coberturas de alta calidad (revestimiento) entre otros usos, donde las cualidades especiales de tales cacaos pueden ser totalmente apreciadas (9). La razón más usual para emplearlos es por su sabor. Desafortunadamente, el sabor es un criterio que es muy subjetivo y los fabricantes suelen tener diferentes preferencias al respecto (21).

## Introduction

Venezuela has been considered as a country with a big cocoa tradition especially in the cocoa production of extra fines and fines type. These flavor and aroma cocoa are especially used for the dark chocolates "Premium" elaboration and high quality covers, among other uses in where the special qualities of these cocoas could be totally appreciated (9). The more usual reason to using them is their flavor. Unfortunately, flavor is a very subjective criterion and the manufacturers have different preferences to the respect (21). The world statistics of cocoa production locates to Venezuela on the 14<sup>th</sup> place

Las estadísticas mundiales de producción de cacao ubican a Venezuela en el décimo cuarto lugar y destacan la reducción de su oferta de cacao fino que según el último análisis se estimó en un 50% (15). En el país, existen antecedentes que dejan entrever que la paulatina sustitución de los cacaos criollos por materiales más rústicos condujo a la disminución de la calidad. Aunado a esto, se aplicaban los tradicionales métodos de beneficio asociados a los tipos criollos, pero poco práctico para otras variedades más rústicas (16,19, 22).

Estudios anteriores sobre ciertos parámetros químicos de la fermentación explican que la constante elevación del pH de la pulpa durante la fermentación se atribuye a la desasimilación del contenido de ácido cítrico por las levaduras y las bacterias lácticas y la sustitución por los ácidos lácticos y acéticos menos disociados (19).

El descenso del pH en la pulpa es atribuible al metabolismo del ácido cítrico por acción de las levaduras anaeróbicas, ya que el etanol formado es oxidado a ácido acético (bacterias acéticas) el cual migra hacia los cotiledones (23). Con respecto a los taninos existe una disminución lenta del contenido durante las primeras 48 horas de fermentación, tal pérdida es más acentuada cuando se remueve la masa de cacao, cada 24 horas, obteniéndose una reducción del 4,5 al 7,5% de taninos totales durante la fermentación. A partir del segundo día de fermentación el contenido de estos baja rápidamente hasta el quinto día que disminuyen entre (2,5 a 4%) para después descender lentamente, trans-

and detaches the reduction of its fine cocoa offer that according to the last analysis it was estimated in a 50% (15).

In the country, there are antecedents about the substitution of creoles cocoas by more rustic materials took for the quality diminishing. Besides, the benefit methods traditional associated to the creoles types were applied, with a minimum practice for other rustic varieties (16, 19, 22).

Previous studies about some chemical parameters of fermentation explain that the constant elevation of pH in pulp is attributable to the dissimilation of the content of citric acid by yeast and lactic bacteria and the substitution by lactic and acetic acids dissociated (19). The pH decrease in the pulp is attributable to the citric acid metabolism by the action of the anaerobic yeasts since the formed ethanol is oxidized to acetic acid (acetic bacteria) which emigrates to the cotyledons (23).

Respect to tannins, there is a slow diminishing of content during the first 48 hours of fermentation which is accentuated when the cocoa mass is removed each 24 hours, by being obtained a reduction of 4.5 to 7.5% of the total tannins during the fermentation. From the second day of fermentation, the tannins content quickly decrease to the fifth day when the diminishing is between 2,5 to 4% for descending in a slow way by changing in a substance of brown color, which causes the final color of cotyledons as a consequence of one oxidation and of another chemical phenomenon that are accelerated when air takes contact (14).

formándose en sustancia de color pardo, causantes del color final de los cotiledones como consecuencia de una oxidación y de otros fenómenos químicos que se aceleran al contacto con el aire (14).

Durante el proceso de fermentación se observa una disminución en los contenidos de azúcares reductores y totales en la fracción pulpa + testa, siendo este efecto más pronunciado durante los tres primeros días del proceso. Este descenso es atribuido a la emisión de exudado y a la fermentación alcohólica. En relación al cotiledón se ha encontrado que estos azúcares se incrementan durante la fermentación (19, 21). El objetivo fundamental de esta investigación fue evaluar el efecto del fermentador, la frecuencia de remoción, el aguante de la mazorca y el tiempo de fermentación sobre el contenido de compuestos químicos en el cacao criollo porcelana.

## **Materiales y métodos**

### **Origen y tratamiento de la muestra**

El ensayo se llevó a cabo en la Estación Experimental Chama de Corpozulia, ubicada en el Km 41 de la carretera Santa Bárbara, el Vigía del municipio Colón del estado Zulia. Seleccionando los frutos de una plantación aproximada de 6 ha de cacao porcelana.

El ensayo se condujo bajo un diseño de bloques al azar con un arreglo factorial  $2^3 \times 5$ , donde se evaluaron por duplicado, tipo de fermentador (TF: cajón cuadrado y rectangular), frecuencia de remoción (FR: 12 y 24 horas) posterior al inicio del proceso,

During the fermentation process, a diminishing on the reducer sugars and total sugars content in the pulp and testa being this effect more pronounced during the three first days of process. This descend is attributed to the exudates emission and to the alcoholic fermentation (19, 21). The principal objective of this research was to evaluate the fermenting effect, the removal frequency, the ear endurance and the fermentation time on the chemical compounds content in the "Criollo Porcelana" cocoa.

## **Materials and methods**

### **Origin and treatment of the sample**

Essay was carried out at the experimental station "El Chama" belonging to Corpozulia, located in the Km 41 of Santa Barbara road, El Vigía, Colon municipality, Zulia state. Fruits of a plantation of Porcelain Cocoa of 6 ha approximately were selected.

Essay was conducted by following a random blocks design with a factorial arrangement  $2^3 \times 5$  in where the evaluation was accomplished by duplicate, fermenting type (FT: squared and rectangular box), removal frequency (RF: 12 and 24 hours) after beginning the process, ear endurance (EA: 0 and 5 days), For the fermentation time factor were considered: (FTF: zero hour (without fermentation), 24, 28 72 and 96 hours) after harvesting.

Sample taking were made for fresh cocoa at zero hours (without fermentation), fermented and dried of

aguante de la mazorca (AM: cero y cinco días). Para el factor tiempo de fermentación se consideraron: (TPF: cero hora (sin fermentar), 24, 48, 72 y 96 horas), después de la cosecha.

Las tomas de muestras se hicieron para cacao fresco a las cero hora (sin fermentar), fermentado y secado de 400 g a las 24 horas y así sucesivamente hasta las 96 horas de iniciado el proceso. Una vez realizado esto se colocaron en bolsas plásticas y se almacenaron en un refrigerador a 0°C. Posteriormente, fueron trasladadas hasta el laboratorio de productos vegetales del Instituto de Química y Tecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, donde se separaron las distintas fracciones, pulpa + testa y el cotiledón, para luego proceder a realizar los respectivos análisis.

### **Métodos de análisis**

Para la determinación de acidez, taninos y azúcares se utilizaron los siguientes métodos: pH Method. N° 931,04, (11), acidez titulable Method. N° 942,15, (11), taninos Metod. Folin-Ciocalteu (24), Azúcares reductores y totales Metod. N° 925,35, (11). Todos estos resultados se expresaron en base seca.

