

## Efecto del tratamiento poscosecha sobre el contenido de teobromina y cafeína en Cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.)

Postharvest treatment effect on the content of theobromine and caffeine in Creole cocoa (*Theobroma cacao* L.)

E. Portillo<sup>1</sup>, A. Portillo<sup>2</sup>, L. Grazziani<sup>3</sup>, E. Cros<sup>4</sup>, S. Assemat<sup>4</sup>,  
F. Davrieux<sup>4</sup> y R. Boulanger<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, <sup>2</sup>Universidad del Zulia. Asistente de Investigación. CONDES. <sup>3</sup>Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, <sup>4</sup>CIRAD, Cultivos Perennes, Montpellier – TA 80/16 34398 Cedex 5, Francia.

### Resumen

El trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto del tratamiento poscosecha sobre las purinas en Cacao. Se evaluaron: época de cosecha (febrero, mayo y junio), aguante de la mazorca (0 y 5 días), remociones (24, 48 y 24/72 horas) y tiempo de fermentación (0 a 4 días). La determinación se realizó por cromatografía líquida (HPLC), con una columna C18 en fase reversa y una solución metanol: agua al 20% v/v como fase móvil. La remoción y aguante no arrojaron diferencias significativas. La época de cosecha y tiempo de fermentación generaron diferencias significativas en el contenido de purinas. Estos contenidos estuvieron comprendidos entre 1,32% (teobromina) y 0,74% (cafeína), los valores más bajos corresponden a los cacaos fermentados.

**Palabras clave:** calidad, amargor, purinas.

### Abstract

This work aimed to study the post-harvest treatment effect of purines in Cacao. Were studied the harvesting dates (February, May and June), pod opening delays (0 and 5 days), turning regimes (24, 48 and 24/72 hours) and fermentation times (0 to 4 days). The determination was realized by liquid chromatography

(HPLC) with a column C18 in reverse phase and a solution of methanol as the mobile phase. Removal and pod opening showed no significant differences. The harvest time and fermentation time generated significant differences in purine content. These contents were between 1.32% (theobromine) and 0.74% (caffeine); the lowest values correspond to the fermented cocoa.

**Key words:** quality, bitterness, purines.

## Introducción

El cacao es cultivado principalmente en África, América Latina y Asia. Los ocho países más productores de cacao se presentan en orden decreciente, Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria, Brasil, Camerún, Ecuador y Malasia. En conjunto, la producción de estos países representan el 90% de la producción mundial, en la actualidad está alrededor de los cuatro millones de toneladas (FAOSTAT, 2009).

A inicios de los años 1970, la producción de almendras de cacao estuvo concentrada en Ghana, Nigeria, Costa de Marfil y Brasil. La fiebre de la cacaocultura ha ganado diversas regiones tales como las islas del pacífico y países como Indonesia que registraron una alta tasa de crecimiento de su producción. Cerca del 95% de los cacaos de gran consumo (amelonado y cultivares de tipo Forastero) principalmente son producidos en África e Indonesia.

El cacao es un cultivo íntimamente ligado a la cultura venezolana, tanto por su origen como por su gran importancia en el desarrollo económico y social del país, desde que se estableció su comercialización hace ya más de trescientos cincuenta años. (Portillo *et al.*, 2009).

Venezuela llegó a ser el primer productor mundial de cacao, y este producto supuso la fuente principal de ingresos durante un largo período de

## Introduction

Cacao is mainly cropped in Africa, Latin America and Asia. The eight more producing countries of cacao are presented in decreasing order: Ivory Coast, Ghana, Indonesia, Nigeria, Brazil, Cameroon, Ecuador and Malaysia. Together, the production of these countries represents 90% of the worldwide production, currently, is around four millions of tons (FAOSTAT, 2009).

At the beginning of the 1970, the production of cacao almonds was concentrated in Ghana, Nigeria, Ivory Coast and Brazil. The fever of the cacao-culture has invaded other regions such as the islands of the pacific and countries such as Indonesia, which registered a high growing rate of its production. Almost 95% of the high-consumption cacao (melon-shape and forage cultivars) mainly produced in Africa and Indonesia.

