

# Compuestos precursores del aroma en el Cacao (*Theobroma Cacao* L.) de Chabasquén estado Portuguesa

## Aroma precursors in Cacao (*Theobroma cacao* L.) Chabasquén Portuguesa

M. Alvarado<sup>1</sup>, E. Portillo<sup>2</sup>, R. Boulanger<sup>3</sup>, P. Bastide<sup>4</sup> I. Macia<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa Ciencias del Agro y el Mar. Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. <sup>2</sup>Departamento de Agronomía. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. <sup>3</sup>Centro de Investigaciones de Alimentos UMR Qualisud. <sup>4</sup>UR Sostenibilidad de los Sistemas de Cultivos de Plantas Perennes. Programa Ciencias del Agro y el Mar. <sup>5</sup>Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora.

### Resumen

El cacao venezolano es reconocido como cacao fino de aroma y la expresión de su potencial aromático depende en gran parte del tratamiento poscosecha que reciban las almendras. En este trabajo se identificaron y cuantificaron los compuestos precursores del aroma presentes en el cacao proveniente de la zona de Chabasquén estado Portuguesa. Las almendras de cacao se fermentaron en cajones cúbicos de madera de 60 cm de lado y posteriormente se secaron, en el sol. Los compuestos volátiles se extrajeron mediante la técnica de microextracción en fase sólida en cacao seco y tostado. Los resultados obtenidos permitieron identificar y cuantificar 60 compuestos en cacao seco y 108 en tostado distribuidos en 11 familias químicas y permitió evidenciar el efecto del tiempo de fermentación en el contenido de compuestos aromáticos. Finalmente, se pudo evidenciar la importancia del manejo poscosecha en el cacao de Chabasquén, por lo tanto, se requiere establecer los mecanismos de transferencia a los productores de la región para garantizar un producto de buena calidad chocolatera.

**Palabras clave:** cacao forastero, aroma del cacao, compuestos volátiles.

## Abstract

Venezuelan cocoa is recognized as fine cocoa aroma and the expression of its aromatic potential depends largely on the post-harvest treatment receiving almonds. In this work were identified and quantified aroma precursor compounds present in cocoa from the area of Chabasquén Portuguesa. The cacao beans are fermented in wooden cubic crates of 60 inches square and then dried in the sun. The volatiles are extracted by the technique of solid phase microextraction and roasted cacao dry. The results allowed identifying and quantifying 60 compounds in dry roasted cacao and 108 spread over 11 chemical families and allowed to demonstrate the effect of fermentation time on the content of aromatic compounds. Finally, it was evident the importance of postharvest handling of cocoa Chabasquén therefore, it is required that producers establish regional transfer mechanisms to ensure a quality chocolate.

**Keywords:** stranger cocoa, cocoa aroma volatile compounds.

## Introducción

En Venezuela se encuentra una importante diversidad de cultivares de cacao finos y como su nombre lo indica son inestimables por su sabor y aroma para mezclarlo con otros productos del chocolate, debido a que carecen del extremo sabor amargo del cacao corriente.

Los cultivares más comunes usados en el mundo proceden de los tipos Criollos, Trinitarios y Forasteros. Estos difieren en las condiciones agroecológicas más idóneas para su desarrollo, producción y susceptibilidad a enfermedades, cualidades de sabor y aroma. Las diferencias de composición observadas entre variedades de cacao no pueden ser atribuidas únicamente al genotipo sino que también resultan de la influencia combinada entre la variedad y el tratamiento poscosecha (Cros, 1994). La dificultad para evaluar la influencia de la variedad sobre el aroma final, proviene del hecho de que los cacaos no son benefi-

## Introduction

In Venezuela there is an important diversity of fine cocoa cultivars and as indicated by the name, are inestimable by its flavor and aroma to be mixed with other chocolate products, since these lack the extreme bitter flavor of the current cocoa.