### **Procesamiento de datos**

Los datos fueron evaluados usando el paquete estadístico SAS (25), realizando los análisis de varianzas y pruebas de Duncan correspondientes a cada variable.

## **Resultados y discusión**

### **pH y acidez titulable**

Los resultados muestran el efecto de los factores simples e interacciones dobles considerados de mayor significancia en el estudio. En

400 g at 24 hours and so on until the 96 hours after beginning the process. Once this accomplished, samples were placed into plastic bags and they were stored into a refrigerator at 0°C. After, samples were moved to the Vegetables Products Laboratory of the Chemical and Technology Institute, Agronomy Faculty, Central of Venezuela University in where the distinct fractions were separated, pulp and testa and the cotyledon, for making the respective analysis.

### **Analysis methods**

For determining the acidity, tannins and sugars, the following methods were employed: pH method N° 931.04 (11), labeled acidity method N° 942.15 (11), tannins method Folin-Ciocalteu (24), reducing and total sugars, method N° 925.35 (11). Every result was expressed in dry base.

### **Data processing**

Data were evaluated by using the statistical program SAS (25), by making the variance analysis and Duncan test corresponding to each variable.

## **Results and discussion**

### **pH and labeled acidity**

Results show the effect of the simple factors and doubles interactions considered of a higher importance in the study. In the cotyledon it is observed for pH the simple effect. The variance analysis showed significative differences ( $P < 0.05$ ) for the RF and highly significative ( $P < 0.01$ ) for the double interaction EE x FTT.

Respect to the labeled acidity, analysis showed highly significative differences ( $P < 0.01$ ) for FTT, RF and

el cotiledón se observó para el pH el efecto simple. El análisis de varianza indicó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para el factor FR y altamente significativas ( $P < 0,01$ ) para la interacción doble AMxTPF. Con respecto a la acidez titulable el análisis mostró diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ) para TF, FR y la interacción AMxTPF. En cuanto a la fracción pulpa+testa para el pH, los resultados arrojaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para el tipo de fermentador (TF) y altamente significativas ( $P < 0,01$ ) para el tiempo de fermentación (TPF). En relación a la acidez titulable para esta última fracción, se obtuvo diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ) para los factores TF, AM y TPF.

El cuadro 1 muestra los resultados de la prueba de medias de Duncan obtenidos para las variables pH y acidez en el cotiledón en función de la frecuencia de remoción. El estudio reveló que los valores más altos de pH se alcanzaron con una frecuencia de remoción de 24 horas (6) y la acidez cuando las remociones se hicieron cada 12 horas (0,95%) Meyer

the EE x FTT interaction. In relation to the pulp and testa for the pH, results showed significative differences ( $P < 0.01=$  for the FTT. In relation to the labeled acidity, for the last fraction, highly significative differences ( $P < 0.01$ ) were obtained for FT, EE and FTT.

Table 1 shows the results of the Duncan mean test obtained for the pH and acidity variables in the cotyledon in function of the removal frequency. Study reveals that the higher pH values were reached with a removal frequency of 24 hours (6) and the acidity when removals were made each 12 hours (0.95%). Likewise, little pH values in the cotyledons (little or equal to 4.5) diminish the aromatic potential in cocoa, whereas values around 5.0 – 5.5 are carrying to an increase of it, that is due to removals of 24 hours favoured the pH increase by contributing to an elevation of the aromatic potential in the cocoa in this essay, however, it is important to notice that the two removal frequencies caused that the mass pH was included among values found by Meyer *et al.* (12).

**Cuadro 1. Prueba de medias para el pH y acidez en el cotiledón de granos de cacao porcelana fermentados en dos frecuencias de remoción.**

**Table 1. Means test for the pH and acidity in the cotyledon of porcelain cocoa grains fermented in two removal frequencies.**

Frecuencia de remoción (horas)	pH	Acidez (% Acido cítrico)
12	5,43 <sup>b</sup>	0,95 <sup>a</sup>
24	5,53 <sup>a</sup>	0,81 <sup>b</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%

*et al.*, (12). Comprobaron que valores bajos de pH ( $\leq 4,5$ ) en los cotiledones disminuyen el potencial aromático en el cacao, en tanto que valores alrededor de 5,0 – 5,5 conducen a un incremento del potencial, por lo que remociones de 24 horas favorecen el incremento del pH. Sin embargo, es de resaltar en este trabajo que las dos frecuencias de remoción condujeron a que el pH de la masa resultara similar a los valores encontrados por Meyer *et al.*, (12).

En relación al tipo de fermentador, la prueba de medias de Duncan (cuadro 2), para el cotiledón y considerando la variable acidez, revela que la misma alcanzó un valor mayor en la masa de cacao cuando el proceso se realizó en cajón cuadrado (0,97%) en comparación con la acidez obtenida en el cajón rectangular (0,78%). Con respecto al método de fermentación de cajas se obtienen menores concentraciones de ácido cítrico (2). Así mismo, Palma (16) señala que el método de fermentación en cajones de madera permite una fermentación más controlada.

Adicionalmente, Rhojan (18) se-

In relation to the fermenting type, the Duncan mean test (table 2) for the cotyledon and considering the acidity variable reveals that it reached a higher value in the cocoa mass when process was accomplished in squared chest (0.97%) in comparison to acidity obtained in the rectangular chest (0.78%). With respect to fermentation type in boxes, little concentrations of citric acid are obtained (2). Likewise, Palma (16) pointed out that in wood chest fermentation method permit a more controlled fermentation.

Additionally, it has been determined that during the fermentation carbonic acid is originated which is supposed no taking part of substances precursory of flavor, for that reason, it is necessary to remove the cocoa mass, especially when boxes are used as fermenting (18). The same author says that the acetic acid damages the fermentation and the formation of this acid can decrease by increasing the cocoa mass temperature to 55°C or 65°C during 24 to 30 hours at the end of the alcoholic fermentation.

## **Cuadro 2. Prueba de medias para la acidez en el cotiledón de granos de cacao porcelana fermentados en dos tipos de fermentadores.**

**Table 2. Means test for the acidity in the cotyledon of porcelain cocoa grains fermented in two fermenting types.**

Tipo de fermentador (cajón)	Acidez (% Ácido cítrico)
Cuadrado	0,97 <sup>a</sup>
Rectangular	0,78 <sup>b</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%

ñala que durante la fermentación se origina anhídrido carbónico, el cual se cree no forma parte de las sustancias precursoras del sabor, razón por la cual es necesario remover la masa de cacao, principalmente cuando se utilizan cajas como fermentadores. El mismo autor indica que el ácido acético es perjudicial para la fermentación y señala que la formación de este ácido se puede disminuir incrementando la temperatura de la masa de cacao a (55-65°C) durante 24 a 30 horas al final de fermentación alcohólica. Por su parte, Roelofsen (19) encontró que los factores más importantes en la muerte del grano, son la temperatura y la acidez y compró que el ácido acético es la causa principal de la muerte del grano, al mantener el pH constante.

Roelofsen (19) found that the more important factors in the grain dead are the temperature and the acidity and proved that the acetic acid is the principal cause of grain dead when keeping the pH constant.

