



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union –Discipline Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2024-2025

N° D'ORDRE :

122

CANDIDAT

Nom : KONAN

Prénom : KOUAKOU AHOSSI

THÈSE DE DOCTORAT

Mention : Agriculture et Foresterie Tropicale

Spécialité : Microbiologie & Bio-industries

**Contribution à l'amélioration de la qualité
finale des fèves de cacao (*Theobroma
cacao* L.) fermentées sur différents
supports en Côte d'Ivoire**

JURY

Président : M. KONATE Ibrahim, Professeur Titulaire,

Université Jean Lorougnon GUEDE

Directeur : M. COULIBALY Ibourahema, Maître de Conférences,

Université Jean Lorougnon GUEDE

Rapporteur : M. VOKO Bi Rosin Don-Rodrigue, Maître de Conférences,

Université Jean Lorougnon GUEDE

Rapporteur : M. OTCHOUMOU Kraidy Athanase, Maître de Conférences,

Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY

Examineur : M. BAMBA Issouf, Maître de Conférences,

Université Jean Lorougnon GUEDE

Examineur : Mme. KOFFI Affoué Carole, Maître de Conférences,

Université de Man

Soutenue publiquement

le : 26/02/2025

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	i
DÉDICACES	xii
REMERCIEMENTS	xiii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xix
LISTE DES FIGURES.....	xxi
LISTE DES ANNEXES.....	xxv
INTRODUCTION.....	2
PRÉMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS	8
1. FÈVE DE CACAO ET CARACTÉRISTIQUES	9
1.1. Présentation de la fève de cacao.....	9
1.2. Différentes variétés de fèves de cacao	10
1.2.1. Variété « <i>Forastero</i> »	10
1.2.2. Variété « <i>Criollo</i> ».....	10
1.2.3. Variété « <i>Trinitario</i> ».....	10
1.2.4. Variétés Hybrides	11
1.3. Avantages et limites des différentes variétés de fèves de cacao	11
1.4. Importance socio-économique du cacao	12
1.5. Zone de production et transformation mondiale du cacao	13
1.5.1. Zones de production de cacao dans le monde	13
1.5.2. Zones de transformation du cacao dans le monde	14
1.6. Consommation du cacao dans le monde	15
1.7. Composition nutritionnelle et énergétique des fèves de cacao.....	16
1.7.1. Glucides.....	17
1.7.2. Composition en matière grasse et acide gras.....	17
1.7.2.1. Matière grasse de cacao	17
1.7.2.2. Composition en acides gras	18
1.7.3. Protéines et acides aminés	19
1.7.4. Valeur énergétique.....	20

1.7.5.	Fibres alimentaires.....	20
1.7.6.	Composition en minéraux des fèves de cacao	21
1.7.7.	Vitamines.....	21
1.8.	Composition bio actifs des fèves de cacao fermentées et séchées	22
1.8.1.	Alcaloïdes	22
1.8.2.	Catéchines et épicatechines	23
1.8.3.	Composés phénoliques	24
1.8.4.	Polyphénols totaux	25
1.8.5.	Flavonoïdes.....	25
1.8.6.	Acides organiques.....	26
1.8.7.	Composés volatils.....	27
1.8.8.	Principaux composés aromatiques du cacao	28
1.8.8.1.	Alcools et esters	29
1.8.8.2.	Aldéhydes et cétones.....	29
1.8.8.3.	Acides	29
1.8.8.4.	Pyrazines	30
1.8.8.5.	Composés aromatiques formés lors de la fermentation	30
1.9.	Traitements post-récoltes des fèves de cacao.....	31
1.9.1.	Récolte.....	31
1.9.2.	Ecabossage et tri	31
1.9.3.	Fermentation.....	32
1.9.4.	Séchage.....	33
1.9.5.	Stockage.....	35
2.	FERMENTATION	35
2.1.	Notion générale de la fermentation des fèves de cacao.....	35
2.2.	But de la fermentation	36
2.3.	Resumé des réactions se déroulant dans la fève au cours de la fermentation	36
2.4.	Différentes étapes de la fermentation des fèves de cacao	37
2.5.	Différents procédés de fermentation	38

2.5.1.	Fermentation en tas sur les feuilles de bananier	38
2.5.2.	Fermentation en tas dans les bâches plastiques	39
2.5.3.	Fermentation dans les paniers.....	39
2.5.4.	Fermentation dans les caisses en bois ou plastique	39
2.6.	Brassage	40
2.7.	Flore microbienne de fermentation	40
2.8.	Principaux microorganismes fermentaires du cacao	41
2.8.1.	Levures	41
2.8.2.	Bactéries lactiques	42
2.8.3.	Bactéries acétiques	43
2.8.4.	Bactérie de genre <i>Bacillus</i>	44
2.9.	Phases microbiennes de la fermentation des fèves de cacao.....	44
2.9.1.	Phase anaérobie	44
2.9.2.	Phase intermédiaire.....	45
2.9.3.	Phase aérobie	45
2.10.	Micro-organismes, agents pathogènes et d'altération de fèves de cacao marchandes.....	46
2.10.1.	<i>Bacillus cereus</i>	46
2.10.2.	Pouvoir pathogène de <i>Bacillus cereus</i>	47
2.10.3.	Moisissures	47
2.10.4.	Pouvoir pathogène des moisissures	47
3.	DÉMARCHE DE QUALITÉ DES FÈVES DE CACAO	48
3.1.	Traçabilité.....	49
3.2.	Exigences de la matière première « fèves de cacao »	49
3.3.	Caractéristiques physico-chimiques des fèves de cacao	50
3.3.1.	Taux d'humidité	50
3.3.2.	Activité de l'eau.....	50
3.3.3.	Grainage.....	51
3.3.4.	Degré de fermentation et niveau de dégradation physique des fèves.....	52
4.	ZONES D'ÉTUDE.....	55

4.1.	Présentation des zones d'étude.....	55
4.2.	Zone de San-Pédro	55
4.3.	Zone de Soubré.....	56
4.4.	Zone de Daloa	56
DEUXIEME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES		59
1.	MATÉRIEL.....	59
1.1.	Matériel biologique	59
1.2.	Matériel technique.....	59
1.2.1.	Matériel d'échantillonnage	59
1.2.2.	Matériel de laboratoire.....	59
2.	MÉTHODES.....	60
2.1.	Enquête sur les techniques d'obtention des fèves fermentées et séchées de cacao dans les zones d'études	60
2.1.1.	Critères d'inclusion et d'exclusion	60
2.1.2.	Répartition des villages enquêtés selon les zones d'étude	61
2.1.3.	Techniques de collecte des données sur le terrain.....	61
2.1.4.	Entretiens.....	61
2.1.5.	Observations sur le terrain.....	62
2.2.	Mise en place des essais de fermentation sur différents supports	62
2.2.1.	Ecabossage.....	62
2.2.2.	Fermentation des fèves de cacao	63
2.2.3.	Fermentation sur les feuilles de bananier	63
2.2.4.	Fermentation sur les feuilles de palmier.....	64
2.2.5.	Fermentation dans les sacs en polypropylène.....	64
2.2.6.	Fermentation dans les sacs en jute.....	65
2.2.7.	Fermentation dans les cabosses de cacao	65
2.2.8.	Fermentation sur les bâches en polypropylène.....	66
2.2.9.	Séchage des fèves de cacao	66
2.2.10.	Dispositif experimental des différents supports de fermentation et du support de séchage appliqué.	67

2.3.	Analyse des fèves en cours de fermentation	68
2.3.1.	Détermination de la température au cours de la fermentation.....	68
2.3.2.	Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) des fèves en fermentation	69
2.3.3.	Détermination de la charge de la flore microbienne au cours de la fermentation.....	69
2.3.4.	Collecte des échantillons des fèves de cacao.....	69
2.3.4.1.	Taille des échantillons collectés au cours de la fermentation	69
2.3.4.2.	Préparation de la suspension mère	70
2.3.4.3.	Réalisation des dilutions décimales	70
2.3.4.4.	Préparation des milieux de culture.....	70
2.3.4.5.	Ensemencement et incubation.....	71
2.3.4.6.	Expression des résultats du dénombrement	72
2.3.5.	Analyse de l'évolution des métabolites induits (acides organiques et sucres réducteurs)	73
2.3.5.1.	Extraction des acides organiques et sucres réducteurs.....	73
2.3.5.2.	Analyse chromatographique	73
2.4.	Évaluation de la qualité microbiologique et physico-chimique des fèves fermentées et séchées	74
2.4.1.	Collecte des échantillons des fèves de cacao fermentées et séchées	74
2.4.2.	Taille et répartition des échantillons collectés.....	75
2.4.3.	Dénombrement des microorganismes d'altération du produit final des fèves fermentée et séchée.....	75
2.4.3.1.	Recherche des bactéries du genre <i>Bacillus</i> sporulées dans les échantillons de la poudre de cacao	75
2.4.3.1.1.	Préparation de l'inoculum (test de sporulation).....	75
2.4.3.1.2.	Préparation du milieu de culture.....	76
2.4.3.1.3.	Ensemencement et incubation	76
2.4.3.1.4.	Isolement et purification des isolats	76

2.4.3.1.5. Conservation des isolats	77
2.4.3.2. Caractérisation phénotypique des isolats	77
2.4.3.3. Caractérisation morphologique des isolats	77
2.4.3.3.1. Aspect macroscopique	77
2.4.3.3.2. Aspect microscopique	77
2.4.3.4. Recherche de la flore fongique de contamination dans la poudre de cacao fermentée et séchée	80
2.4.3.4.1. Dénombrement et isolement des moisissures dans la poudre de cacao... 80	
2.4.3.4.2. Purification des isolats de moisissures	80
2.4.3.4.3. Identification des moisissures isolées des fèves de cacao	80
2.4.4. Détermination de la qualité physico-chimique des fèves de cacao séchées	81
2.4.4.1. Élimination des corps étrangers	81
2.4.4.2. Évaluation du nombre de fèves saines et normales.....	82
2.4.4.3. Évaluation du niveau et du degré de fermentation.....	82
2.4.4.4. Détermination du rendement.....	82
2.4.4.5. Évaluation du pourcentage de coque	83
2.4.4.6. Quantification de la teneur en eau des fèves après séchage.....	83
2.4.4.7. Évaluation du potentiel d'hydrogène des fèves fermentées et séchées.....	83
2.4.4.8. Détermination de l'activité de l'eau.....	84
2.4.4.9. Évaluation de l'indice de fermentation	84
2.4.4.10. Quantification du taux de cendre des fèves de cacao après séchage	84
2.4.4.11. Évaluation de la teneur en sucres totaux.....	85
2.4.4.12. Quantification de la teneur en matière grasse et caractéristiques	85
2.4.4.12.1. Extraction du beurre de cacao par l'hexane.....	85
2.4.4.12.2. Indice d'acide et teneur en acides gras libres.....	86
2.4.4.12.3. Analyse de la composition en acide gras par la méthode GC-FID	87

2.4.4.12.4. Détermination de la teneur en matières azotées totales ou protéines	88
2.4.4.12.5. Évaluation de la teneur en glucides totaux	90
2.4.4.12.6. Détermination de la valeur énergétique	90
2.4.4.12.7. Évaluation de la fraction en fibres	90
2.4.4.12.8. Détermination de la teneur en composés phénoliques	91
2.4.4.13. Profil en composés alcaloïdes et phénoliques par HPLC-DAD	93
2.4.4.13.1. Extraction composés alcaloïdes et phénoliques	94
2.4.4.13.2. Évaluation de la concentration des composés alcaloïdes et phénoliques	94
2.4.4.14. Détermination des minéraux et éléments traces métalliques	95
2.5. Analyse des fèves après torréfaction	96
2.5.1. Transformation des fèves en liqueurs et analyse sensorielle	96
2.5.1.1. Torréfaction des fèves de cacao	96
2.5.1.2. Broyage grossier	96
2.5.2. Évaluation de la qualité organoleptique de la liqueur de cacao	97
2.5.2.1. Extraction et dosage des sucres et acides organiques	97
2.5.2.1.1. Extraction des sucres et acides organiques	97
2.5.2.1.2. Dosage des sucres et acides organiques	97
2.5.2.2. Détermination du profil en acides aminés libres par HPLC	97
2.5.2.3. Analyse des composés volatils par Micro-extraction (SPME)	98
2.5.2.4. Mesure de la couleur de la liqueur de cacao	100
2.5.2.5. Analyse des descripteurs sensoriels de la liqueur de cacao	100
2.6. Analyse statistique	101
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION	105
CHAPITRE I : ENSEMBLE DES SUPPORTS DE FERMENTATION ET DE SÉCHAGE DES FÈVES DE CACAO DANS QUELQUES PRINCIPALES ZONES DE PRODUCTION CACAOYÈRE EN COTE D'IVOIRE	104

1. RÉSULTATS	104
1.1. Indentification sociodémographique des producteurs	104
1.1.1. Repartition des producteurs enquêtés par rapport aux sexes	104
1.1.2. Répartition des personnes enquêtées par rapport à l'âge	105
1.1.3. Répartition des personnes enquêtées par rapport à la situation matrimoniale	105
1.1.4. Superficie occupée par la cacaoculture dans les zones enquêtées	106
1.2. Supports de fermentation et facteurs motivants/limitants	106
1.2.1. Ensemble des supports de fermentation utilisés par les producteurs	106
1.2.2. Temps de fermentation	107
1.2.3. Taux de brassage dans les zones enquêtées	108
1.2.4. Facteurs motivants et limitants de l'utilisation des supports de fermentation	108
1.2.5. Corrélation entre les facteurs motivants ou limitants et les supports de fermentation	110
1.3. Supports de séchages et facteurs motivants/limitants	113
1.3.1. Temps de séchage	113
1.3.2. Facteurs motivants ou limitants l'usage des nouveaux supports de séchage	114
1.3.3. Corrélation entre les facteurs limitants ou motivants et des supports de séchage	115
2. DISCUSSION	118
3. CONCLUSION PARTIELLE	122
CHAPITRE II : VARIATION DES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES AU COURS DE LA FERMENTATION	123
1. RÉSULTATS	123
1.1. Évolution de la température et du pH de fermentation	123
1.2. Croissance de la flore microbienne au cours de la fermentation	126
1.3. Temps de croissance maximal des différents microorganismes cibles	131
1.4. Variation de la concentration des sucres réducteurs et des acides organiques au cours de la fermentation	131

1.4.1.	Variation de la concentration des sucres réducteurs au cours de la fermentation.....	131
1.4.2.	Variation de la concentration des acides organiques au cours de la fermentation.....	133
2.	DISCUSSION.....	136
3.	CONCLUSION PARTIELLE	145
CHAPITRE III : COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE ET VALEUR MARCHANDE DES FÈVES DE CACAO FERMENTÉES ET SÉCHÉES		146
1.	RÉSULTATS	146
1.1.	Composition physico-chimique des fèves fermentées et séchées	146
1.1.1.	Coloration de la coque des fèves de cacao fermentées et séchées.....	147
1.1.2.	Potentiel d'hydrogène.....	147
1.1.3.	Teneur en eau.....	148
1.1.4.	Activité de l'eau.....	148
1.1.5.	Teneur en cendre	148
1.1.6.	Sucres totaux.....	149
1.1.7.	Teneur en protéine	149
1.1.8.	Teneur en glucide	150
1.1.9.	Teneur en beurre de cacao	150
1.1.10.	Valeur énergétique.....	151
1.1.11.	Interaction de la composition globale des fèves séchées avec les supports de fermentation.....	153
1.2.	Valeur marchande des fèves de cacao	155
1.2.1.	Degré de fermentation et le niveau de dégradation des fèves	155
1.2.2.	Indice de fermentation	155
1.2.3.	Rendement	157
1.2.4.	Grainage.....	157
1.2.5.	Pourcentage de coque	157
1.2.6.	Corrélation de la qualité morphologique avec les supports appliqués	159
1.3.	Composition biochimique des fèves de cacao colletées.....	162
1.3.1.	Acidité et profil en acides gras du beurre de cacao des fèves marchandes	162

1.3.1.1.	Indice d'acidité des acides gras	162
1.3.1.2.	Composition en acide gras des beurres extraits	162
1.3.1.3.	Rapport des caractéristiques physico-chimiques et composition en matière grasse avec les supports appliqués	165
1.3.2.	Teneur en minéraux des fèves de cacao analysées	169
1.3.3.	Interdépendance de la composition en minéraux des fèves de cacao avec les différents supports de fermentation	173
1.3.4.	Composition en fibres des fèves de cacao	176
1.3.5.	Profils des composés phénoliques	178
1.3.6.	Corrélation entre les composés phénoliques et alcaloïdes avec les supports de fermentation	181
2.	DISCUSSION	185
3.	CONCLUSION PARTIELLE	199
CHAPITRE IV : FLORE MICROBIENNE D'ALTÉRATION DE LA QUALITÉ DU PRODUIT FINAL DES FÈVES FERMENTÉES ET SECHÉES		200
1.	RÉSULTATS	200
1.1.	Degré de contamination de la flore fongique	200
1.2.	Espèces de moisissures isolées dans les broyats de fèves de cacao marchandes	201
1.3.	Fréquence d'isolement des espèces fongiques dans les fèves marchandes..	205
1.4.	Degré de contamination des bactéries genre <i>Bacillus</i> sporulé des fèves fermentées et séchées	207
1.5.	Tests biochimiques des isolats présumés <i>Bacillus cereus</i>	208
2.	DISCUSSION	211
2.	CONCLUSION PARTIELLE	216
CHAPITRE V : QUALITÉ ORGANOLEPTIQUE ET CARACTÉRISTIQUE SENSORIELLE DE LA LIQUEUR DE CACAO		217
1.	RÉSULTATS	217
1.1.	Profil en sucres et acides organiques des fèves séchées.....	217
1.2.	Profil en acide aminé de la liqueur de cacao	224

1.3.	Ratio des composés acides aminés Hydrophobes/acides	229
1.4.	Corrélation entre la composition en acide aminé des liqueurs de cacao	229
1.5.	Composition des composés volatiles dans la liqueur de cacao torréfiée.....	232
1.5.1.	Profil en composés organiques volatils des échantillons prélevés dans la zone de San-Pédro	233
1.5.2.	Profil en composés organiques volatils des échantillons prélevés dans la zone de Daloa	239
1.5.3.	Profil en composés organiques volatils des échantillons prélevés dans la zone de Soubré.....	245
1.6.	Coloration des liqueurs de cacao.....	251
1.7.	Caractéristiques sensorielles des liqueurs de cacao	253
1.7.1.	Score des différents descripteurs jugés.....	253
1.7.2.	Acceptabilité des liqueurs issues des différents supports de fermentation	256
2.	DISCUSSION	258
3.	CONCLUSION PARTIELLE	268
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	270
	RÉFÉRENCES	273
	ANNEXES	274
	PUBLICATIONS	274

DÉDICACES

A

mon très cher défunt père, YAO Konan Jérôme qui m'a inculqué le goût de l'effort dès mon bas âge et m'a enseigné la notion du travail bien fait. Mais contre toute attente, il est parti sitôt sans bénéficier des fruits de mes efforts. Que Dieu, le Tout Puissant, lui accorde un repos éternel ;

A

ma très chère mère BROU Adjoua Célestine de qui je tiens mes premières leçons de foi, d'humilité et de courage ;

A

mes petits frères Kanan Yao Fulgence et Konan Koffi Gédéon pour leur soutien sans faille ;

A

ma bien-aimée : Kouassi N'Da Elodie qui n'a cessé de croire en moi.

REMERCIEMENTS

Ce travail de Thèse de Doctorat a été réalisé au sein du Laboratoire d'agro-valorisation à l'Université Jean Lorougnon GUEDE et du Laboratoire de la chimie des molécules naturelles, Gembloux Agro-biotech à l'université de Liège. À la fin de cette étude, je tiens à exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui, par leur soutien, leur disponibilité et leurs contributions à différents niveaux, m'ont accompagné dans la conception et la réalisation de ce travail. Cette thèse n'aurait pas vu le jour sans leur aide scientifique, leur soutien moral et spirituel, que je souhaite ici remercier.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mme ADOHI KROU Viviane, Professeur Titulaire, Présidente de l'Université Jean Lorougnon GUEDE, pour avoir autorisé mon inscription en thèse de Doctorat. Je rends hommage à son engagement soutenu envers l'encadrement et l'accompagnement des doctorants de son institution, ainsi qu'à son attachement à promouvoir l'excellence dans la recherche, des valeurs qu'elle incarne au sein de l'université.

Je tiens à exprimer ma gratitude à M. SORO Dogniméton, Professeur Titulaire et Vice-Président chargé de la Pédagogie, de la Recherche et de l'Innovation Technologique, pour son humilité exemplaire. Je le remercie également pour les efforts constants qu'il déploie chaque jour pour assurer le bon fonctionnement de l'Université.

J'exprime ma reconnaissance à M. KOUASSI Kouassi Clément, Maître de Conférences, Directeur de l'UFR Agroforesterie à l'Université Jean Lorougnon GUEDE, pour sa disponibilité et son dévouement à la recherche scientifique.

Mes reconnaissances à M. BEUGRE Grah Avit Maxwells, Professeur Titulaire, Responsable du Laboratoire d'Agro-valorisation, de m'avoir accueilli au sein du Laboratoire de Nutrition et de Sécurité Alimentaire à l'Université Jean Lorougnon GUEDE.

Je reste profondément reconnaissant à l'endroit mon Directeur de Thèse, M. COULIBALY Ibourahema, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon GUEDE et Directeur Scientifique de ce mémoire. Malgré ses nombreuses responsabilités, il a généreusement accepté de diriger ce travail, et je lui dois une part essentielle de sa réalisation. Les retours que j'avais reçus à son sujet le décrivaient comme un enseignant exigeant, méthodique et particulièrement rigoureux, dont l'UE suscite une certaine appréhension chez de nombreux étudiants souhaitant s'inscrire en biosécurité alimentaire. Dès lors, il devenait un modèle, une référence et un « objet » d'admiration et de fascination pour moi. Je me souviens encore de lui, à son premier

cours magistral de maîtrise, lorsqu'il disait à notre endroit : « *Ici, c'est la terminale C, on ne vient pas ici qui veut, mais qui peut* ». Ce qui m'a médusé. Par la suite, le choix du thème a été fait. La peur de ne pas être à la hauteur et la difficulté de réaliser un travail original satisfaisant m'habitait. Mais, lorsque j'ai entamé les travaux de recherche suivis de rencontres et d'entretiens réguliers avec lui, mes doutes et inquiétudes ont commencé à s'estomper.

Je tiens à remercier le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique ainsi que la direction des bourses du gouvernement Ivoirien pour l'octroi d'une bourse de doctorat Hors-Côte d'Ivoire afin de mener cette recherche.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Mme Marie-Laure FAUCONNIER, Professeur Ordinaire et Responsable du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles de Gembloux Agro-Bio Tech à l'Université de Liège (Belgique). Son accueil au sein du laboratoire a été pour moi un immense honneur et une opportunité inestimable. Sa confiance, sa disponibilité, ses conseils avisés et son appui scientifique ont été des contributions essentielles à l'élaboration de ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Mme DETOURNAY Virginie, responsable de l'analyse sensorielle de la structure de production de chocolat à PURATOS BELCODAL (Belgique) d'avoir accepté de réaliser mes travaux d'analyse sensorielle dans son département.

Je remercie les membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail, malgré leurs multiples activités professionnelles :

M. KONATE Ibrahim, Professeur Titulaire à l'Université Jean Lorougnon GUEDE de Daloa, et Président du jury pour ses précieuses orientations et sa rigueur scientifique exemplaire. Son soutien m'a permis d'intégrer l'équipe de microbiologie dès ma troisième année de licence, constituant ainsi une étape déterminante dans mon parcours académique

Les rapporteurs : M. VOKO-Bi Rosin Don Rodrigue et M. OTCHOUMOU Kraidy Athanase Maître de Conférences, pour le temps consacré à examiner et à évaluer ce manuscrit.

J'exprime mes sincères reconnaissances aux éminents examinateurs de cette Thèse M. BAMBA Issouf, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon GUEDE de Daloa et Mme KOFFI Affoué Carole, Maître de Conférences à l'Université de Man pour leur précieuse contribution à l'enrichissement et à l'amélioration de ce document. Nous vous exprimons notre profonde gratitude pour avoir accepté, avec disponibilité et bienveillance, de siéger en tant qu'examineurs au sein du jury, malgré leurs nombreuses responsabilités professionnelles, et

d'avoir consacré leur temps à l'évaluation de ce travail. Vos remarques éclairées, chers maîtres, en élaguant mon manuscrit des imperfections susceptibles d'en altérer la qualité, ont grandement participé à lui conférer une rigueur scientifique et une présentation d'autant plus appréciable.

Mes sincères remerciements à M. DIOMANDÉ Massé, Maître de Conférences, chef de département biochimie microbiologie, pour sa disponibilité, sa rigueur, ainsi que ses précieux conseils et orientations. Son écoute attentive et son soutien moral, ont été inestimables au cours de ces années. Je reste particulièrement marqué par cette phrase encourageante de sa part, qui m'a toujours inspirée : « *Chaque thèse a son histoire* ».

Je suis profondément reconnaissant à M. KOUASSI Kra Athanase, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon GUEDE et Responsable du parcours Biotechnologie et Biosécurité, pour sa bienveillance et sa spontanéité. Malgré ses nombreuses responsabilités, il a généreusement accepté de superviser ce travail, et je lui en suis sincèrement reconnaissant. Je le remercie sincèrement pour l'attention qu'il accorde à la formation des étudiants, ainsi que pour ses conseils précieux qui ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet. Son exigence académique, son dévouement à l'excellence et sa rigueur professionnelle font de lui un modèle et une source d'inspiration. Enfin, je le remercie pour la confiance qu'il m'a accordée et pour son accompagnement constant tout au long de ce processus.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au M. Philippe MAESEN, Responsable du Bureau Environnement et Analyses de Gembloux (BEAGx) à la faculté Gembloux Agro-Bio Tech de l'Université de Liège. Je remercie également Mme VAN DE VREKEN Isabelle, Agente Spécialisée en Chef au service LBTV, Laboratoire Biomasse et Technologies Vertes, pour son précieux soutien. Mes remerciements s'étendent également à M. Clément BURGEON pour sa contribution précieuse à ce travail. Merci à M. MICHELS Franck, M. BERTRAND Thomas et M. FRANCIS Adrien, techniciens au Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles, pour leur aide apportée au cours des manipulations au laboratoire dans ce travail.

Cette thèse pluridisciplinaire a mobilisé plusieurs personnes. Elles ont partagé leurs connaissances sans aucune hésitation et les avoir côtoyés a été d'une grande richesse que je ne saurai oublier.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à M. ANGAMAN Djédoux Maxime, Professeur Titulaire Directeur de la planification, suivi et évaluation, et aux Mme ASSOHOON Marina, Mme. COMBO A. Marie-Michel épouse KONAN, et M. COULIBALY Bakary, Maîtres de

Conférences, M. OUINA Serge Maître-Assistant et Zébré Arthur, Mme. KABRAN Philomaine, Assistants, ainsi qu'à l'ensemble des Enseignants-Chercheurs de l'Université Jean Lorougnon GUEDE, pour leur précieux soutien matériel et moral, et pour leur engagement en faveur de la recherche.

Je tiens à remercier chaleureusement la famille de la maison Nord-Sud (Gembloux, Belgique) pour leur accueil et leur gentillesse, avec une mention spéciale à M. Affi Jean-Paul ATTIKORA, M. Kouakou Alfred KOUASSI, Mme. Ange KOUAKOU, M. Sami Joséphé KAMBIRE, doctorants à l'Université de Liège, faculté de Gembloux Agro-Bio Tech. Mes remerciements s'adressent également à Mme. Ange Rosaire YAPO épouse WANELO pour sa bienveillance et son soutien. Merci pour tous ces petits repas chauds et réconfortants dans le froid de l'hiver belge.

J'adresse mes remerciements à tous mes amis de l'Université Jean Lorougnon GUEDE dont : Mme. ASSOH Ohoh Bernadette, Mme. ZOZOU Carole, M. FOBA Stephane, Mme. COULIBALY Adja et Mme. ZIOH Horline Degrâce pour avoir trouvé auprès d'eux les ressources nécessaires pour garder ma motivation tout au long de mes travaux.

Je remercie chaleureusement des habitants du campement Toukôkro à Dagadji sous-préfecture de Doba.

Je n'oublie pas mes parents : mon oncle M. KOUAMÉ N'dri Thomas, M. BROU Yao Gaston, M. BROU Koffi Célestin et M. BROU N'Guessan Olivier, pour leur aide morale, financière et pour m'avoir supporté et épaulé durant mes études. Mes remerciements vont également à l'endroit du Préfet de San-Pédro, le Préfet de la région de la Nawa, le Préfet de la région du Haut Sassandra, les différents chefs de villages des zones ciblées.

Aux personnes qui n'ont pas été citées et qui m'ont aidé de près ou de loin, merci à tous.

Que Dieu vous bénisse !!!