The most common cultivars used in the World come from the Creole, Trinitary and Forage types. These differ in the most suitable agroecologic conditions for their development, production and sensitiveness towards diseases, qualities of taste and aroma. The composition differences observed among the cocoa varieties cannot be only attributed to the genotype but also result from the combined influence between the variety and the postharvest treatment (Cros, 1994). The difficulty to evaluate the influence of the variety on the final aroma comes from the fact that cocoas are not benefited (fermentation, drying-process and toasting) under identical conditions. Several studies have been

ciados (fermentación, secado y tostado) en condiciones idénticas. Numerosos trabajos se han desarrollado en los últimos años sobre el aroma del cacao y en particular sobre el tostado, incluyendo los relacionados con el desarrollo de la fracción volátil en cacao criollo, en función del tratamiento poscosecha. Los resultados obtenidos demostraron que el tostado permite la formación de compuestos en su gran mayoría del tipo de las pirazinas, reflejando un comportamiento cualitativamente y cuantitativamente importante (Pérez *et al.*, 2002). De igual manera, se han realizado algunos trabajos sobre la caracterización del impacto de los compuestos volátiles sobre el aroma del cacao, reflejando la importancia de la fermentación y el secado en la expresión de los materiales en la calidad del aroma (Amores, 2004).

En ese orden de ideas, Portillo *et al.* (2006), realizaron estudios referentes a la formación del aroma del cacao Criollo en función del tratamiento poscosecha en los cacaos provenientes de la zona sur del lago de Maracaibo, en Venezuela; los compuestos fueron analizados por cromatografía en fase gaseosa (CG) y por calibración interna, con un detector de ionización de flama: GC-FID y se identificaron por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-MS), 121 compuestos volátiles en el cacao seco y 118 en el cacao tostado, pertenecientes a 14 familias de compuestos químicos, principalmente ésteres, alcoholes y ácidos. No obstante, el conocimiento sobre las características químicas, bioquímicas, físicas y organolépticas del cacao de

desarrollado en los últimos años sobre el aroma de cacao, especialmente en el tostado, incluyendo aquellos relacionados con el desarrollo de la fracción volátil en el cacao Criollo, en función del tratamiento poscosecha. Los resultados obtenidos mostraron que el tostado permite la formación de compuestos, la mayoría de los cuales son pirazinas, mostrando un comportamiento cualitativo y cuantitativo importante (Pérez *et al.*, 2002). Asimismo, algunos investigadores han estudiado el impacto de la caracterización de los compuestos volátiles en el aroma del cacao, demostrando la importancia de la fermentación y el secado en la expresión de los materiales en la calidad del aroma (Amores, 2004).

Adicionalmente, Portillo *et al.* (2006) realizó una investigación sobre la formación del aroma del cacao Criollo en función del tratamiento poscosecha en cacaos provenientes del sur del lago de Maracaibo, Venezuela; los compuestos fueron analizados por cromatografía (GC) y calibración interna, con un detector de ionización de flama GC-FID y se identificaron por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS), 121 compuestos volátiles en el cacao seco y 118 en el cacao tostado, pertenecientes a 14 familias de compuestos químicos, principalmente ésteres, alcoholes y ácidos. No obstante, no existe información sobre las características químicas, bioquímicas, físicas y organolépticas del cacao Criollo, ya que el estado Portuguesa se caracteriza por producir café; en ese sentido, los esfuerzos e investigaciones han estado orientados al producto. Sin embargo, en los últimos años, el desarrollo y producción de ca-

Chabasquén es nula, debido a que el estado Portuguesa se ha caracterizado por la producción de café, en ese sentido, los esfuerzos e investigaciones han sido orientadas a este rubro. Sin embargo, durante los últimos años el desarrollo y producción de cacao, ha representado una alternativa de diversificación de los sistemas productivos en la región. Además existen productores de cacao que requieren información precisa sobre los aspectos más relevantes en el manejo agronómico del cultivo y sobre el estudio de las condiciones de manejo poscosecha y con ello las implicaciones sobre la calidad final del producto.

Tomando en cuenta todos los aspectos antes mencionados, se planteó como objetivo de investigación la identificación y cuantificación de los compuestos precursores del aroma del cacao de Chabasquén, considerando el tiempo de fermentación y el tratamiento del grano (seco y tostado).

## **Materiales y métodos**

La investigación se realizó con cacao tipo “Forastero” proveniente de una plantación situada en el sector “La Recta” de Chabasquén municipio Unida estado Portuguesa (Venezuela). Las condiciones agro-ecológicas de la región son favorables para la producción de cacao: altitud entre 800 y 900 msnm, precipitación anual entre 1850 y 1900 mm y temperatura de 22°C. De acuerdo al esquema de formación de aroma de cacao en función del tratamiento poscosecha y a la torrefacción, establecido por Cros (2004), se cosecharon alrededor de 1.800 mazorcas de cacao maduras en la época de abril-junio

cajo have represented a diversification alternative of the production systems in the region. Also, there are cocoa producers that require accurate information about the most relevant aspects in the agronomic handle of this crop and about the postharvest handling conditions and the implications on the final quality of the product.