In relation to the ear endurance interaction by the fermentation time EE x FTT (table 3) shows the effect of this interaction for the cotyledon by considering the pH values and acidity. Results reveal that at the fermentation beginning there is a high pH and acidity. In the case of zero endurance, the maximum value was of 5.89 at the beginning for after decrease to 5.23 at the end of process, superior to interval of 5.0 – 5.5 suggested by Misnawi *et al.* (12), we could conclude that sensorial and aromatic characteristics of porcelain cocoa are favoured during

**Cuadro 3. Prueba de medias para el pH y acidez en el cotiledón para la interacción aguante de la mazorca por el tiempo de fermentación (AM x TPF).**

**Table 3. Means test for the pH and acidity in the cotyledon for the EE x FT interaction.**

Aguante de la mazorca (días)	Tiempo de fermentación (horas)	pH	Acidez (% ácido cítrico)
0	0	5,89 <sup>a</sup>	0,59 <sup>d</sup>
0	24	5,48 <sup>b</sup>	0,75 <sup>c</sup>
0	48	5,30 <sup>c</sup>	1,02 <sup>b</sup>
0	72	5,12 <sup>c</sup>	1,25 <sup>a</sup>
0	96	5,23 <sup>c</sup>	1,09 <sup>a</sup>
5	0	5,73 <sup>a</sup>	0,67 <sup>d</sup>
5	24	5,40 <sup>b</sup>	0,83 <sup>c</sup>
5	48	5,33 <sup>b</sup>	1,01 <sup>a</sup>
5	72	5,54 <sup>b</sup>	0,85 <sup>bc</sup>
5	96	5,78 <sup>a</sup>	0,71 <sup>c</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadísticas a un nivel de significancia del 5%



En cuanto a la interacción del aguate de la mazorca por el tiempo de fermentación AMxTPF, el cuadro 3 muestra el efecto de dicha interacción para el cotiledón, considerando los valores de pH y acidez. Los resultados revelan al inicio de la fermentación un pH alto para los dos tiempos de aguate de la mazorca. En el caso del aguate cero el valor máximo fue de 5,89 al principio, para luego descender a 5,23 al final del proceso. En cambio, para los tratamientos cuyas mazorcas se desgranaron cinco días después de la cosecha el pH inicial fue de 5,73 manteniéndose prácticamente constante durante la fermentación. Considerando los resultados obtenidos en este trabajo, donde el máximo valor de pH fue de 5,78 al final del proceso, superior al intervalo de 5,0 – 5,5 sugeridos por Misnawi *et al.* (12), se pudiera inferir que las características sensoriales y aromáticas del cacao porcelana son favorecidas durante el proceso. La variable acidez durante la fermentación tiene un comportamiento contrario al pH reflejando claramente que la acidez se inicia con valores bajos siendo de 0,59% cuando las mazorcas se abren el mismo día de la cosecha y de 0,67% para aquellas que se desgranaron cinco días después. Posteriormente, en el caso del aguate 0, se observó un incremento de la acidez hasta el tercer día de iniciada la fermentación alcanzando un valor de 1,25% y a partir de allí se mantuvo constante llegando a 1,09% el último día del proceso. Cuando el aguate es de cinco días la tendencia es similar, con la diferencia que el máximo valor de acidez se obtuvo a las 48 horas de iniciada la fermentación, el cual fue de 1,01%, posteriormente, ocurrió una disminución

the process. The acidity variable during the fermentation have a contrary behavior to pH by reflecting clearly that acidity begin with little values being of 0.59% when ears open the same day of harvest and of 0.67% for those shelled five days after. In the case of zero endurance an acidity increase is observed until the third day of the begin of fermentation by reaching a value of 1.25% and from there is keeping constant by reaching a value of 1.09% the last day of process. When endurance is of five days the trend is similar, with the difference that the maximum acidity value was obtained at 48 hours after beginning fermentation which was of 1.01%, after, there is a diminishing of this variable through time, until get a value of 0.71 at the end of process.

Respect to the pulp and testa fraction, the table 4 shows the Duncan mean test for the pH and acidity variables. This test showed that pH was higher in the cocoa mass that was fermented in rectangular chest (4.97), by having the littler acidity (1.48%) at the same time. However, it has been found that at the bottom of the chest fermenting, the anaerobic conditions were better reached in comparison to the heap bottom type fermenting, and at the first one, the ethanol concentration is higher, likewise, a higher increase of lactic acid in the cocoa mass happens and a superior pH is reached (6). The same author says that the fermentation method influence depends not only of the generated differences but of the interactions with the time, the cultivation and the ear storage.

Respect to the ear endurance,

de esta variable a través del tiempo, hasta obtener un valor de 0,71% al final del proceso.

En relación a la fracción pulpa + testa, en el (cuadro 4) se muestra la prueba de medias de Duncan para las variables pH y acidez. Esta prueba indicó que el pH fue mayor en la masa de cacao que se fermentó en cajón rectangular (4,97), correspondiéndole a su vez la menor acidez (1,48%). Sin embargo, Cros (6) comprobo que en el fondo del fermentador de cajón, se alcanzaba mejor, las condiciones aeróbicas que en el fondo de un fermentador tipo montón y que en el primero la concentración de etanol es mayor, asimismo, ocurre un mayor incremento de ácido láctico en la masa de cacao y se alcanza un pH superior. Adicionalmente indica que la influencia del método de fermentación es dependiente no sólo de las diferencias generadas, sino de las interacciones con el tiempo, cultivar y el almacenamiento de la mazorca.

Con respecto al efecto del aguan-te de la mazorca, el cuadro 5 muestra los resultados de la prueba de medias de Duncan para la variable acidez.

**Cuadro 4. Prueba de medias para el pH y acidez en la pulpa + testa de granos de cacao porcelana fermentados en dos tipos de fermentadores.**

**Table 4. Means test for the pH and acidity in the pulp and testa of porcelain cocoa grains fermented in two fermenting types.**

Tipo de fermentador (cajón)	pH	Acidez (% Ácido cítrico)
Cuadrado	4,85 <sup>b</sup>	1,88 <sup>a</sup>
Rectangular	4,97 <sup>a</sup>	1,48 <sup>b</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%

table 5 reflects the results of the Duncan mean test for the acidity variable. The maximum concentrations were obtained when ears opened immediately after harvesting (1.83%), and when the endurance was of the five days (1.53%) was the contrary, it means, there was a diminishing in the concentration of citric acid with the delay in the shelling in the pulp and testa. Barel *et al.* (1), determined that during fermentation the acidity content decreases and pH increases in grains when stored ears during 6 to 9 days are used in comparison to no stored ears. Besides, a few acid taste and a better aroma in the prepared chocolate it was found.

In relation to the fermentation time, the Duncan mean test (table 6) shows for this fraction that the pH trends to increase and the acidity trends to decrease during the fermentation process, it means, process begins with a value of 2.28% (without fermenting), after it decrease to a 1.68% at 24 hours by reaching a concentration of 1.28% at the end of fermentation (96 hours). These results agree with those found by Biehl *et al.*,

**Cuadro 5. Prueba de medias para la acidez en pulpa + testa de granos de cacao porcelana fermentados con dos tiempos de aguante la mazorca.**

**Table 5. Means test for the acidity in the pulp and testa of porcelain cocoa grains fermented with two ear endurance times.**

Aguante de la mazorca (días)	Acidez (%Ácido cítrico)
0	1,83 <sup>a</sup>
5	1,53 <sup>b</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadísticas a un nivel de significancia del 5%

Las máximas concentraciones se obtuvieron cuando las mazorcas se abrieron inmediatamente después de la cosecha (1,83%), en contraposición cuando el aguante fue de cinco días (1,53%), es decir hubo una disminución en la concentración de ácido cítrico con la demora en el desgrane en la pulpa + testa. Por su parte Barel *et al.* (1), determinó que durante la fermentación el contenido de acidez disminuye y el pH se incrementa en los granos cuando se usan mazorcas almacenadas por 6 a 9 días, al compararlas con las no almacenadas. Aunado a esto encontró un sabor menos ácido y un mejor aroma en el chocolate preparado.