Cacao is a crop closely related to the Venezuelan culture, for both its origin and importance in the economic and social development of the country, since established its commercialization three hundred and fifty years ago (Portillo *et al.*, 2009).

Venezuela became the first worldwide cacao producer, and this product got to be the main income source during a long colonial period. The quality of the exported Venezuelan

la época colonial. La calidad del cacao venezolano exportado y su procedencia, varían notablemente de un año a otro lo que conlleva a muchas irregularidades en la oferta no garantizándose un suministro regular y una calidad homogénea. (Portillo *et al.*, 2009).

La fermentación, es la fase clave en el tratamiento poscosecha del cacao. Es una operación compleja, consiste en dos fenómenos muy distintos: una fermentación microbológica que se desarrolla en la pulpa y las reacciones bioquímicas que se efectúan en los cotiledones. La difusión de purines del cotiledón hacia la cáscara conlleva según diferentes autores (Jeanjean 1995 y Chanliou 1995) a una disminución del contenido teobromina cerca del 20% al 30% y de la cafeína alrededor del 20% y 50%. Esto da como resultado una disminución del sabor amargo del chocolate.

La fermentación, también llamada cura del cacao, es un proceso complejo que consiste en una serie de cambios de carácter bioquímicos y físicos en todas las estructuras del grano, tanto en la testa o cascarilla, en el mucílago que lo cubre, el interior del cotiledón y en el embrión que debe morir y reabsorberse. El proceso implica la ocurrencia de reacciones químicas mediante las cuales las metilxantinas (teobromina, cafeína) se van transformando (Pinzon *et al.*, 2008).

El objetivo fundamental de esta investigación fue evaluar la influencia del tratamiento poscosecha sobre el contenido de Purinas en el Cacao Criollo.

## Materiales y métodos

Para este estudio se trabajó con el cacao tipo “Criollo” proveniente de

cacao and its precedence, vary from a year to another, which causes irregularities in the offer, without guaranteeing a regular supply and homogenous quality (Portillo *et al.*, 2009).

Fermentation is the key phase in the postharvest treatment of cacao. It is a complex operation, which consists in two very different phenomena: a microbiological fermentation that develops in the pulp and the biochemical reactions that take place in the cotyledons. The purine diffusion of the cotyledon towards the husk implies, according to different authors (Jeanjean 1995 and Chanliou 1995) a reduction of the theobromine content close to 20% to 30% and the caffeine content close to 20% to 50%. This causes a reduction of the bitterness taste of chocolate.

Fermentation, also called cacao cure, is a complex process that consists in a series of biochemical and physical changes in all the structure of the grain, in both the husk and the mucilage that covers it, the interior of the cotyledon and the embryo that must die and re-absorb. The process implies the occurrence of chemical reactions where methyl-xanthine (theobromine, caffeine) transforms (Pinzon *et al.*, 2008).

The aim of the research was to evaluate the influence of the postharvest treatment on the purine content in Creole cacao.

## Materials and methods

In this research Creole cacao was used, coming from a plantation located in the South of Maracaibo's Lake – Rio

una plantación situada en la zona Sur del Lago de Maracaibo - Sector Rio Frio, del estado Mérida (Venezuela). Las condiciones agro-ecológicas de la región son favorables para la producción de cacao: altitud está comprendida entre 120 y 200 m, pH del suelo entre 4 y 5, precipitaciones anuales entre 1500 y 2000 mm y temperatura media de 28°C.

Después de cada cosecha (febrero, mayo y junio) (aproximadamente 1500 mazorcas/cajón), las almendras fueron fermentadas cuatro días en cajones de madera cuadrados de 60 cm<sup>3</sup>. Las condiciones de fermentación comprendieron los siguientes factores de estudio: dos aguante de mazorcas (Ag 0 y Ag 5 días), tres remociones de la masa de cacao (cada 24 horas, a las 48 horas y 24/72 horas), tres épocas de cosecha antes mencionadas y cinco tiempos de fermentación (0, 24, 48, 72 y 96 horas) distribuidos en 18 ensayos, para un total de 90 muestras. Estos ensayos se condujeron bajo un diseño de bloques al azar con un arreglo de factorial 2x3<sup>2</sup>x5. La masa de fermentación fue cubierta con hojas de plátano y sacos yute. Así mismo el proceso se condujo en una sala cerrada, con paredes de bloques y techos de zinc.