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

% :	Pourcentage
ACP :	Analyse en Composantes Principales
ANOVA :	Analysis Of Variance
ADF :	Fibres insolubles au Détergent Acide
AOAC:	Association of Official Agricultural Chemists
Aw :	Activité de l'eau
CAH :	Classification Ascendante Hiérarchique
CCC :	Conseil Café-Cacao
CIRAD :	Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement
CNRA :	Centre National de Recherche Agronomique
EPT :	Eau Peptonée Tamponnée
FAO :	Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation
FCC:	Fédération of Cocoa commerce
FID:	Flame Ionization Detector
FAME :	Fatty Acid Methyl Esters
GC :	Gaz Chromatography
GC-MS :	Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse
HPLC :	Chromatographie Liquide Haute Performance
ICCO :	International Cocoa Organization
ISO :	Organisation internationale de normalisation
Kg :	Kilogramme
LIHME :	laboratoire des Interactions Hôtes-Microorganismes et Evolution
mL:	Millilitre
MRS:	Man-Rogosa et Sharp

MS :	Matière Sèche
NIST :	National Institute of Standards and Technology
OCDE :	Atlas régional de l'Afrique de l'Ouest
OTA :	Ochratoxine A
p/v :	Poids sur volume
pH :	Potentiel d'hydrogène
PIB :	Produit Intérieur Brut
QHSE :	Qualité Hygiène Sécurité Environnemental
SM :	solution mère
SPME :	Solid Phase Micro Extraction
UFC :	Unité formant colonie
UFC/g :	Unité formant colonie par gramme
UFR :	Unité de Formation et de Recherche
UJLoG :	Université Jean Lorougnon GUEDE

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I: Caractéristiques morphologiques des cabosses et des fèves de cacao <i>Criollo</i> , <i>Forastero</i> , <i>Trinitario</i> et <i>Mercedes</i>	12
Tableau 2: Pays Producteurs de cacao en million de tonnes (MT)	14
Tableau III: Acides gras obtenus dans le beurre de cacao	18
Tableau IV: Composés en protéines et acide aminé.....	20
Tableau V: Différentes vitamines retrouvées dans le cacao.....	22
Tableau VI: Tableau de la composition chimique de fèves de cacao fermentées et séchées et celle de la liqueur de cacao.....	50
Tableau VII: Prolifération des microorganismes en fonction de l'activité de l'eau.....	51
Tableau VIII: Caractéristiques des fèves par la méthode du Cut test et autres défauts liés à la qualité des fèves de cacao.....	52
Tableau IX: Liste des matériels et divers produits utilisés lors des analyses	60
Tableau X: Villages enquêtés dans les zones d'étude.....	61
Tableau XI: Échantillons de fèves collectées au cours de la fermentation	70
Tableau XII: Méthode de préparation des différents milieux de culture	71
Tableau XIII: Site d'échantillonnage et nombre d'échantillons en fonction des zones enquêtées	75
Tableau XIV: Programme d'élution au cours de l'injection des composés phénoliques et alcaloïdes	95
Tableau XV: Fréquence de la population enquêtée selon l'âge.....	105
Tableau XVI: Proportion des brassages des fèves en fonction des zones enquêtées	108
Tableau XVII: Différents temps de séchage selon la zone d'étude	113
Tableau XVIII: Pic de croissance des différents microorganismes cible.....	131
Tableau XIX: Composition globale et valeur calorifique des fèves marchandes (Moy $\pm$ SD).	152

Tableau XX: Évaluation du Cut test des fèves en fonction du support et de la zone de production (Moy $\pm$ SD).....	156
Tableau XXI: Facteur de la qualité marchande de fèves de cacao (Moy $\pm$ SD)	158
Tableau XXII: Composition en acides gras des beurres extraits, du profil en composés phénoliques et alcaloïdes puriques (Moy $\pm$ SD).....	165
Tableau XXIII: Composition en fibres des fèves de cacao (Moy $\pm$ SD)	177
Tableau XXIV: Profils des composés phénoliques et des alcaloïdes (Moy $\pm$ SD)	181
Tableau XXV: Espèces de moisissures isolées dans les poudres de cacao.....	202
Tableau XXVI: Profil d'acides aminés libres des liqueurs issues des fèves fermées sur les différents supports de fermentation analysé par HPLC (N=3) (Moy $\pm$ SD)	227
Tableau XXVII: Composés organiques volatils identifiés dans les liqueurs des échantillons prélevés dans la zone de San-Pédro (Moy $\pm$ SD)	235
Tableau XXVIII: Composés organiques volatils identifiés dans les liqueurs des échantillons prélevés dans la zone de Daloa (Moy $\pm$ SD)	242
Tableau XXIX: Composés organiques volatils identifiés dans les liqueurs des échantillons prélevés dans la zone de Soubré (Moy $\pm$ SD)	248
Tableau XXX: Coloration des liqueurs de fèves de cacao (Moy $\pm$ SD)	252
Tableau XXXI: Récapitulatif des différents score pour chaque liqueur analysée	257

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1: Différentes étapes de l'obtention des fèves de cacao	9
Figure 2: Différentes variétés de cacao cultivé	11
Figure 3: Zones de production de cacao dans le monde ; Indication : Monde ; 2016 – 2023..	13
Figure 4: Pays transformateurs de fèves de cacao.....	15
Figure 5: Principaux pays consommateurs de cacao en 2022	16
Figure 6: Structure chimique de la théobromine et de la caféine	23
Figure 7: Evolution des sucres et des composés non volatil au cours de la fermentation.....	27
Figure 8: Ecabossage des fèves de cacao	32
Figure 9: Masse de fèves stockées pour la fermentation.....	33
Figure 10: Séchage des fèves de cacao sur des claies ; Transport	34
Figure 11: Entreposage de fèves de cacao séchées.	35
Figure 12: Réactions dans une fève de cacao au cours de la fermentation	37
Figure 13: Processus de fermentation spontanée des fèves de caca.....	38
Figure 14: Différentes méthodes de fermentation.....	40
Figure 15: Dynamique des communautés microbiennes impliquées et bilan des réactions microbiennes dans la pulpe du cacao au cours de la fermentation.....	46
Figure 16: Différents facteurs de qualité influençant le prix d'achat des fèves marchandes de cacao.....	54
Figure 17: Cartographie de la zone d'étude	57
Figure 18: Échantillons prélevés dans les zones d'études.....	59
Figure 19: Méthodes d'écabossage.....	63
Figure 20: Fermentations dans les feuilles de bananier	64
Figure 21: Fermentation dans les feuilles de palmier.....	64
Figure 22: Fermentation dans les sacs en polypropylène	65

Figure 23: Fermentation dans les sacs en jute	65
Figure 24: Fermentation des fèves dans les cabosses.....	66
Figure 25: Fermentation sur les bâches en polypropylène	66
Figure 26: Séchage des fèves de cacao sur bâche en polypropylène	67
Figure 27: Dispositif expérimental pour la fermentation des fèves de cacao chez chaque producteur.....	68
Figure 28: Ensemencement en profondeur et incubation.....	71
Figure 29: Ensemencement en surface et incubation	72
Figure 30 : Recherche de <i>Bacillus</i> sp. à forme sporulée	76
Figure 31: Tamis des fèves de cacao.....	81
Figure 32: Prise de la masse après séchage.....	83
Figure 33: Diagramme de fabrication de la liqueur de cacao.....	96
Figure 34: Proportion de la population enquêtée selon le genre.....	104
Figure 35: Situation matrimoniale des personnes enquêtées.....	106
Figure 36: Répartition en fonction de l'espace occupé par le cacaoyer	106
Figure 37: Répartition des zones d'études en fonction des supports de fermentation utilisés	107
Figure 38: Temps de fermentation en fonction des zones d'étude	108
Figure 39: Facteurs limitants ou motivants de l'utilisation des supports de fermentation	110
Figure 40: Facteur d'utilisation des supports de fermentation.....	112
Figure 41: Supports de séchage en fonction des zones d'étude	113
Figure 42: Facteurs limitants ou motivants de l'utilisation des supports de séchage	115
Figure 43: Facteurs d'utilisation des supports de séchage.....	117
Figure 44: Évolution de la température et du pH au cours de la fermentation.....	126
Figure 45: Évolution de la flore microbienne au cours de la fermentation.....	130
Figure 46: Variation de la concentration en sucre réducteur au cours de la fermentation	133
Figure 47: Évolution des acides organiques au cours de la fermentation	135

Figure 48: Coloration de la coque des fèves fermentées et séchées selon les supports	147
Figure 49: Corrélation reprenant les valeurs des paramètres physico-chimiques des fèves séchées en fonction du support de fermentation.....	154
Figure 50: Degré de fermentation et le niveau de dégradation des fèves.....	155
Figure 51: Corrélation entre les paramètres de la qualité morphologiques de fèves séchées en fonction du support de fermentation.....	161
Figure 52: Exemple de chromatogramme du profil d'acide gras	163
Figure 53: Interaction de la teneur en beurre de cacao et son profil en fonction du support de fermentation.....	168
Figure 54: Analyse de similarité entre les différents supports de fermentation dans les trois zones d'étude	169
Figure 55: Composition en minéraux des fèves de cacao	173
Figure 56: Interdépendance de la teneur en minéraux en fonction support de fermentation .	175
Figure 57: Chromatogrammes des composés phénoliques et des alcaloïdes	179
Figure 58: Corrélation des composés phénoliques et alcaloïdes aux les supports de fermentation dans les trois zones d'étude	183
Figure 59: Corrélation de la composition phénolique des fèves de cacao en fonction du support de fermentation.....	184
Figure 60: Flore fongique de la poudre de cacao des différents supports de fermentation....	201
Figure 61: Fréquence de contamination des espèces de moisissure isolées dans les poudres de cacao	206
Figure 62: Exemple de chromatogramme des acides organiques et sucres reducteurs. b	207
Figure 63: Colonie de bactéries de genre <i>Bacillus</i> thermorésistant dans la poudre de cacao	207
Figure 64: Population de <i>Bacillus</i> (forme sporulée) dans la poudre de cacao	208
Figure 65: Résultats des tests biochimiques sur les présumés <i>Bacillus cereus</i>	210
Figure 66: Exemple de chromatogramme des acides organiques et sucres reducteurs.....	218
Figure 67: Concentration en acides organiques et sucres reducteurs	218

Figure 68: Interdépendance de la composition en sucre réducteur et acide organique et des sucres réducteurs avec les différents supports de fermentation.....	223
Figure 69: Chromatogrammes des acides aminés analysés sur les fèves de cacao.....	224
Figure 70: Ratio des composés acides aminés hydrophobes/acides	229
Figure 71: interdépendance du profil en acide aminé des liqueurs avec les différents supports	231
Figure 72: Exemple de chromatogramme du profil de composés organiques volatil des liqueurs de cacao	232
Figure 73: Chromatogramme des différents composés volatils organiques avec des temps de rétention respectives des liqueurs issues des différents supports de fermentation.	233
Figure 74: Proportion par classes de composés organiques volatils identifiés dans les échantillons de liqueurs à San-Pédro.....	234
Figure 75: Interaction des composés organiques volatils en fonction des supports de fermentation dans la zone de San-Pédro	239
Figure 76: Proportion par classes de composés organiques volatils identifiés dans les échantillons de liqueurs à Daloa.....	240
Figure 77: Interdépendance des composés organiques volatils en fonction des supports de fermentation dans la zone de Daloa.....	245
Figure 78: Proportion par classes de composés organiques volatils identifiés dans les échantillons de liqueurs à Soubré	246
Figure 79: Corrélation des composés organiques volatils en fonction des supports de fermentation dans la zone de Soubré.....	251
Figure 80: Caractéristiques et perceptions sensorielles des liqueurs de cacao.....	255

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Lettres de recommandation des différentes autorités

Annexe 2 : Fiche d'enquête

Annexe 3 : Rencontre avec les chefs de village, présidents de coopératives et producteurs

Annexe 4 : Travaux avec les producteurs de cacao

Annexe 5 : Équipements de laboratoire

Annexe 6 : Processus de fabrication de la liqueur

Annexe 7 : Droite d'étalonnage des sucres et acides organiques

Annexe 8 : Droite d'étalonnage des minéraux

Annexe 9 : Chromatogrammes des composés volatils organiques

Annexe 10 : Chromatogrammes des acides aminés

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cacao (*Theobroma cacao* L.) se positionne comme l'une des principales matières premières agricoles à l'échelle mondiale, occupant la troisième place après le sucre et le café, et impliquant environ 5 à 6 millions d'agriculteurs dans le monde (Beg *et al.*, 2017). Depuis l'époque coloniale, l'Afrique de l'Ouest a été identifiée comme une importante source de matières premières (Brou *et al.*, 2013). Ainsi, dès son accession à l'indépendance, la Côte d'Ivoire a établi l'agriculture, en particulier la culture du café et du cacao, comme le véritable moteur de son économie (Amani *et al.*, 2023).

L'introduction du cacaoyer en Côte d'Ivoire a eu lieu à la fin du 19^e siècle, principalement dans la région Est du pays (Benveniste *et al.*, 1974). Bien que la culture du cacao en Côte d'Ivoire ait connu des débuts difficiles, elle a rapidement prospéré grâce à la disponibilité de terres fertiles dans la zone forestière. Cette expansion a également été favorisée par un afflux massif de main-d'œuvre, tant nationale qu'étrangère (Benveniste *et al.*, 1974).

Trois variétés principales, à savoir *Criollo*, *Forastero* et *Trinitario*, sont traditionnellement cultivées à l'échelle mondiale (Vos, 2003). Au cours des dernières années, les avancées scientifiques ont favorisé le développement de nouveaux clones et hybrides issus de croisements génétiques, parmi lesquels figurent notamment les hybrides Catongo, SNK.10, UPA 134 et LCS95. À ces variétés s'ajoute une création récente, désignée sous le nom de "*Mercedes*", introduite spécifiquement pour pallier le vieillissement des anciennes variétés de cacaoyers en Côte d'Ivoire (Karim *et al.*, 2020). Avec une production annuelle de 2,23 millions de tonnes, soit 42,22 % de la production mondiale durant la campagne 2022-2023, la Côte d'Ivoire reste le plus grand producteur de cacao au monde (ICCO, 2023). Actuellement, la filière cacao constitue un secteur économique et social de première importance pour le pays (Koné *et al.*, 2016). Ce secteur contribue à lui seul à hauteur de 15 % du produit intérieur brut (PIB) et à 40 % des recettes d'exportation du pays (Dufumier, 2016).

La fève de cacao attire un vif intérêt au sein de la communauté scientifique en raison de son potentiel dans la formulation de divers produits alimentaires. Elle est particulièrement prisée en chocolaterie pour ses caractéristiques gustatives et sensorielles uniques, qui en font un ingrédient de choix (Kongor *et al.*, 2016). Toutefois, les fèves de cacao sont classées en fonction de leur qualité aromatique, déterminée par les composés aromatiques qu'elles contiennent (Frauendorfer & Schieberle, 2008). Selon Bressanello *et al.* (2018), la qualité des produits à base de cacao est intrinsèquement liée à leur saveur, qui demeure un critère fondamental pour les fabricants. Les qualités organoleptiques revêtent donc d'une importance

capitale dans le secteur de la chocolaterie (Castro-Alayo *et al.*, 2019). En effet, les composés organiques volatils (COV) libérés par les aliments jouent un rôle crucial dans la modulation de leurs caractéristiques sensorielles, contribuant ainsi à la formation de l'arôme, principal facteur déterminant la satisfaction du consommateur (Danhelova *et al.*, 2012).

De plus, les fèves de cacao et leurs dérivés sont riches en polyphénols tels que les catéchines, l'épicatéchine et les procyanidines qui se distinguent par leurs propriétés antioxydantes. Ces composés, analogues à ceux présents dans le vin, les légumes et le thé, protègent contre le stress oxydatif en neutralisant les radicaux libres, offrant ainsi des bienfaits dans les conditions cardiovasculaires et inflammatoires (Katz *et al.*, 2011).

La production de fèves de cacao de haute qualité, en lien avec les caractéristiques mentionnées précédemment, requiert une application rigoureuse des étapes post-récolte telles que l'écabossage, la fermentation et le séchage. Parmi ces étapes, la fermentation est déterminante, car elle impacte directement la qualité finale des fèves (Schwan & Wheals, 2004; Ouattara *et al.*, 2008). Ce processus est indispensable, car sans lui, les fèves de cacao séchées ne développeront pas la saveur caractéristique du cacao lors de la torréfaction (Afoakwa *et al.*, 2008; Lima *et al.*, 2011).

La fermentation joue un rôle crucial dans l'élimination de la pulpe entourant la fève de cacao. Elle est également responsable de la production de divers composés chimiques qui servent de précurseurs aux réactions qui se produisent lors de la torréfaction. Ces processus contribuent à garantir une qualité chimique et sensorielle optimale du chocolat (Barišić *et al.*, 2019; Spizzirri *et al.*, 2019).

De plus, au cours du processus de fermentation des peptides, des acides aminés libres (AAL), et des sucres réducteurs sont libérés et forment les précurseurs de l'arôme chocolaté (Afoakwa *et al.*, 2008a; Lima *et al.*, 2011). Ainsi, des modifications physico-chimiques se produisent au niveau des cotylédons des fèves de cacao, provoquant un changement de couleur de l'amande due aux variations du pH, des acides organiques, et à l'élévation de la température (Bankoff *et al.*, 2013). Ces modifications structurelles des cotylédons entraînent des interactions moléculaires tant à l'extérieur qu'à l'intérieur de la fève. Elles sont essentielles à la formation des précurseurs des arômes du chocolat, principalement composés de glucides et d'acides aminés, permettant ainsi de réduire l'astringence et d'ajuster l'amertume à un niveau gustatif agréable (De Vuyst & Leroy, 2020).

Une fermentation mal maîtrisée exerce une influence sensorielle sur le produit final du cacao. En effet, la teneur en acide lactique, condensée au cours de la fermentation, peut parfois persister dans le chocolat transformé, lui conférant ainsi un goût non souhaité (Barel, 2013).

La phase de fermentation se subdivise en deux étapes distinctes. La première consiste en une fermentation microbienne de la pulpe sucrée, entraînant sa conversion en acide citrique par le biais d'un processus alcoolique initié par des levures et des bactéries lactiques. La seconde étape, plus exothermique, se caractérise par une fermentation acétique résultant de modifications biochimiques internes au niveau du cotylédon. Cette étape implique la présence de bactéries acétiques et de *Bacillus* (Afoakwa *et al.*, 2011). Cependant, l'ordre d'émergence et de succession des microorganismes peut varier en fonction des fluctuations des conditions climatiques locales, les paramètres physico-chimiques et du support de fermentation utilisé (Ardhana & Graham. F. 2003a). Ces variations peuvent ainsi influencer positivement ou négativement la qualité finale de la fève de cacao.

Dans la cacaoculture, la principale mycotoxine est l'ochratoxine A (OTA) produite par les moisissures *Aspergillus*, bien que des aflatoxines aient également été détectées (Mills *et al.*, 2006). De plus, la fermentation, en tant qu'étape post-récolte principalement microbienne permettent souvent la survie d'un microbiote dominé par le genre *Bacillus* et ses espèces apparentées malgré les transformations industrielles des fèves de cacao (Barrile *et al.*, 1971). Toutefois, la capacité de ces organismes à former des endospores, parfois associée à une résistance à la chaleur extrême, suggère qu'ils peuvent survivre aux processus industriels, engendrant ainsi des problèmes potentiels de détérioration et de sécurité alimentaire (Ho *et al.*, 2014a). Par ailleurs, les producteurs de cacao font face à la présence significative de fèves ardoisées, moisies et germées, attribuables à des traitements insuffisants lors des processus de fermentation et de séchage (Kouakou *et al.*, 2013).

En général, le support local de fermentation le plus utilisé est la feuille de bananier (*Musa sp*) qui offre les meilleures qualités marchandes, microbiologiques et organoleptiques de fèves de cacao. Les bananiers sont habituellement cultivés en association avec le cacao dès la première année de culture, constituant ainsi une source alimentaire pour les producteurs (Barel, 2013). Dans les plantations, les bananiers offrent de l'ombre pendant les quatre à cinq premières années, jusqu'à ce que le cacaoyer soit suffisamment développé pour tolérer la chaleur. De plus, ils constituent une source de revenus complémentaire avant que le cacaoyer n'entre en production. Lorsque les cacaoyers grandissent et atteignent leur envergure maximale, la lumière n'est plus suffisante pour les bananiers qui disparaissent. Aussi, quelques-uns sont laissés

seulement en bordure de champ pour l'autoconsommation de la famille ou de revenu complémentaire.

Cependant, depuis plus de dix ans, l'utilisation des feuilles de bananier comme supports de fermentation est devenue un facteur limitant pour le principal procédé post-récolte. Ce problème résulte des variations climatiques, du vieillissement des sols et de l'ombrage des cacaoyers, entraînant, de plus en plus, la disparition progressive des bananiers. Comme alternative, les producteurs utilisent les bâches plastiques et les caisses en bois comme supports de fermentation. Toutefois, l'étude de Guehi *et al.* (2007) a révélé que les fèves fermentées sur ces supports ne répondent pas aux normes de qualité exigées par le marché international. Cela conduit à la production de fèves défectueuses et à une dégradation de la qualité marchande et organoleptique du produit final.

Cette situation pourrait expliquer les dévaluations subies par le cacao ivoirien sur le marché international. Elle est susceptible d'entraîner une baisse des prix de vente, impactant directement les revenus des producteurs. Sans l'adoption rapide de mesures correctives efficaces et adaptées, leur avenir économique deviendrait incertain. Il leur serait alors difficile de subvenir dignement à leurs besoins, de garantir la scolarisation de leurs enfants ou d'assurer les soins nécessaires à leur famille.

De plus, pour garantir la sécurité alimentaire, les pays de l'Union Européenne et leurs partenaires au développement ont mis en place des dispositions légales et réglementaires. Ces mesures visent à renforcer les systèmes de traçabilité, assurant ainsi la transparence de l'offre de cacao durable grâce à un registre rigoureux et une gestion stricte de la chaîne d'approvisionnement (Van der Forest, 2006).

Face à cette situation préoccupante de pénurie de feuilles de bananier, il est donc indispensable de trouver des alternatives viables pour garantir la qualité des fèves de cacao en Côte d'Ivoire. Ces alternatives doivent être disponibles, accessibles, moins coûteuses et moins pénibles à utiliser. De nouveaux supports de fermentation sont désormais adoptés par les petits producteurs dans les principales zones de production de cacao en Côte d'Ivoire. Ces innovations visent à améliorer la qualité des fèves de cacao tout en contribuant à l'amélioration des conditions de vie des producteurs. Par ailleurs, à notre connaissance, il existe peu de données concernant la qualité des fèves issues de ces supports de fermentation en Côte d'Ivoire, malgré leur potentiel pour expliquer l'hétérogénéité des lots de fèves de cacao produits et leur variabilité en termes de qualité.

Ce travail de recherche est particulièrement pertinent, car en attendant la publication de la norme ISO 34101, qui définit les exigences pour un système de gestion de la culture des fèves de cacao et rendra la production plus durable, l'Union Européenne, principal client du cacao ivoirien, a déjà mis en vigueur ses règlements. Ces règlements sont entrés en vigueur dès le 1^{er} avril 2013. À savoir : la norme UE n°835/2011 du 19 août 2011, la norme n° 105/2010 qui ne tolèrent aucun écart sur la qualité de cacao. L'hypothèse sous-jacente testée dans ce travail stipule que la diversification des supports de fermentation devrait impacter-elle les caractéristiques quantitatives et qualitatives finales des fèves de cacao. Dans ce cadre, notre étude se concentrera sur la problématique post-récolte du cacao en Côte d'Ivoire, en mettant un accent particulier sur le processus de fermentation des fèves, qui constitue la problématique centrale de cette recherche : « Quels supports de fermentation pourraient permettre de donner des fèves de cacao présentant des caractéristiques quantitatives et qualitatives comparables à celle obtenue par fermentation sur feuilles de bananier, considérées comme la référence en Côte d'Ivoire ? »

Cette interrogation engendre cinq questions spécifiques et s'annoncent de la manière suivante : Quelles sont les nouvelles technologies de fermentation paysannes des fèves de cacao en Côte d'Ivoire aujourd'hui ?; La diversité de procédé de fermentation des fèves de cacao n'entraîne-t-elle pas une variation des paramètres physico-chimiques et microbiologique au cours de la fermentation ?; La variation des supports de fermentation n'a-t-elle pas une influence sur la qualité physico-chimique et la valeur marchande finale des fèves après leur séchage ?; La variation des supports de fermentation influence-t-elle la qualité microbiologique des fèves de cacao après le séchage ?; Enfin, la variation des supports de fermentation n'influence-t-elle pas la qualité organoleptique et les perceptions sensorielles du produit final ?

C'est sous cet angle moteur que nous avons abordé cette étude de recherche qui a pour but de pérenniser la filière cacao dans le processus d'amélioration continue de la qualité des fèves de cacao.

L'objectif principal est d'évaluer l'impact de ces nouveaux supports de fermentation sur la qualité des fèves de cacao dans différentes zones de production de cacao en Côte d'Ivoire.

A cet objectif principal, ont été assignés cinq objectifs spécifiques, à savoir :

- ✓ Identifier *via* une enquête, l'ensemble des supports de fermentation et de séchage des fèves de cacao en Côte d'Ivoire ;

- ✓ évaluer la variation des paramètres physico-chimiques, microbiologiques et les métabolites induites au cours de la fermentation sur les nouveaux supports identifiés ;
- ✓ déterminer les caractéristiques physico-chimiques et la qualité marchande des fèves de cacao après séchage ;
- ✓ évaluer la flore microbienne influençant négativement la qualité du produit final après séchage ;
- ✓ déterminer les caractéristiques organoleptique et les perceptions sensorielles des liqueurs issues des fèves de cacao fermentées sur les nouveaux supports de fermentation.

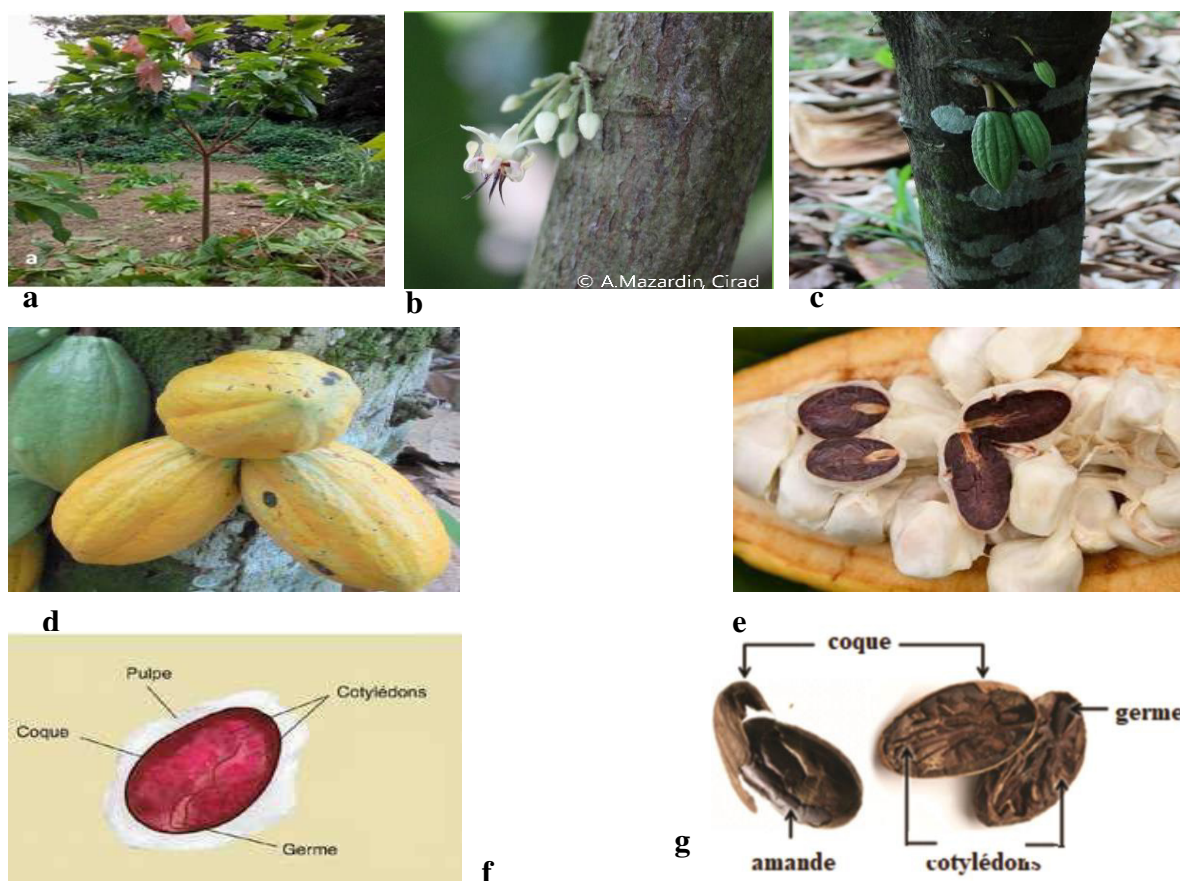
Outre l'introduction, la conclusion, les recommandations et les perspectives, le présent mémoire s'articule autour de trois grandes parties. Dans la première, il sera présenté les généralités sur le cacao. La deuxième partie rend compte du matériel et des méthodes utilisés dans le cadre de cette étude pour atteindre les objectifs fixés. La troisième partie présente les résultats qui seront discutés.

PRÉMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS

1. FÈVE DE CACAO ET CARACTÉRISTIQUES

1.1. Présentation de la fève de cacao

Le cacaoyer (*Theobroma cacao*), est un arbre tropical originaire d'Amérique centrale, plus précisément du Mexique présentant des inflorescences (Figure 1 a) qui se développent directement sur le tronc et les branches (Badrie *et al.*, 2015). Cet arbre peut atteindre une hauteur de 10 à 20 mètres, voire jusqu'à 25 mètres dans des conditions de culture optimales. Sa production débute entre 2 et 5 ans et atteint son rendement maximal autour de 10 ans, avec une durée de vie de 30 à 40 ans (Badrie *et al.*, 2015). Le fruit du cacaoyer est communément appelé « chérelle » (Figure 1c) pendant sa croissance à partir de la fleur (Figure 1b), puis « cabosse » (Figure 1 d) lorsqu'il atteint la maturité.



Source : Okiyama *et al.* (2017) ; Colombo *et al.* (2012) et Oddoye *et al.* (2013)

Figure 1: Différentes étapes de l'obtention des fèves de cacao

a : cacaoyer ; b: fleur du cacaoyer ; c: Chérelle ; d: cabosses mure ; e: fèves de cacao fraîches en cabosse ; f: graine de cacao et composition ; g : composition de la fèves fermentées et séchée

La fève est contenue dans la cabosse de cacao (Figure 1 e). Elle est composée de trois parties principales tel que les coques de cacao, mucilage et la fève de cacao (Figure 1f). La fève de cacao a la forme d'une amande plus ou moins bombée de 2 à 3 cm de long, recouverte d'une pulpe mucilagineuse blanche constitué à 80 % d'eau, 10 à 15 % de sucre (fructose et glucose) et 2 à 3 % de pectine (Roini *et al.*, 2019). Cependant, l'appellation "fève de cacao" est réservée à la graine ayant subi les opérations de fermentation et de séchage (figure 1 g) nécessaires à la préparation du cacao marchand utilisée pour la préparation du chocolat.

1.2. Différentes variétés de fèves de cacao

Il existe plusieurs variétés de fèves de cacao, chacune ayant des caractéristiques distinctes en termes de goût, de qualité et d'utilisation. Les trois principales espèces de cacao sont : *Criollo*, *Forastero* et *Trinitario* (Figure 2). Chaque variété de fève de cacao a ses propres caractéristiques qui influencent le goût et la texture du chocolat final.

1.2.1. Variété « *Forastero* »

Cette famille de variétés de cacao est la plus répandue, en particulier en Afrique, avec une concentration significative en Côte d'Ivoire et au Ghana, qui à eux seuls représentent plus de 80 % de la production mondiale de cacao. Les cabosses de *Forastero* sont lisses (Figure 2 a), parfois verruqueuses, et peuvent être allongées ou arrondies (comme dans le cas de l'Amelonado), avec une couleur variante du vert au jaune à maturité (Tixier, 2013b ; Asiedu, 2022).

1.2.2. Variété « *Criollo* »

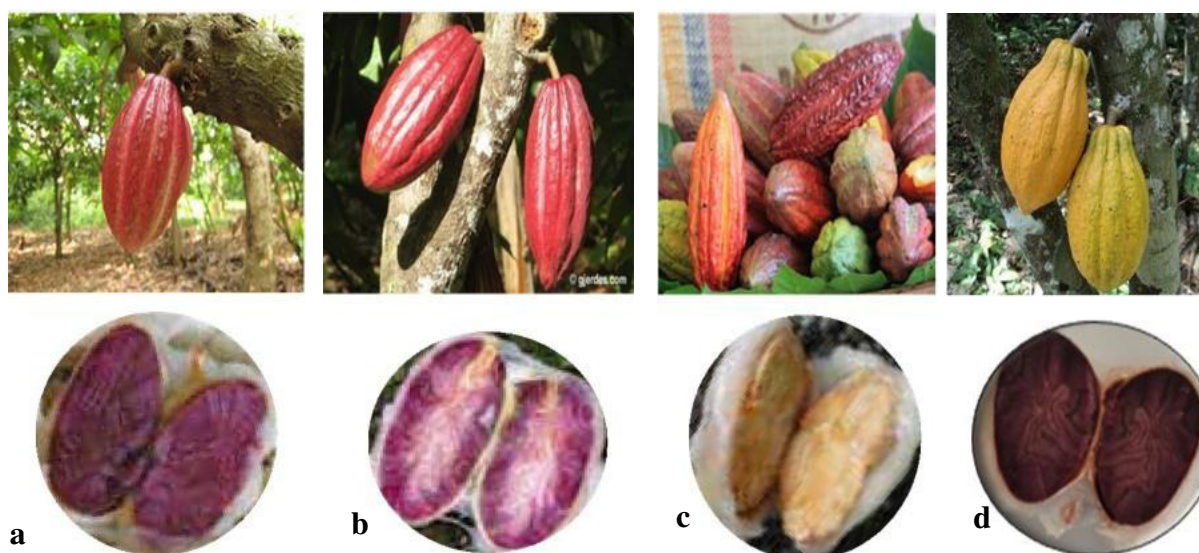
Elle est cultivée dans quelques îles de l'Océan Indien comme Madagascar, les Comores et quelques régions d'Asie (Tixier, 2013). Les fèves (Figure 2 b) sont de couleur blanc ivoire ou de couleur pourpre très pâle, en raison d'un gène inhibiteur de l'anthocyanine (Fowler, 1999; Ferrão, 2002).

1.2.3. Variété « *Trinitario* »

Les cabosses présentent une couleur intermédiaire entre le clair des *Criollo* et le foncé des *Forastero*, et possèdent toutes les caractéristiques intermédiaires entre ces deux variétés (Tixier, 2013b). Les fèves (Figure 2 c) varient en couleur, bien qu'elles soient rarement blanches, et les arbres montrent une sensibilité intermédiaire aux ravageurs et aux maladies, entre celle des variétés *Forastero* et *Criollo* (Bartley, 2005).

1.2.4. Variétés Hybrides

Ces dernières années, avec le progrès scientifique, les brassages génétiques ont permis l'apparition de nouveaux clones et hybrides (Djougou *et al.*, 2007). C'est le cas du CCN-51, un hybride originaire de l'Équateur, issu du croisement entre les variétés Iquitos (Équateur-Pérou, 45,4 %), Criollo (Amazonie, 22,2 %) et Amelonado (Ghana et Amérique centrale, 21,5 %), qui présente une résistance notable à *Moniliophthora perniciosa*. La variété *Mercedes* mise au point par des scientifiques ivoiriens (Figure 2 d) se distingue quant à elle par sa précocité de croissance et son rendement final particulièrement élevé (Yes international, 2022).



Source : (Barrau J, 1979).

Figure 2: Différentes variétés de cacao cultivé

a : cabosses et fèves de cacao de type « Forastero » ; b : Cabosses et fèves de cacao fraîches de cacao de type « criollo » c : cabosse et fève de cacao de type « Trinitario » ; d : cabosse et fèves de cacao de type « Mercedes »

1.3. Avantages et limites des différentes variétés de fèves de cacao

Chaque variété de cacao a ses avantages et ses limites, et leur choix dépend souvent des exigences spécifiques du chocolatier ou du producteur de cacao, que ce soit en termes de goût, de rentabilité ou de résistance aux maladies. Le Tableau I regroupe de manière synthétique les différentes caractéristiques morphologiques des cabosses et des fèves de cacao des variétés *Forastero*, *Criollo* et *Trinitario* (Lima *et al.*, 2011; Bernardini, 2015; Kongor *et al.*, 2016).

Tableau I: Caractéristiques morphologiques des cabosses et des fèves de cacao *Criollo*, *Forastero*, *Trinitario* et *Mercedes*

Source : Are & Gwynne-Jones, (1974) et Wood & Lass (1985)

Caractéristiques	<i>Forastero</i>	<i>Criollo</i>	<i>Trinitario</i>	<i>Mercedes</i>
Forme des fèves	Plate	Dodue	Variable	fèves plus grosses et lourdes
Nombre de fèves par cabosse	> 30	20-30	> 30	> 30
Couleur du cotylédon	Pâle / violet	Blanc/pâle	Variable	Violet
Gout	Amer et robuste	Sucré, complexe, fruité	Doux, équilibré, aromatique	-
Production	80-90%	5-10%	10-15%	-
Utilisation	Chocolat industriel	Chocolat haut de gamme	Chocolat haut de gamme	Chocolat industriel
Caractéristiques	Résistant, grand rendement	Qualité supérieure, faible rendement	Mélange de <i>Forastero</i> et <i>Criollo</i>	Résistant, fort rendement

1.4. Importance socio-économique du cacao

Dans le monde, la culture du cacaoyer revêt une grande importance en raison de son rôle dans la fabrication et le commerce du chocolat. Ce dernier occupe la première place dans le secteur mondial de la confiserie, avec une valeur annuelle estimée à plus de 80 milliards de dollars américains.

En Côte d'Ivoire, le cacao culture occupe une population agricole de plus d'un million de planteurs et procure de nombreux emplois dans les secteurs secondaire et tertiaire (ICCO, 2015). Il est estimé qu'environ trois millions de personnes vivent des revenus du cacao. Environ 600.000 chefs d'exploitation à la fin des années 1970, cette culture a continué à mobiliser plus d'un million de paysans dans les années 2000 (Assiri *et al.*, 2009).

Au plan économique, le cacao procure environ 40 % des recettes d'exportations et contribue à plus de 15 % au produit intérieur brut (PIB) (Dufumier, 2016). La Côte d'Ivoire se positionne en tant que premier exportateur mondial de fèves de cacao, représentant un produit agricole de rente d'une grande importance économique pour le pays (Guehi *et al.*, 2007). Elle renforce sa position de leader mondial avec une production ayant augmenté de 35,3 % sur une période de 10 ans (ICCO, 2014).

1.5. Zone de production et transformation mondiale du cacao

1.5.1. Zones de production de cacao dans le monde

Le cacao occupe la 3^e place sur le marché mondial des matières premières, derrière le sucre et le café (Anga, 2016). Sa production mondiale s'élève à 4,5 millions de tonnes (ICCO, 2023). Cette production est assurée par l'Amérique du Sud, l'Afrique et le Sud asiatique représentant la zone ceinture équatoriale, situés « entre 20° de latitude nord et 20° de latitude sud et à une altitude de moins de 600 à 800 m » entre le tropique du cancer et le tropique du capricorne (Figure 3a). (Tixier, 2013). Les pays d'Amérique latine ne représentent que 18 % de la production mondiale de cacao, tandis que ceux d'Asie contribuent à hauteur de 7 %. Parmi les autres producteurs notables figurent l'Équateur, le Cameroun, le Nigéria, l'Indonésie, le Brésil, l'Ouganda, le Togo, la Sierra Leone, Madagascar, la Malaisie, la Papouasie-Nouvelle-Guinée, l'Inde, le Mexique, le Pérou, la République dominicaine, la Colombie, le Venezuela, le Guatemala et Haïti. Ces pays sont également des acteurs clés dans la production mondiale de cacao (ICCO, 2019).

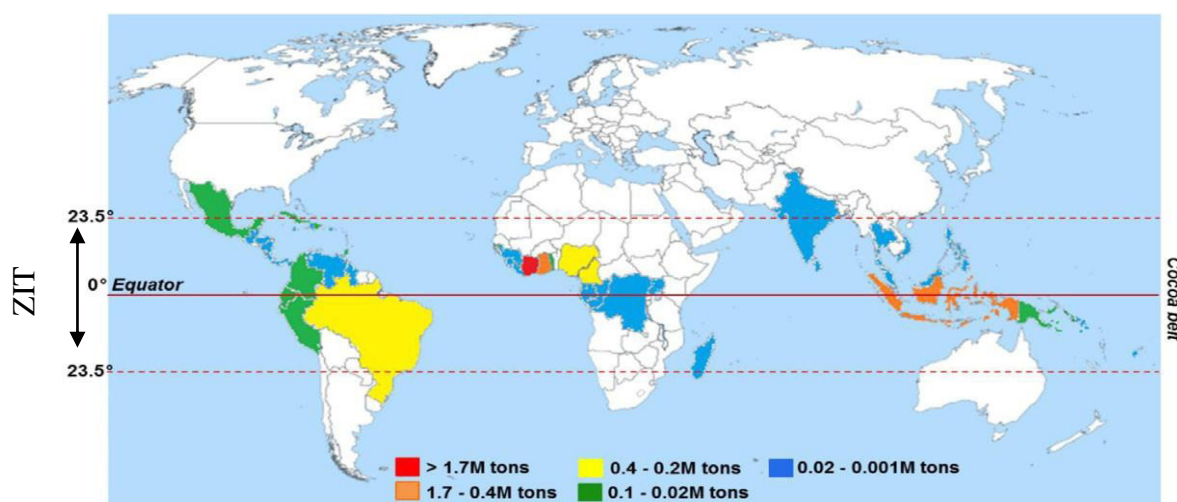


Figure 3: Zones de production de cacao dans le monde ; Indication : Monde ; 2016 – 2023

Pays producteurs de fèves de cacao dans la ceinture cacaoyère, entre 23.5°N et 23.5°S de l'équateur. La ligne continue rouge représente l'équateur et les lignes pointillées dans chaque hémisphère représentent les emplacements de 23,5°S et 23,5°N de l'équateur. La région entre les lignes pointillées rouges indique la ceinture cacaoyère. La majorité des fèves de cacao proviennent de l'Afrique de l'Ouest et importée vers l'Union Européenne (54 %), puis l'Amérique du Nord (13 %) et l'Asie (12,4 %). (Source : RUF, 1991) ; ZIT : Zone Intertropicale

Sept pays à eux seuls génèrent plus de 90 % de la production mondiale. Les pays africains détiennent 75 % de la production mondiale, plus précisément l'Afrique de l'Ouest assure avec 70 % de cette production, principalement de la variété Forastero (Ozturk &

Young, 2017). La Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial de cacao avec une production totale de 230 millions de tonnes (ICCO, 2023) représentant plus de 45 % de la production mondiale, suivi par le Ghana avec 905 000 tonnes (Tableau II).

Tableau 2: Pays Producteurs de cacao en million de tonnes (MT)

Source : ICCO (2023)

	2022- 2023	2021- 2022	2020- 2021	2019- 2020	2018- 2019	2017- 2018	2016- 2017
Côte d'Ivoire	2 230	2248	2105	2150	1964	1964	2020
Ghana	750	822	1047	771	900	905	969
Indonésie	200	180	170	200	220	240	270
Équateur	370	370	365	342	298	285	290
Cameroun	300	280	200	280	250	250	240
Nigéria	280	280	290	250	245	255	245
Brésil	220	210	200	201	195	204	174

1.5.2. Zones de transformation du cacao dans le monde

L'Amérique latine est la deuxième source de cacao pour les régions de transformation telle que l'Union Européenne et l'Amérique du Nord (ICCO, 2014). Les fabricants transforment les fèves de cacao en produits chocolatés consommables (Saltini *et al.*, 2013a). La plupart des fèves de cacao produites dans le monde sont transformées dans les pays situés en dehors de la ceinture cacaoyère (Schwan & Wheals, 2004b). Les pays qui transforment le plus de cacao sont les Pays-Bas, l'Allemagne, les États unis, le Brésil, la Côte d'Ivoire, le Ghana, l'Indonésie et la Malaisie (Figure 4) ; (ICCO, 2014a). Parmi ces pays, les pays bas transforment la plus grande quantité de fèves de cacao, représentant 13 % de la production mondiale (ICCO, 2014). La Côte d'Ivoire, premier producteur mondial, est également le troisième transformateur de fèves de cacao en produit semi-fini tel que : pâte de cacao (liqueur), beurre de cacao et poudre de cacao destiné à être expédiées (ICCO, 2014).

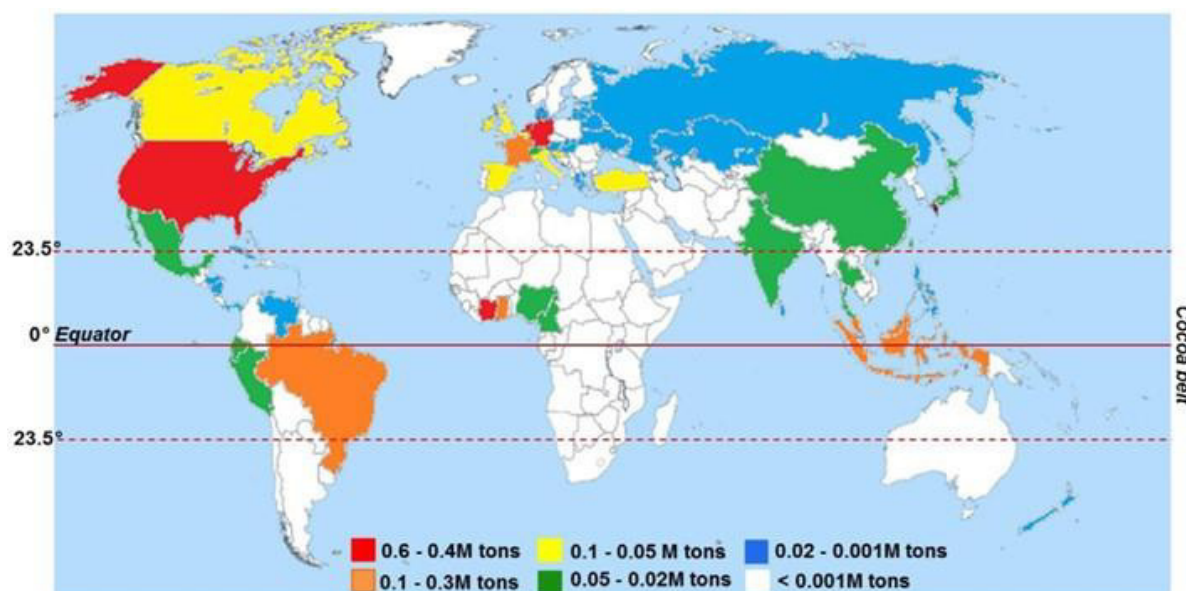


Figure 4: Pays transformateurs de fèves de cacao

Pays transformant le plus de fèves de cacao se trouvent en dehors de la ceinture cacaoyère. La ligne continue rouge représente l'équateur et les lignes pointillées dans chaque hémisphère représentent les emplacements de 23,5°S et 23,5°N de l'équateur. La région entre les lignes pointillées rouges indique la ceinture cacaoyère. La majeure partie de la transformation se fait en dehors de la ceinture cacaoyère. Nous définissons la transformation du cacao comme toute procédure commençant par le broyage des fèves de cacao. Chaque couleur représente la quantité de production de cacao en million de tonnes (MT). Source (s) : ICCO; ID 565101.

1.6. Consommation du cacao dans le monde

Le nom de genre *Theobroma* signifie « nourriture des dieux ». Il se compose des termes grecs "broma", signifiant nourriture, et "Theo", désignant un dieu. Le terme cacao dérive du mot aztèque "xocolatl", où "xococ" signifie « amer » et « atl » fait référence à l'eau (Colombo *et al.*, 2012). Le cacao est un ingrédient clé dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire. Il est utilisé dans des produits tels que les tourteaux, les biscuits, les confiseries chocolatées, le chocolat à tartiner, les boissons au cacao, les aliments pour enfants, les glaces et les sucreries (Tafari *et al.*, 2004). La Côte d'Ivoire n'utilise que 17,2 % de leur propre production de fèves de cacao (ICCO, 2007).

Selon les statistiques, l'Union européenne est le plus grand consommateur de cacao, représentant près de 50 % de la production mondiale de cacao. L'Allemagne, la France, la Belgique et la Suisse, par exemple, ont des habitudes de consommation de chocolat très ancrées (Figure 5).

En ce qui concerne les autres régions, les États-Unis figurent parmi les plus gros consommateurs. En 2023, la consommation par habitant y était estimée à environ 5,5 kg, bien

que les États-Unis aient un marché principalement dominé par les produits transformés. Selon les statistiques de l'Organisation internationale du cacao (ICCO), le Brésil se classe au sixième rang en termes de consommation de cacao (ICCO, 2016). La Suisse arrive en tête avec une consommation annuelle par habitant de 11,8 kg en 2022 (ICCO, 2024). Le pays est bien connu pour son excellente industrie du chocolat, Toblerone et Lindt faisant partie des marques les plus connues (Figure 5). L'Allemagne voisine est également en tête de liste avec 5,8 kg par habitant, tandis que les Américains consommeraient en moyenne 9 kg de chocolat par an. Les pays asiatiques, comme le Japon et la Chine, montrent une tendance croissante dans leur consommation de chocolat, bien que de manière moindre, contrairement à l'Europe et aux États-Unis (CAOBISCO, 2024).

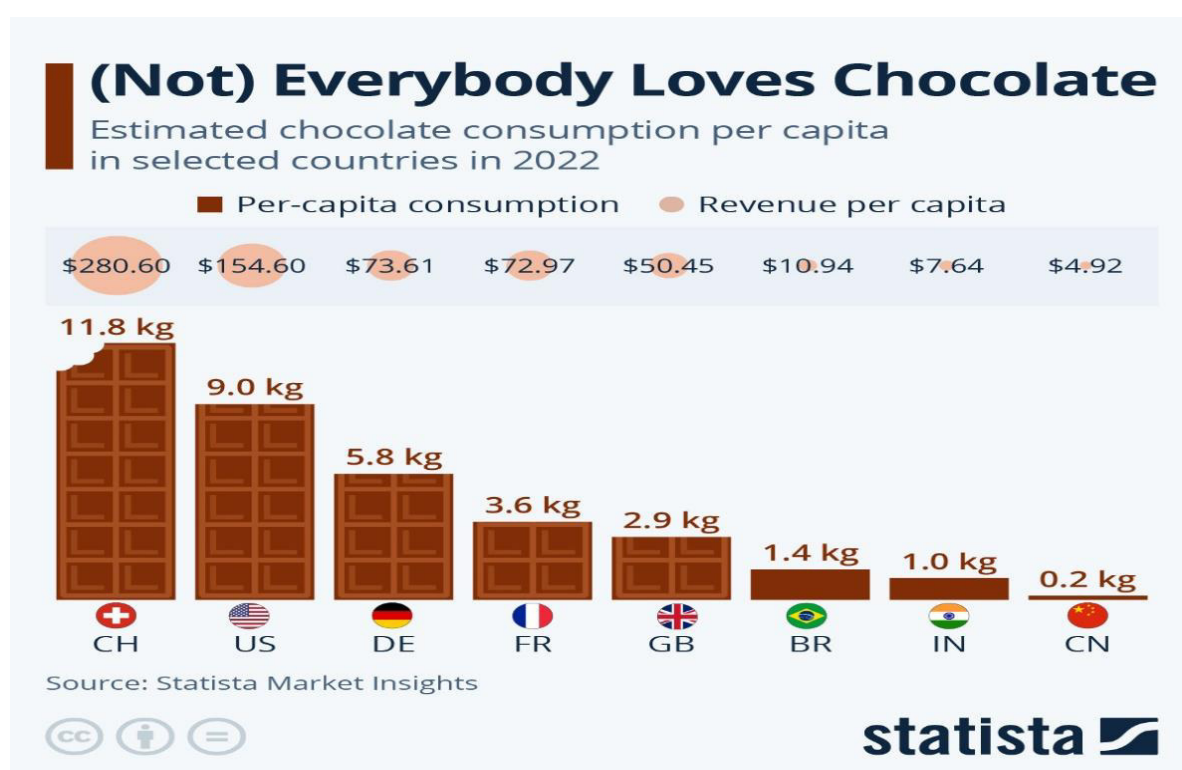


Figure 5: Principaux pays consommateurs de cacao en 2022

1.7. Composition nutritionnelle et énergétique des fèves de cacao

La pulpe de cacao est composée d'environ 82 à 87 % d'eau, de 10 à 15 % de sucres, dont 60 % de saccharose et 39 % d'un mélange de glucose et de fructose. Elle contient également des protéines, des acides aminés, des vitamines (principalement la vitamine C) et des sels minéraux (Lanteaume *et al.*, 1972).

De manière générale, les fèves de cacao subissent plusieurs transformations pendant la fermentation et le séchage, influençant leur profil chimique, leur teneur en composés bio actifs

et leurs propriétés nutritionnelles. La première publication présentant les composés chimiques du cacao fermenté et séché est apparue en 1912. Les fèves de cacao non fermentées contiennent environ 4,2 % d'eau, 21,6 % de protéines, 55,2 % d'acides gras et 21,0 % de glucides. Après fermentation, ces valeurs diminuent légèrement, atteignant 4,0 % d'eau, 18,8 % de protéines, 53,4 % d'acides gras et 15,5 % de glucides (Afoakwa *et al.*, 2014).

1.7.1. Glucides

Les fèves de cacao contiennent environ 10-15 % de glucides (en poids sec). L'amidon constitue le glucide le plus abondant. Il se localise spécifiquement dans les fèves fraîches, tandis qu'il est absent du fruit. Reineccius *et al.* (2002) ont rapporté que les fèves de cacao non fermentées contiennent 15,8 mg / g de saccharose et des traces de fructose, le sorbose, le mannitol et l'inositol. Berbert (1979) a suggéré la teneur en saccharose à 24,8 mg / g de fèves non fermentés formés d'environ 90 % de sucres totaux (27,1 mg / g), avec la réduction de sucres fructose et de glucose formant environ 6 % (0,9 et 0,7 mg / g, respectivement) et d'autres (y compris le mannitol et l'inositol) < 0,50 mg / g.

1.7.2. Composition en matière grasse et acide gras

1.7.2.1. Matière grasse de cacao

Les fèves de cacao sont transformées en trois produits principaux dont la liqueur de cacao, la poudre de cacao et la matière grasse communément appelée « beurre de cacao ». Le beurre de cacao représente 50 à 57 % du poids sec de fèves de cacao et est responsable des propriétés de fusion du chocolat. Les industriels préfèrent plus des fèves dont la teneur en lipide (beurre de cacao) est comprise entre 55 et 58 % (Tableau IIII).

Ce dernier constitue un ingrédient indispensable en industrie chocolatière en raison de ses caractéristiques rhéologiques, fonctionnelles et chimiques spécifiques (Koné *et al.*, 2016).

La qualité de cette matière grasse peut être altérée par des teneurs en HAPs hors spécifications internationales (Ziegenhals *et al.*, 2009). Le beurre de cacao est un mélange de triglycérides avec 98 % en masse de triglycérides (TG) dont environ 70 % sont des mono insaturés, 20 % des diinsaturés, 6 % des polyinsaturés et enfin 2 % de trinsaturés (Krysiak, 2011).

Le beurre de cacao trouve son importance dans plusieurs domaines :

- En industrie pharmaceutique il est utilisé dans la fabrication des produits de massage.
- En cosmétique pour la formulation des produits hydratants pour sa richesse en vitamine E.

- Il entre aussi dans la fabrication des savons et des mixtures exotiques.
- Il a une digestibilité semblable à celle de l'huile de maïs (Shahkhalili *et al.*, 2000).

1.7.2.2. Composition en acides gras

Les principaux acides gras présents dans le beurre de cacao sont des acides gras saturés, notamment l'acide stéarique (18 : 0), qui représente 35 % et indique la présence de 18 atomes de carbone sans liaison covalente double, ainsi que l'acide palmitique (16 : 0), qui constitue 25 %. On trouve également un acide gras mono-insaturé, l'acide oléique (18 : 1), à hauteur de 35 % (Tableau III). La fraction lipidique restante est essentiellement composée d'acide linoléique, un acide gras polyinsaturé, représentant 3 % (Bracco, 1994). La plupart des études indiquent qu'il est composé de 95 % d'acides gras, principalement les acides oléique, palmitique et stéarique. Cette composition unique des triglycérides de cacao lui confère une plage de fusion qui influence les caractéristiques de fusion du chocolat dans la bouche. Le beurre de cacao est essentiellement constitué d'acides gras libres (saturés, mono-insaturés et une faible proportion de polyinsaturés) et de triglycérides, en association avec des saponifiables, des phytostérols et de la vitamine E (Lipp *et al.*, 2001).

Tableau III: Acides gras obtenus dans le beurre de cacao

Source : David L *et al.* (2011)

LIPIDES	% Lipide totaux	Valeurs indicatives (%)
	50 à 57 %	55 et 58 %
ACIDES GRAS	% Acides gras Totaux	Valeurs indicatives (%) (Wolff ; 2019)
-Saturés		
Acide palmitique 16 :0 (P)	26,23 %	25,0 – 29,6
Acide stéarique 18 :0 (S)	35,76 %	32,7 – 35,0
-Insaturés		
Acide oléique 18 :1 (O)	33,60 %	33,0 – 34,5
Acide linoléique 18 :2 (L)	2,68 %	2,5 – 3,8

1.7.3. Protéines et acides aminés

Les protéines représentent environ 16,85 % de la teneur totale des fèves fermentées (Tableau IV). Voigt & Lieberei (2014) ont déclaré dans un travail précédant que pendant le processus de fermentation du cacao, les réactions protéolytiques à l'intérieur des fèves commencent après 3 jours de fermentation. Selon ces auteurs, de petits peptides et des acides aminés libres, qui constituent la fraction d'azote non protéique, sont libérés, incluant 0,02 % sous forme d'ammoniac. Ces composés influencent la saveur du chocolat lors des étapes ultérieures du processus, notamment pendant la torréfaction des fèves.