En relación al tiempo de fermentación, la prueba de medias de Duncan (cuadro 6) muestra para esta misma fracción, que el pH tiende a incrementarse y la acidez a disminuir durante el proceso de fermentación, es decir inicia el proceso con un valor de 2,28% (sin fermentar), luego disminuyó a 1,68% a las 24 horas, alcanzando al final de la fermentación (96 horas) una concentración de 1,28%. Estos resultados coinciden con los

Ardi and Yusep *et al.* (2, 10 and 26), who reported pH values lower at the beginning of process and an increase of them at the end of fermentation. Respect to the increase of the acidity in pulp during the fermentation, Saposhnikova (21) found values of 0.37 to 0.68% of acetic acid at the beginning and of 0.34% the fifth day.

In this essay, the higher pH values agree with the lower acidity values, at the beginning of process pH was 4.09 and the acidity 2.28% (fresh cocoa) after it is appreciate that at 24 hours of fermentation, pH rise to 4.63 and the acidity decreased to 1.68% to reach a concentration of 1.28% of citric acid and a pH of 5.46 the last day of process (96 hours). Some authors establish that taste is improved if the value of grain pH is not below to 5.0 during the first fermentation stages (2). In the same way, they suggest that it has to be a minimum volume of pulp (0.6 mL.g<sup>-1</sup>) for maintaining the grain pH and do not decrease of 5.0.

Results obtained in this essay permits to suggest that porcelain cocoa possesses a high aromatic

**Cuadro 6. Prueba de medias para el pH y acidez en la pulpa + testa en granos de cacao porcelana durante el proceso de fermentación.**

**Table 6. Means test for the pH and acidity in the pulp and testa of porcelain cocoa grains during the fermenting process.**

Tiempo de fermentación (horas)	pH	Acidez (% Ácido cítrico)
0	4,09 <sup>e</sup>	2,28 <sup>a</sup>
24	4,63 <sup>d</sup>	1,68 <sup>b</sup>
48	5,10 <sup>b</sup>	1,65 <sup>b</sup>
72	5,29 <sup>b</sup>	1,54 <sup>b</sup>
96	5,46 <sup>a</sup>	1,28 <sup>c</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%

encontrados por Biehl *et al.*, Hardy *et al.* y Yusep *et al.*, (2, 10 y 26), quienes reportaron valores de pH bajos al inicio del proceso y un incremento de estos al final de la fermentación. Con respecto al incremento de la acidez en la pulpa durante la fermentación, Saposhnikova (21) encontró valores de 0,37 a 0,68% de ácido acético al inicio y de 0,34% el quinto día. En este trabajo se observó que los valores más altos de pH coinciden con los valores más bajos de acidez, es decir al inicio del proceso el pH fue 4,09 y la acidez 2,28% (cacao fresco), luego se aprecia que a las 24 horas de fermentación el pH sube hasta 4,63 y la acidez disminuyó a 1,68% hasta alcanzar una concentración de 1,28% de ácido cítrico y un pH de 5,46 el último día del proceso (96 horas). Biehl *et al.* (2) señalaron que el sabor es mejorado si el valor de pH del grano no es menor a 5,0 durante las primeras etapas de la fermentación. Así mismo, sugieren que debe existir un volumen mínimo de pulpa (0,6 mL.g<sup>-1</sup>) para mantener el

potential since the pH values reached are superior to 5, from 48 hours of fermentation. Rohan (18) said that pH is below 5.0 is indicative of a defective fermentation. Meyer *et al.* (12), determines that cotyledons pH values (pH ≤4.5) diminish the aromatic potential in cocoa, on the contrary, when this value is of 5.0-5.5, the aromatic potential increases. pH results trend and acidity for the cotyledon and pulp and testa fractions agree with results of Barel *et al.*, Henriquez and Senanayake (1, 8 and 20).

Finally, these results shows that pH and acidity variables for the cotyledons and pulp and testa fractions gets its better values with stored ears during five days, removals each 24 hours and fermentation times between 48 and 72 hours being recommendable these conditions for achieving the aroma precursors development.

#### **Tannins**

The analysis of variance shows for the cotyledon the existence of

pH de los granos y que no disminuya de 5,0.

Los resultados obtenidos en este ensayo permiten sugerir que el cacao porcelana posee un potencial aromático elevado, ya que, los valores de pH alcanzados son superiores a 5, a partir de las 48 horas de fermentación. Al respecto Rohan (18), señaló que cuando el pH es menor de 5,0; es indicativo de una fermentación defectuosa. Por su parte Meyer *et al.* (12), revelan que valores de pH en los cotiledones ( $\text{pH} \leq 4,5$ ) disminuyen el potencial aromático en el cacao, y por el contrario cuando ese valor es de 5,0-5,5 éste se incrementa. La tendencia de los resultados de pH y acidez para las fracciones cotiledón y pulpa + testa, coinciden con los resultados de Barel *et al.*, Enríquez y Senanayake (1, 8 y 20).

Finalmente, estos resultados indican que las variables pH y acidez para las fracciones cotiledón y pulpa + testa obtienen sus mejores valores, con mazorcas almacenadas por cinco días, remociones cada 24 horas y tiempos de fermentación entre 48 y 72 horas, siendo recomendable estas condiciones para lograr el desarrollo de los precursores del aroma.

### **Taninos**

El análisis de varianza muestra para el cotiledón la existencia de diferencias significativas para TF y altamente significativas para el TPF y la interacción FRxAM. En cuanto a la pulpa+testa, el análisis de varianza detectó diferencias significativas para la interacción de TFxFR y altamente significativas para TPF y TFxAM.

La prueba de medias de Duncan (cuadro 7) presenta las diferencias

significative differences for FT and highly significant for FTT and the interaction RF x EE.

The Duncan mean test (table 7) shows the differences for the FT. The higher values of tannins percentage in the cotyledon were obtained when fermentation was accomplished in rectangular chests with a value of 0.43% versus 0.39% that was obtained in squared chests whereas for pulp and testa fraction, the tannins content was similar in both fermenting. In the square fermenting, a higher fermentation index was reached related to a higher oxidation of polyphenolic compounds in where tannins are included.

Respect to fermentation time, the Duncan mean test (table 8) shows a trend of the tannins contents to diminishing, as well in the cotyledon as in the pulp and testa at the same time the process goes. Biehl *et al.* (2) get results that differ from those reported in this research, it means, they found an increase on the tannins content at the pulp and testa level with the fermentation time, in the treatments with ears submitted to zero and five days of endurance, by passing from 14.67 mg of tannic acid/100 mg of dry sample at zero hours of fermentation, to 18.67 mg at fifth day. The tannins content diminishing during fermentation has as consequence a reduction of the bitterness degree and the chocolate astringency caused by the oxidation of this compound (5, 10).