Las tomas de muestras se realizaron diariamente (2,8 kg aproximadamente) y efectuadas en nueve puntos del cajón situados entre 30 y 35 cm de la superficie. (Se colocaron 2,4 kg de esta muestra sobre el área de secado, el cual se efectuó en patios de madera al sol, en capas delgadas, durante cinco días hasta que el contenido de humedad estuviese alrededor de 8%. Una vez fermentadas y secadas las almendras fueron guardadas en bolsas

Frio area, Merida state (Venezuela). The agro-ecologic conditions of the region are favorable for the production of cacao: altitude is from 120 to 200 m, soil pH from 4 and 5, annual precipitations from 1500 to 2000 mm and mean temperature of 28°C.

After each harvest (February, May and June) approximately 1500 cobs/box), almonds were fermented for four days in square wooden boxes of 60 cm<sup>3</sup>. The fermentation conditions comprised the following factors under study: pod opening delay (PO 0 and PO 5 days), three turnings of cacao mass (every 24 hours, 48 hours and 24/72 hours), three harvest seasons, already mentioned, and five fermentation times (0, 24, 48, 72 and 96 hours) distributed in 18 essays, for a total of 90 samples. These essays were carried out in a 2x3<sup>2</sup>x5 split plot randomized design. The fermentation mass was covered with plantain leaves and jute bag. Likewise, the process was carried out in a closed room, with bricks walls and zing ceilings.

Samplings were taken daily (2.8 kg approximately) and done in nine points located from 30 to 35 cm of the surface. 2.4 kg of this sample were put on the drying area, which was carried out in wooden yards at sun exposure, for five days in thin layers until the humidity content was approximately 8%. Once fermented and dried, the almonds were stored in fabric bags and taken to the Food Technology Laboratory of the Agronomy Faculty of Universidad del Zulia, and stored at -82°C until their analyses. Later, the almonds were dehusk and frozen with liquid nitrogen, later were grounded and sift in a 0.5 µm sieve to

de tela y trasladadas al Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, donde fueron congeladas a  $-82^{\circ}\text{C}$ , hasta sus análisis.

Posteriormente, las almendras fueron descascarilladas y congeladas con nitrógeno líquido, para luego molerlas y pasarlas por un tamiz de  $0,5\ \mu\text{m}$  y de esta manera obtener las muestras de cacao (polvo) para ser analizadas. Una mezcla conformada por  $0,3\ \text{g}$  de muestras de cacao en polvo y  $80\ \text{mL}$  de agua se sometió a un proceso de reflujo durante  $30\ \text{min}$  a una temperatura de  $90^{\circ}\text{C}$ . Con el fin de extraer las metilxantinas. Una vez finalizado el tiempo de extracción, la mezcla se dejó enfriar y se filtró al vacío con lana de vidrio y celite. Luego el filtrado se transfirió a un balón de  $250\ \text{mL}$  y se aforó con agua destilada. Antes del análisis por HPLC el extracto se filtró con filtros Millipore<sup>®</sup> de  $0,45\ \mu\text{m}$  (hidrofílicos). Los análisis se efectuaron en un cromatografo líquido de alta de resolución (HPLC) modular (DIONEX, modelo Ultimate 3000, equipado con un inyector automático de volumen ajustable, una bomba cuaternaria para impulsar la fase móvil y un detector de arreglo de diodos UV (PDA). La separación de los analitos se realizó empleando un sistema isocrático con una columna C18 (DIONEX, Aclaim<sup>®</sup> 120) mantenida en un horno a una temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$ , utilizando un volumen de inyección de  $20\ \mu\text{L}$ , y una fase móvil compuesta por una solución de metanol: agua al 20% (v/v), filtrada a través de membranas Millipore<sup>®</sup> y desgasificada empleando un baño ultrasónico, a una velocidad de flujo de  $0,250\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . La detec-

obtain the cacao samples (powder) to be analyzed. A mix formed by  $0.3\ \text{g}$  of the cacao samples in powder and  $80\ \text{mL}$  of water was submitted to a reflow process for  $30\ \text{min}$  at a temperature of  $90^{\circ}\text{C}$ .