Selon Sauvegarde *et al.* (2016), les protéines se dégradent avec l'augmentation de la teneur en acides aminés pendant la fermentation. Les changements induits par la fermentation dans le cacao, incluent également l'hydrolyse des protéines, qui est très importante dans la génération des caractéristiques de saveur et d'arôme durant la torréfaction (Spizzirri *et al.*, 2019). Une faible valeur de pH au cours de la fermentation active les enzymes protéolytiques endogènes, l'endo-protéinase aspartique et la carboxypeptidase qui hydrolysent les protéines de stockage (principalement la viciline) en acide aminé libre et en peptides.

Ces composés, ainsi que les sucres réducteurs sont nécessaires à la réaction de Maillard pendant le séchage et la torréfaction. De plus, les acides aminés libres libérés lors de la fermentation du cacao sont responsables du goût caractéristique (Umani, sucré, amer, entre autres) du chocolat (Adeyeye *et al.*, 2010) ; (Tableau IV).

Tableau IV: Composés en protéines et acide aminé

Source : (<http://skipthepie.org/>)

Constituants	Quantité / tasse (86 g)	% de MS
Protéines	16.856g	34%
Acides aminés essentiels (g)		
Histidine	0,29154	42%
Isoleucine	0,6536	47%
Leucine	1,02254	37%
Lysine	0,84538	40%
Méthionine	0,17372	
Phénylalanine	0,80926	
Thréonine	0,66736	64%
Tryptophane	0,25198	90%
Valine	1 ;01222	56%

1.7.4. Valeur énergétique

En raison de sa richesse en graisses et en glucide, les fèves de cacao fermentées et séchées ainsi que les produits à base de cacao (le chocolat noir (70–85 % de cacao)) ont une densité nutritionnelle élevée et contiennent en moyenne environ 500-600 kcal/100 g (Grassia *et al.*, 2019).

1.7.5. Fibres alimentaires

Les fibres alimentaires sont des substances non digestibles essentiellement composées de polymères glucidiques, oligosides et polysides, associées ou non à d'autres constituants. Les fibres de cacao sont composées de pentosanes, galactanes, mucines contenant de l'acide galacturonique, et de la cellulose. Selon les critères physico-chimiques, on distingue des fibres insolubles et des fibres solubles.

Les fibres insolubles sont composées de lignine, de cellulose et d'hémicelluloses. Une de leurs propriétés essentielles est leur capacité à se lier à des agents cancérigènes, mutagènes et autres produits chimiques toxiques formés au cours de la digestion, facilitant ainsi leur élimination par les matières fécales (Prasad & Bondy, 2019). Les fèves de cacao non-

transformées contiennent des sources importantes de fibres. Ils représentent environ 15 % de la masse totale des fèves (Steinberg *et al.*, 2003).

1.7.6. Composition en minéraux des fèves de cacao

Les minéraux sont des éléments chimiques essentiels, employés par l'organisme dans divers processus biologiques. Les minéraux peuvent être classés en trois grandes catégories : les macro-éléments, les micro-éléments (ou oligo-éléments) et les éléments ultra-traces. Bien qu'ils ne participent pas à la production d'énergie, ils interviennent de manière cruciale dans de nombreuses fonctions physiologiques (Eruvbetine, 2003). Le cacao est riche en minéraux essentiels, ce qui en fait une excellente source nutritionnelle. Les minéraux représentent 5 % de la masse de cacao, principalement sous forme de magnésium, potassium et phosphore avec une richesse relative en sels de cuivre et de fer et autres résidus (Afoakwa *et al.*, 2013).

Le magnésium est un minéral crucial pour la fonction musculaire, nerveuse et cardiovasculaire, représentant environ 200-300 mg/100 g de fèves de cacao. Quant au fer, même si sa composition dans le cacao soit non hémunique, il représente environ 6-8 mg/100 g, ce qui peut contribuer à l'apport en fer. La valeur du potassium dans le cacao varie entre 500-700 mg/100 g, important pour la santé cardiovasculaire. Les minéraux tels que le zinc, le cuivre et le magnésium sont présents en quantités modérées et sont impliqués dans des processus biologiques tels que la fonction enzymatique, le métabolisme et la protection contre le stress oxydatif. Toutefois, les macro-éléments, tels que le calcium, le phosphore, le sodium et le chlorure, sont nécessaires en quantités supérieures à 100 mg/dl. Les micro-éléments, comprenant le fer, le cuivre, le cobalt, le potassium, le magnésium, l'iode, le zinc, le manganèse, le molybdène, le fluor, le chrome, le sélénium et le soufre, sont requis en quantités inférieures à 100 mg/dl (Eruvbetine, 2003).

1.7.7. Vitamines

Les vitamines forment une famille de molécules essentielles au bon fonctionnement du métabolisme. Leur absence, qu'elle soit partielle ou totale, peut entraîner des troubles graves. Le chocolat est une source riche en vitamines (Boussenou M, 2023). Dans 100 g de chocolat noir, les vitamines A, C et D sont présentes en quantités minimales. Le transport des vitamines liposolubles (A, D, E, K) est assuré par les acides gras (Tableau V). La vitamine E, également connue sous le nom de tocophérol, ainsi que le bêta-carotène, sont significatifs dans ce contexte. Cette vitamine possède des propriétés antioxydantes, luttant contre les radicaux

libres et protégeant ainsi les acides gras insaturés présents dans les membranes cellulaires contre l'oxydation. Par conséquent, elle pourrait jouer un rôle dans la réduction du vieillissement cellulaire et dans la prévention des cancers. De plus, la présence de Bêta-carotène renforce l'effet antioxydant du tocophérol.

Dans le chocolat, la stabilité du beurre de cacao est réalisée grâce à la vitamine E, qui le protège de l'oxydation. Il convient également de démontrer que le chocolat au lait constitue une source de vitamine B2, qui est impliquée dans l'assimilation des glucides, des protéines et des lipides par l'organisme (Tableau V).

Tableau V: Différentes vitamines retrouvées dans le cacao

Source : Catherine C (2018)

Vitamines	Quantité (mg)	Vitamines	Quantité (mg)
Vitamine B1	0,07	Vitamine B2	0,08
Vitamine E	5,3	Vitamine pp	0,60
Vitamine B3	0,40	Acide folique	0,01
Vitamine B6	0,02	Bêta-carotène	0,04
Vitamine B5	0,60		

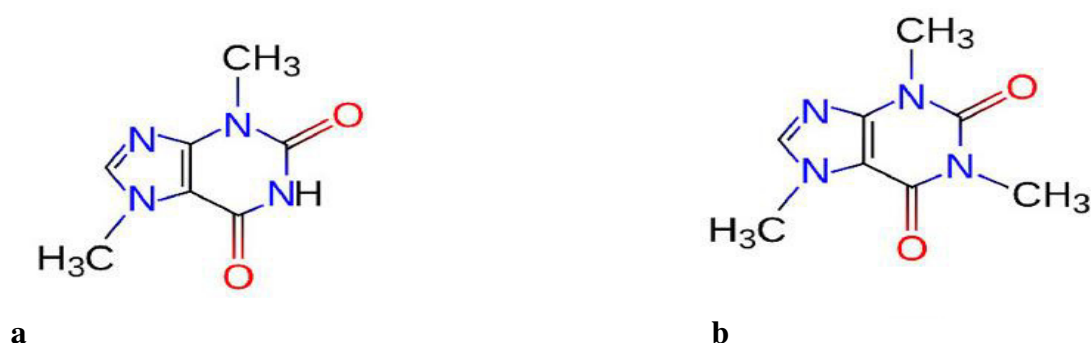
1.8. Composition bio actifs des fèves de cacao fermentées et séchées

Les composés bio actifs du cacao fermenté et séché varient en fonction des traitements post-récoltes et des conditions environnementales. Ces effets incluent l'amélioration de la fonction endothéliale, la modulation des facteurs de risque cardiovasculaire associés à l'âge, ainsi que l'augmentation de la fonction vasculaire (Zapata B *et al.*, 2015).

1.8.1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes, principalement les méthylxanthines (caféine et théobromine) et les polyphénols sont des composés responsables de l'astringence de la fève (Djali *et al.*, 2018). La théobromine et la caféine exercent des effets pharmacologiques distincts : la caféine agit comme stimulant du système nerveux, tandis que la théobromine est un diurétique (Ramli *et al.*, 2001). L'intérêt récent pour ces alcaloïdes (composés organiques azotés qui appartiennent à la classe des méthylxanthines est toutefois centré sur leurs toxicités potentielles pour la reproduction. En effet, la fermentation conduit à une diminution de l'astringence et l'amertume par la diffusion externe des alcaloïdes (30 %) et des polyphénols (20 %) grâce à

l'augmentation de la perméabilité membranaire (Camu *et al.*, 2008). La théobromine (3,7-diméthylxanthine ; Figure 6a) est l'alcaloïde principal du cacao, présent à hauteur de 3,7 % sur une base exempte de matières grasses (Timbie *et al.*, 1978). Dans les fèves de cacao fermentées, la théobromine est fréquemment associée aux tanins, libérés par la formation d'acide acétique au cours du processus de fermentation. Une partie de cette théobromine diffuse ensuite dans la coque de la fève (Belitz *et al.*, 2009). La caféine (Figure 6 b) est également présente, mais en quantités beaucoup plus faibles (en moyenne 0,2 %). La consommation quotidienne moyenne de caféine est estimée à 200-300 mg/jour, ce qui équivaut à 2 ou 3 tasses de café infusé par jour. Toutefois, ces composés, avec les composés phénoliques, contribuent au goût amer caractéristique du cacao (Júnior *et al.*, 2020).



Source : Afoakwa (2010)

Figure 6: Structure chimique de la théobromine et de la caféine

a : Structure chimique de la théobromine ; b : Structure chimique la caféine

1.8.2. Catéchines et épicatechines

Le cacao (*Theobroma cacao* L.) a été proposé comme une riche source de composés bioactifs, notamment de flavonoïdes et de composés phénoliques non-flavonoïdes. Cet intérêt pour ces composés bioactifs est dû à leurs nombreux effets biologiques, notamment antioxydant, hypocholestérolémiant, anticancéreux, immunomodulateur, anti-inflammatoire, antidiabétique, antihypertenseur (Lasano *et al.*, 2019 ; Fidelis *et al.*, 2020 ; Pirozzi *et al.*, 2021). Les fèves de cacao sont riches en antioxydants, notamment les catéchines, l'épicatechine et les procyanidines, des polyphénols similaires à ceux que l'on trouve dans le vin et le thé (Grassi *et al.*, 2005).

Les catéchines et les épicatechines qui ont les plus abondantes représentent environ 35 % du contenu total en polyphénols avec la teneur en épicatechine plus abondante que celle de la cathéchine (Valadez-Carmona *et al.*, 2018). La teneur élevée en flavonoïdes, en particulier en flavanols (catéchines) de ces aliments peut contribuer à certains de leurs

prétendus bienfaits cardiovasculaires (Lee *et al.*, 2003). Récemment, Olas *et al.* (2021) ont rapporté que les principaux flavonoïdes trouvés dans les fèves de cacao non torréfiées étaient l'épicatéchine (2,61 mg/g), la procyanidine B2 (1,07 mg/g) et la (+) - catéchine (0,13 mg/g).

Le chocolat a longtemps été considéré pour sa forte teneur en matières grasses et considéré comme une gourmandise plutôt qu'un aliment sain. On l'associait à des problèmes de santé comme l'acné, les caries, l'obésité, l'hypertension, les maladies cardiaques et le diabète, ce qui incitait les professionnels de santé à en limiter la consommation (Latif, 2013).

Cependant, la découverte récente de composés phénoliques bioactifs dans le cacao a changé cette perception. Ces composés ont développé un intérêt pour les bienfaits potentiels du chocolat, notamment sur le vieillissement, le stress oxydatif et la régulation de la pression artérielle. Aujourd'hui, le chocolat est reconnu pour son fort potentiel antioxydant, comme l'ont démontré Latif (2013) et Magrone *et al.* (2017).

1.8.3. Composés phénoliques

À l'instar du cacaoyer, les fèves de cacao et les dérivés du cacao sont une importante source riche en polyphénols alimentaires représentant une partie du poids sec des fèves de cacao et du chocolat, particulièrement le chocolat noir (Badrie *et al.*, 2015). Les polyphénols des fèves de cacao contribuent à environ 12-18 % du poids sec qui rend pratiquement les fèves crues immangeables en raison de l'amertume et l'astringence (Khan *et al.*, 2014). Pendant la fermentation du cacao, les composés phénoliques initialement compactés en vacuoles de cellules spécifiques diffusent à travers le cotylédon (Roelofsen, 1958).

Les bienfaits du cacao, attribués principalement à des agents antioxydants, sont en grande partie dus à l'abondance de composés polyphénoliques, qui peuvent se représenter jusqu'à 18 % de la masse des fèves séchées (Pérez, 2009). En conséquence, une allégation de santé relative aux flavanols de cacao, mettant en évidence leurs propriétés bénéfiques pour la santé cardiovasculaire, a été approuvée par l'EFSA en 2012 (Règlement (UE) n° 432/2012 de la Commission). Il convient également de noter que la capacité antioxydante du cacao est supérieure à celle du thé et du vin rouge (Lee & Kim, 2003). En outre, les polyphénols jouent un rôle essentiel non seulement dans l'attribution de certaines des saveurs amères et astringentes du cacao (Stark *et al.*, 2005), mais ils participent également à la coloration brun-rougeâtre distinctive des produits dérivés du cacao (Soto-Vaca *et al.*, 2012).

Wollgast & Anklam (2000) ont rapporté que les catéchines, les anthocyanes et les proanthocyanidines font partie des polyphénols les plus représentatifs des fèves de cacao. Trois groupes de phénols sont présents dans la fève de cacao : leucoanthocyanines (environ 58 %), catéchines (environ 37 %) et anthocyanines (environ 4 %). La catéchine principale est la (-) $\pm$ épicatechine. Les autres catéchines sont les (+) - catéchine, (+) - gallocatéchine et (-) - epigal-locatechine (Belitz *et al.*, 2009).

1.8.4. Polyphénols totaux

Dans leur état naturel, les fèves de cacao contiennent une forte concentration de polyphénols, ce qui leur donne une saveur très amère (Andújar *et al.*, 2012). Les fèves de cacao fraîches, dégraissées, contiennent 15 à 20 % de polyphénols solubles, ce qui correspond à environ 6 % pour les fèves séchées à l'air libre (54 % de matière grasse et 6 % d'eau). Dans les fèves fermentées, la teneur en polyphénols solubles est d'environ 5 %, tandis qu'une teneur supérieure à 10 % considérés comme un signe d'une mauvaise fermentation. Ces valeurs sont valables uniquement pour les fèves de *Forastero*. Les polyphénols totaux du cacao sont réduits pendant la fermentation à 30 % de la valeur initiale et la (-) – épicatechine, principal substrat du polyphénol oxydase (PPO) du cacao, est réduit de 90 %, avec une augmentation proportionnelle de la teneur en catéchine (Villeneuve *et al.*, 1989).

Aujourd'hui, les polyphénols suscitent un grand intérêt, non seulement en raison de leur contribution à l'arôme, mais aussi pour leur activité antioxydante et leurs éventuels effets bénéfiques sur la santé (Wollgast & Anklam 2000) . Les données actuellement disponibles indiquent que la consommation quotidienne de chocolat riche en cacao (riche en polyphénols) peut réduire au moins partiellement le risque de maladies cardiovasculaires.

1.8.5. Flavonoïdes

Le cacao et le chocolat sont riches en monomères, oligomères et polymères de flavanols (Langer *et al.*, 2011). Bien que de nombreux composés polyphénoliques soient présents dans la fève de cacao, la poudre de cacao est particulièrement riche en une sous-classe de polyphénols appelés flavonoïdes. Constituant le groupe le plus important, ils peuvent être divisés en 13 classes avec plus de 5 000 composés (Wollgast & Anklam, 2000). Il comprend une diversité de composés rencontrés dans le cacao (Ferrazzano *et al.*, 2009).

La structure de base des flavonoïdes se compose de deux composés aromatiques (A et B) et d'un noyau hétérocycle (C) contenant un noyau d'oxygène (Jaganath & Crozier, 2010).

Les flavonoïdes peuvent se subdiviser en 6 sous-groupes en fonction de l'anneau hétérocyclique. Ce sont en effet les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavonols, les flavanols et les anthocyanes (Bauer *et al.*., 2011).

Les flavonoïdes offrent une protection antioxydante au niveau de l'endothélium vasculaire, contribuant à réduire le risque d'athérosclérose. Ils inhibent notamment la conversion oxydative du NO en peroxynitrite et interrompent les réactions en chaîne induites par les radicaux libres, neutralisant ainsi ces derniers. Selon Oracz & Żyżelewicz (2020), le cacao peut limiter les dommages cellulaires induits par les radicaux libres. Récemment, Urbańska *et al.* (2021) ont rapporté que les principaux flavonoïdes trouvés dans les fèves de cacao non torréfiées étaient l'épicatéchine (2,61 mg/g), la procyanidine B2 (1,07 mg/g) et la (+) - catéchine (0,13 mg/g).

Les flavonoïdes présentent souvent des groupements hydroxyles (-OH) sur les cycles A et B, qui influencent leurs propriétés biologiques, notamment leur activité antioxydante (Middleton *et al.*, 2000). Davinelli *et al.* (2018) ont rapporté que la consommation de 220 mg de flavonoïdes de cacao pendant 4 semaines entraîne une réduction du cholestérol total (-12,37 mg/dL), des triglycérides (-3,81 mg/dL) et du cholestérol des lipoprotéines de basse densité plasmatique (-14,98 mg/dL), par rapport aux valeurs initiales.

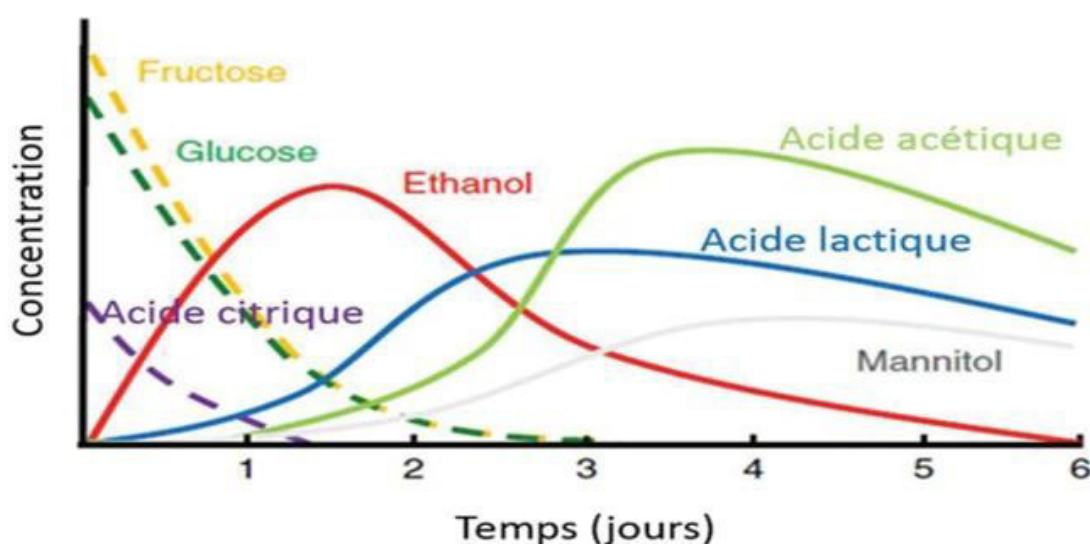
1.8.6. Acides organiques

La fermentation des fèves de cacao est un processus spontané réalisé par l'action successive de levures, de bactéries lactiques et acétiques (LAB et AAB) sur la pulpe mucilagineuse entourant les fèves (Figure 7). Ainsi, l'éthanol, l'acide lactique et l'acide acétique sont générés en tant que principaux produits qui pénètrent dans la graine, et la chaleur produite entraîne la mort des graines. Sous l'action d'enzymes endogènes et d'enzymes libérées dans les graines, en raison de l'activité des cellules membranaires, les protéines de stockage et les glucides subissent une dégradation, (Lima *et al.*, 2011).

Au cours de la fermentation, la vitesse et le temps de diffusion des acides organiques dans les cotylédons constituent des paramètres cruciaux pour déterminer le pH final. L'optimisation de ces paramètres est directement liée à la formation des arômes (Biehl & Voigt, 1996). Les fèves présentant un pH élevé (5,5 à 5,8) sont considérées comme non fermentées ou ayant subi une fermentation insuffisante, tandis que celles présentant un pH inférieur (4,75 à 5,19) sont qualifiées de fermentées (Beckett, 2009). Dans la pulpe de cacao non fermentée, les acides présents incluent l'acide citrique (44-45 mg/g), l'acide malique (7-

8 mg/g) et l'acide succinique (5-6 mg/g). Pour les fèves fermentées, les concentrations significatives en acide citrique (13-14 mg/g), malique (1-2 mg/g) et oxalique (7-8 mg/g) ont été détectées (Ho *et al.*, 2014).

Cependant, les concentrations d'acides dans les fèves de cacao fermentées et séchées varient considérablement. Elles se situent entre 1,3 et 11,8 g/kg pour l'acide acétique, 1,6 et 9,9 g/kg pour l'acide citrique, 0,6 et 11,1 g/kg pour l'acide lactique, et 2,1 et 6,5 g/kg pour l'acide oxalique. La quantité d'acide acétique libérée par la pulpe et retenue par les cotylédons dépend de la durée de fermentation et de la méthode de séchage appliquée. Les fèves contiennent entre 1,22 et 1,64 % d'acides totaux, avec 0,79 à 1,25 % d'acides volatils, dont 0,19 à 0,71 % d'acide acétique (Belitz *et al.*, 2009).



Source : De Vuyst & Weckx 2016

Figure 7: Evolution des sucres et des composés non volatils au cours de la fermentation

1.8.7. Composés volatils

Une composition adéquate des fèves de cacao peut être transformée en un profil de saveur chocolatée de haute qualité grâce à des traitements post-récoltes contrôlés et des technologies de transformation appropriées. La fermentation joue un rôle essentiel, non seulement dans la formation des fractions volatiles majeures (alcools, esters et acides gras), mais aussi dans la production de précurseurs de saveurs de Maillard, tels que les acides aminés et les sucres réducteurs (Kyi *et al.*, 2005).

Les composés volatils sont des variables essentielles dans les caractéristiques aromatiques et la qualité sensorielle des produits frais et transformés (Zhao *et al.*, 2024).

L'arôme n'est pas seulement l'un des principaux attributs de qualité pour évaluer le cacao, mais influence également le comportement d'achat des consommateurs (Argenta *et al.*, 2020). Les critères liés à l'arôme englobent à la fois l'intensité de l'arôme de cacao ou de chocolat ainsi que toutes les notes aromatiques secondaires et l'absence de défauts aromatiques. Parallèlement, les composés volatils jouent un rôle important dans l'amélioration de la qualité gustative et de l'acceptation par les consommateurs.

Les arômes du cacao dépendent essentiellement des traitements post-récoltes et cet aspect sera traité dans la section. Ainsi, le procédé de fermentation détermine la qualité finale du produit, en particulier sa saveur. Aculey & coll (2010) ont rapporté que la fermentation du cacao pendant moins de 24 heures et différentes méthodes de séchage entraînaient des concentrations élevées de composés volatils tels que le 2-méthylpropanal, le 2,3-butanédione, le 2-pentanol, l'acétate de méthyle, la 2-heptanone, le propanoate de 2-pentyle, le 1-pentanol, le 2-méthylbutanal, le 3-méthylbutanal, le tétrahydro-2-méthylfurane, le 2-méthyl-1-propanol et l'acétate d'éthyle.

En revanche, la fermentation du cacao pendant plus de 72 heures présentait des concentrations élevées d'acide propénoïque, d'oxyde de linalol, d'acétoïne, d'acide 2-méthylpropionique, de 1-hydroxy-2-propanone, d'acide 3-méthylbutanoïque, d'acide acétique, d'acétate de 2-phényléthyle, de 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine, d'acétate de 2-pentyle, de benzaldéhyde, de triméthylpyrazine, d'éthanol benzénique, d'acétate de 3-méthylbutyle et de linalol.

Deux travaux récentes ont étudié la composition volatile (Ho *et al.*, 2014b) et la qualité sensorielle du cacao en réalisant des fermentations par des cultures mixtes de levures et de bactéries. Ces études ont montré que les levures ont un grand impact dans l'élaboration de l'arôme et le goût du cacao et donc du chocolat. Un total de 7100 composés a été identifié dans la fraction volatile de 450 aliments (Belitz *et al.*, 2009). Malgré ce grand nombre de matières volatiles identifiées, seul un nombre limité contribue aux caractéristiques sensorielles de chaque aliment appelés « composés volatils d'impact » ou « odorants clés ».

1.8.8. Principaux composés aromatiques du cacao

Les principaux groupes de composés aromatiques du cacao ont été identifiés comme étant des acides, des alcools, des aldéhydes, des esters, des furanes, des cétones, des terpènes, des pyrazines, des pyrroles, des pyranes, des pyridines et des composés de soufre (Paul & Jeanne, 1981).

1.8.8.1. Alcools et esters

Les esters sont associés aux notes de saveur fruitée et représentent le deuxième groupe le plus important de composés volatils après les pyrazines dans les éclats de cacao torréfiés (Jinap *et al.*, 1998). Les principaux composés alcooliques présents lors de la fermentation du cacao sont : 3-méthyl-1-butanol, 3-méthyl-2-butanol, méthyl-1-propanol, 2,3-butanediol, 1,3-butanediol, 2-phényléthanol, alcool d'isoamyle, et 3-méthyl-1-butyl acétate.

Rodriguez-Campos *et al.* (2012c) ont montré que le 3-méthyl-1-butanol, 2,3-butanediol et 2-phényléthanol sont produits par les levures *Kloeckera apiculata*, *Saccharomys cerevisiae* var. *chevalieri*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Pichia kudriavzevii* (anciennement *Issatchenkia orientalis*), *Kluyveromyces marxianus*. Ces composés sont très désirés dans le cacao. Les principaux composés appartenant aux groupes alcools acétyl transférase produites par les levures. Les acétates sont produits par l'action des alcools acétyl transférase produites par les levures (Vidal Rojas, 2002).

1.8.8.2. Aldéhydes et cétones

Des composés appartenant à la famille des aldéhydes et cétones sont également détectés dans le cacao fermenté et ils ne semblent pas être affectés par l'action des levures (Ho *et al.*, 2014). Une forte concentration d'aldéhydes et de cétones est favorable à la qualité du cacao, produisant des notes fruitées et florales, c'est-à-dire du 2-méthylbutanal et du 3-méthylbutanal (Bonvehí, 2005).

Les principaux aldéhydes retrouvés sont : le 2-méthylbutanal, le 3-méthylbutanal et le benzaldéhyde qui pourraient être formés à partir de précurseurs tels que la leucine, l'isoleucine et la phénylalanine par des bactéries lactiques lors de la fermentation. En outre, des composés tels que le 1-butanol-3-méthyle et le phénylacétaldéhyde ont été rapportés comme des dérivés du catabolisme des acides aminés réalisé pendant la fermentation (Schwan & Wheals 2004a; Akoakwa *et al.*, 2008). Il a été constaté que l'actoine était le composé cétonique ayant la teneur la plus élevée suivi par d'autres composés 2,3-butanedione, l'acétophénone et le phénylacétaldéhyde. L'acétone pourrait être produit par fermentation alcoolique à partir du pyruvate et de butanediol (Bauer & Pretorius, 2000).

1.8.8.3. Acides

Il a été noté que l'acide acétique et l'acide iso valérique sont dominants dans le cacao fermenté non torréfié (Frauendorfer & Schieberle, 2008). Au cours de la fermentation,

d'autres acides sont également détectés : acide propénoïque, acide hexanoïque, acide octanoïque, acide nonanoïque, et acide butyrique qui ont un effet sur la qualité aromatique du cacao (Bonvehí, 2005). Ces acides diffusent dans les cotylédons en diminuant le pH interne des fèves et leur augmentation au cours de la fermentation résulte du métabolisme des sucres présents dans la pulpe (Bonvehí 2005).

1.8.8.4. Pyrazines

Le groupe des pyrazines est l'un des composés volatils les plus importants dans le cacao torréfié. Bonvehí (2005) a mentionné que les pyrazines représentaient 40 % de l'arôme du cacao torréfié. Dans certains travaux, les composés de la famille des pyrazines n'ont pas été détectés. Durant la fermentation, alors que Schwan & Wheals (2004c) ont observé que quelques pyrazines comme la tétraméthylpyrazine et la triméthylpyrazine sont produites en fin de fermentation par *Bacillus subtilis* et *Bacillus megaterium* (Schwan & Wheals, 2004b). Ceci montre que la durée de fermentation et notamment la sur-fermentation peuvent influencer la qualité aromatique par le développement de molécules désirées.