When considering the removal frequency interaction by ear endurance RF x EE (table 9), it can be observed that when fruit is

**Cuadro 7. Prueba de medias para el contenido de taninos en cotiledones de cacao porcelana fermentado en dos tipos de fermentadores.**

**Table 7. Means test for the tannins content in cotyledons of porcelain cocoa grains fermented in two fermenting types.**

Tipo de fermentador (cajón)	Taninos (%)
Cuadrado	0,39 <sup>b</sup>
Rectangular	0,43 <sup>a</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna y fracción indican diferencia estadísticas a un nivel de significancia del 5%

existentes para el TF. Los valores más altos del porcentaje de taninos en el cotiledón se obtuvieron cuando se fermentó en cajones rectangulares con un valor de 0,43% en contra de 0,39% obtenido en cajones cuadrados, en tanto que para la fracción pulpa + testa el contenido de taninos fue similar en los dos fermentadores. Esto concuerda con el hecho de que en los fermentadores cuadrados se alcanzó un mayor índice de fermentación, relacionado con una mayor oxidación de compuestos polifenólicos donde están incluidos los taninos.

Con respecto al tiempo de fermentación la prueba de medias de Duncan (cuadro 8) muestra una tendencia del contenido de taninos a disminuir, tanto en el cotiledón como en la pulpa + testa a medida que transcurre el proceso. Por su parte, Biehl *et al.* (2) obtuvo resultados que difieren de los reportados en este trabajo, es decir, encontraron un incremento del contenido de taninos a nivel de la pulpa + testa con el tiempo de fermentación, en los tratamientos cuyas mazorcas fueron sometidas a cero y cinco días de aguante, pasando de

fermented immediately after harvesting, the tannins content in the cotyledon increase in the same way the removal frequency decrease (each 24 hours), meanwhile when the shelling is lacked, the tannins content do not suffer any variation.

In relation to the interaction fermenting type by the removal frequency FT x RF for the fraction pulp and testa, table 10 shows its effect. Results shows in a clear way that the only differences are established in the rectangular chest by indicating that when almonds are placed in a square fermenting, the tannins content is similar with both frequencies used. On the contrary, when process is accomplished in rectangular chest, the tannins content is increase with the diminishing of the removal frequency.

For the fermenting type by the ear endurance interaction (FT x EE) in the pulp and testa, in the table 11 it is shows in general, the only differences were established at 0 days of the ear endurance in where the rectangular chest was detected higher tannins content. On the other hand, in the square chest, the ear endurance increases the tannins content

**Cuadro 8. Prueba de medias para el contenido de taninos en el cotiledón y la pulpa + testa de granos de cacao porcelana durante el proceso de fermentación.**

**Table 8. Means test for the tannins content in the cotyledon and the pulp and testa of porcelain cocoa grains during the fermentation process.**

Fracción	Tiempo de fermentación (horas)	Taninos (%)
Cotiledón	0	0,51 <sup>a</sup>
	24	0,47 <sup>ba</sup>
	48	0,41 <sup>b</sup>
	72	0,34 <sup>c</sup>
	96	0,29 <sup>c</sup>
Pulpa + testa	0	0,59 <sup>a</sup>
	24	0,53 <sup>b</sup>
	48	0,50 <sup>b</sup>
	72	0,38 <sup>c</sup>
	96	0,30 <sup>d</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna y fracción indican diferencia estadísticas a un nivel de significancia del 5%.

14,67mg de ácido tánico/100g de muestra seca a las cero hora de fermentación, a 18,67mg al quinto día. La disminución del contenido de taninos durante la fermentación trae como consecuencia, una reducción del grado de amargor y astringencia del chocolate, a causa de la oxidación de estos compuestos (5, 10).

Al considerar la interacción frecuencia de remoción por aguante de la mazorca FRxAM (cuadro 9), se observó que cuando la fruta se fermenta inmediatamente después de la cosecha, el contenido de taninos en el cotiledón se incrementó a medida que la frecuencia de remoción disminuye (cada 24 horas), en tanto que cuando se retrasa el desgrane el contenido de taninos no sufrió variación.

by being observed a contrary behavior in the rectangular chest in where the endurance favoured the diminishing of the tannins contents.

**Reducing and total sugars**

The analysis of variance made to the reducing sugars variable in the cotyledon detected highly significative differences ( $P < 0.01$ ) for FT, FTT and significative differences ( $P < 0.05$ ) for the interaction RF x EE. Respect to the pulp and testa, there were highly significative differences ( $P < 0.01$ ) for FTT, and for the interactions FT x RF and RF x EE interactions. For the total sugars variable, the analysis of variance showed highly significative differences ( $P < 0.01$ ) for FT, FTT and the RF x EE interactions in the two studied fractions.

**Cuadro 9. Prueba de medias para el contenido de taninos en el cotiledón para la interacción frecuencia de remoción por aguante de la mazorca (FRxAM).**

**Table 9. Means test for the tannins content in the cotyledon for the remotion frequency (RF) x ear endurance (EE) interaction.**

Frecuencia de remoción (horas)	Aguante de la mazorca (días)	Taninos (%)
12	0	0,35 <sup>b</sup>
12	5	0,41 <sup>a</sup>
24	0	0,45 <sup>a</sup>
24	5	0,39 <sup>ab</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%

En relación a la interacción tipo de fermentador por la frecuencia de remoción TFxFR para la fracción pulpa + testa, el cuadro 10 presenta el efecto de la misma. Los resultados muestran que las únicas diferencias se establecen en el cajón rectangular, indicando que cuando las almendras se colocaron en un fermentador cuadrado el contenido de taninos fue similar con las dos frecuencias de re-

The Duncan means test (table 12) for the reducing and total sugars of cotyledon by considering the FT shows that the reducing (RS) and total (TS) sugars was higher when fermentation was accomplished in square chests, with values of 1.34% FOR RS and 2.05% for TS. In the rectangular chest, values were 0.93% for RS and 1.63% for TS.

Respect to the pulp and testa,

**Cuadro 10. Prueba de medias para el contenido de taninos en el pulpa + testa para la interacción Tipo de fermentador por la frecuencia de remoción (TFxFR).**

**Table 10. Means test for the tannins content in the pulp and testa for the FT x RF interaction.**

Tipo de fermentador (cajón)	Frecuencia de remoción (horas)	Taninos (%)
Cuadrado	12	0,46 <sup>ab</sup>
Cuadrado	24	0,45 <sup>ab</sup>
Rectangular	12	0,42 <sup>b</sup>
Rectangular	24	0,51 <sup>a</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%



moción utilizadas. En cambio cuando el proceso se realizó en cajón rectangular el contenido de taninos se incrementó con el descenso de la frecuencia de remoción.

Para la interacción tipo del fermentador por el aguante de la mazorca TFxAM en la pulpa+testa, en el cuadro 11 se observa que en general las únicas diferencias se establecieron a los 0 días de aguante de la mazorca, donde en el cajón rectangular se detectó un mayor contenido de taninos. Por otro lado, en el cajón cuadrado el aguante de la mazorca incrementó el contenido de taninos, observándose un comportamiento contrario en el cajón rectangular, donde el aguante favoreció el descenso del contenido de taninos.

#### **Azúcares reductores y totales**

Los análisis de varianza efectuados a la variable azúcares reductores en el cotiledón detectaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) para TF, TPF y significativas ( $P < 0.05$ ) para las interacción FRxAM. Con res-

ults shows a similar behavior for the cotyledon but for discussion, only the FT factor will be taken into account for the TS and for RS this factor will be studied in the interaction.