Because of the latter, the objective of this research was to identify and quantify the precursor compounds of the cocoa aroma coming from Chabasquén, considering the fermentation time and the grain treatment (dry and toasted).

## **Materials and methods**

The research was done using Forage cocoa, coming from a plot located at “La Recta”, chabasquén, Unida parisg, Portuguesa state, Venezuela. The agroecological conditions of the region are favorable for the cocoa production: altitude from 800 to 900 masl, annual precipitation from 1850 to 1900 mm and temperature of 22°C. According to the formation scheme of the cacao aroma in function of the postharvest treatment and roasting established by Cros (2004), approximately 1800 ears of ripened cocoa were cropped from april-june 2011, the almonds fermented for six days in squared wooden crates of 60x60x60 cm.

The fermentation mass was covered with plantain leaves and jute bags in a fermentation room with brick walls and zinc roof. Approximately 2000g of almonds were taken within six days of fermentation and dried in the yard for six days with

2011, las almendras fueron fermentadas durante seis días en cajones de madera cuadrados de 60x60x60 cm. La masa de fermentación fue cubierta con hojas de plátano y sacos yute, se condujo en una sala de fermentación, con paredes de bloque y techos de zinc. Se tomaron alrededor de 2000g de almendras los seis días de fermentación y se secaron en el patio durante seis días con dos remociones diarias. Posteriormente, las almendras fermentadas y secas se trasladaron al laboratorio y se descascarillaron manualmente, se agregó nitrógeno líquido para su molienda, el polvo obtenido se tamizó (<0,5mm) para conservar a -80°C en un ultra congelador, este cacao se denominó "cacao seco". De igual manera, para la muestra de "cacao tostado" se seleccionaron 100 g de muestra y se sometieron a torrefacción en una estufa a 125°C por 25 minutos para posteriormente, descascarillarlas, pulverizarlas y tamizarlas para su respectivo análisis.

La separación se realizó empleando cromatografía de gases (CG) con detección de ionización en llama (FID) y la identificación se realizó mediante GC acoplado a masas (CG-MS). Para ello, en el Laboratorio de Tecnología del Centro de Cooperación Internacional en investigaciones Agronómicas para el Desarrollo (CIRAD), Montpellier-Francia, se colocaron entre 2,5 a 3 g de cacao en polvo en un vial y se mezcló con 100 µL de solución de 1-butanol con una concentración de 250 µg.L<sup>-1</sup>. Se empleó un cromatógrafo de gases HP6980 equipado con una columna capilar DBWAX 60 m x 0,32mm, 0,5µm, Temperatura del horno: T°C inicial: 35°C y T°C fi-

two daily removals. Later, the fermented and dried almonds were taken to the laboratory and dehusked manually, adding liquid nitrogen for milling; the powder obtained was sift (<0.5mm) to preserve at -80°C in an ultra freezer, this cocoa was named "dry cocoa". Likewise, for the toasted cocoa, 100 g of the sample were taken and submitted to roasting in a stove at 125°C for 25 minutes, later were dehusked, powdered and sift for the corresponding analyses.

The separation was done using gas chromatography (GC) with flame ionization detector (FID), and the identification was done using GC attached to masses (GC-MS). For it, 2.5 to 3 g of powder cocoa were put in a vial and mixed with 100 µL of 1-butane solution at a concentration of 250 µg.L<sup>-1</sup>, in the Technology Laboratory of the International Cooperation Center in Development Agronomic Investigations (CIRAD), Montpellier-France. A HP6980 gas chromatographer was used, equipped with a capillary column DBWAX 60 m x 0.32mm, 0.5µm, oven temperature: T°C initial: 35°C and T°C final: 180°C with a temperature increment of 2°Cmin<sup>-1</sup>. Injector temperature of 250°C, split division relation: 65.7 mL min<sup>-1</sup>; column (gas vector helium): 1.2 mLmin<sup>-1</sup>, with a detector: FID and a mass spectrometry detector HP 5973N Model IE, 70 eV, source temperature 230°C, spectrum acquisition of m/z 40 to 350, 2.89 scans/s. The mass spectrums obtained were compared to those of the AMDIS library and Enhanced Data Analysis. The content of the volatile compounds were calculated by the internal stan-