1.8.8.5. Composés aromatiques formés lors de la fermentation

La fermentation constitue un processus crucial dans la production de composés volatils d'arôme dans divers produits alimentaires, spécifiquement les saucisses, les yaourts, les fromages, les bières, les pains, les vins et la sauce soja. Ces arômes résultent fréquemment du métabolisme primaire des micro-organismes, comme cela est observé lors de la fermentation du cacao (Rodriguez-Campos *et al.*, 2012). Il est cependant établi que certains micro-organismes peuvent produire directement des composés aromatiques. Au cours de la fermentation du cacao, divers composés volatils provenant de différents groupes ont été identifiés, principalement des alcools et des esters, qui sont privilégiés comme des composés souhaitables (Schwan & Wheals, 2004).

Les bactéries et les levures jouent un rôle essentiel dans la formation des précurseurs d'arôme dans le cadre de la fermentation alimentaire, incluant celle du cacao, du café, des vins et des fromages. Les levures sont responsables de la synthèse des alcools et des esters, en particulier des acétates d'esters, par l'intermédiaire des alcools acyltransférases.

En revanche, les bactéries produisent principalement des acides volatils, tels que l'acide acétique, via les bactéries acétiques (AAB) lors du processus de fermentation du cacao (Sengun & Karabiyikli, 2011). Des recherches ont montré que les bactéries lactiques (LAB)

peuvent synthétiser des aldéhydes à partir d'acides aminés, notamment au cours des fermentations lactiques, comme ce fut observé dans la production de fromage (Smit & Engels, 2005). En particulier, ces études ont rapporté la formation de benzaldéhyde à partir de la phénylalanine par les LAB.

1.9. Traitements post-récoltes des fèves de cacao

Les procédés post-récoltes sont composés de plusieurs étapes. Ces dernières varient selon les variétés d'un pays à un autre, voir un agriculteur à un autre. Chaque procédé peut avoir un impact sur la qualité finale des produits dérivés du cacao (Saltini., *et al.*, 2013b). Cependant, la transformation technologique du cacao en chocolat et en produits dérivés nécessite un processus primaire de manutention post-récolte comprenant l'écabossage, la fermentation et le séchage. Le traitement post-récolte permet l'expression du potentiel aromatique du cacao, lequel est déterminé par le génotype (Cros, 1994).

1.9.1. Récolte

La maturation des cabosses de cacao se déroule tout au long de l'année et elles sont généralement réalisées lors de deux campagnes, appelées la « grande campagne » et la « petite campagne ». Par exemple, en Côte d'Ivoire, la grande campagne débute en octobre et se termine en février, tandis que la petite campagne s'étend de mars à juin. La majorité des cabosses se forment pendant la grande campagne, lorsqu'elles atteignent une maturité optimale. À ce stade, elles contiennent un plus grand nombre de fèves, qui sont plus charnues et entourées d'une quantité plus élevée de pulpe (Ozturk *et al.*, 2017).

1.9.2. Ecabossage et tri

L'écabossage est une opération technique visant à ouvrir les cabosses de cacao pour en extraire les graines, tout en minimisant les dommages aux cabosses (Source : <https://www.blogger.com/profile/01158264581905897025>)

Figure 8). L'utilisation d'une machette pour ouvrir les cabosses de cacao peut causer des dommages aux graines, entraînant des blessures et favorisant l'invasion par des micro-organismes. Pour cette raison, il est conseillé d'utiliser un gourdin en bois pour frapper la cabosse (Barel, 2013a). Les fèves de cacao sont extraites des placentas, car la présence de ces derniers durant la fermentation pourrait constituer un substrat supplémentaire propice au développement de moisissures (CNRA, 2009).



Source : (<https://www.blogger.com/profile/01158264581905897025>)

Figure 8: Ecabossage des fèves de cacao

1.9.3. Fermentation

La fermentation (Figure 9) demeure un processus complexe et difficile à contrôler (Bankoff *et al.*, 2013a). C'est une des principales activités post récolte dans la production des fèves marchandes de cacao dont elle détermine la qualité marchande et organoleptique (Schwan & Wheals, 2004b).

La fermentation du cacao joue un rôle crucial dans le développement des composés aromatiques caractéristiques du chocolat. Au cours de ce processus, les constituants endogènes des fèves de cacao, notamment les protéines et les glucides, subissent une transformation en composés plus simples, désignés sous le terme de métabolites précurseurs d'arômes.

Ces précurseurs réagissent lors de la torréfaction pour former des molécules aromatiques spécifiques, responsables des propriétés sensorielles du chocolat (Santander *et al.*, 2019). Elle doit débiter au plus tard 24 heures après l'écabossage. La pulpe, une matrice riche en sucres tels que le glucose, le fructose et le saccharose, est effectivement le principal substrat de la fermentation. Ces sucres servent de carburant pour les micro-organismes (levures, bactéries lactiques et acétiques), qui dégradent les composés pour produire des métabolites comme l'éthanol, l'acide lactique et l'acide acétique (De Vuyst *et al.*, 2015).

Pendant la fermentation, la pulpe est dégradée pour donner suite à un ensemble de réactions complexes d'ordre biochimique et enzymatique auquel participent essentiellement les levures, les bactéries lactiques, les bactéries acétiques et les *Bacillus* (Ouattara *et al.*, 2011).

Une fermentation inadéquate compromet le développement optimal des arômes caractéristiques spécifiques à chaque variété de cacao (Portillo, 2006).

Il est recommandé d'effectuer 2 à 3 brassages afin d'homogénéiser la masse fermentée de cacao. La durée de la fermentation dépend de la variété des fèves. En effet, les fèves de cacaos fins requièrent des périodes de fermentation plus courtes (Wood & Lass 2008). De plus, la masse mise à fermenter doit être d'au moins 100 kg pour une bonne fermentation (Hernández- Hernández *et al.*, 2016). Toutefois, elle ne doit pas dépasser 2000 kg pour assurer une fermentation uniforme et efficace (Daymond, 2022).



Source : Source : www.google.fr

Figure 9: Masse de fèves stockées pour la fermentation

1.9.4. Séchage

Le séchage vise à réduire la teneur en eau des fèves fermentées d'environ 50-60 % à 8 % (Djedjro *et al.*, 2008). Ce processus bloque les réactions enzymatiques, prévient le développement de moisissures et garantit une bonne conservation du cacao marchand ainsi obtenu.

Le processus doit commencer immédiatement après la fermentation afin d'éviter une sur-fermentation des fèves, qui pourrait entraîner une perte d'arôme du cacao. Par ailleurs, il est préférable de sécher les fèves directement au soleil (Figure 10) de 6 à 10 jours (Guehi *et al.* 2010) mais il est possible d'utiliser un séchage artificiel pour compléter le séchage au soleil en fonction des conditions climatiques (Kanmogne *et al.*, 2012).

La durée de séchage au soleil du cacao est influencée par plusieurs facteurs, notamment les conditions climatiques, le type de matériau utilisé comme support pour l'opération (Guehi

et al., 2010). De plus, la membrane de la fève perd son intégrité, ce qui conduit également à la formation de la couleur (Afoakwa *et al.*, 2008). La durée du séchage solaire du cacao dépend de nombreux paramètres tels que les conditions climatiques, le matériau utilisé comme support de l'opération ou encore le temps d'ensoleillement (Guehi *et al.*, 2010).

Le séchage dure 5-7 jours lorsque les conditions climatiques sont bonnes et peut parfois se prolonger de 15 à 20 jours lorsque celles-ci ne sont pas favorables (McKinney, 2016). Dans l'ensemble, les dispositifs de séchage artificiels ont permis de diminuer la durée de séchage et de réduire le risque de réabsorption d'humidité. Cependant, un séchage artificiel trop rapide peut entraîner certaines insuffisances, telles que la rétention d'acides volatils (Saltini *et al.*, 2013b).



Source : Le Conseil du Café-Cacao ; Catalogue JNCC, 2017)

Figure 10: Séchage des fèves de cacao sur des claies ; Transport

Le transport du cacao peut être défini comme le déplacement, par voie terrestre ou maritime, des fèves de cacao (contenues dans des sacs ou en vrac) d'un lieu initial ou intermédiaire vers une destination finale ou intermédiaire (Kouassi, 2017). Le transport peut donc se réaliser :

- soit de chez le producteur jusqu'au magasin de vente de la coopérative à laquelle il est affilié,
- soit du magasin de vente de la coopérative jusqu'à l'entrepôt du transformateur national / local ou de l'exportateur,
- soit des entrepôts de l'exportateur au port d'embarquement,
- soit du port d'embarquement au port de destination dans les pays à l'extérieur.

Le transport se fait généralement en charrette, à vélo, à moto, à tricycle, en camion ou en bateau (navire) selon les cas.

1.9.5. Stockage

Ce processus vise à maintenir le cacao dans un état de sécheresse adéquat afin de prévenir le développement de moisissures, la présence d'insectes et la formation d'acides gras libres. Les fèves doivent être entreposées dans de conditions appropriées empêchant la prolifération des moisissures et l'infestation par les insectes (Barel, 2013). Lors du conditionnement pour l'exportation, les fèves sont conditionnées en sacs de jute estampillés et numérotés (Figure 11). Ensuite, les fèves de cacao, dit cacao marchand, sont prêtes à être négociées sur le marché national ou international.



Source : www.google.fr

Figure 11: Entreposage de fèves de cacao séchées.

2. FERMENTATION

2.1. Notion générale de la fermentation des fèves de cacao

La fermentation de matière première périssable provenant de l'agriculture est un processus biotechnologique ancien qui est pratiqué pour produire des produits alimentaires fermentés stables et sur de hautes qualités microbiologiques, organoleptiques, nutritionnelles et bénéfique pour la santé (Rezac *et al.*, 2018; De Vuyst & Leroy, 2020). C'est un processus spontané qui revêt d'une grande importance économique, comme le cas de la culture du cacao (De Melo *et al.*, 2016).

La fermentation du cacao est une opération complexe qui débute au plus 24 h après l'écabossage. C'est une étape critique de la technologie post-récolte du cacao au regard de son importance et de son incidence sur la qualité finale des fèves (Schwan & Wheals, 2004b;

Ouattara *et al.*, 2008). Une absence ou une insuffisance de fermentation nuit à la qualité sensorielle du cacao, car elle entraîne l'expression des divers composés responsables de la phase aromatique (Lehrian & Patterson, 1983).

Selon la Direction Générale du Trésor et de la Comptabilité ivoirienne, l'État de Côte d'Ivoire subit une perte annuelle estimée entre 50 et 60 milliards de FCFA. Cette perte est principalement due aux nombreux défauts de qualité souvent observés dans le cacao provenant du pays.

2.2. But de la fermentation

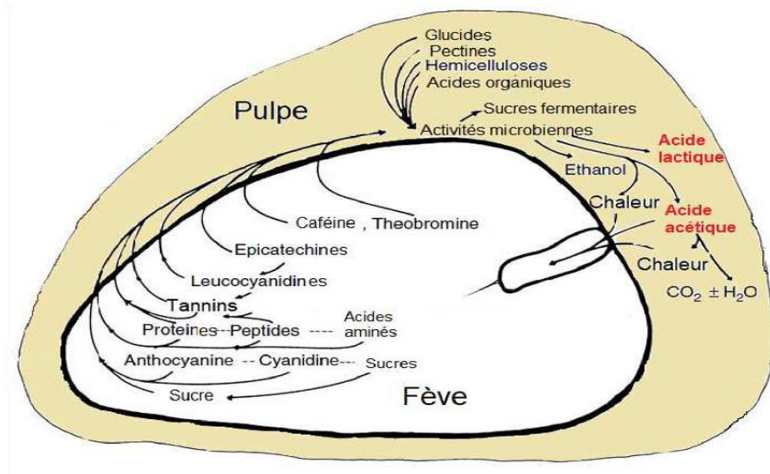
La fermentation du cacao a pour principaux objectifs d'éliminer la pulpe mucilagineuse entourant les fèves, d'inactiver l'embryon pour prévenir toute germination et d'assurer une meilleure conservation des fèves. En outre, la fermentation induit des modifications biochimiques au sein des cotylédons tels que les gonflements, la disparition de leur couleur pourpre et l'apparition d'une couleur brune (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015).

La fermentation permet également de diminuer l'amertume, l'astringence et favoriser le développement des précurseurs de l'arôme (Mossu, 1990). Le moment opportun pour arrêter la fermentation dépend de critères subjectifs tels que, le gonflement des fèves, l'odeur de la masse, la couleur des cotylédons et la chute de la température.

2.3. Résumé des réactions se déroulant dans la fève au cours de la fermentation

La Figure 12 illustre, de manière simplifiée, les réactions biochimiques qui se déroulent au sein des fèves de cacao au cours du processus de fermentation. Comme mentionné précédemment, cette étape entraîne d'importantes transformations des composés chimiques sous l'action de la flore microbienne. Il s'agit entre autres de la dégradation des glucides et d'autres composés présents dans la pulpe, tels que les acides organiques et la formation d'éthanol et d'acide lactique. L'éthanol est ensuite oxydé en acide acétique, entraînant une élévation significative de la température

Ces processus permettent également la diffusion de divers composés, notamment les méthylxanthines (théobromine et caféine) ainsi que les composés phénoliques, tels que l'épicatéchine et la catéchine. Par ailleurs, les acides aminés peuvent se complexer en peptides ou en protéines, ou encore interagir avec les polyphénols pour former des tanins (Fowler & Coutel, 2008).

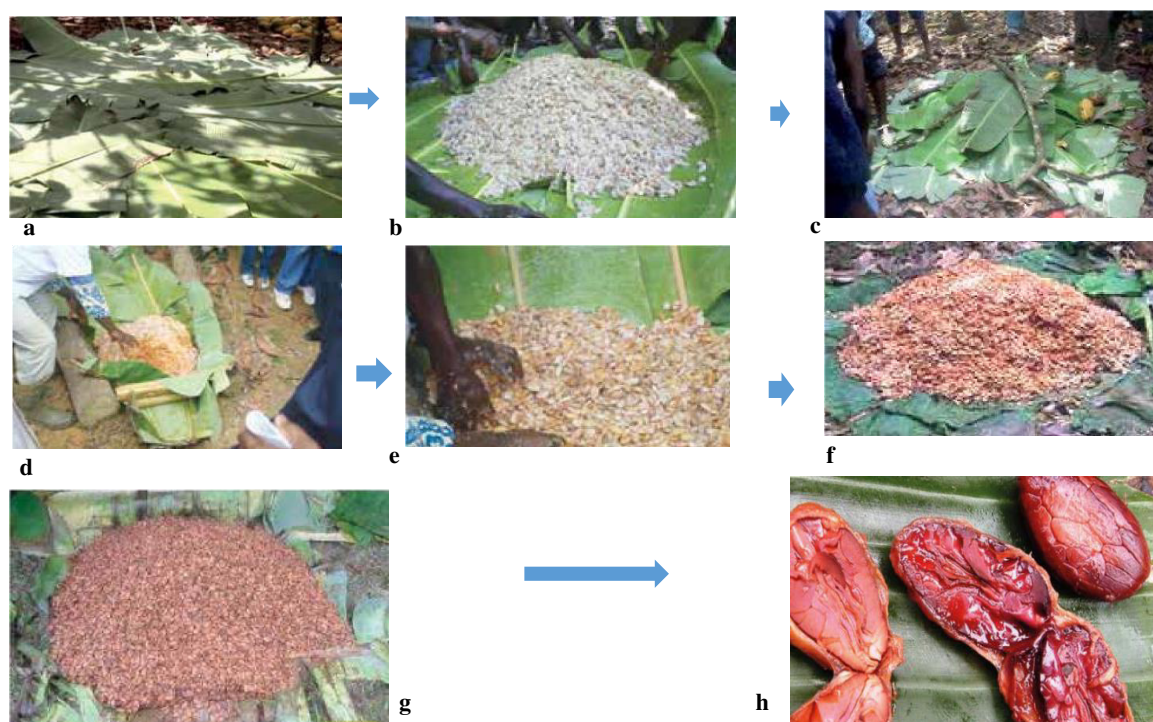


Source : Fowler & Coutel (2008)

Figure 12: Réactions dans une fève de cacao au cours de la fermentation

2.4. Différentes étapes de la fermentation des fèves de cacao

Les méthodes de fermentation varient selon les pays et dure au maximum 7 jours et est traditionnellement réalisée sur les feuilles de bananier selon plusieurs étapes (Figure 13).



Source :). (Manuel_du_planteur_de_cacao, 2015)

Figure 13: Processus de fermentation spontanée des fèves de cacao

Jour 1 et Jour 2 : Alignement des feuilles de bananiers (a), réception les fèves (b) et Recouvrement du tas et maintien des feuilles à l'aide de bois (c) ; Jour 3 : Ouverture du tas (d) et premier brassage des fèves de cacao (e) ; Jour 5 : Nouvelle ouverture et deuxième brassage (f) ; Jour 7 : Fin de la fermentation et sortie des fèves pour le séchage ; Coupe transversale des fèves fermentées (h).

2.5. Différents procédés de fermentation

Au total, cinq méthodes de fermentation du cacao existent : la fermentation sur les plateformes de séchage, la fermentation en tas, la fermentation dans des paniers, la fermentation sur des plateaux et la fermentation dans des caisses, recouvertes de feuilles de bananier et mises à fermenter 5-7 jours (Fowler,1999).

2.5.1. Fermentation en tas sur les feuilles de bananier

L'avantage des feuilles de bananier (Figure 14 a) réside dans le fait qu'elles permettent l'aération de la masse de cacao en cours de fermentation, conduisant bien entendu à une fermentation homogène des fèves. La taille des tas de fèves fermentées varie généralement de 25 à 250 kg (Baker *et al.*, 1994).

Les réactions impliquées lors de la fermentation sont des réactions d'oxydation (Romero-Cortes *et al.*, 2012). L'apport en oxygène constitue un facteur crucial pour le bon déroulement de cette opération. Les feuilles de bananier, étant plus perméables, entraînent des réactions aérobies bénéfiques par rapport aux bâches en plastique. En effet, la

fermentation en tas sur des feuilles de bananier représente la méthode la plus courante en Afrique de l'Ouest.

2.5.2. Fermentation en tas dans les bâches plastiques

L'usage régulier de la bâche plastique (Figure 14 b) pourrait s'expliquer par le fait qu'elle est réutilisable tandis que les feuilles de bananier, coupées, ne peuvent être utilisées qu'une seule fois. Lorsque la quantité de fèves à fermenter est importante, l'utilisation du plastique est plus pratique, car facile à manipuler (Bankoff *et al.*, 2013).

2.5.3. Fermentation dans les paniers

La fermentation dans des paniers (Figure 14 d) est effectuée dans des paniers en fibres végétales contenant 10 à 150 kg de fèves, posés sur le sol et recouverts de feuilles de bananiers. La fermentation en panier est beaucoup plus employée au Nigeria. Après écabossage, les fèves séparées de leurs placentas sont directement mises dans les paniers pour la fermentation (Mossu, 1990; Bankoff *et al.*, 2013).

2.5.4. Fermentation dans les caisses en bois ou plastique

En caisse (Figure 14 c), les graines sont versées dans une caisse en bois ou en plastique munie de trous de drainage à la base pour faciliter l'écoulement du jus (Guehi *et al.*, 2010). Le volume des bacs de fermentation varie considérablement et doit être adapté aux capacités de récolte. Par exemple, une caisse de dimensions 50 x 50 x 50 cm peut contenir jusqu'à 80 kg de fèves.

Ce procédé est employé dans les grandes exploitations agricoles ou plantations, comme c'est le cas à Trinité-et-Tobago et au Congo (Moussoyi M *et al.*, 2024). Les bacs peuvent être individuels ou disposés en cascade, en utilisant une pente pour faciliter le transfert des fèves. Dans ce dernier arrangement, le mélange des fèves est réalisé en déplaçant celles d'un bac supérieur vers un bac inférieur, ce qui vise à réduire la main-d'œuvre requise pour le brassage. Les bacs de fermentation sont généralement placés à l'intérieur d'un hangar afin de les protéger des intempéries.

Après l'écabossage, les fèves sont d'abord placées dans le bac le plus élevé, puis recouvertes de feuilles de bananier ou de sacs de jute pour conserver la chaleur et prévenir le dessèchement des fèves en surface (Fowler, 1999).



Source : (<http://tejaschocolate.com/howcraftchocolateismade/>)

Figure 14: Différentes méthodes de fermentation

a : Fermentation en tas ; b : Fermentation sur bâche plastique ; c : Fermentation en caisse ; d : fermentation dans les paniers.

2.6. Brassage

Le brassage permet d'aérer les fèves de cacao pendant la fermentation. En effet, il favorise une fermentation homogène, stimule la croissance des micro-organismes utiles et limite les moisissures. Idéalement, les tas de fèves doivent être retournées tous les deux jours, souvent en le reformant. Cependant, cette tâche étant laborieuse, certains agriculteurs la négligent ou la réalisent mal (Baker *et al.*, 1994).

Le brassage permet une augmentation rapide de la température, entraînant une amélioration très nette de la qualité marchande du cacao. L'aération est aussi indispensable à la multiplication des micro-organismes qui jouent un rôle important dans la fermentation. Il est recommandé de réaliser 2 à 3 brassages de la masse de fèves à partir du second jour de la fermentation afin d'homogénéiser les fermentations (Barel, 2013b; Hamdouche, 2015).

2.7. Flore microbienne de fermentation

La fermentation spontanée du cacao se déroule principalement comme un processus traditionnel, impliqué dans la production des fèves de cacao. Lors de l'ouverture des cabosses pendant l'écabossage, la pulpe de cacao est exposée à l'air et aux micro-organismes présents dans l'environnement.

Divers micro-organismes, tels que les levures, les bactéries lactiques (LAB), les bactéries acétiques (AAB), les bactéries sporulées (*Bacillus*) et les moisissures, participent à la fermentation du cacao (Barišić *et al.*, 2019; Castro-Alayo *et al.*, 2019a). Ces micro-organismes sont naturellement présents à la surface des cabosses de cacao, sur les mains des ouvriers, sur les outils, sur les bacs de fermentation et sur les insectes (Jespersen *et al.*, 2005).

De nombreuses études ont justement été menées dans différents pays producteurs pour déterminer les espèces microbiennes associées à ce processus (Arana-Sánchez *et al.*, 2015; Romanens *et al.*, 2019; Tofalo *et al.*, 2020).

2.8. Principaux microorganismes fermentaires du cacao

L'écologie microbienne et la succession des processus de fermentation du cacao sont complexes et plusieurs micro-organismes fermenteurs ont été signalés comme producteurs de composés volatils pendant la fermentation du cacao. (De Vuyst & Weckx, 2016).

La fermentation proprement dite de la masse de cacao et de fève est réalisée par une succession temporelle d'activité de levures, bactéries lactiques et bactéries acétiques dont les interactions sont déterminées principalement par leurs concentrations d'éthanol, d'acide lactique et d'acide acétique produite ainsi que par l'augmentation de la température lors de la fermentation (De Vuyst & Weckx, 2015a; Figueroa-Hernández *et al.*, 2019).

Enfin, diverses espèces de *Bacillus* se développent lorsque le pH de la masse de cacao devient moins acide et que sa température augmente jusqu'à 40-50 °C en raison de la chaleur générée par l'ensemble du processus (Nielsen *et al.*, 2007).

2.8.1. Levures

La microflore lévurienne associée à la fermentation du cacao a été déterminée dans plusieurs études au cours du siècle dernier (Ardhana & Fleet 2003; Jespersen *et al.*, 2005). La fermentation débute dès l'ouverture de la cabosse, caractérisée par un pH initial de 3,6 et un environnement anaérobie créé par la pulpe entourant les fèves, ce qui favorise la prolifération des levures.

La pulpe des fèves présente une richesse en sucres fermentescibles, tels que le glucose, le fructose et le saccharose, et affiche un pH faible compris entre 3 et 3,5, principalement en raison de la présence d'acide citrique. Les levures constituent les premiers micro-organismes à coloniser les fèves de cacao et jouent un rôle crucial durant les 24 à 48 premières heures de

la fermentation. Elles exploitent ces sucres fermentescibles comme source de croissance, les convertissant ensuite en éthanol.

Ce processus est légèrement exothermique, ce qui entraîne une élévation de la température à l'intérieur des fèves, passant de 25-30 °C à 35-40 °C (Schwan & Wheals, 2004). Après une journée, les levures atteignent leur pic d'abondance entre 10^6 et 8.10^7 UFC/mg, puis leur concentration diminue jusqu'à la fin de la fermentation (De Vuyst. L & Weckx, 2016). Les recherches des dernières années ont largement exploré l'impact des levures sur la qualité aromatique du cacao final. Schwan & Wheals (2004) ont indiqué que *Kloeckera apiculata* et *Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri* étaient les principaux producteurs de composés volatils. Parmi ces composés, on trouve l'acétate d'isopropyle, l'acétate d'éthyle, le 1-propanol, l'alcool isoamylique, le 2,3-butanediol, le succinate de diéthyle et le 2-phényléthanol.

En particulier, les souches de levure *Pichia kudriavzevii* ont été identifiées comme contribuant de manière significative à la formation de composés aromatiques spécifiques du cacao. Leur métabolisme des sucres et leur efficacité dans la production d'éthanol influent considérablement sur la qualité finale du cacao, favorisant un meilleur développement de la couleur des fèves et une composition aromatique plus riche (Pereira *et al.*, 2012; Koné *et al.*, 2016).

2.8.2. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques fermentent les sucres de la pulpe et utilisent l'acide citrique et impliquent la croissance des espèces *lactobacillus*, *leuconostoc* et *lactococcus*. La fermentation lactique correspond à la transformation du lactose en acide lactique, sous l'action des micro-organismes spécifiques appelés bactéries lactiques.

Elle est accompagnée des modifications biochimiques, physico-chimiques et organoleptiques du produit (Boudjema *et al.*, 2009). L'acidité produite par les bactéries lactiques joue un rôle dans la conservation de l'aliment en inhibant la croissance de très nombreuses bactéries pathogènes (Bartley, 2005). La présence des bactéries lactiques au cours de la fermentation est variable en fonction des lots étudiés et leur rôle est mitigé dans la fermentation du cacao.

Les recherches révèlent que les bactéries lactiques remplissent trois rôles clés dans la fermentation des fèves de cacao. D'abord, elles fermentent les sucres de la pulpe, principalement le glucose et le fructose, produisant essentiellement de l'acide lactique, ainsi que des quantités moindres d'éthanol et d'acide acétique.

Ensuite, elles métabolisent l'acide citrique présent dans la pulpe pour générer principalement de l'acide lactique, ainsi que des composés volatils comme l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et le 2,3-butanediol. De plus, certaines espèces peuvent réduire le fructose de la pulpe en mannitol (De Vuyst & Weckx 2015b). Une autre étude indique que les fèves fermentées, avec ou sans la présence de bactéries lactiques, produisent des chocolats présentant un profil sensoriel similaire (Ho *et al.*, 2015).

L'assimilation de l'acide citrique par les bactéries lactiques entraîne une légère élévation du pH et de la température de la pulpe. Combinée avec l'augmentation continue des niveaux d'éthanol et d'oxygène, cette modification permet le démarrage de la seconde phase de fermentation des fèves, sous la conduite des bactéries lactiques (Camu *et al.*, 2007d).

2.8.3. Bactéries acétiques

Les bactéries acétiques catalysent l'oxydation de l'éthanol issu de la fermentation alcoolique, conduisant à la formation d'acide acétique et d'acétate d'éthyle. Des concentrations élevées d'acide acétique peuvent compromettre la qualité des produits dérivés du cacao (Brito *et al.*, 2000).

Au cours de la fermentation, l'acide acétique diffusé dans les fèves de cacao provoque une acidification progressive de leur matrice interne, entraînant une diminution du pH de 6,5 à environ 4,5 (Thompson *et al.*, 2013). Les fèves dont le pH reste élevé après fermentation (entre 5,5 et 5,8) présentent généralement un faible indice de fermentation et sont associées à des profils aromatiques de chocolat peu développés, ainsi qu'à une intensification des notes gustatives indésirables. En revanche, un pH post-fermentation compris entre 4,75 et 5,19 est généralement indicatif d'une bonne fermentation (Afoakwa *et al.*, 2008). Par ailleurs, les fèves présentant un pH intermédiaire, situé entre 5,20 et 5,49, sont corrélées à une expression plus marquée des arômes chocolatés dans le produit fini (Jinap *et al.*, 1995). La souche *Acetobacter pasteurienne* est la plus courante lors de la fermentation spontanée des fèves de cacao. Cela s'explique probablement par sa capacité à oxyder l'éthanol, le mannitol et l'acide lactique, ainsi que par sa tolérance aux acides et à la chaleur (Meersman *et al.*, 2013). Toutefois, d'autres souches comme *Acetobacter syzygii* et *Acetobacter tropicalis* apparaissent également fréquemment et font partie des espèces dominantes dans le cacao (De Melo *et al.*, 2013). La charge microbienne maximale des bactéries acétiques sur les fèves de cacao varie de 7,8 à 8 log UFC/g (Gálvez *et al.*, 2007).