However, results says that content of total and reducing sugars were higher when process was accomplished in squared chest being its values 2.67% for RS and 3.8% for TS against 2.31 RS and 3.52% TS reached when were fermented in rectangular chests. Biehl *et al.* (2) reported sugar concentrations lower in pulp when combinations of cocoa amazon and like a melon with the box method.

Differences in content of RS and TS reported in this work could be explained by the block effect in itself than for the same fermenting (reflected by the analysis of variance) that can influencing on the sugars total content and on the cotyledon and the pulp and testa. Additionally, the prime material inside each fermenting is different which

### **Cuadro 11. Prueba de medias para el contenido de taninos en pulpa + testa la para la interacción Tipo de fermentador por aguante de la mazorca (TFxAM).**

**Table 11. Means test for the tannins content in the pulp and testa for the FT x EE interaction.**

Tipo de fermentador (cajón)	Aguante de la mazorca (días)	Taninos (%)
Cuadrado	0	0,42 <sup>c</sup>
Cuadrado	5	0,49 <sup>ab</sup>
Rectangular	0	0,50 <sup>a</sup>
Rectangular	5	0,44 <sup>bc</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística a un nivel significancia del 5%

pecto a la pulpa + testa las diferencias fueron altamente significativas ( $P < 0.01$ ) para TPF; así como para las interacciones TFxFR y FRxAM. Para la variable azúcares totales los análisis de varianza arrojaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) para TF, TPF y las interacciones FRxAM en las dos fracciones estudiadas.

La prueba de medias de Duncan (cuadro 12) para los azúcares reductores y totales del cotiledón considerando el tipo de fermentador (TF) reflejan que el contenido de azúcares reductores (AR) y totales (AT) fue mayor cuando se fermentó en cajones cuadrados, cuyos valores fueron 1,34% para AR y 2,05% para AT. En el cajón rectangular los valores fueron 0,93% para AR y 1,63% para AT. Con respecto a la pulpa + testa, los resultados reflejan un comportamiento similar al del cotiledón, pero para efectos de la discusión sólo se considerará el factor TF para azúcares totales (AT) y para los azúcares

probably have an incidence on the results. The block effect refers to repetitions of each essay which varied on time.

The relation pulp /cotyledon is important on content of reducing sugars because it is determined by moisture and acidity conditions of grain, so the harvest time (2, 3 and 7). Likewise, Biehl *et al.* (2) by comparing the boxes fermenting and heaps found that on first ones, the sugar were consumed more quickly due to a higher ethanol concentration.

The Duncan mean tests for this variables by taking into account the fermenting time factor (table 13) shows the content of this sugars (RT and ST) decreases in a significant way during the fermenting process for the two fractions (cotyledon and pulp and testa).

The reducing and total sugars diminishing obtained from this essay shows that the decrease was higher in the pulp and testa fraction (superior to 50%). In the case of cotyledon the decrease does not exceed the percentage

**Cuadro 12. Prueba de medias para el contenido de azúcares reductores (AR) y totales (AT) en el cotiledón y pulpa + testa de granos de cacao porcelana en dos tipos de fermentadores.**

**Table 12. Means test for the reducing and total sugars content in the cotyledon and pulp and testa of porcelain cocoa grains in two fermenting types.**

Fracción	Tipo de fermentador (cajón)	Azúcares reductores (AR%)	Azúcares totales (AT%)
Cotiledón	Cuadrado	1.34 <sup>a</sup>	2.05 <sup>a</sup>
	Rectangular	0.93 <sup>b</sup>	1.63 <sup>b</sup>
Pulpa + testa	Cuadrado	2.67 <sup>a</sup>	3.80 <sup>a</sup>
	Rectangular	2.31 <sup>b</sup>	3.52 <sup>b</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna y fracción indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 5%

reductores (AR) este factor se estudiará en la interacción. Sin embargo, los resultados muestran que el contenido de azúcares reductores y totales fueron mayor cuando el proceso se realizó en cajón cuadrado, siendo sus valores 2,67% para AR y 3,8% para AT contra 2,31% AR y 3,52% AT que se alcanzó cuando fueron fermentados en cajones rectangulares. Biehl *et al.* (2), reportó concentraciones de azúcares mucho más bajo en la pulpa cuando se fermentaron combinaciones de cacao amazónico y amelonados, con el método de caja.

Las diferencias en el contenido de AR y AT reportados en el presente trabajo se pudiesen explicar más por el efecto del bloque que por el mismo fermentador (reflejado por el análisis de varianza), que pudo influir sobre el contenido total de azúcares sobre el cotiledón y la pulpa + testa. Adicionalmente, la materia prima en cada fermentador es diferente, lo que puede estar incidiendo en los resultados. El efecto del bloque se refiere a las repeticiones de cada uno de los ensayos, los cuales variaron en el tiempo.

La relación pulpa/cotiledón es importante en el contenido de azúcares reductores ya que el mismo está determinado por las condiciones de humedad y acidez del grano, así como de la época de cosecha (2, 3 y 7). Biehl *et al.* (2), compararon los fermentadores de cajas y montones encontraron que en los primeros los azúcares se consumían más rápidamente, debido a una mayor concentración de etanol.

Las pruebas de medias de Duncan para estas variables conside-

mentioned. Other authors have found reduction percentages on the sugars content superior to 70% (13).

The RF x EE interaction is showed in table 14 in where is detached that RS and TS content was superior when mass was removed each twelve hours and ears opened the same harvest day. Likewise, it is observed that when removal frequency is reduced (each 24 hours) content of both sugars decrease for the endurance of zero days, it means, RS decreases of 1.60% to 1.22% and TS decreases of 2.58% to 1.81%. In the case of treatments with ears shelled five days after, sugars keep constant and total decreases with the reduction of the removal frequency.

Respect to study of the interactions of the pulp and testa fractions, table 15 shows the effect of the FT x RF for the reducing sugars. These results reveals that RS content increases when process was accomplished in the square fermenting (2.83%) with a removal frequency each 24 hours. The same situation happened when fermentation was accomplished in rectangular chest. On the other hand, it is observed that when removal was made each 24 hours, reducing sugars content was similar in the two fermenting types.

In relation to the RF x EE interaction in the pulp and testa fraction, table 16 shows that RS and TS maximum contents were obtained when cocoa mass was removed each 24 hours and ears opened the harvest day with values of 3.73% for RS and 4.64% TS. It is possible to establish that ear shelling immediately after

**Cuadro 13. Prueba de medias para el contenido de azúcares reductores (AR) y totales (AT) en el cotiledón y pulpa+testa de granos de cacao porcelana durante la fermentación.**

**Table 13. Means test for the reducing sugars (RS) and total sugars (TS) in the cotyledon and pulp and testa of porcelain cocoa grains during the fermentation.**

Fracción	Tipo de fermentador (cajón)	Azúcares reductores (AR%)	Azúcares totales (AT%)
Cotiledón	0	1.60 <sup>a</sup>	2.34 <sup>a</sup>
	24	1.15 <sup>b</sup>	2.13 <sup>a</sup>
	48	1.05 <sup>c</sup>	1.75 <sup>b</sup>
	72	1.05 <sup>c</sup>	1.62 <sup>b</sup>
	96	0.82 <sup>d</sup>	1.30 <sup>c</sup>
Pulpa + testa	0	3.22 <sup>a</sup>	4.87 <sup>a</sup>
	24	3.16 <sup>a</sup>	4.34 <sup>b</sup>
	48	2.59 <sup>b</sup>	3.75 <sup>c</sup>
	72	2.05 <sup>c</sup>	2.97 <sup>d</sup>
	96	1.43 <sup>d</sup>	2.36 <sup>e</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna y fracción indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 5%

rando el factor tiempo de fermentación (cuadro 13) muestran que el contenido de estos azúcares (AR y AT) disminuyen significativamente durante el proceso de fermentación para las dos fracciones (cotiledón y pulpa + testa). El descenso de los azúcares reductores y totales obtenidos en este ensayo muestran que la disminución fue mucho mayor en la fracción pulpa + testa (superior al 50%). En el caso del cotiledón el descenso no superó el porcentaje antes mencionado. Otros autores han encontrados porcentajes de reducción en el contenido de azúcares superiores al 70% (13).