With the aim of extracting the methyl-xanthine, once ended the extraction time, the mix was let cool and vacuum filtered with glass wool and celite. Later, the filtered was transferred to a  $250\ \text{mL}$  balloon and gauged with distilled water. Before the analysis by HPLC the extract was filtered with  $0.45\ \mu\text{m}$  Millipore<sup>®</sup> filters (hydrophilic)

The analyses were done in a high resolution liquid chromatography (HPLC) modular (DIONEX, Ultimate 3000, equipped with an automatic injector of adjustable volume, a quaternary bomb to impulse the mobile phase and a diode arrangement detector UV (PDA). The separation of the analytes was done using an isocratic system with C18 column (DIONEX, Aclaim<sup>®</sup> 120) kept in an oven at a temperature of  $40^{\circ}$ , using an injection volume of  $20\ \mu\text{L}$ , and a mobile phase composed by a methanol solution: water at 20% (v/v), filtered through membranes<sup>®</sup> and de-carbonated employing an ultrasound bathe at a flow velocity of  $0.250\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . The detection was done at a wave longitude of  $274\ \text{nm}$ . The running time was for  $10\ \text{min}$ .

For processing and analysis of the data, the variance analysis was used (ANOVA) as well and Duncan test to classify the differences among the treatments. All the analyses were done with the statistical software X-LSTAT 7.5.2, 2007.

ción se realizó a una longitud de onda de 274 nm. El tiempo de corrida fue de 10 min.

Para el procesamiento y análisis de los datos se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Duncan para clasificar las diferencias existentes entre los tratamientos. Todos los análisis fueron realizados con el software estadístico X-LSTAT versión 7.5.2, 2007.

## Resultados y discusión

Los análisis estadísticos muestran que la remoción de la masa no tuvo efecto significativo sobre el contenido de cafeína y teobromina, contrariamente a la época de cosecha y al tiempo de fermentación. Los diferentes contenidos de los cacaos no fermentados representan la variabilidad vinculada a la época de cosecha y al genotipo. Los contenidos más elevados (1,32% y 0,74% respectivamente para la teobromina y la cafeína) corresponden a la cosecha de febrero y los contenidos más bajos (respectivamente el 0,58% y 0,30%) para la época de mayo, así mismo la relación T/C varió entre 1,78 y 1,93 respectivamente para las épocas antes mencionadas cuadro 1.

Un sistema modelo, ha sido mostrado por Cros *et al.* 1995, estos autores indican que el desarrollo del aroma de cacao se sitúa dentro de una concentración relativa de las purinas con relación a los contenidos de azúcares reductores. Para contenidos relativos teobromina/azúcar reductor inferiores a 0,25 o superiores a 0,75 el desarrollo del aldehído de Strecker es limitada.

En el cuadro 1, se observan los resultados de la prueba de medias para

## Results and discussion

The statistical analysis shows that the mass turning did not have a significant effect on the caffeine and theobromine content, contrary to the harvest season and fermentation time. The different contents of non-fermented cacao represent the variability linked to the harvest time and the genotype. The highest contents (1.32% and 0.74%, respectively for theobromine and caffeine) correspond to the harvest of February, and the lowest contents (0.58% and 0.30%, respectively) for may; likewise, the T/C relation varied from 1.78 and 1.93 respectively, for the seasons already mentioned, table 1.

A model system has been proved by Cros *et al.* 1995, these authors indicate that the development of the cacao aroma gets into a relative concentration of purines in relation to the content of reducing sugars. For relative contents theobromine/reducing sugar inferior to 0.25 or superior to 0.75 the development of Strecker aldehydes is limited.

In table 1 is observed the results of mean test for the purine variable in function of the harvest season, which shows the season effect on the content of these compounds, and independently of the pod opening time of dehusk of cobs, the most determining factor is the season. On the other hand, it is observed that in the harvest of February, these values were superior to May and June. Likewise, it is necessary to mention that the theobromine/caffeine relation (T/C) is determining for the genetic classification of a cacao variety.