2.8.4. Bactérie de genre *Bacillus*

Dès les premières étapes de modifications (remontée de pH et de la température), les *Bacillus* vont devenir prédominants dans la flore des fèves jusqu'à atteindre 10^8 UFC/g. Les modifications de la teneur en sucres, l'apparition d'oxygène ainsi qu'une augmentation de la température sont favorables à leur croissance (Hanifa, 2017).

À la fin du processus de fermentation, l'augmentation du pH (de 3,5 à 5), de l'aération et de la température (jusqu'à 50 °C) au sein de la masse de cacao favorisent le développement des bactéries aérobies sporulantes thermotolérantes du genre *Bacillus*. Ces bactéries deviennent alors les espèces prédominantes à la fin de la fermentation. Les espèces principalement isolées au cours des fermentations de cacao comprennent principalement *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, et *Bacillus flexus* (De Vuyst *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2018).

Une étude menée par Ouattara *et al.* (2008) a démontré que les *Bacillus* pourraient être impliqués dans la dégradation de la pulpe de cacao en raison de leur capacité à produire une enzyme pectinolytique. Toutefois, en fin de fermentation, ces bactéries peuvent influencer la qualité organoleptique du cacao final en produisant des acides organiques et des composés aromatiques pyrazines (la 2,5-diméthylpyrazine et la tétraméthylpyrazine) caractéristique de saveur de noisette dans le cacao, mais aussi le 2,3-butanediol (Ardhana & Fleet, 2003).

2.9. Phases microbiennes de la fermentation des fèves de cacao

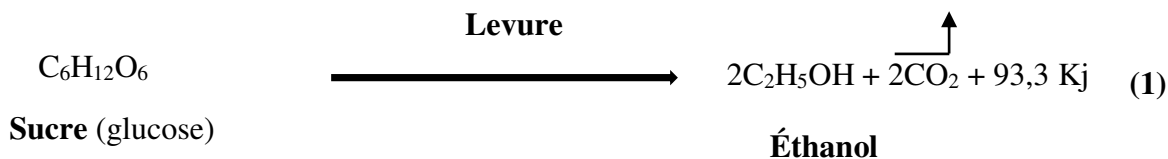
La fermentation des fèves de cacao se déroule en deux phases principales (la phase anaérobie et la phase aérobie) et une phase intermédiaire selon une succession microbienne bien donnée avec des réactions bien définies.

2.9.1. Phase anaérobie

La phase initiale est une phase anaérobie stricte. En effet, après la mise en tas des fèves, la pectine de la pulpe (5 à 7 %) forme une sorte de « ciment » autour des graines et empêche la pénétration de l'air dans la masse de cacao (Arana-Sánchez *et al.*, 2015).

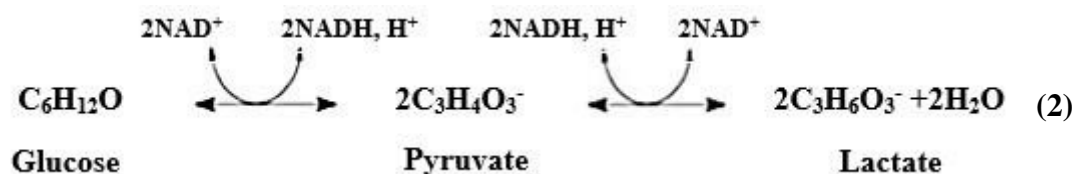
Cette première phase correspond à la fermentation microbiologique de la pulpe riche en sucre et en acide citrique. Les levures, présentes naturellement ou introduites, consomment les sucres pour produire de l'éthanol et du dioxyde de carbone par fermentation alcoolique.

A cette phase, 95 % du glucose est métabolisé par la fermentation alcoolique de la levure dont la charge maximale de levures varie de 6 à 8 logs UFC/g de cacao (Nielsen *et al.*, 2007 ; Drapron *et al.*, 1999).



2.9.2. Phase intermédiaire

La phase intermédiaire est conduite par les bactéries lactiques qui transforment les sucres restants et l'éthanol en acide lactique. La liquéfaction de la pulpe entraînant une micro-aération, la transformation des sucres en alcool et l'augmentation du pH créent de nouvelles conditions favorables à la croissance des bactéries lactiques au détriment progressif des levures. Elles transforment alors les sucres résiduels en acide lactique, d'autres acides organiques, éthanol et en dioxyde de carbone (Ho *et al.*, 2014). La fermentation lactique se déroule selon la réaction



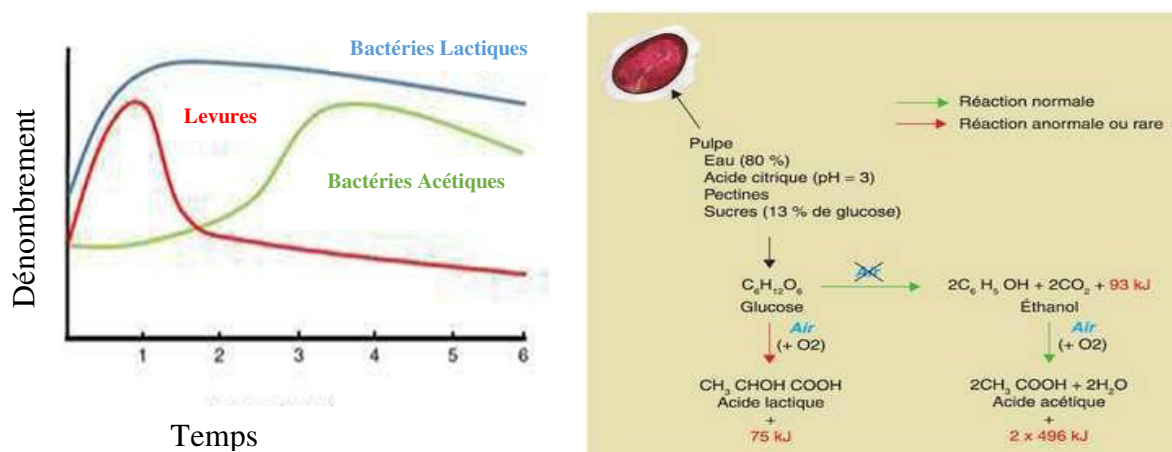
2.9.3. Phase aérobie

Pendant la seconde phase qui est la finale, l'éthanol est oxydé en acide acétique (fermentation réalisée par les bactéries acétiques) qui, en diffusant dans les fèves, provoque la mort du germe et l'activation d'enzymes endogènes importantes pour la production des précurseurs d'arômes (De Vuyst *et al.*, 2010). Il est également démontré que l'arôme peut être développé à partir du métabolisme primaire des micro-organismes telle que la fermentation du cacao (Rodriguez-Campos *et al.*, 2012). Cette fermentation est plus exothermique et se traduit également par la réaction suivante :



Les différentes réactions possibles au cours de la fermentation des fèves de cacao sont représentées par la figure suivante. Deux types de réaction ont lieu en fonction du support

utilisé (Figure 15). Ce sont la réaction normale avec une absence d'air au départ de la fermentation dans la masse de fèves stockées qui produit à la fin de l'acide lactique ; et une deuxième qui est la réaction anormale avec production d'acide lactique (Barel, 2013 ; De-Vuyst & Weckx, 2016).



Source : De Vuyst & Weckx 2016

Figure 15: Dynamique des communautés microbiennes impliquées et bilan des réactions microbiennes dans la pulpe du cacao au cours de la fermentation.

2.10. Micro-organismes, agents pathogènes et d'altération de fèves de cacao marchandes

Dans la pulpe qui reste, d'autres fermentations microbiennes incontrôlées peuvent également conduire à des mauvais goûts (Barel, 2013). Parmi eux on peut citer, les *Bacillus* et les moisissures.

2.10.1. *Bacillus cereus*

La bactérie *Bacillus cereus* est un bacille Gram positif, sporulé, mésophile et anaérobie facultatif thermorésistant. Cette bactérie est largement répandue dans la nature. Les températures de croissance de cette bactérie peuvent varier de 5 à 50 °C. On la trouve abondamment dans le sol et la principale voie de transmission de cette bactérie à l'humain est d'origine alimentaire. Ces caractéristiques lui confèrent une résistance particulière à l'action de bactéricides, aux désinfectants, aux radiations, à la dessiccation et au cycle du froid. Le nombre est fonction de la température et du pH (Guinebretière *et al.*, 2008).

2.10.2. Pouvoir pathogène de *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est la 3^e cause de toxi-infection alimentaire collective. Les cellules végétatives de *B. cereus* forment des spores lorsqu'elles se trouvent en conditions environnementales défavorables. Elle peut contaminer pratiquement tous les types d'aliments et en particulier les produits végétaux. La forme sporulée résiste à la cuisson et à la pasteurisation des aliments. Les *Bacillus* se multiplient bien dans un aliment cuit ou pasteurisé (élimination de la flore compétitrice). Ces spores peuvent rester à l'état latent pendant de nombreuses années, voire des milliers d'années, attendant ainsi le retour des conditions favorables. Selon Abbas (2014), *B. cereus* est impliqué dans la production de deux toxines distinctes responsables de symptômes diarrhéiques ou émétiques, parfois associée à des vomissements (Bornert, 2000). Ils sont connus pour être à l'origine de problèmes dans les industries alimentaires parce qu'ils affectent la qualité et la sécurité des aliments (Aini *et al.*, 2021). Ces bactéries produisent également des acides gras libres en C3-C5, présents pendant la fermentation aérobie, qui sont considérés comme responsables des arômes désagréables du chocolat (Schwan & Wheals, 2004). De plus, les rations d'aliments causées par *Bacillus* sont principalement des défauts organoleptiques tels que des flaveurs désagréables : notes rances, fruitées, levurées, amères (Meer *et al.*, 1991).

2.10.3. Moisissures

Les moisissures sont aérobies, en général, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) (Nicklin *et al.*, 2000) et mésophiles (température optimale 20-30 °C) (Botton *et al.*, 1990). Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, se développant à basse température ($T < 0$ °C), comme *Cladosporium herbarium*, *Thamnidium elegans*. Elles ont, en général, un faible besoin en eau par rapport à d'autres micro-organismes ($a_w = 0,65$; Boiron, 1996). Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique, etc...) qui en font des agents de dégradation dangereux, mais aussi parfois des alliés utiles (affinage des fromages, production d'enzymes).

2.10.4. Pouvoir pathogène des moisissures

Les moisissures sont des micro-organismes dont les attaques sont les plus graves pour les fèves de cacao et pour l'homme. C'est réellement à partir de 1960 qu'on a pris conscience que les moisissures pouvaient produire des toxines significantes (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).

L'ochratoxine A est un métabolite secondaire produit par plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*, qui peut se retrouver dans une denrée alimentaire même en l'absence de moisissures visibles (Pittet.A & Royer, 2002). Elle constitue une menace significative pour le cacao ivoirien. De nombreuses études antérieures ont rapporté la présence d'ochratoxine A dans le cacao et divers sous-produits (Zinedine *et al.*, 2007).

En Côte d'Ivoire, cette mycotoxine a été détectée dans le cacao provenant des ports ivoiriens (Dembélé *et al.*, 2009). Des traitements post-récoltes mal réalisés, notamment la fermentation, peuvent favoriser la prolifération de moisissures telles qu'*Aspergillus* et *Penicillium*, responsables de la production d'ochratoxine A (OTA) (Lachenaud *et al.*, 2006). Par ailleurs, les conditions de traitement des aliments, et en particulier du cacao, sont souvent difficiles à contrôler.

L'aflatoxine B1 est classée comme cancérigène tant pour l'homme que pour l'animal, tandis que *Fusarium verticillioides* peut être un agent de fusarioses disséminées chez les patients infectés par le VIH (Duran *et al.*, 1989). Plusieurs moisissures, notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*, sont reconnues comme des contaminants des produits agricoles et pour leur capacité à produire des mycotoxines. Par conséquent, la contamination fongique peut survivre à divers points critiques au sein de la chaîne de production du cacao (Magan & Aldred, 2005).

3. DÉMARCHE DE QUALITÉ DES FÈVES DE CACAO

La recherche de qualité des fèves de cacao se manifeste à travers des caractéristiques physiques (la taille, le poids, la couleur et le contenu en graisse) et organoleptiques des fèves (le goût, l'arôme) (Diomande, 2014). Toutesfois, le degré et la durée d'acidification des cotylédons, la durée du processus de fermentation et pH final sont les éléments les plus importants affectant la qualité du cacao brut (Afoakwa *et al.*, 2008). En effet, au cours de la fermentation, les métabolites, source ultime de ce processus, réagissent avec les sucres réducteurs et les acides aminés, influençant ainsi la saveur et la couleur des fèves de cacao. Ils interagissent également avec les alcaloïdes, contribuant à l'amertume du cacao. La théobromine, la caféine et les polyphénols sont les principaux composés contribuant au goût amer ainsi qu'à la sensation astringente en bouche après la consommation de cacao torréfié (Stark *et al.*, 2005). Au cours de ces dernières années, un effort de plus en plus important a été mis en place en réponse aux exigences législatives de certaines régions. Il s'agit d'un système de traçabilité face aux exigences législatives de certaines parties du monde comme

l'Union Européenne avec un souci croissant de la qualité des aliments et de la sécurité alimentaire (Van der Vorst, 2006). La mise en œuvre de la traçabilité des systèmes dans l'industrie alimentaire amène à détailler des informations sur la façon dont les produits ont été manipulés et traités depuis le producteur de cacao jusqu'au chocolatier (Akkerman *et al.*, 2010).

3.1. Traçabilité

Selon la législation communautaire (règlement CE N° 178/2002) (UE, 2002), la «traçabilité» désigne la capacité de retracer le parcours d'une denrée alimentaire ou d'une substance destinée à la consommation à travers toutes les étapes de production, de transformation et de distribution. L'Union européenne, en particulier, accorde une attention croissante à la qualité des aliments et à la sécurité alimentaire (Van der Forest, 2006). La mise en place de systèmes de traçabilité dans l'industrie alimentaire nécessite la collecte d'informations détaillées sur les modalités de manipulation et de traitement des produits, allant du producteur de cacao au chocolatier (Akkerman *et al.*, 2010). Cependant, comme la majorité des fèves de cacao sont produites dans des pays non européens, la réglementation de l'Union européenne ne s'applique pas aux acteurs situés en amont de la chaîne d'approvisionnement du cacao. Cela se traduit souvent par un manque d'échanges de données entre agriculteurs et fabricants de chocolat (Saltini & Akkerman, 2012). Le projet de l'ICCO sur la qualité totale a montré qu'il est possible d'atteindre un niveau élevé de traçabilité dans les exportations de cacao ordinaire en provenance de grands pays producteurs tels que la Côte d'Ivoire. Cette avancée bénéficie ainsi à l'ensemble de la chaîne, de l'exploitant au consommateur (ICCO, 2013).

3.2. Exigences de la matière première « fèves de cacao »

Selon N'Guessan & N'Goran (2020), les fèves de cacao utilisées pour la fabrication de la pâte de cacao, du beurre de cacao, ainsi que la masse de cacao et le beurre destiné à l'exportation, sont principalement utilisées par l'industrie du chocolat et pour divers autres usages obtenus par pressage. Ces produits respectent généralement les spécifications chimiques suivantes, présentées dans le Tableau VI ci-dessous.

Tableau VI: Tableau de la composition chimique de fèves de cacao fermentées et séchées et celle de la liqueur de cacao

Source : Hurst (2015) et Bertazzo *et al.* (2013)

COMPOSITION CHIMIQUE RECOMMANDEE DES FEVES DE CACAO APRES FERMENTATION ET SECHAGE		
COMPOSITION		TENEUR (%)
Cendres		4,2 à 20,7
Azote total		2,5 à 3,2
Théobromine		0,9 à 1,3
Caféine		0,3 à 0,7
Amidon		5,2 à 7
Cellulose brute		3,2 à 19,2
PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA LIQUEUR DU CACAO		
COMPOSITION		TENEUR (%)
Matière grasse		48 à 52 %
Couleur	L*	2,80 à 3,40
	a*	1 à 2,20
	b*	0,35 à 1,50
Finesse		≥ 99,50

L : Luminosité ; a* : Rougeur. b* : Jaunissement*

3.3. Caractéristiques physico-chimiques des fèves de cacao

3.3.1. Taux d'humidité

Avant la transformation en chocolat, la qualité des fèves est évaluée en utilisant deux méthodes différentes. La première technique consiste à évaluer les fèves en fonction des indicateurs suivants : degré de fermentation ; teneur en humidité (maximum 6 %) ; Si la teneur en eau du cacao reste supérieure à 8 % (teneur critique) pendant le stockage, n'importe quel saprophyte pourrait s'y développer (Hii *et al.*, 2009). S'il est supérieur à 8 %, le risque de contamination fongique est élevé (Guehi *et al.*, 2010a) avec de sérieuses conséquences potentielles pour la sécurité, l'arôme et la qualité de transformation du cacao (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015).

3.3.2. Activité de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) et le pH sont des paramètres cruciaux pour évaluer la thermo-résistance des micro-organismes. Contrairement à un pH faible, qui favorise la destruction

thermique, une faible activité de l'eau lors d'un traitement peut accroître la résistance à la chaleur des micro-organismes (Merzougui *et al.*, 2013).

L'activité de l'eau influence également la pression osmotique, qui régule les échanges à travers les membranes cellulaires. La prolifération des micro-organismes dans un aliment dépend directement de son niveau d'activité de l'eau (Tableau VII).

Tableau VII: Prolifération des microorganismes en fonction de l'activité de l'eau

Source : Adapté de L.R Beuchat 26 :345 (1981)

Plage de a_w	Microorganismes généralement inhibés dans cette gamme	Aliment généralement compris dans cette plage de a_w
1 – 0,95	<i>Pseudomonas</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>shigella</i> , <i>klebsiella</i> , <i>bacillus</i> , <i>clostridium perfringens</i> , certaines levures	Aliments habituellement périssable (frais) et fruits, légume, viande, poisson, lait et boisson en conserve
0,95 - 0,91	<i>Salmonelle</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>c.botulinum</i> , <i>serratia</i> , <i>lacto Bacillus</i> , <i>pediococcus</i> , certaines moisissures, <i>leuveures</i> (<i>rhodotorula</i> , <i>pichia</i>)	Certains fromages (cheddar, suisse, muenster. Provolone), charcuterie (jambon), pain, tortillas.
0,91 – 0,87	De nombreuses levures (<i>candida</i> , <i>torulopsis</i> , <i>hansenula</i>), <i>micrococcus</i>	Saucisson fermenté (salami), génoises, fromages secs, margarine
0,87 – 0,80	La plupart des moisissures (<i>penicillie mycotoxigène</i>), <i>staphylococcus aureus</i> , la plus part des <i>saccharomyces</i> (<i>ballil</i>) spp., <i>Debaryomces</i>	La plupart des concentrés de jus de fruits, du lait concentré sucré, des sirops, des confitures, des gelées, des aliments mous pour animaux de compagnie.
0,80 – 0,75	La plupart des bactéries halophiles, <i>aspergilli mycotoxigènes</i>	Marmelade, marzipan, fruits glacés,
0,75 – 0,65	Moisissures xérophiles (<i>aspergillus chevalieri</i> , <i>A. candidus</i> , <i>wallemia sebi</i>), <i>saccharomyces bisporus</i>	Mélasses, sucre de canne brut, certains fruits secs, noix, barres de collation, petits gâteaux
0,65 – 0,60	Leveurs osmiphiles (<i>saccharomyces rouxii</i>), quelques moisissures (<i>aspergillus</i> , <i>echinulatus</i> , <i>monascus bisporus</i>).	Fruits secs contenant 15-20 % d'humidité, quelques caramels, miel, bonbons
0,60 – 0,50	Pas de prolifération microbienne	Pâtes sèches, épices, riz, confiseries, blé
0,5 – 0,4	Pas de prolifération microbienne	Œuf entier en poudre, chewing-gum, farine, haricots
0,4 - 0,3	Pas de prolifération microbienne	Biscuit, craquelins, croute de pain, céréales pour petit-déjeuner, aliments secs pour animaux de compagnie, beurre de chouette
0,3 – 0,2	Pas de prolifération microbienne	Lait entier en poudre, légumes secs lyophilisés, amidon de maïs, chips de pomme de terre, chips de maïs,

3.3.3. Grainage

Au nombre des facteurs influençant la qualité des fèves de cacao de commerce, le grainage représente un paramètre clé. Ce test consiste à quantifier le nombre total de fèves présentes dans un échantillon de 100 g (ISO, 2014). Un critère de qualité acceptable est établi

à un grainage de 100 fèves ou moins, ce qui implique que le poids spécifique d'une fève doit être égal ou supérieur à 1 g (Guéhi *et al.*, 2007). Selon la norme ISO 251, les fèves sont classées comme grandes lorsque leur nombre est inférieur ou égal à 100, moyennes pour un nombre de 101 à 120, et petites lorsque le nombre de fèves dépasse 120.

3.3.4. Degré de fermentation et niveau de dégradation physique des fèves

Le principal défaut de qualité associé au cacao ivoirien réside dans le pourcentage élevé de fèves ardoisées et moisies, résultant d'une fermentation et d'un séchage inadéquats (Kouakou *et al.*, 2013). Le degré de fermentation et le niveau de dégradation physique des fèves sont évalués à l'aide du cut-test, une méthode essentielle en milieu industriel pour mesurer l'indice de fermentation (Guéhi *et al.*, 2010). Selon la norme ISO 2451 (2017), il existe neuf catégories de défauts de fèves, dont certaines peuvent résulter d'une fermentation insuffisante, comme les fèves ardoisées et violettes. D'autres défauts peuvent indiquer des niveaux élevés d'acides gras libres, un arôme déficient ou la présence de contaminants tels que les crabots, les fèves brisées, celles ayant une odeur de fumée, les fèves moisies, germées ou infestées par des insectes (Tableau VIII). Les fèves peuvent également être classées en quatre catégories selon leur couleur : brune (entièrement fermentée), violette/brune, violette (mal fermentée) et ardoisée (non fermentée)

Toutefois, seules cinq de ces catégories sont retenues dans les normes de qualité ISO 2451 relatives aux spécifications des fèves de cacao : fèves moisies, ardoisées, attaquées par des insectes, germées et assiettes. Selon Kealey *et al.* (2004).

Tableau VIII: Caractéristiques des fèves par la méthode du Cut test et autres défauts liés à la qualité des fèves de cacao

Source : (Mossu ,1990 ; ICCO, 2008).

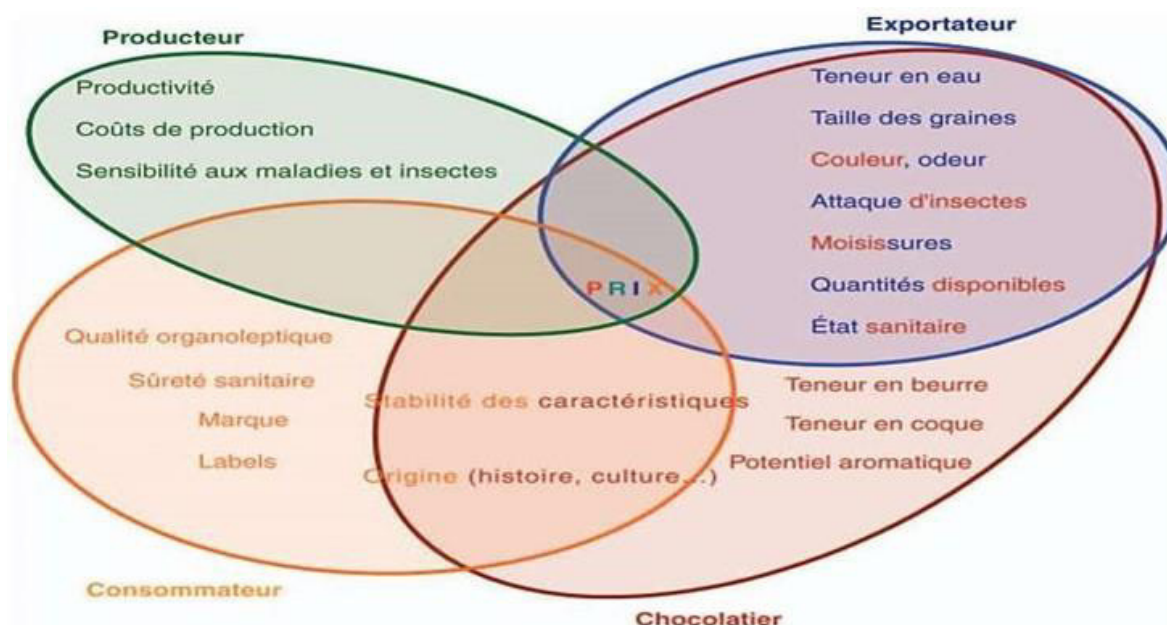
Types de fèves	Illustration	Description	Caractéristiques
Fèves plates		La fève est aplatie Cotylédons atrophiés Impossibilité d'avoir une coupe longitudinale	Récolte trop tardive Cabosses surnatures
Fèves agglomérées crabots		Ensemble de plusieurs fèves collées les unes aux autres et qu'on ne peut séparer avec deux doigts	Mauvaise séparation des fèves lors de l'écabossage Mauvaise homogénéisation de la fermentation
Fèves brisées		Fèves dont 20 % ou moins sont séparés	Mauvais stockage (empilement de sac excessif) Mauvais transport Déversement trop haut

Brisures		Moins de 20 % de la fève	Mauvais stockage (empilement de sac excessif) Mauvais transport Déversement trop haut
Coques		Enveloppe protégeant les cotylédons (entre 1 et 2 % du poids de la fève)	Mauvais stockage (empilement de sac excessif) Mauvais transport Déversement trop haut
Matière étrangère		Cailloux, tiges, pierres, etc (hors cacao) Placenta, morceaux de cabosses, etc	Mauvais tri des fèves lors de l'écabossage Mauvais tri des fèves lors de la fermentation Mauvais contrôle des fèves lors du séchage Mauvais stockage, sacs poussiéreux, usés
Débris tamisage (5 mm)		Cailloux, tiges, pierres, poussière etc (hors cacao) Placenta, morceaux de cabosses, fèves plates, brisures (cacao)	Mauvais tri des fèves lors de l'écabossage Mauvais tri des fèves lors de la fermentation Mauvais contrôle des fèves lors du séchage Mauvais stockage, sacs poussiéreux, usés
Fève brune, aspect fissuré		100% de la catégorie acceptée	Bonne fermentation Bon séchage Bon stockage Bon transport
Fèves violettes		Fève de couleur violette (sur + de 50% de la surface), non fissurée 40% de la catégorie acceptée	Fermentation trop courte ou inexistante Cabosses immatures Mauvaise séparation des fèves lors de l'écabossage
Fèves ardoisées		Cotylédons de couleur ardoisée (gris-bleu à +50 % surface) peu fissuré Grade 1 : < 3 % de la catégorie acceptée Grade 2 : < 8% de la catégorie acceptée	Fèves non fermentées
Fèves moisies		Présence de moisissures dans les parties internes, visibles à l'œil nu (orange, vert, blanc) Grade 1 : < 3 % de la catégorie acceptée Grade 2 : < 4 % de la catégorie acceptée	Mauvais séchage (court ou lent) Mauvais stockage (à l'humidité)
Fèves beurrées (white spot)		Présence de taches blanches (à ne pas confondre avec la moisissure) Grade 1 : < 3 % de la catégorie acceptée (cumulées avec les autres fèves défectueuses) Grade 2: < 6 % de la catégorie acceptée (cumulées avec les autres fèves défectueuses)	Mauvais stockage
Fèves mitées		Présence d'insectes Grade 1 : < 3 % de la catégorie acceptée (cumulées avec les autres fèves défectueuses) Grade 2: < 6 % de la catégorie acceptée (cumulées avec les autres fèves défectueuses)	Traitement au champ non adéquat Mauvaise protection Mauvais stockage en présence d'insectes

Fèves germées		Orifice à l'arrière de la fève provenant de la percée, chute de la radicule Grade 1: < 3 % de la catégorie acceptée (cumulées avec les autres fèves défectueuses) Grade 2: < 6 % de la catégorie acceptée (cumulées avec les autres fèves défectueuses)	Récolte trop tardive Cabosses surnatures
----------------------	---	---	--

L'industrie du cacao a besoin d'une offre durable et homogène de fèves de cacao dotées de traits qualitatifs répondant à ses multiples exigences. Divers types de cacao sont nécessaires pour satisfaire la demande du marché complexe du chocolat et de produits dérivés du cacao. La sécurité des denrées alimentaires dans ce marché, l'efficacité et le rapport coût efficacité sont des facteurs clés outre les exigences qualitatives du consommateur.

La qualité des fèves étant à l'origine des composants aromatiques et nutritionnels spécifiques du cacao, il convient d'insister sur l'importance d'un niveau élevé et uniforme de qualité. Le terme qualité ainsi employé englobe les caractéristiques physiques qui ont un impact direct sur la performance industrielle, mais aussi les aspects essentiels liés à l'arôme et à la sécurité sanitaire des denrées alimentaires (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015).