nal: 180°C con un aumento de temperatura de 2°C.min<sup>-1</sup>. Temperatura del inyector de 250°C, relación de división Split: 65,7 mL.min<sup>-1</sup>; columna (gas vector helio): 1,2 mL.min<sup>-1</sup>, con un Detector: FID y un detector de espectrometría de masas HP 5973N Modelo IE, 70 eV, temperatura de la fuente 230°C, adquisición de los espectros de m/z 40 à 350; 2,89 scans/s. Los espectros de masa obtenidos se compararon con los de la biblioteca AMDIS y Enhanced Data Analysis. Los contenidos de los compuestos volátiles se calcularon por el método del estándar interno (1-butanol) expresada por la relación entre el área de pico del compuesto volátil/área de pico del estándar interno. Los resultados fueron comparados por análisis de varianza (ANOVA), utilizando el software estadístico (XLSTAT-2012).

## Resultados y discusión

Los resultados permitieron identificar y cuantificar 60 compuestos en cacao seco y 108 para el tostado, los cuales se agruparon en 11 familias químicas (cuadro 1).

El tratamiento efectuado a los cacaos (seco y tostado), reflejó que las familias de compuestos químicos más numerosas fueron los alcoholes, ésteres, cetonas y ácidos en el cacao seco y para los tostados el comportamiento fue muy similar, evidenciándose también en las almendras sometidas a torrefacción un incremento en el contenido de pirazinas. Esto permite inferir que hubo un efecto del tostado en la composición del aroma y es corroborado por el estudio realizado por Portillo *et al.* (2009), con resultados

dard method (L-butane) expressed by the relation among the peak area of the compound volatile/peak area of the internal standard. The results were compared by the variance analysis (ANOVA), using the statistical software (XLSTAT-2012).

## Results and discussion

The results allowed identifying and quantifying 60 dry cocoa compounds and 108 for toasting, which were grouped into 11 chemical families (table 1).

The treatment carried out to the cocoas (dry and toasted), reflected that the most numerous chemical compounds families were alcohols, esters, ketones and acids in dry cocoa, and for the toasting the behavior was very similar, also evidencing in almonds submitted to toasting an increment in the pyrazines content. This allows inferring that there was a toasting effect in the aroma composition, and it is corroborated by the study carried out by Portillo *et al.* (2009), with very similar results and who mentioned that during the toasting there are some compounds that can express the aromatic potential, as in the case of esters and pyrazines.

The statistical analyses allowed showing that there was a significant fermentation time on the volatile compound content for the dry and toasted cocoas. This effect was mainly registered in the families of the acids, ketones, esters, alcohols and pyrazines, in both types of cocoa (figures 1 and 2). Considering these results and on having evaluated the effect of the

**Cuadro 1. Distribución por familia de Compuestos aromáticos presentes en cacao seco y tostado.**

**Table 1. Family distribution of aromatic compounds in dried and toasted cocoa.**

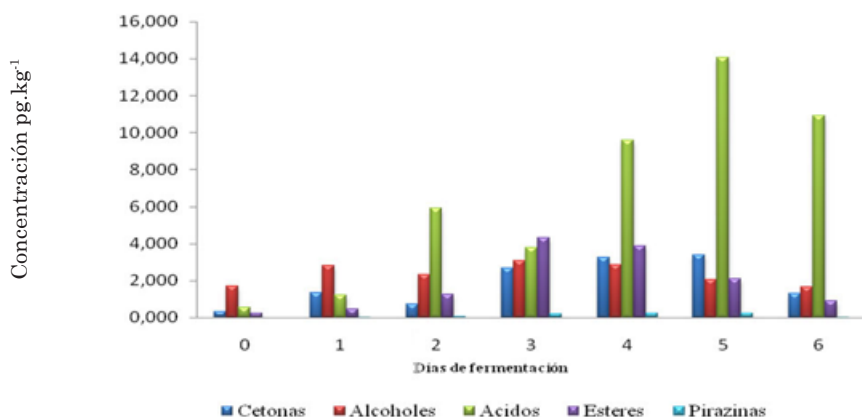
Familias de Compuestos	Cacao seco	Cacao tostado
Aldehídos	7	5
Cetonas	10	15
Alcoholes	16	24
Ácidos	4	10
Esteres	13	17
Terpenos	2	3
Furanos	1	6
Compuestos Azufrados	2	1
Hidrocarburos	2	20
Pirazinas	3	6
Pirroles	0	1
Total	60	108

muy similares y señalan que durante el tostado existen algunos compuestos que pueden expresar al máximo su potencial aromático, como el caso de los esterres y pirazinas.