**Cuadro 1. Efecto de la época de cosecha sobre el contenido de purinas en Cacao.****Table 1. Effect of the harvest season on the purine content in Cacao.**

Época de cosecha	Teobromina (%)	Cafeína (%)	T/C (%)
Febrero	1,32 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	1,78
Mayo	0,58 <sup>b</sup>	0,30 <sup>b</sup>	1,93
Junio	0,64 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	1,64

Medias con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas a un nivel del 5%.

la variable purinas en función de la época de cosecha, la misma muestra el efecto de la época sobre el contenido de estos compuestos y que independientemente del tiempo de aguante o desgrane de las mazorcas el factor más determinante es la época. Por otro lado se aprecia, que en la cosecha de febrero estos valores fueron superiores a mayo y junio. Así mismo dentro de ellos es necesario señalar que la relación Teobromina / Cafeína (T/C), es determinante para la clasificación genética de una variedad de cacao.

Davrieux *et al.*, 2005, determinaron que esta relación es mucho menor en los cacaos criollos (cuadro 2). En ese orden de ideas es posible señalar que los resultados obtenidos en este trabajo permiten clasificar estos cacaos en la categoría de criollos. Los coeficientes de correlación lineal resultaron superiores a 0,99 para las purinas estudiadas. Estos valores coinciden con los resultados reportados por Portillo *et al.*, (2009).

También se observó que a medida que transcurrió el tiempo de fermentación, los contenidos de teobromina y cafeína disminuyeron. Este comporta-

Davrieux *et al.*, 2005, determined that this relation is much lower in Creole cacao (table 2). It is possible to mention that the results obtained in this research allow classifying these cacaos in the Creole category. The coefficients of the lineal correlation resulted higher to 0.99 for the studied purines. These values agreed to the results reported by Portillo *et al.*, (2009).

It was also observed that at the time that passed the fermentation time, the contents of theobromine and caffeine reduced. This behavior has also been observed by other researches (Bonvehi 2000 and Naik 2001). The results are shown on table 3. In the table can be observed that the highest values of both purines were obtained at 0 hours, that is, at the beginning of the fermentation process. After 48 hours of fermentation, the content of these compounds is kept and there are not significant differences after three fermentation days. These results agree to the reports by (Portillo *et al.*, 2011), who observed the same behavior of the purine content for both the Creole cacao as hybrids. The contents of



**Cuadro 2. Contenido de purinas en función de la variedad.****Table 2. Purine content in function of the variety.**

Tipo de cacao	Cafeína (%)	Teobromina %	T/C
Criollo	0,40 - 0,81	0,59 - 1,02	1 - 2
Trinitario	0,18 - 0,43	0,69 - 1,27	2 - 4,5
Forastero	0,10 - 0,23	0,68 - 1,38	5,0 - 9

Fuente: Davrieux *et al.* 2005

miento también ha sido observado por otros investigadores (Bonvehi 2000 y Naik 2001). Los resultados se muestran en el cuadro 3. En el mismo se puede observar que los valores más altos de ambas purinas se obtuvieron a las 0 horas, es decir, al inicio del proceso de fermentación. Después de las 48 horas de fermentación el contenido de estos compuestos se mantiene y no existen diferencias significativas después de los tres días de fermentación. Estos resultados coinciden a los reportados por (Portillo *et al.*, 2011), Quienes observaron el mismo comportamiento del contenido de purinas tanto

theobromine, caffeine and theobromine / caffeine relation were of 1.32%, 0.74% and 1.78% for non-fermented cacaos, and at the end of the fermentation process, there was a reduction of 50% and 59% in the purine concentration.

These results show the fermentation effect and the dry of almonds on the reduction of purines, with a possible migration of these towards the husks, being this effect much more pronounced for caffeine than for theobromine (Portillo *et al.*, 2006).