Source : Barel (2013)

Figure 16: Différents facteurs de qualité influençant le prix d'achat des fèves marchandes de cacao.

4. ZONES D'ÉTUDE

4.1. Présentation des zones d'étude

Pour l'enquête sur le terrain, trois zones de trois principales régions de production de cacao en Côte d'Ivoire ont été choisies. Il s'agit de San-Pédro dans la région du Bas-Sassandra, de Daloa dans la région du Haut-Sassandra, et Soubré (fief du cacao ivoirien) dans la région de la NAWA. Ces zones sont caractérisées par un climat subéquatorial, à régime bimodal, avec des précipitations moyennes oscillant entre 1200 et 1700 mm par an. La durée d'insolation est supérieure à 1800 heures par an (Eldin, 1971).

Les températures moyennes annuelles varient de 24 à 32 °C (Eldin 1971). La végétation est celle d'une forêt dense, humide et semi-décidue. Cette végétation est actuellement très dégradée à cause de la pratique de l'agriculture itinérante, la croissance démographique rapide et l'urbanisation, l'exploitation forestière et la mise en place de cultures de rente (FAO, 2000).

La majorité des sols sont ferralitiques et caractérisés par une somme de bases échangeable inférieure à 8 mg/100g de sol, un taux de saturation du complexe adsorbant inférieur à 80 % et un pH oscillant entre 4,5 et 6,5 (Perraud, 1971).

4.2. Zone de San-Pédro

Chef-lieu de la région du Bas-Sassandra, San-Pedro est une zone située au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire, à 368 Km de la ville d'Abidjan. C'est une zone chaude et humide avec une température moyenne de 28-29 °C pendant la grande saison des récoltes qui se déroulent du mois d'octobre au mois de décembre. Cette zone est caractérisée par une basse altitude, en dessous de 500 m, avec 70 à 80 mm de précipitation par mois. San-Pédro compte 277 140 ha de plantation de cacao et 171 164 tonnes de cacao (Varlet, 2013). Le choix de la région du Bas-Sassandra répond à son dynamisme agricole.

En effet, cette zone, anciennement appelée le Sud-ouest de la Côte d'Ivoire constitue le pôle stratégique du redéploiement de la production agricole nationale, en termes d'équilibre entre régions comme entre produits d'exportation. Elle constitue un cas quasiment unique, en milieu rural africain, de brassage de populations ivoiriennes et étrangères (18,72 % d'autochtones, 60,75 % d'allochtones et 20,53 % d'allogènes (RNA, 2001), qui en fait un véritable résumé de la diversité sociologique de l'Afrique de l'Ouest.

4.3. Zone de Soubré

La zone de Soubré (région de la Nawa) est également située au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire mais, est un peu plus proche du Centre-Ouest, et à 383 Km de la ville d'Abidjan. C'est une zone tempérée avec une température moyenne de 25-28 °C et une pluviométrie relativement élevée de 65 à 70 mm de précipitations par an. L'altitude est modérée, en dessous de 600 m (Guéhi *et al.*, 2008). La région de la Nawa compte 19 328 ha de plantation de cacao et 272 265 tonnes de production par an (PEMED-CI, 2015). La région est la plus grande région productrice de cacao de Côte d'Ivoire et son économie est tirée par le cacao, qui emploie 95 % des ménages agricoles (environ 72 051 ménages) et constitue la principale source de revenus des ménages (DSDI, 2016).

4.4. Zone de Daloa

Daloa, le chef-lieu, se situe à 141 km de Yamoussoukro et à 383 km d'Abidjan et est désignée la troisième ville du pays, en termes démographique avec ses 35 000 habitants, après Abidjan et Bouaké (Lucien & Combo, 2014). Le développement économique de la région a connu une accélération grâce au développement des cultures de rente comme le café et le cacao. Elle est désignée comme le deuxième front pionnier de production de ces cultures (Mgbakor & Adou, 2012). Située dans le Centre-Ouest ivoirien, la région du Haut-Sassandra a une superficie de 15 200 km² pour une population estimée à 1.430.960 habitants (RGPH, 2015). La région du Haut-Sassandra est limitée au nord, par la région du Worodougou, à l'est, par la région de la Marahoué. Au sud, les régions du Fromager et du Bas-Sassandra partagent leur voisinage avec le Centre-Ouest. Sa partie ouest est bordée par, les régions des Montagnes et du Moyen-Cavally. Elle est composée de quatre départements, Daloa, Zoukougbeu, Issia et Daloa (Figure 17).

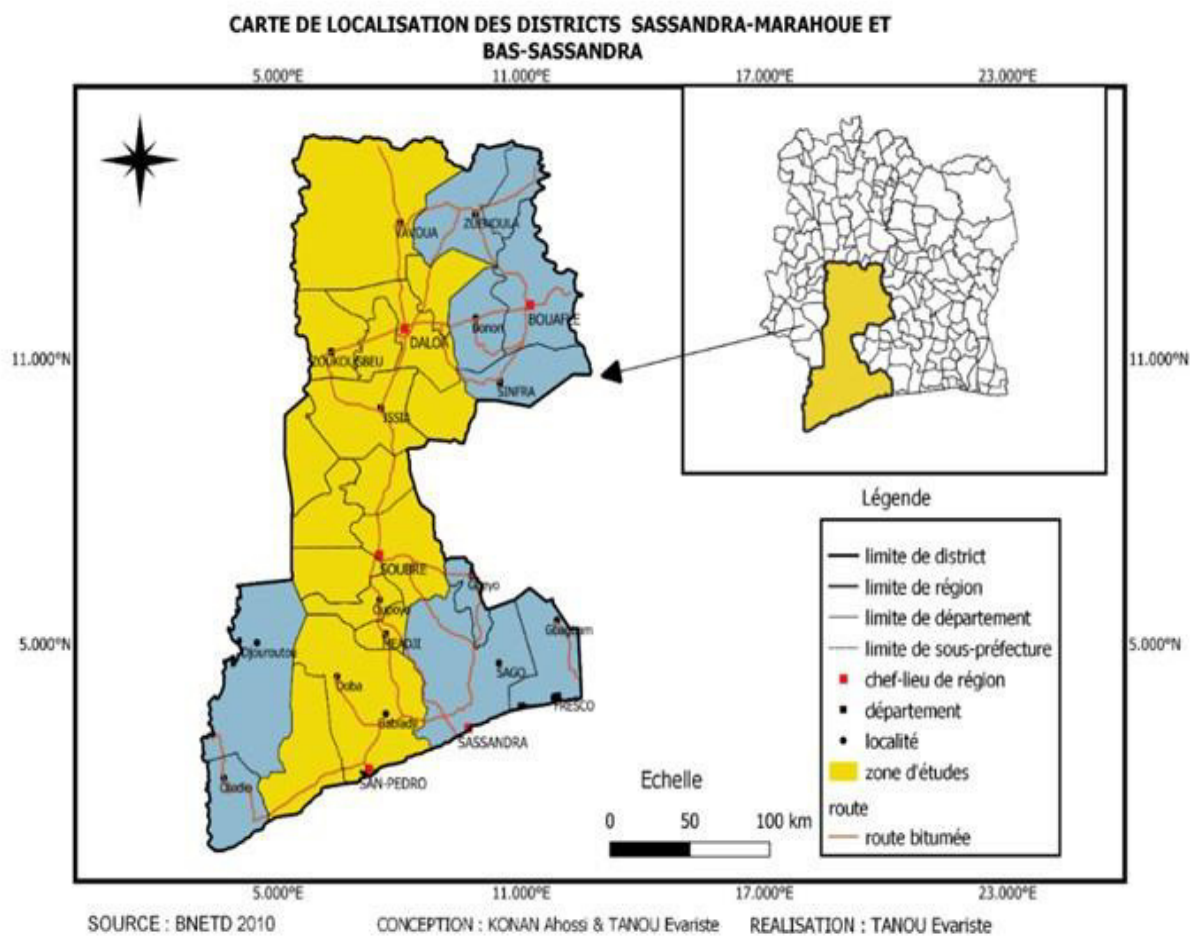


Figure 17: Cartographie de la zone d'étude

DEUXIEME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. MATÉRIEL

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de fèves de cacao en cours de fermentation (Figure 18 a) et des fèves fermentées et séchées (Figure 18 b). Ces fèves sont de deux variétés différentes. La variété « *Forastero* » récoltée dans les zones de San-Pédro et Daloa et la variété hybride « *Mercedes* » du CNRA (Centre National de Recherche Agronomique) recueillie dans la zone de Soubré.



a : Fèves en fermentation ; b: fèves fermentées et séchées

Figure 18: Échantillons prélevés dans les zones d'études

1.2. Matériel technique

1.2.1. Matériel d'échantillonnage

Le matériel d'échantillonnage comprend un appareil numérique pour la prise de vues, des bocaux stériles de 50 mL pour la collecte des échantillons de fèves en fermentation, et des sacs en jute pour recueillir les fèves fermentées et séchées. Il inclut également une glacière contenant de la glace en surfusion pour le transport des échantillons. Le matériel a concerné aussi, des fiches d'enquêtes établies sur le logiciel Sphinx pour la collecte d'information sur les pratiques post-récoltes (Annexe 2).

1.2.2. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire est constitué d'un ensemble d'équipements, de réactifs, de verreries et de milieux de cultures (Tableau IX) qui ont permis de réaliser les analyses physico-chimiques, bio-chimiques et microbiologiques.

Tableau IX: Liste des matériels et divers produits utilisés lors des analyses

Appareils électriques et électroniques	GC-MS ; GC-FID ; HPCL ; Agitateur magnétique ; Bain-marie thermostaté ; Distillateur de BÜCHI ; SOXHLET ; Rota vapeur ; Balance de précision ; Incubateurs ; Four à moufle ; Dessiccateur ; Étuve ; Thermomètre ; Pipettes ; Agitateur et barreaux magnétiques ; Micropipette ; colorimètre modèle Colorflex EZ 45/0 LAV ; pH-mètre ; Cartouche à extraction ; Spectrophotomètre d’Absorption Atomique à flamme ; bain ultrason
Réactifs et standards	Éthanol ; Eau distillée ; Phénolphtaléine ; Solution éthanoïque de potasse ; acide sulfurique ; Hexane ; Acide chlorhydrique ; Catalyseurs (10 g K ₂ SO ₄ + 1 g CuSO ₄) ; Acide borique (H ₃ BO ₃) ; Réactif de Tashiro ; Soude (NaOH) ; Pastel de catalyseur CU(CUSO ₄), Folin-Ciocalteu, Acide Gallique, polyvinylpyrrolidone ; Quercétine ; Acide Tanique ; glucose ; fructose ; acide acétique ; acide lactique ; acide oxalique ; acide succinique ; acide citrique.
Verrerie	Bécher ; Ballons ; Boîtes de pétri ; tube à vice ; Erlenmeyer ; Éprouvette Graduée
Milieux de culture	Eau peptonée tamponnée ; MRS ; Acetobacter ; sabouraud au chlorure de novobiocine ; MYP ; BCC ; gélose nutritive.
Autres petits matériels	Anses d'ensemencement ; Etaleurs microbiologiques ; Marqueur ; paraffine ; bouteille de gaz ; bec benzène ; sac en jute,

2. MÉTHODES

2.1. Enquête sur les techniques d’obtention des fèves fermentées et séchées de cacao dans les zones d’études

Cette enquête individuelle a été initiée pour répertorier et évaluer les nouvelles techniques de fermentation et de séchage post-récolte du cacao. Ainsi, l’approche méthodologique adoptée dans cette étude a inclus la sélection des villages enquêtés, le développement d’outils d’acquisition de données, la collecte des données sous forme de tableau enquête/entretien et l’analyse des données collectées. L’enquête a débuté dans le mois de Mai 2021 et a pris fin en Novembre 2021 soit 6 mois.

2.1.1. Critères d’inclusion et d’exclusion

Les populations des villages enquêtés étaient constituées d’au moins 80 % de producteurs de cacao. Cette enquête a concerné à la fois les coopératives agricoles exerçant dans la cacao-culture et les producteurs de cacao. Ainsi, les producteurs enquêtés étaient, soit propriétaires d’une parcelle de cacao ou contractuels, communément appelés « abousant ». Par ailleurs, les producteurs enquêtés sont ayants des champs de cacao d’au moins 2 hectares avec une production minimale de 500 kg/ récolte.

2.1.2. Répartition des villages enquêtés selon les zones d'étude

L'enquête s'est déroulée dans 13 villages de plus de 500 habitants dont cinq dans la zone de San-Pédro (Pont Brimé, Dagadji, Doba, Grobonou Dan et Do Sakassou), quatre dans la zone de Daloa (Gonaté, Lénoufla, Zougougbeu et Grégbeu) et quatre dans la zone de Soubré (Petit Bouaké, Oupoyo, Gnipi 2 et Ningradji). Un questionnaire (Annexe 1) à la fois ouvert et fermé selon le modèle de Balanga *et al.* (2004) a été soumis aux producteurs de cacao. Des entretiens ont été conduits individuellement en français et/ou dans une langue locale avec l'appui d'un interprète le cas échéant (Tableau X).

Tableau X: Villages enquêtés dans les zones d'étude

N°	Zones d'étude	Villages
1	San-Pédro	Pont Brimé
		Dagadji
		Doba
		Grobonou Dan
		Do Sakassou
2	Daloa	Gonaté
		Lénoufla
		Zougougbeu
		Grégbeu
3	Soubré	Petit Bouaké
		Oupoyo
		Gnipi 2
		Ningradji

2.1.3. Techniques de collecte des données sur le terrain

Pour la collecte des données sur le terrain, une autorisation préalable des autorités administratives des différentes zones d'étude a été nécessaire. Les techniques utilisées dans le cadre de cette étude sont les entretiens et les observations directes sur le terrain.

2.1.4. Entretiens

Les entretiens ont été menés auprès de deux catégories de personnes. D'abord, les responsables de coopératives agricoles puis les producteurs pris individuellement. Au niveau des responsables de coopératives, le questionnaire a porté sur la taille des villages, la production de cacao et la qualité des fèves reçus. Par contre, avec les producteurs sélectionnés selon la méthode de boule de neige ou le premier interrogé recommande un autre producteur et ainsi de suite pour atteindre une cible plus large. L'enquête a porté sur l'identification sociodémographique du producteur, les supports de fermentation (supports, durée de

fermentation, niveau de brassage ...), de séchage (supports, durée de séchage, niveau de brassage ...) et les facteurs motivants et limitants l'usage de ces supports.

2.1.5. Observations sur le terrain

Outre les entretiens, des observations directes sur le terrain ont permis de vérifier les informations recueillies. Ces observations ont porté sur les installations pour la fermentation et le séchage, le processus complet de fermentation des fèves de cacao avec un accent sur la quantité des fèves fraîches stockées pour la fermentation.

2.2. Mise en place des essais de fermentation sur différents supports

Le processus de manutention post-récolte conduisant à la production des fèves de cacao fermentées et séchées, ou fèves marchandes de cacao, a été effectué selon les étapes séquentielles : écabossage-fermentation-séchage dans les conditions paysannes. Les expérimentations de cette étude ont été conduites chez trois producteurs localisés dans une même zone, chacun disposant d'au moins deux hectares de cacaoyères et d'une production moyenne de 500 kg par récolte. Le procédé de fermentation propre à chaque support identifié a été mis en œuvre chez chacun des producteurs, selon leur zone d'étude respective.

2.2.1. Ecabossage

L'écabossage a été conduit 2 jours après la récolte dans les conditions essentiellement paysannes (Figure 20). Les cabosses ont été ouvertes à l'aide de couteau (Figure 20 a) pour la fermentation, en utilisant des feuilles de bananier, de palmier, des sacs et bâches en polypropylène, ainsi que des sacs en jute. Pour la fermentation dans les cabosses, des gourdins ont été employés comme l'on rapporté les paysans eux même (Figure 19 b). Ainsi, 4 000 cabosses équivalant de 250 Kg de fèves fraîches après écabossage avec des gourdins ont servi fermenter les fèves dans les cabosses de cacao. Pour les autres supports de fermentation, une masse de 250 kg de fèves fraîches pesées à l'aide d'une balance romaine ont été portées à la fermentation sans être être séparées du placenta.



Figure 19: Méthodes d'écabossage.

2.2.2. Fermentation des fèves de cacao

Chez chaque producteur, la fermentation proprement dite a été réalisée sur un même site de production, à des emplacements distincts espacés d'au moins 50 mètres, afin de prévenir toute influence croisée entre les différents supports utilisés. Six supports de fermentation ont été utilisés pour l'étude. Ce sont : feuilles de bananier (support de référence), feuilles de palmier, cabosse de cacao, bâche en polypropylène, sac en polypropylène et sac en jute.

Les différents essais ont été réalisés zone par zone, selon un intervalle de deux semaines par zone : soit six jours consacrés à la fermentation, suivis de huit jours de séchage. Toutefois, un intervalle d'une semaine a été observé entre deux zones successives, afin de permettre aux producteurs de la zone suivante d'effectuer la récolte nécessaire au démarrage des expérimentations.

Ces supports ont été soumis à trois brassages à 48 heures, 96 heures et 120 heures pendant six jours.

2.2.3. Fermentation sur les feuilles de bananier

Après la récolte et l'écabossage, une masse de 250 Kg de fèves a été déposée sur les feuilles de bananier placées au sol à l'ombre sur une pente pour permettre l'écoulement du jus. Ces fèves ont été recouvertes avec des feuilles de bananier et maintenues à l'aide de buches de bois. Un tri a été effectué lors de l'écabossage pour retirer les fèves germées et les cabosses immatures (Figure 20).



Figure 20: Fermentations dans les feuilles de bananier

a : mis en tas des fèves sur les feuilles de bananier ; b : couverture des fèves avec les feuilles de bananier ; c : fin de fermentation

2.2.4. Fermentation sur les feuilles de palmier

Une masse de 250 kg de fèves, a été transférée sur les feuilles de palmier, au sol à l'ombre sur une surface inclinée pour permettre l'écoulement du jus. Les fèves ont ensuite été recouvertes avec des feuilles de palmier afin de procéder à la fermentation (Figure 21).

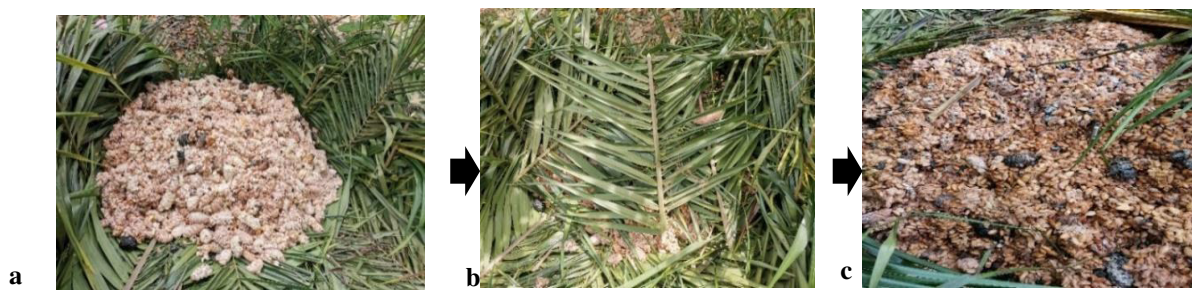


Figure 21: Fermentation dans les feuilles de palmier

a : Disposition des feuilles de palmiers sur une pente ; b : Fèves recouvertes de feuilles de palmier ; c : Fèves en fin de fermentation

2.2.5. Fermentation dans les sacs en polypropylène

L'écabossage est réalisé directement dans les sacs par les producteurs. Cinq sacs en Polypropylène préalablement perforés ont été remplis à moitié de cinquante kilogrammes (50 kg) de fèves de cacao fraîches chacun. À la fin de l'écabossage, les sacs contenant les fèves de cacao sont ficelés vers le bout pour la fermeture. En effet, la fermentation dans les sacs se fait à moitié rempli par les fèves fraîches de cacao et ces sacs sont sellés vers le bout pour permettre l'aération et faciliter le brassage. Les sacs ont été disposés sur des bouts de bois sur une pente afin de favoriser l'écoulement du jus (Figure 22).

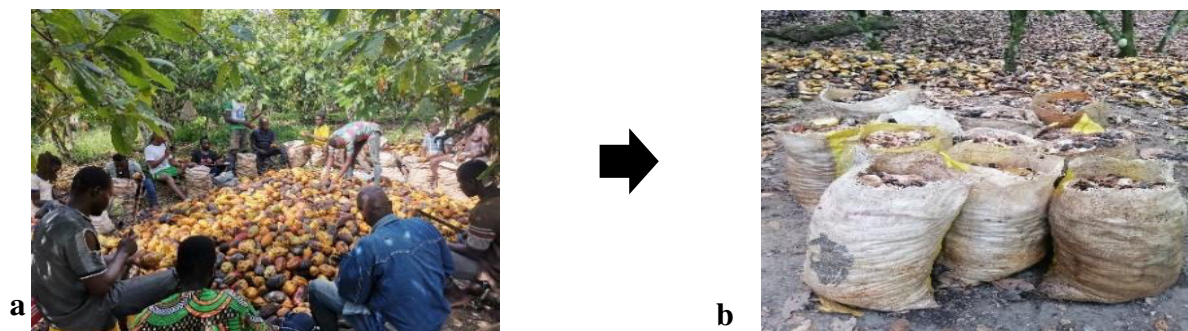


Figure 22: Fermentation dans les sacs en polypropylène

a : Ecabossage direct dans les sacs ; b : Fèves mis dans les sacs

2.2.6. Fermentation dans les sacs en jute

La fermentation en sac en jute a été réalisée avec les sacs qui ont déjà servi pour le stockage des fèves séchées. Une masse de fèves après écabossage d'environ 50 kg a été mise directement dans cinq différents sacs remplis à moitié. Ces sacs ont été mis sur des bouts de bois pour l'écoulement du jus. Les sacs ont été remués pour réaliser le brassage (Figure 23).



Figure 23: Fermentation dans les sacs en jute

2.2.7. Fermentation dans les cabosses de cacao

La fermentation dans les cabosses a été réalisée après écabossage direct avec des gourdain et les fèves sont laissées à l'intérieur des cabosses sans. Par la suite, les cabosses de cacao ont été entreposées dans des sacs en polypropylène placés sur des bouts de bois permettant l'écoulement du jus sous les cacaoyers sur un espace nettoyé dans la plantation. Après six jours de fermentation, les fèves de cacao sont séparées du placenta dans les cabosses pour le séchage (Figure 24).

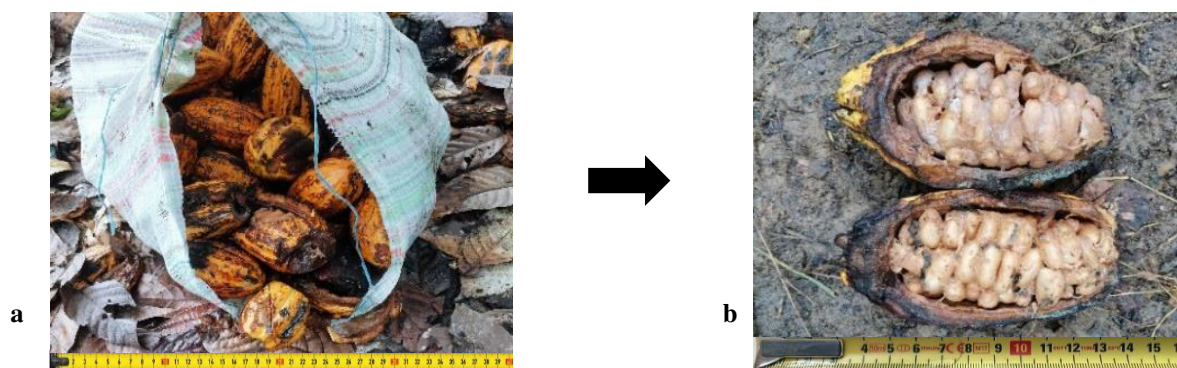


Figure 24: Fermentation des fèves dans les cabosses

a : Stockage des cabosses ; b : Fèves fermentées dans la cabosse

2.2.8. Fermentation sur les bâches en polypropylène

Une masse de 250 kg, a été disposée sur une bâche en propylène au sol à l'ombre sur une surface inclinée pour permettre l'écoulement du jus. Les fèves ont été recouvertes de bâches et soumises au processus de fermentation (Figure 26).



Figure 25: Fermentation sur les bâches en polypropylène

2.2.9. Séchage des fèves de cacao

Le séchage a été effectué sur un même type de support (bâche en polypropylène mesurant 3 x 2 m²) pour tous les supports de fermentation. Ces bâches sont le support de séchage couramment utilisé dans les différentes zones d'étude. Le séchage a été réalisé au soleil pendant sept jours de 8 h à 17 h (Figure 26).



Figure 26: Séchage des fèves de cacao sur bâche en polypropylène

2.2.10. Dispositif expérimental des différents supports de fermentation et du support de séchage appliqué.

Trois producteurs ont été choisis dans chacune des trois zones d'étude pour la réalisation des essais. Pour chaque essai, six supports de fermentation différents et un support de séchage ont été évalués (Figure 27).

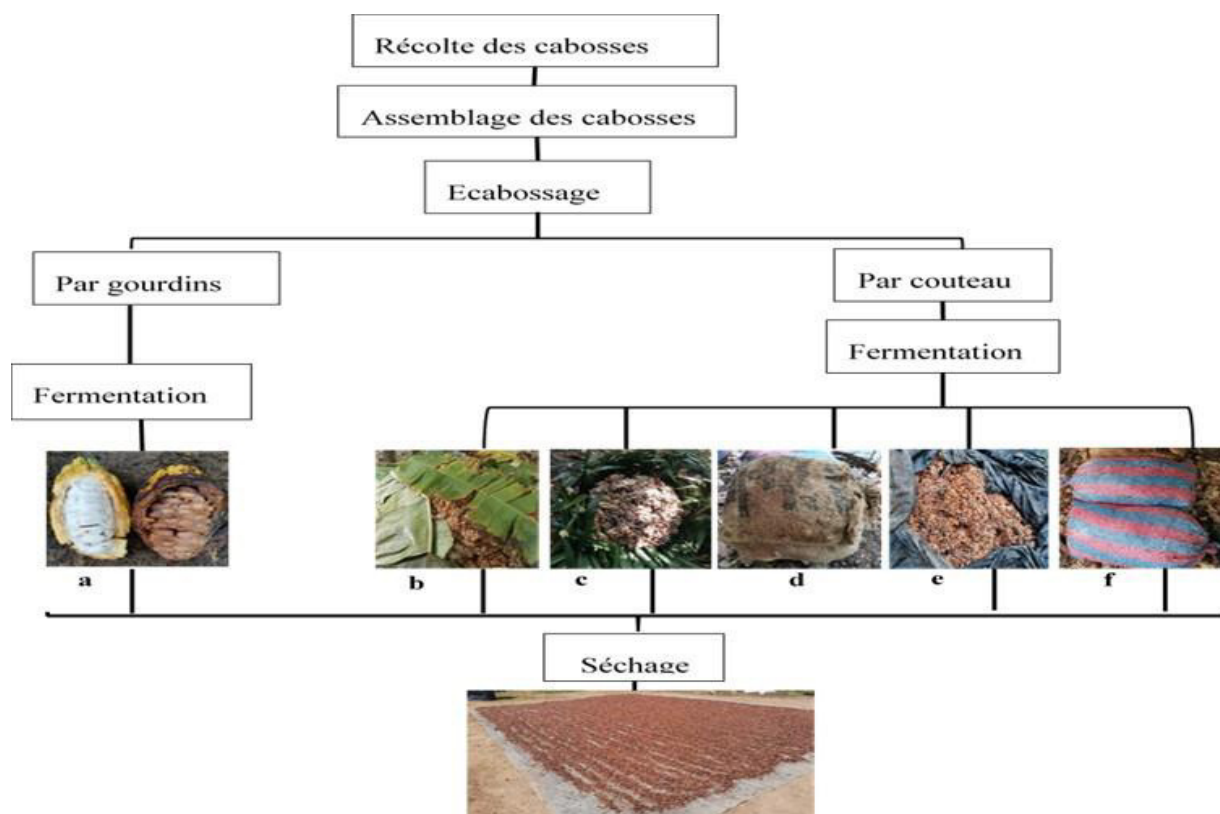


Figure 27: Dispositif expérimental pour la fermentation des fèves de cacao chez chaque producteur

b : fermentation sur les feuilles de bananier ; c : fermentation sur les feuilles de palmier ; a : fermentation dans les cabosses de cacao ; d : fermentation dans les sacs en jute ; e : fermentation sur les bâches en polypropylène ; f : fermentation dans les sacs en polypropylène

Par ailleurs, pour une meilleure analyse, une codification a été utilisée pour un même support de fermentation dans les trois zones d'étude :

F1 pour les feuilles de bananier (Support Témoin), **F2** pour les feuilles de palmier, **F3** pour les cabosses de cacao, **F4** pour les bâches en polypropylène, **F5** pour sacs en polypropylène, **F6** pour les sacs en jute

2.3. Analyse des fèves en cours de fermentation

L'analyse des fèves en cours de fermentation a d'abord impliqué une évaluation *in situ* du pH et de la température de fermentation. Ensuite, un suivi *ex situ*, en laboratoire, a permis d'observer la croissance de la flore microbienne et l'évolution des métabolites induits, tels que les acides organiques et les sucres réducteurs.