La interacción de la frecuencia de remoción por el aguante de la mazorca FRxAM se muestra en el cuadro 14, donde se destaca que el conte-

harvesting favor the RS and TS concentration in the pulp and testa.

Similar results have been reported by Brito *et al.* and Roelfsen (4 and 19) indicating that TS decrease during fermentation and this effect is occasioned by the alcoholic fermenting and also by the juice emission. After, these sugars have another destiny different to the fermenting. Reineccius (17) found that RS content (fructose and glucose) after fermenting only represents the 25% of the initial content.

## Conclusions and recommendations

Results obtained shows clearly that there is an effect of each of study

**Cuadro 14. Prueba de medias para el contenido de azúcares reductores (AR) y totales (AT) en el cotiledón para la interacción frecuencia de remoción por aguante de la mazorca (FRxAM).**

**Table 14. Means test for the reducing sugars (RS) and total sugars (TS) contents in the cotyledon for the remotion frequency (RF) x ear endurance (EE) interaction.**

Frecuencia de remoción (horas)	Aguante de la mazorca (días)	Azúcares reductores (AR%)	Azúcares totales (AT%)
12	0	1,60 <sup>a</sup>	2,58 <sup>a</sup>
12	5	0,85 <sup>d</sup>	1,57 <sup>c</sup>
24	0	1,22 <sup>b</sup>	1,81 <sup>b</sup>
24	5	0,86 <sup>cd</sup>	1,37 <sup>d</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna y frecuencia de remoción indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 5%

nido de AR y AT fue superior cuando la masa se removió cada 12 horas y las mazorcas se aperturaron el mismo día de la cosecha. Así mismo, se observa que cuando la frecuencia de remoción se reduce (cada 24 horas), el contenido de ambos azúcares disminuye para el aguante cero días, es decir, los AR disminuyen de 1,60% a 1,22% y los AT bajan de 2,58% a 1,81%. Para el caso de los tratamientos cuyas mazorcas se difieren cinco días su desgrane, los azúcares se mantienen constantes y los totales decrecen con la reducción de la frecuencia de remoción.

Con respecto al estudio de las interacciones de la fracción pulpa+testa, el (cuadro 15) muestran el efecto de la interacción tipo de fermentador por la frecuencia de remoción TFxFR para los azúcares reductores. Estos resultados revelan que el contenido de AR se incrementó cuando el proceso se realizó en el fermentador cuadrado (2,83%) con

factors on the evolution of the chemical compounds studied; however, the more significant factor is the fermentation time because there is a variation of contents of this compounds during the process. When analyzing the effect of each factor separately, it was observed that the tannins content and the pH were superior in the rectangular chests for the two fractions, on the contrary, for the acidity, RS and TS were higher in the square fermenting.

The removal effect shows that the pH concentrations, RS, TS and tannins were generally superior for the treatments submitted to removals each 24 hours in the two fractions studied; only the acidity had a decrease.

Ear endurance showed a pH increase for the cotyledon and the pulp when ears opened five days after harvesting. The acidity, RS and TS contents decreased. In the tannins there were not effects of this study factor.

**Cuadro 15. Prueba de medias para el contenido de azúcares reductores (AR) y totales (AT) en la pulpa + testa para la interacción tipo de fermentador por la frecuencia de remoción (TFxFR).**

**Table 15. Means test for the reducing sugars (RS) and total sugars (TS) in the pulp and testa for the fermenting type (FT) x remotion frequency (RF) interaction.**

Tipo de fermentador (cajón)	Frecuencia de remoción (horas)	Azúcares reductores (AR%)
Cuadrado	12	2.50 <sup>b</sup>
Cuadrado	24	2.83 <sup>a</sup>
Rectangular	12	1.81 <sup>c</sup>
Rectangular	24	2.81 <sup>a</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 5%

una frecuencia de remoción cada 24 horas. Lo mismo ocurrió cuando la fermentación se llevó a cabo en cajón rectangular. Por otro lado se observa que cuando la remoción se realizó cada 24 horas, el contenido de azúcares reductores fue similar en los dos tipos de fermentador.

Con relación a la interacción frecuencia de remoción por el aguante de la mazorca FRxAM en la fracción pulpa + testa, el (cuadro 16) reflejan dicho efecto, donde los contenidos máximos de azúcares reductores y totales se obtuvieron cuando la masa de cacao se removió cada 24 horas y las mazorcas se abrieron el mismo día de la cosecha con valores de 3.73% para AR y 4.64% AT. Esto permite señalar que el desgrane de la mazorca inmediatamente después de la cosecha favorece la concentración de azúcares reductores y totales en la pulpa + testa.

Resultados similares han sido reportados por Brito *et al.* y Roelfsen

The factors study before mentioned play an important role on the quality of the final product (chocolate) since they participate in the sensorial characteristics development, especially the polyphenols study having an incidence on the astringent taste development and the reducing sugars like precursors of the technical aroma of cocoa. Each of factors has an effect on the characteristics of the cocoa quality.

For this reason, it is recommended the fermentation of the porcelain cocoa during 72 hours with removals each 24 hours, zero endurance and carrying the process in square chests since the reducing sugars content is favoured with this treatment and it is fundamental in its quality.

### Acknowledgement

Authors want to express their acknowledges to the Chama Experi-

**Cuadro 16. Prueba de medias para el contenido de azúcares reductores (AR) y totales (AT) en la pulpa + testa para la interacción frecuencia de remoción por aguante de la mazorca (FRxAM).**

**Table 16. Means test for the reducing sugars (RS) and total sugars (TS) contents in the pulp and testa for the remotion frequency (RF) x ear endurance (EE) interaction.**

Frecuencia de remoción (horas)	Aguante de la mazorca (días)	Azúcares reductores (AR%)	Azúcares totales (AT%)
12	0	2,42 <sup>b</sup>	3,80 <sup>b</sup>
12	5	1,89 <sup>d</sup>	2,94 <sup>d</sup>
24	0	3,73 <sup>a</sup>	4,64 <sup>a</sup>
24	5	1,92 <sup>cd</sup>	3,26 <sup>cd</sup>

Medias de valores con letras diferentes dentro de la misma columna y frecuencia de remoción indican diferencias estadísticas a un nivel de significancia del 5%

(4 y 19), indicando que los azúcares totales disminuyen durante la fermentación y que dicho efecto se debe a la fermentación alcohólica y a la emisión de jugo. Posteriormente, estos azúcares tienen otro destino diferente al de la fermentación. Por su parte Reineccius *et al.* (17), encontraron que el contenido de AR (fructosa y glucosa) después de la fermentación sólo representa al 25% del contenido inicial.