Los análisis estadísticos permitieron mostrar que hubo un efecto significativo del tiempo de fermentación sobre el contenido de compuestos volátiles para los cacaos secos y tostados. Este efecto se registró principalmente en las familias de los ácidos, cetonas, esterres, alcoholes y pirazinas, en ambos tipos de cacao (figuras 1 y 2). Considerando estos resultados y al evaluar el efecto del tiempo de fermentación sobre la evolución de las principales familias químicas de los aromas se observó que la concentración inicial de los compuestos pertenecientes a estas familias fueron superiores en cacao seco y que después del tostado hubo una disminución en dicha concentración.

fermentation time on the evolution of the main chemical families of the aromas, it was observed that the initial concentration of the compounds belonging to these families were higher in dry cocoa, and after toasting there was a decrease in the above mentioned concentration. This trend was presented to all the families, except for the ketones, whose contents increased after the toasting.

Another important aspect to mention is the fact that the contents of all the families of volatile compounds increased during fermentation, until reaching a limit that varies between the fourth and fifth day. Subsequently, a decrease in the concentration was observed, this is because in the benefit of the cocoa beans two very different phenomena are produced: a microbiological fermentation that develops in the pulp and the



**Figura 1. Evolución del contenido (pg.kg<sup>-1</sup>) de los compuestos volátiles durante la fermentación en cacao seco.**

**Figure 1. Content evolution (pg.kg<sup>-1</sup>) of the volatile compounds during the fermentation in dried cocoa.**

Esta tendencia se presentó para todas las familias, excepto para las cetonas, cuyos contenidos se incrementaron después del tostado.

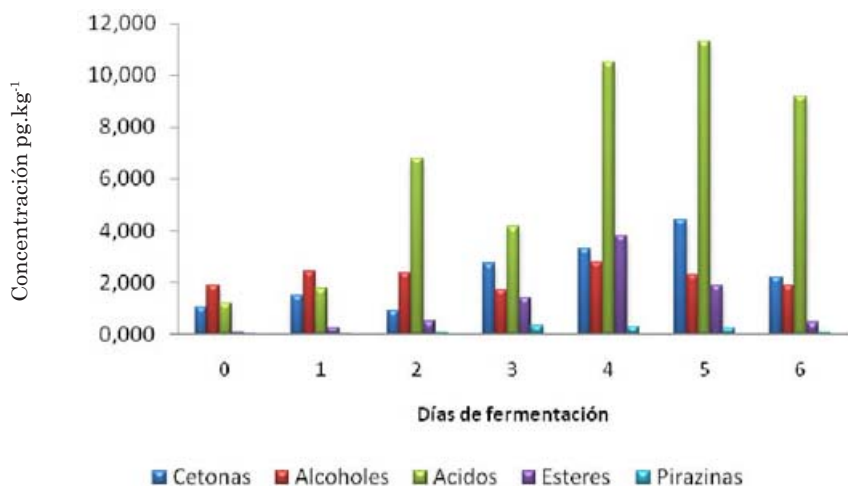
Otro aspecto importante de resaltar, es el hecho que los contenidos de todas las familias de compuestos volátiles se incrementan durante la fermentación, hasta llegar a un límite que varía entre el cuarto y quinto día. Posteriormente, se observa un descenso en la concentración, esto es debido a que en el beneficio de las almendras de cacao se producen dos fenómenos muy distintos: una fermentación microbiológica que se desarrolla en la pulpa y las reacciones bioquímicas que se efectúan en los cotiledones Portillo *et al.* (2009). De igual manera, éste comportamiento del tiempo de fermentación sobre los compuestos, ha sido reportado por investigadores como Graziani *et al.* (2003) y Brunetto *et al.*

biochemical reactions that are carried out in the cotyledons Portillo *et al.* (2009). Similarly, this behavior of the fermentation time on compounds has been reported by researchers as Graziani *et al.* (2003) and Brunetto *et al.* (2009). The results obtained in the dry and toasted cocoas allow inferring once again that inside the phases of the benefit or postharvest handling conditions of the cocoa, the time is the key factor to achieve a cocoa with excellent aromatic quality for the chocolate production.