The concentrations of theobromine and caffeine were higher

**Cuadro 3. Efecto del tiempo de fermentación sobre el contenido de purinas en cacao aguante cero (Ag 0).****Table 3. Effect of the fermentation time on the purine content in cacao with zero pod opening delay (PO 0).**

Tiempo de fermentación (horas)	Teobromina (%)	Cafeína (%)	T/C (%)
0	1,32 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	1,78
24	1,01 <sup>b</sup>	0,60 <sup>b</sup>	1,68
48	0,79 <sup>c</sup>	0,46 <sup>c</sup>	1,72
72	0,62 <sup>c</sup>	0,46 <sup>c</sup>	1,35
96	0,66 <sup>c</sup>	0,44 <sup>c</sup>	1,50

Medias con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas a un nivel del 5%.



para los cacaos criollos como híbridos. Los contenidos de teobromina, cafeína y de la relación teobromina / cafeína fueron de 1,32%, 0,74% y 1,78% para los cacaos no fermentados y al final del proceso de fermentación hubo una disminución de 50% y 59% en la concentración de las purinas.

Estos resultados reflejan el efecto de la fermentación y el secado de las almendras sobre la disminución de las purinas, existiendo una posible migración de estas hacia la cáscara, siendo este efecto mucho más pronunciado para la cafeína que para la teobromina (Portillo *et al.*, 2006).

Las concentraciones de teobromina y cafeína fueron respectivamente más elevados en los cacaos de aguante 0, en comparación a los cacaos de aguante 5. Las figuras 1 y 2 muestran la evolución de la teobromina y cafeína durante el proceso de fermentación.

in cacao with opening delay 0 compared to cacaos with opening delay 5. Figures 1 and 2 show the evolution of the theobromine and caffeine during the fermentation process.

Likewise, in table 4 is observed that the concentrations of theobromine and caffeine increased for the harvest season of February and opening delay of 0, as mentioned before.

## Conclusions

The fermentation time and harvest season were the most important factors in the evolution and purine concentration in cacao. The relation theobromine: caffeine (T/C) is determining at the moment of knowing the type of cacao, since the lowest it is, it will always be Creole cacao. Finally, it is important to mention that for this type of cacao after 48 hours of fermentation, the content of these

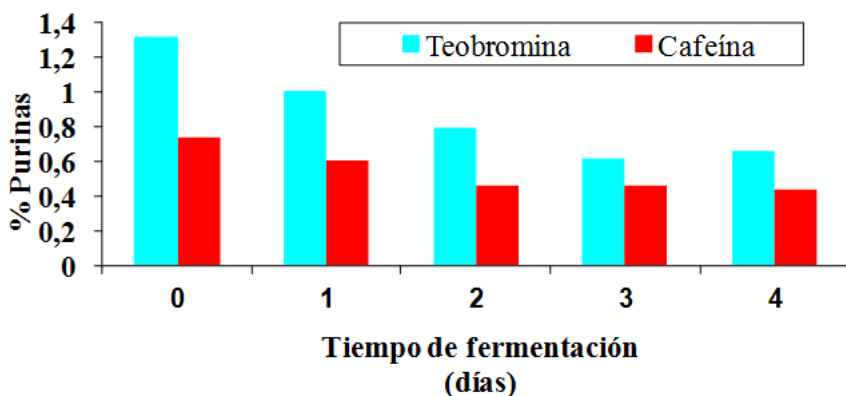
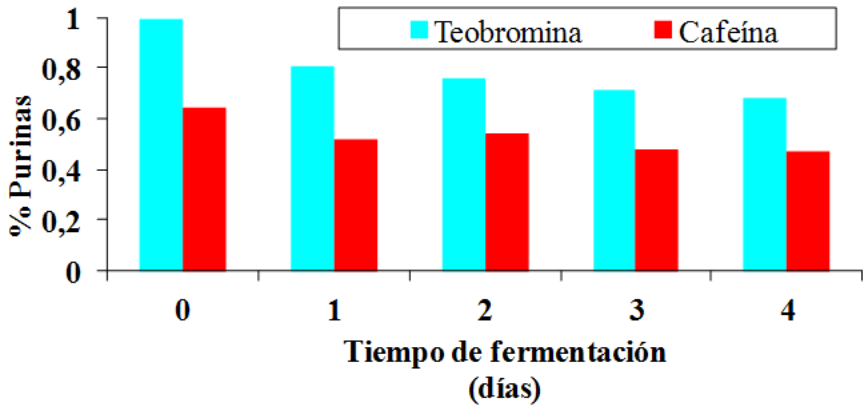


Figura 1. Evolución de la teobromina y cafeína durante la fermentación y aguante de la mazorca de cero días.