## Conclusiones y recomendaciones

Los resultados obtenidos muestran claramente que existe efecto de cada uno de los factores de estudios sobre la evolución de los compuestos químicos estudiados, sin embargo, el factor más significativo es el tiempo de fermentación, donde se muestra que hay una variación de los contenidos de estos compuestos durante el proceso. Al analizar el efecto de cada

mental Unit belonging to CORPOZULIA; to Iramia Chacon and Nancy Arroyo, Agricultural Engineers, for its collaboration to accomplish this project.

*End of english version*

factor por separado, se observó que el contenido de taninos y el pH, fueron superiores en los cajones rectangulares, para las dos fracciones, en cambio para la acidez, AR y AT, fueron mayores en el fermentador cuadrado.

El efecto de la remoción muestra que las concentraciones de pH, AR, AT y taninos fueron generalmente superiores para los tratamientos sometidos a remociones cada 24 horas en las dos fracciones estudiadas, solo la acidez experimento un descenso.

El aguante de la mazorca mostró un aumento del pH en el cotiledón y la pulpa cuando las mazorcas se abrieron cinco días después de la cosecha. En tanto que los contenidos de

acidez, AR y AT disminuyeron. En taninos no hubo efecto de este factor de estudio.

El estudio de los factores antes mencionados juegan un papel importante en la calidad del producto final (chocolate), ya que ellos tienen participación en el desarrollo de las características sensoriales, principalmente el estudio de los polifenoles que participan en el desarrollo del sabor astringente y los azúcares reductores como precursores del aroma térmico del cacao. En ese orden de ideas, cada uno de los factores tiene un efecto sobre las características de calidad del cacao.

Es por ello que se recomienda fermentar el cacao porcelana durante 72 horas máximo, con remociones cada 24 horas, aguante cero y realizar el proceso en cajones cuadrados, ya que el contenido de azúcares reductores se favorece con este tratamiento y que es fundamental en la calidad del mismo.

## Agradecimiento

Se agradece al Fondo Nacional de Ciencias y Tecnología e Innovación (FONACIT) Proyecto N° 96001510 y 96001547. Estación Experimental Chama de CORPOZULIA, a las Ingenieras Agrónomas Iraima Chacón y Nancy Arroyo, por la colaboración prestada para la realización de este estudio.

## Literatura citada

1. Barel, M., D. Leon y J.C. Vicent. 1985. Influence du temps de fermentation du cacao sur la production des pyrazines du

chocolat. Café, Cacao, The (París) 29(4):277-286.

2. Biehl, B., B. Meyer, G. Crone y L. Pollmann. 1989. Chemical and physical changes in the pulp during ripening and post-harvest storage of Cocoa Pads. *J. Sci. food. agric.* 48(2):189-208.
3. Bracco, U., N. Grilhe, W. Rostagno y R. Egli. 1969. Analytical evaluation of cocoa curing in the ivory coast *J. Sci. food. agric.* 20:713-175.
4. Brito, E., N. Garcia, M. Gallao, A. Cortelazzo, P. Feveiro y M. Braga. 2000. Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *J. Sci. food. agric.* 81:281-288.
5. Brito, E. y N. Narain. 2003. Effect of pH and distillate volume on monitoring aroma quality of bittersweet chocolate. *Food. Quality. And preference.* 14: 219-226.
6. Cros, E. 1997. Factores condicionantes de la calidad del cacao. Memorias del 1er Congreso Venezolano del Cacao y su Industria. Noviembre. Maracay, Estado Aragua. Venezuela.
7. Dougan, J. 1982. Methods for monitoring degree of aeration and the production and dissimilation of alcohol, acetic and lactic acids during cocoa fermentation. In conferencia internacional de Investigación en Cacao, 8, Cartagena. 1981. Actas. Lagos, Cocoa producers' Alliance. pp. 813-816.
8. Enriquez, G. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE. Costa Rica. 239p.
9. Fowler M.S. 1999. Cocoa Beans: from tree to factory. In: Industrial chocolate manufacture and use. Ed Beckett, S.T., Blackwell Sciences Ltd. pp. 8-35.



10. Hardy F. 1961. Manual del Cacao. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Edición Española. Turrialba. Costa Rica. pp 383-410.
11. Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Official (A.O.A.C.). 1990. 15<sup>th</sup> de. Vol II pp 763-776.
12. Meyer, B., B. Biehl, M. Said y R. Samarakoddy. 1989. Post-harvest Pod storage: A method for Pulp Preconditioning to Impair Strong Nib Acidification during Cocoa Fermentation in Malasia. *J. Sci. food. agric.* 48(3):285-304.
13. Misnawi, J., B. Jamilah y S. Nazamid. 2004. Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting. *food chem.*, 85, 73-80.
14. Nosti, J. 1963. Café, Cacao, Thé. Imprenta Hispanoamerica S.A. Barcelona. España. pp 377-385.
15. Organización Internacional del Cacao (ICCO). 2.003. Producción Mundial de Cacao. SPIS/MAG/SICA. Enero. 1p
16. Palma, M. 1951 The processing of fresh cacao seeds. *An Official Venezuelan Bulletin.* Rockwood & Co. Brooklyn. N.Y. U.S.A. 33 p.
17. Reineccius, G., D. Andersen, T. Kavanagh y P. Keeney. 1972. Identificación and quantification of the free sugars in cocoa beans. *J. agrc. food chem.* 20, 199-206.
18. Rohan, T. 1964. El beneficiado del cacao bruto destinado al mercado. Roma. FAO. 79p.
19. Roelofsen P.A. 1958. Fermentation, Drying and Storage of cocoa beans. *Advances in food research.*, 8:225-296.
20. Senanayake, M., E. Jansz y K. Buckle. 1997. Effect of different mixing intervals on the fermentation of cocoa beans. *J. Sci. food. agric.* 74. 42-48.
21. Saposhnikova, G. 1951. Variaciones en la acidez y en el contenido de los sacáridos en el peso de las semillas durante la fermentación del Cacao en Venezuela. *Agronomía Tropical.* Maracay (Venezuela). 3(3):185-195.
22. Shaughnessy, W. 1992 Cocoa beans-planting through fermentarion its effect on flavors. *Manufacturing-Confectioner.* 72(11):51-58.
23. Schwan, R. 1990. Microbiología de la fermentación del cacao: Estudio para mejorar la calidad CEPLAC/CEPEC/SETEA. Cp 07, 45600-000, Itabuna, Bahia, Brasil. *Agrotrópica.* 2(1):22-31.
24. Singleton, V. y J. Rossi. 1965. Determination of tannins in wines. *Journal of Enology and Viticulture* 6(3):114p.
25. Statistical Analysis Systems Insyitute. 1995. SAS. User's guide: statistics, version 5 edition. SAS. Institute cary, N.C.
26. Yusep, I., S. Jinap, B. Jamilah y S. Nazamid. 2002. Influence of carboxypeptidases on free amino acid, peptide and methylpyrazine contents of Ander - fermented cocoa beans. *J. Sci. food. agric.* 82:1584-1592.