#### **Toasting effect**

During the toasting process a series of reactions occur that affect the content of aromatic compounds, which can drive to the concentration reduction of the families of volatile compounds, excepting the pyrazines, ketones and alcohols, which contents increase close to 40%, 35% and 20%,





**Figura 2. Evolución del contenido ( $\text{pg.kg}^{-1}$ ) de los compuestos volátiles durante la fermentación en cacao tostado.**

**Figure 2. Content evolution ( $\text{pg.kg}^{-1}$ ) of the volatile compounds during the fermentation in toasted cocoa.**

(2009). Los resultados obtenidos en los cacaos secos y tostados, permiten inferir una vez más que dentro de las fases del beneficio o manejo poscosecha del cacao, el tiempo es el factor clave para lograr un cacao con excelente calidad aromática para la producción de chocolates.

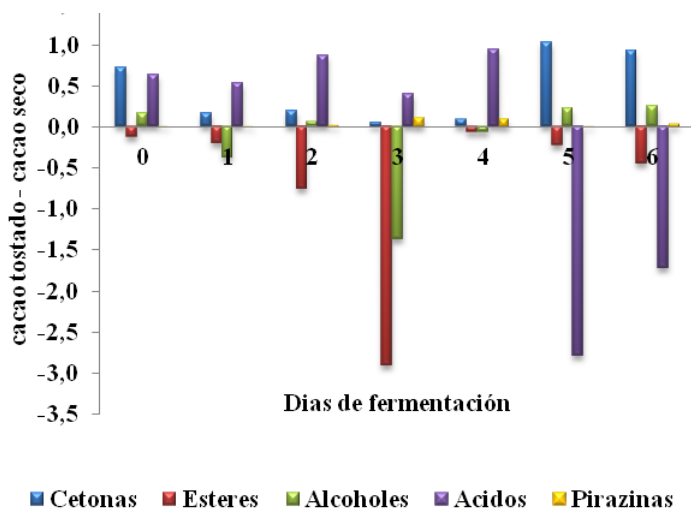
### Efecto del tostado

Durante el proceso de torrefacción ocurren una serie de reacciones que inciden sobre el contenido de compuestos aromáticos, la cual puede conducir a una disminución de la concentración de todas las familias de compuestos volátiles, a excepción de las pirazinas, cetonas y alcoholes cuyos contenidos aumentan cerca del 40%, 35% y 20%, respectivamente, a partir del primer día de fermentación (Álvarez *et al.*, 2012), (figura 3).

respectively, from the first day of fermentation (Álvarez *et al.*, 2012). (figure 3).

The ester content strongly decreased during toasting; likewise, ketones and alcohols had a positive effect (increased) between the fourth and fifth day. The pyrazines always showed a trend to increase its concentrations. The acids experienced an increment until the fourth day, later, there was a drastic decrease between the fifth and sixth day.

These results agree to some investigations that show an increment in the pyrazines levels according to the fermentation time (Brunetto *et al.*, 2009), as well as a big number of new compounds after treatment, mainly the pyrazines families, alcohols, esters and ketones. Similarly, another group of compounds disappear, such as those



**Figura 3. Efecto del tostado sobre el contenido de compuestos volátiles en función del tiempo de fermentación.**

**Figure 3. Toasting effect on the content of volatile compounds in function of the fermentation time.**

Los contenidos de esteres disminuyen fuertemente durante la torrefacción, así mismo, las cetonas y alcoholes tuvieron un efecto positivo (incremento) entre el cuarto y quinto día. Las pirazinas siempre mostraron una tendencia al aumento de sus concentraciones. Los ácidos experimentaron un incremento hasta el cuarto día, posteriormente, hubo una disminución drástica entre el quinto y sexto día. Estos resultados coinciden con algunas investigaciones que muestran un incremento en los niveles de pirazinas en función del tiempo de fermentación (Brunetto *et al.*, 2009). Un gran número de compuestos nuevos después de tratamiento, principalmente las familias de la pirazinas, alcoholes, esteres y cetonas. De igual manera, otro gru-

in the families of the sulfur compounds and aldehydes (table 1).