Figure 1. Theobromine and caffeine evolution during the fermentation and opening delay of zero days.



**Figura 2. Evolución de la teobromina y cafeína durante la fermentación y aguante de la mazorca de cinco días.**

**Figure 2. Theobromine and caffeine evolution during the fermentation and opening delay of five days**

Así mismo en el cuadro 4, se observa que las concentraciones de teobromina y cafeína se incrementaron para la época de cosecha de febrero y aguante de cero días, tal como se había señalado anteriormente.

compounds remains steady, which allows recommending that the time for this process might be from 72 hours to three days.

*End of english version*

**Cuadro 4. Efecto de la época y aguante de la mazorca sobre el contenido de purinas.**

**Table 4. Season effect and opening delay on the purine content.**

Fecha	Aguante Ag 0		Fecha	Aguante Ag 5	
	Teobromina	Cafeína		Teobromina	Cafeína
Febrero	1,15 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	Febrero	0,96 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>
Mayo	0,89 <sup>b</sup>	0,34 <sup>b</sup>	Mayo	0,85 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>
Junio	0,87 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	Junio	0,88 <sup>a</sup>	0,51 <sup>b</sup>

Medias con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas a un nivel del 5%.

## Conclusiones

El tiempo de fermentación y la época de cosecha fueron los factores más importantes en la evolución y concentración de purinas en el cacao. La relación teobromina: cafeína (T/C), es determinante al momento de conocer el tipo de cacao, ya que mientras más baja sea esta, el cacao será de tipo criollo. Finalmente, es importante mencionar que para este tipo de cacao después de las 48 horas de fermentación el contenido de estos compuestos permanece estable, lo que permite recomendar que el tiempo para realizar este proceso pueda ser de 72 horas o tres días.

## Literatura citada

- Bonvehi, J.S. y F. Ventura. 2000. Evaluation of purine alkaloids and diketopiperazines contents in processed cocoa powder. *Eur. Food Res. Technol.* 210: 189-195.
- Chanliau, S. 1995. Influence du traitement post-récolte et de la torréfaction sur le développement de l'arôme cacao. Essais préliminaires de caractérisation des composés odorants. Diplôme d'étude approfondies, université Montpellier II, 38 p.
- Cros, E., N. Jeanjean. 1995. Qualité du cacao. Influence de la fermentation et du séchage. *Plantation -Recherche Développement*, 2, 3 : 21-27.
- Davrieux, F., S. Assemat., D. Sukha., E. Portillo., R. Boulanger., D. Bastianelli y E. Cros. 2005. Genotype characterization of cocoa into genetic groups through caffeine and theobromine content predicted by NIRS. 12<sup>th</sup> Inter. Conf on NIRS, 14-19 abril, Auckland (New Zealand), sous presse.
- FAOSTAT. 2009. Países productores de cacao. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Consultado: 23-04-11
- Jeanjean N. 1995. Influence du génotype, de la fermentation et de la torréfaction sur le développement de l'arôme. Rôle des précurseurs d'arôme. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II. Francia. Pp 200.
- Naik, J.P. 2001. Improved High-Performance Liquid Chromatography Method to Determine Theobromine and Caffeine in Cocoa and Cocoa Products *J. Agric. Food Chem.* 49: 3579-3583.
- Pinzon, J., J. Ardila y F. Rojas. 2008. Guía Técnica para el Cultivo del Cacao. Tercera Edición. 152-164.
- Portillo, E. 2006. Caracterización de l'arôme du cacao type criollo: Influence des conditions de traitement post-recolte. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II. Francia. Pp 200.
- Portillo, E., L. Grazziani., E. Cros., F. Davrieux., S. Assemat., R. Boulanger., M. Labarca y M. Marcano. 2009. Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Revista UDO Agrícola* 9 (2): 458-468.
- E. Portillo, D. Fuenmayor, B. Rodríguez y R. Díaz. 2011. Efecto de la fermentación sobre el contenido de purinas en cacao criollo e híbridos (*Theobroma cacao* L.) del Sur del lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 2011. Vol. 28, Supl. 228-237.