Finally, it is necessary to mention that the results obtained during this investigation, allow corroborating that the roasting represents the final step in the development of the cocoa aroma and that this process implies a follow-up and control at the moment of processing the cocoa, because there are compounds with fermentation or microbiologic and thermal origin (Cros 2004), that can be affected when submitted to high temperatures during the roasting, consequently obtaining a cocoa with very low aromatic quality that would affect the manufacture of a quality chocolate.

po de compuestos desaparecen, como los de las familias de los compuestos azufrados y aldehídos (cuadro 1).

Finalmente, es necesario resaltar que los resultados obtenidos durante esta investigación, permiten corroborar que la torrefacción representa el toque final en el desarrollo del aroma del cacao y que este proceso implica un seguimiento y control al momento de procesar el cacao, debido a que existen compuestos de origen constitutivos, fermentarios o microbiológicos y téricos (Cros, 2004), que pueden ser afectados cuando se someten a altas temperaturas durante el tostado, lo cual arrojaría como consecuencia un cacao de muy baja calidad aromática que afectaría la fabricación de un chocolate de calidad.

## Conclusiones

Las cetonas, alcoholes, ácidos, ésteres y pirazinas, son las familias más numerosas e importantes en el desarrollo del aroma, las cuales representan el 70% de los compuestos presentes en este tipo de cacao.

El tiempo de fermentación tiene un efecto significativo sobre la fracción volátil del cacao, debido a que los resultados mostraron que algunos compuestos aumentan o disminuyen a medida que transcurre el beneficio de las almendras. Así mismo, el efecto del tostado fue de gran relevancia en el incremento de los compuestos pertenecientes a las familias de las cetonas y las pirazinas.

Se evidenció la importancia del manejo poscosecha en el cacao de Chabasquén, por lo tanto, se requiere establecer los mecanismos de transfe-

## Conclusions

Ketones, alcohols, acids, esters and pyrazines, are the most numerous and important families in the development of the fragrance, which represent 70% of the compounds present in this type of cocoa.

The fermentation time has a significant effect on the volatile fraction of cocoa, since the results showed that some compounds increase or decrease as happens the benefit of almonds. Likewise, the effect of toasting was of great importance in the increment of the compounds belonging to the ketones and the pyrazines families.

The importance of the postharvest handling was demonstrated in the Chabasquén cocoa; therefore, it is required to establish the transference mechanisms to the producers of the region to guarantee a good quality cocoa.

*End of english version*

---

rencia a los productores de la región para garantizar un producto de buena calidad chocolatera.

## Literatura citada

- Álvarez, C., E. Pérez, R. Boulanger, M. Lárez, S. Assemat, F. Davreux y E. Cros. 2012. Identificación de los compuestos aromáticos en el cacao criollo de Venezuela usando microextracción en fase sólida y cromatografía de gases. *Vitae* 19 (1): 370-372.
- Amores, F. 2004. Cacaos finos y ordinarios. Taller Internacional de calidad integral de cacao teoría y práctica.

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Quevedo, Ecuador. 47-54p.

Brunetto, M., L. Gutierrez, Y. Delgado, M. Gallignani, A. Zambrano, A. Gomez, G. Ramos y C. Romero. 2009. Determination of teobromine, theophylline and caffeine in cocoa samples by a high-performance liquid chromatography method with on-line sample cleanup in a switching-column system. *Food chemistry* 100 (2): 459-467.

Cros, E. 2004. Factores condicionantes de la calidad del cacao. In Congreso Venezolano del Cacao y su Industria, CIRADCP, Maison de la Technologies, Montpellier Cedex, Francia. Disponible en [www.redcacao.info.ve/memorias/html/02html](http://www.redcacao.info.ve/memorias/html/02html) 15 p.

Graziani de Fariñas, L., L. Ortiz de Bertorelli, N. Álvarez y A. Trujillo. 2003. Fermentación del cacao en dos diseños de cajas de Madera. *Agronomía Tropical*. 53(2):175-187.

Pérez, E., C. Álvarez y M. Lárez. 2002. Caracterización física y química de granos de cacao fermentado, seco y tostado en la región de Chuao. *Agronomía Tropical* 52(2): 161-172.

Portillo, E., L. Graziani y E. Betancourt. 2006. Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la Temperatura y el Índice de Fermentación en la Calidad del Cacao Criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 22 : 394-406.

Portillo, E., L. Graziani, E. Cros, F. Davrieux, S. Assemat, R. Boulanger, M. Labarca y M. Marciano. 2009. Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento postcosecha en Venezuela. *Revista UDO Agrícola* 9 (2): 458-468.