2.3.1. Détermination de la température au cours de la fermentation

Pendant toute la durée de la fermentation (six jours), la température a été mesurée tous les matins à 7 heures. La mesure de température a été effectuée avec un thermomètre électrique

à sonde. La sonde du thermomètre est plongée directement à 5 cm de profondeur dans la masse de fèves en fermentation et la valeur numérique est lue après 2 min de maintien de la sonde. Cette opération est répétée trois fois et la température du jour correspond à la moyenne des trois mesures effectuées.

2.3.2. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) des fèves en fermentation

Le pH a été mesuré chaque matin à 7 heures pendant les six jours de fermentation. Le pH des fèves de cacao a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre à électrode de verre combiné (Hanna Instrument, Roumanie) selon la méthode OICCC N°9 (1963). La sonde du pH-mètre a été plongée directement à 5 cm de profondeur dans la masse de fèves en fermentation et la valeur numérique est lue après 2 min de maintien de la sonde. Cette opération est répétée trois fois et le pH du jour correspond à la moyenne des trois mesures effectuées.

2.3.3. Détermination de la charge de la flore microbienne au cours de la fermentation

La flore microbienne impliquée dans la fermentation des fèves de cacao a été dénombrée quotidiennement durant les six (6) jours de fermentation au Laboratoire d'Agro-volorisation de l'Université Jean Lorougn GUEDE (Côte d'Ivoire). Il s'agit des levures, des bactéries lactiques, bactéries acétiques et des *Bacillus*.

2.3.4. Collecte des échantillons des fèves de cacao

Pour les analyses microbiologiques, un protocole aseptique a été suivi pour prélever quotidiennement 10 g de fèves dans les pots stériles de 50 mL sur une période de six (6) jours autour d'un bec bunsen (Ban-Koff *et al.*, 2013). Pour chaque support de fermentation, trois prélèvements élémentaires de 10 g en des endroits différents du tas de fèves ont été réalisés. Par la suite, les trois prélèvements élémentaires ont été mélangés et homogénéisés puis, 10 g ont à nouveau été prélevés pour former un échantillon composite pour chaque support de fermentation. Cette méthode de prélèvement a été reconduite dans chacune des trois zones d'étude.

2.3.4.1. Taille des échantillons collectés au cours de la fermentation

Au total, ce sont 108 échantillons qui ont été collectés quotidiennement sur les six (6) jours de la fermentation dans les trois zones d'étude (Tableau XI).

Tableau XI: Échantillons de fèves collectées au cours de la fermentation

N°	Zones	Villages	Coopératives	Nombre d'échantillons
1	Daloa	Zoukougbeu	Capzou coop ca	108
2	Soubré	Petit Bouaké	Coopagni coop ca	108
3	San-Pédro	Dagadji	Ecopas coop ca	108
Total	3	3	3	324

2.3.4.2. Préparation de la suspension mère

Pour la préparation de la suspension mère, la surface extérieure des boîtes contenant les fèves en fermentation a été d'abord désinfectée à l'alcool à froid. Ensuite, à l'aide d'une pince stérile, une quantité de 10 g de fèves de cacao en fermentation correspondant à 8 fèves de cacao a été prélevée aseptiquement autour de la flamme du bec bunsen. Puis, les fèves prélevées ont été ajoutées à 90 mL de bouillon d'Eau Peptonée Tamponnée (EPT) stérile (Difco) (NF EN ISO 6887-1). L'ensemble a été laissé au repos pendant 10 min à la température du laboratoire. La suspension obtenue est la suspension mère (SM) qui a servi à la dilution décimale (ISO 7218, 2007(F)).

2.3.4.3. Réalisation des dilutions décimales

Pour sa réalisation, 1 mL de la SM a été prélevé et ajouté à 9 mL d'eau physiologique stérile afin d'avoir une dilution 10^{-1} . Un volume de 1 mL de la dilution 10^{-1} a été ensuite prélevé et ajouté à 9 mL d'EPT pour obtenir la dilution 10^{-2} . Les dilutions suivantes ont été réalisées ainsi jusqu'à la dilution 10^{-4} .

2.3.4.4. Préparation des milieux de culture

Pour cette étude, quatre milieux de culture ont été utilisés. À savoir : Sabouraud + chloramphénicol pour les levures, Mannitol Salt Agar (M. R. S) pour les bactéries lactiques, Acetobacter pour les bactéries acétiques et Mossel et Mannitol Egg Yolk Polymyxin Aga (MYP) pour les *Bacillus*. Les milieux de culture ont été préparés selon les recommandations des fabricants (Tableau XII).

Tableau XII: Méthode de préparation des différents milieux de culture

Milieu de culture	Type de stérilisation	Quantité à prélever	Volume et type D'ensemencement	Temps et température d'incubation	Germes
(Eau Peptonnée Temponnée) ETP	Autoclavable à 121°C pendant 15 min	15 g/L d'eau distillée	10 g d'inoculum /90 mL d'eau peptonnée tamponnée	15 min	Solution mère
Sabouraud + chloramphénicol	Autoclavable à 121°C pendant 15 min	65 g/L d'eau distillée	1 mL en profondeur (Dilution 10^{-3} , 10^{-4})	25 °C/120h	Levures et moisissures
Man, Rogosa, Sharpe (M. R. S)	Autoclavable à 121°C pendant 15 min		0,1 mL à la surface (Dilution 10^{-4} , 10^{-5})	30 °C/48h	Bactéries lactiques
Acetobacter (Alauzet <i>et al.</i> , 2010)	Autoclavable à 121°C pendant 15 min	Pour 1L d'eau distillée : glucose (20g), extrait de levure (8 g), peptone (5 g), carbonate de calcium (7g) et d'éthanol (5 mL) ajouté après stérilisation)	0,1 mL à la surface (Dilution 10^{-4} , 10^{-5})	30 °C/72h	Bactéries acétiques
Mossel et Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP)	Autoclavable à 121°C pendant 15 min		0,1 mL à la surface (Dilution 10^{-4} , 10^{-5})	30 °/24hC	<i>Bacillus spp</i> <i>Bacillus cereus</i>

2.3.4.5. Ensemencement et incubation

À l'aide d'une pipette stérile, 1 mL de chaque dilution sélectionnée (Figure 28 a) a été incorporé de manière aseptique dans la gélose Sabouraud au chloramphénicol (Figure 28 b). Le tout a été ensuite incubé à 25°C (Figure 28 c) pendant 5 jours, après homogénéisation du milieu contenant la dilution, pour le dénombrement des levures (Botton *et al.*, 1990). Trois boîtes de Pétri ont été ensemencées pour chaque dilution retenue et les colonies sur chaque boîte ont été comptés à la fin de l'incubation (Figure 28).

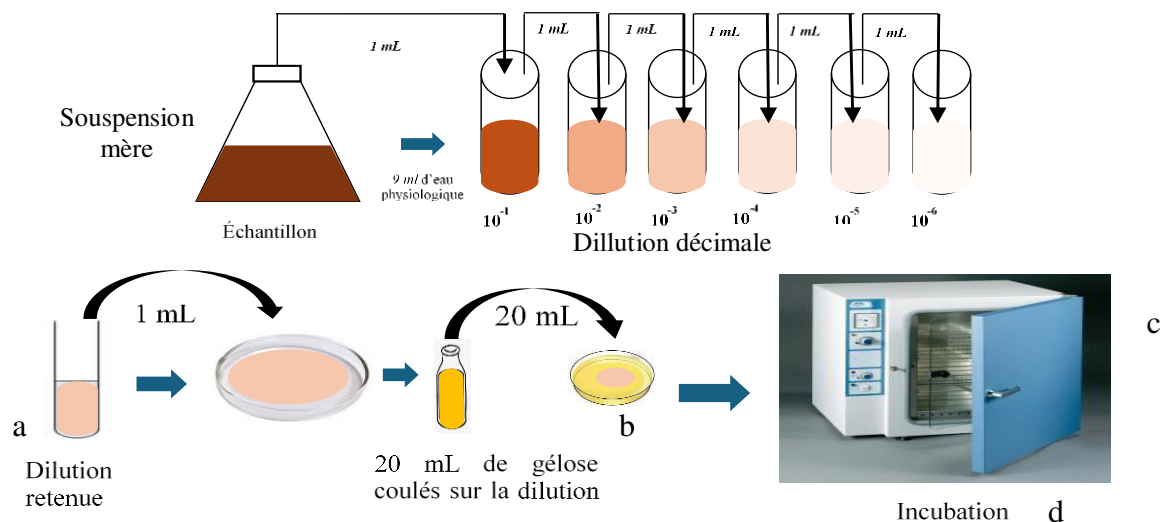


Figure 28: Ensemencement en profondeur et incubation

Pour les bactéries lactiques, 0,1 mL de chaque dilution retenue a été prélevé de façon aseptique et étalé en surface sur 15 mL du milieu MRS puis incubé à 30° C pendant 48 H après avoir homogénéisé le milieu contenant la dilution retenue (Idoui, 2009). Trois boîtes de Pétri ont été ensemencées pour chaque dilution retenue et les colonies sur chaque boîte ont été comptés à la fin de l'incubation (Figure 29).

En ce qui concerne les bactéries acétiques, 0,1 mL des dilutions retenues a été étalé de façon aseptique en surface sur le milieu composite d'acétobacter. Les boîtes ont été ensuite incubées à 30° C pendant 72 H après avoir homogénéisé le milieu contenant la dilution retenue.

Pour les *Bacillus* sp., 0,1 mL des dilutions retenues a été étalé de façon aseptique en surface sur le milieu Mossel additionné du jaune d'œuf émulsionné (Abril-Gil *et al.*, 2012). Les boîtes ont été alors incubées à 30° C pendant 24 H après avoir homogénéisé le milieu contenant la dilution retenue.

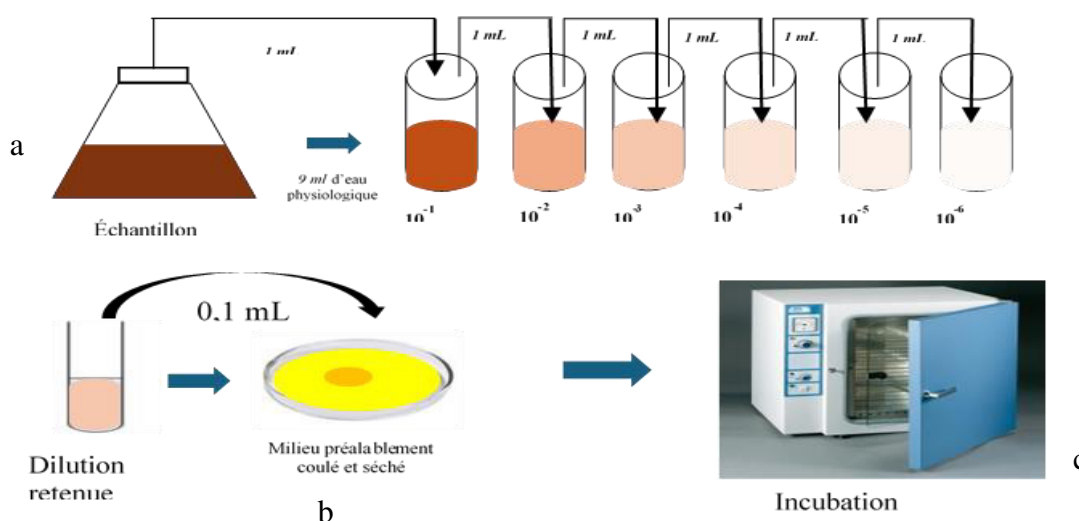


Figure 29: Ensemencement en surface et incubation

a: Suspension mère et dilution successives ; b : ensemencement en profondeur sur milieux spécifiques ; c : incubation des boîtes de Pétri selon le microorganisme recherché à des température selon le microorganisme recherché.

2.3.4.6. Expression des résultats du dénombrement

Le nombre de micro-organismes par g a été calculé pour chaque flore étudiée en fonction des échantillons analysés de chaque support de fermentation, puis comparé à la référence normative des critères microbiologiques des fèves de cacao fermentées. Le nombre de micro-organismes s'obtient par la formule suivante selon la norme AFNOR (2001).

$$N \text{ (UFC/g)} = \frac{\sum Ci}{(n_1 + 0,1n_2)d.V} \quad (4)$$

N (UFC/g) : nombres de germes ; $\sum Ci$: sommes des colonies ; V : volume de l'inoculum ; n_1 : nombres de boîtes de Pétri comptées à la 1ère dilution ; n_2 : nombres de boîtes de Pétri comptées à la 2ème dilution ; d : taux de dilution à la première dilution retenue.

Si l'on trouve 90.10^4 levures/mL dans l'échantillon dilué à 10^{-3} (dilution à 10^{-3} = dilution au 1/1 000, facteur de dilution = 1 000) ; alors, le résultat final est $90.10^4 \times 1\,000 = 90.10^4.10^3 = 90.10^{4+3} = 90.10^7$. Soit 90.10^7 levures/ml dans l'échantillon analysé.

2.3.5. Analyse de l'évolution des métabolites induits (acides organiques et sucres réducteurs)

Les analyses biochimiques ont été réalisées par le dosage des acides organiques et sucres solubles des fèves en cours de fermentation au Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles de Gembloux Agro-Bio Tech à l'Université de Liège (Belgique). Pour ce faire, une quantité de 100 g de fèves sur chaque support de fermentation a été prélevée dans des sachets stomachers. Au laboratoire, les fèves ont été décortiquées, broyées dans de l'azote liquide à l'aide d'un broyeur (IKA A11 basic ; Allemagne), puis réparties dans des pots de 20 mL. Ces broyats de fèves de cacao ont été conservés à une température de - 80 °C pour les analyses ultérieures.

2.3.5.1. Extraction des acides organiques et sucres réducteurs

L'analyse de la composition en acide organique et sucre réducteur des fèves au cours de la fermentation a été effectuée selon la description de Márquez-Sillero *et al.* (2013) avec quelques modifications. Le traitement des échantillons a commencé par l'extraction assistée par ultrason. Ainsi, 10 g de poudre de cacao ont été transférées dans une fiole jaugée de 100 mL contenant 50 mL d'eau distillée chaude à 75 °C. La suspension résultante est homogénéisée sur un agitateur magnétique pendant 10 min puis refroidie à température ambiante.

Le contenu de la fiole a été alors complété à 100 mL avec de l'eau distillée. Un volume de 10 mL de cette suspension est transféré dans des tubes coniques à centrifugeuse de 15 mL puis centrifugé à 10 000 tours/min pendant 15 min. La suspension a été ensuite portée dans un bain à ultrason (15 min, 25 Hz, 25 °C, 99 %). Le surnageant obtenu est filtré par des seringues de 0,45 µm de diamètre, puis 80 µL de la suspension ont été transférés dans les vials HPLC (Agilent 1200) d'environ 2 mL.

2.3.5.2. Analyse chromatographique

Les acides organiques (acides oxalique, malique, lactique, citrique, acétique et succinique) et les sucres réducteurs (glucose et fructose) ont été analysés en utilisant un système

HPLC (Agilent 1200, Hewlett-packard-strasse 8, 76337 Waldbronn, Germany) avec la détection en RID (refractrometry index detector) à une température de 50 °C selon Reddy *et al.* (2005). L'élution a été effectuée avec l'acide sulfurique (5 mM) à un débit de 0,6 mL/min pendant 25 min dans une colonne d'exclusion ionique (Bio-Rad Aminex HPX-87 H, Hercules, USA). L'identification des composés s'est basée sur les temps de retentions des standards correspondants (glucose, fructose, acides oxalique, malique, lactique, citrique, acétique et succinique). La quantification a été réalisée par des courbes d'étalonnages des standards de chaque acide organique et sucre réducteurs préalablement injectés dans les mêmes conditions avec trois répétitions.

2.4. Évaluation de la qualité microbiologique et physico-chimique des fèves fermentées et séchées

2.4.1. Collecte des échantillons des fèves de cacao fermentées et séchées

Pour l'analyse des fèves à la fin de la fermentation et du séchage, 5 kg de fèves ont été collectés pour chaque support de fermentation dans un sac en jute, provenant de différents endroits. Ces échantillons ont ensuite été acheminés au Laboratoire d'Agro-volorisation de l'Université Jean Lorougon GUEDE (Côte d'Ivoire) pour analyse. Au laboratoire, 500 g des fèves séchées sur chaque support de fermentation ont été décortiquées, broyées dans de l'azote liquide à l'aide d'un broyeur (IKA A11 basic ; Allemagne), ensuite réparties dans des pots stériles de 100 mL. Deux pots stériles distincts, l'un dédié aux analyses microbiologiques et l'autre aux analyses physico-chimiques, ont été utilisés pour chaque support de fermentation dans chaque zone d'étude. Ces broyats de fèves de cacao sont conservés à une température de - 80 °C en prévision des analyses ultérieures. Pour chacune des analyses, trois pots de 100 mL ont été utilisés par support de fermentation.

2.4.2. Taille et répartition des échantillons collectés

Au total, 108 échantillons repartis selon les zones d'étude ont été récoltés (Tableau XIII).

Tableau XIII: Site d'échantillonnage et nombre d'échantillons en fonction des zones enquêtées

N°	Zones	Villages	Coopératives	analyses microbiologiques	analyses physico-chimiques	Total
1	Daloa	Zoukougbeu	Capzou coop ca	18	18	36
2	Soubré	Petit Bouaké	Coopagni coop ca	18	18	36
3	San-Pédro	Dagadji	Ecopas coop ca	18	18	36
Total	3	3	3	54	54	108

2.4.3. Dénombrement des microorganismes d'altération du produit final des fèves fermentée et séchée

Pour évaluer l'impact des différents supports de fermentation sur la qualité sanitaire des fèves de cacao finales, des analyses microbiologiques ont été réalisées. Ces analyses ont ciblé des germes susceptibles de détériorer la qualité du produit finale à la fin de la fermentation, notamment les bactéries sporulées du genre *Bacillus cereus* et les moisissures productrices d'ocratoxine (*Aspergillus ochraceus*).

2.4.3.1. Recherche des bactéries du genre *Bacillus* sporulées dans les échantillons de la poudre de cacao

2.4.3.1.1. Préparation de l'inoculum (test de sporulation)

Pour la préparation de l'inoculum, la surface des pots contenant les échantillons conservés à -80 °C a été désinfectée à l'alcool à froid et laissés sur le paillage pendant une heure autour du bec benzène. Ainsi, à l'aide d'une spatule stérilisée au préalable, un gramme (1g) de poudre des fèves pour chaque support de fermentation a été prélevé et mis dans des tubes de 15 mL comportant 9 mL de solution d'eau peptonnée tamponnée (EPT) stérile.

Ces tubes ont été portés au bain mari à 90 °C pendant 10 min (CLIFTON, Italie) suivi d'un refroidissement brusque dans de l'eau contenant de la glace pour provoquer un choc thermique. La suspension obtenue est la suspension mère (SM). Ce traitement permet d'éliminer la flore végétative présente dans la poudre de cacao et de sélectionner les formes

sporulées. L'isolat est déclaré sporogène après croissance et non sporogène lorsqu'il n'y a pas croissance.

2.4.3.1.2. Préparation du milieu de culture

La recherche de *Bacillus* à forme sporulée a été effectuée sur la gélose Mossel au jaune d'œuf emulssinonné. Ce milieu de culture a été préparé selon les recommandations des fabricants avec une stérilisation à 121 °C. Après refroidissement autour de 50 °C, 10 mL de Polymyxine B ($5 \cdot 10^2$ UI) sont ajoutés au milieu de culture.

2.4.3.1.3. Ensemencement et incubation

Un volume de 100 µL de l'inoculum a été aseptiquement prélevé avec une micropipette puis déposé sur la surface du milieu gélosé Mossel. À l'aide d'un étaler, l'inoculum a été étalé sur la gélose. La boîte ainsiensemencée a été incubée dans une étuve (Memmert, Germany) à 37 °C pendant 24 h en aérobiose (Figure 30). Trois boîtes de Pétri ont étéensemencées pour chaque support de fermentation et les colonies sur chaque boîte ont été comptés à la fin de l'incubation.

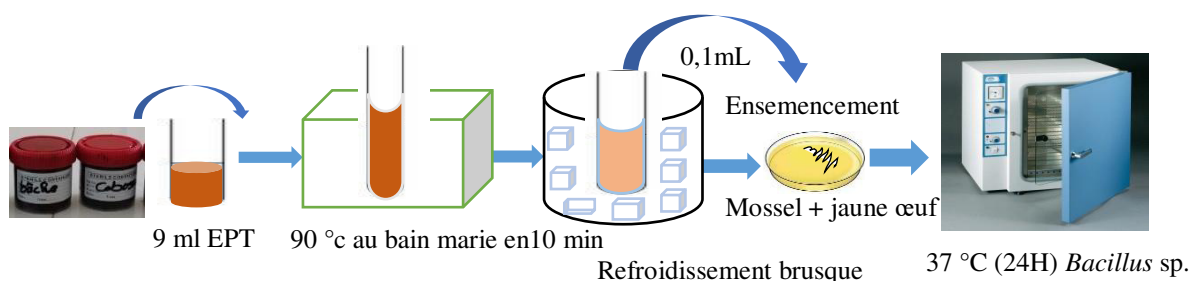


Figure 30 : Recherche de *Bacillus* sp. à forme sporulée

2.4.3.1.4. Isolement et purification des isolats

Pour l'isolement et la purification, des colonies représentatives et de différents aspects ont été sélectionnées. Au maximum 3 à 4 colonies d'aspect différent par boîte ont été choisies. Seuls les isolats de couleurs rougeâtre et jaunâtre ont été retenus pour la purification. Chaque colonie repiquée a été également dans un bouillon Cœur-Cerveille (BCC) et incubé à 30 °C pendant 24 heures. Après incubation, un isolement par stries de chaque colonie isolée dans le bouillon Cœur-Cerveille a été réalisé sur la gélose Lysogénie Broth (LB), un milieu à large spectre utilisé pour la purification et la conservation des isolats. Les colonies ont été repiquées 3 fois jusqu'à obtention des colonies identiques.

2.4.3.1.5. Conservation des isolats

Les colonies pures isolées sur la gélose (LB) sont prélevées et ensemencées dans les tubes contenant un bouillon BHIB. Les tubes sont laissés 24 H à l'étuve (30° C). Après 24 H d'incubation, le glycérol (v/v) a été additionné à la suspension bactérienne dans des micro-tubes à fond rond de conservation. Le mélange est homogénéisé au vortex. Les micro-tubes sont transférés au congélateur pour le stockage.

2.4.3.2. Caractérisation phénotypique des isolats

La caractérisation phénotypique des isolats a été basée sur les caractéristiques morphologiques, biochimiques (Activités métaboliques et enzymatiques).

2.4.3.3. Caractérisation morphologique des isolats

2.4.3.3.1. Aspect macroscopique

La caractérisation morphologique des isolats a été réalisée à l'œil nu sur des colonies préalablement incubées pendant 24 h à 37 °C sur milieu gélosé LB. Cette étude a impliqué une observation directe à l'œil nu de l'aspect morphologique des colonies. L'analyse a été basée sur des critères tels que la forme, la taille, la pigmentation, la consistance et le contour des colonies.

2.4.3.3.2. Aspect microscopique

▪ Coloration de Gram

Ce test a permis de classer les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. La morphologie, l'organisation cellulaire et le type pariétal des isolats ont été évalués sur des cultures juvéniles cultivées sur milieu GN (gélose nutritive) à 30 °C, en utilisant la technique de coloration de Gram (1884). Ainsi, une goutte d'eau distillée stérile a été déposée sur une lame propre. Une jeune colonie obtenue après 24 heures de culture a été prélevée sur la boîte de Pétri et déposée sur la lame.

Le frottis a été réalisé par des mouvements circulaires. La lame a été séchée puis le frottis fixé. La coloration a débuté par l'ajout du violet de gentiane sur le frottis. Après 60 secondes, la lame a été rincée à l'eau de robinet. Le lugol a été ajouté sur la lame puis rincé après 30 secondes à l'eau de robinet. Le frottis a été décoloré avec de l'alcool et rincé aussitôt par de l'eau de robinet. Pour finir, la fuschine a été ajoutée à son tour sur le frottis et rincé après 60 secondes. Après séchage de la lame, la lecture a été faite au microscope optique équipé d'un objectif X100 après ajout de l'huile à immersion. Les colonies de couleur rose représentent les

Gram négatifs (Gram -) tandis que celles de coloration violette sont des gram positifs (GRAM +) ; (Ait Boudrar & Abdi, 2024).

▪ Fermentation du glucose en anaérobiose et production de soufre d'hydrogène (H₂S) sur milieu Kligler Hajna

Le test de fermentation du glucose sur milieu Kligler Hajna est une méthode couramment utilisée en microbiologie pour évaluer la capacité d'une bactérie à fermenter le glucose en conditions anaérobies. Il permet également de détecter la production de gaz ou de soufre d'hydrogène (H₂S). Une jeune colonie de *Bacillus* sp. purifié sur gélose nutritive a été prélevée à l'aide d'une pipette pasteur puis ensemencée en réalisant une pique centrale dans le culot et des stries serrées sur la pente dans le milieu Kligler-Hajna préalablement coulé dans les tubes. Les tubes ont été fermés par la suite et incubés à 37 °C pendant 24 heures. La présence d'une couleur jaune dans le fond du tube implique la fermentation du glucose en anaérobiose.

Bacillus cereus est capable de produire du H₂S à partir de composés soufrés (ex. thiosulfate ou cystéine) *via* des enzymes telles que la cystéine désulfhydrase. La formation d'un précipité noir dans le milieu indique également la production de H₂S (Logan & De Vos, 2009).

▪ Test de production d'indole

Le test de production d'indole est utilisé pour déterminer si une bactérie, comme *Bacillus cereus*, possède l'enzyme tryptophanase, capable de dégrader le tryptophane en indole, pyruvate et ammoniac. Le bouillon tryptophané a été inoculé avec une culture pure et incubé à 37 °C à 48 heures. Après incubation, deux gouttes de réactif de Kovac ont été ajoutés à la culture. La formation d'un anneau rouge rosé à la surface du liquide implique la présence d'indole.

▪ Utilisation du Mannitol de la mobilité

La mobilité est un critère différenciant entre les espèces de *Bacillus*. Associée à d'autres tests biochimiques (catalase, lécithinase, etc.), elle a aidé à confirmer l'identité de l'espèce dans des échantillons. L'utilisation du mannitol et l'observation de la mobilité ont été effectuées sur le milieu SIM (Sulfure Indole Mobilité ; milieu semi-solide) préalablement préparé et coulé dans les tubes à essais uniquement en culot. Une jeune colonie de *Bacillus cereus* purifié sur gélose nutritive a été prélevée et ensemencée sur le milieu par pique centrale à l'aide d'une pipette pasteur. Après ensemencement, les tubes ont été portés à incubation 37 °C pendant 24 heures. On lit la fermentation du mannitol ou non et la mobilité de la bactérie.

▪ Utilisation du citrate de Simmons comme seule source de carbone

Le test du citrate a consisté à ensemencer une jeune colonie de *Bacillus cereus* purifié sur GN sur le milieu Citrate Simmons préalablement préparé et coulé en pente dans les tubes à essais. Des stries longitudinales ont été réalisées sur la pente du milieu. Les tubes sont ensuite refermés. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures. Le milieu devient bleu, indiquant une alcalinisation due à la libération d'ammoniac et d'autres bases (Logan N.A & De Vos P., 2009).

▪ Test de réduction des nitrates

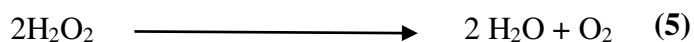
Le test de réduction des nitrates est un test biochimique utilisé pour déterminer la capacité de *Bacillus cereus* et d'autres bactéries à réduire les nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-) ou en azote gazeux (N_2) via l'enzyme nitrate réductase. Un bouillon nitrate (nitrate de potassium, KNO_3) auquel a été ajouté 0,5 mL de réactif A (sulfanilamide) et 0,5 mL de réactif B (acide α -naphtylamine) a été inoculé et incubé à 37 °C à 48 heures. La présence d'une coloration rouge indique la présence de nitrites (Ehling-Schulz *et al.*, 2004).

▪ Recherche de la lécithinase

La lécithine est recherchée sur un milieu gélosé au jaune d'œuf coulé en boîtes de Pétri. Ce milieu est ensemencé par touches ou stries et incubé en anaérobiose à 37 °C. Le virage au jaune du réactif traduit la fermentation du lactose. L'éclaircissement du jaune d'œuf autour des colonies traduit la dégradation de la lécithine (Guiraud & Galzy, 1980).

▪ Test de Catalase

La catalase est une enzyme de haut poids moléculaire existante chez toutes les bactéries aérobies, elle leur permet de vivre en présence d'oxygène dégradant le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau selon la réaction suivante :



Pour réaliser ce test : une goutte d'eau oxygénée 10 volumes a été mis au contact d'une colonie isolée ou sur la pente d'une culture en gélose. La présence de l'enzyme se traduit par un dégagement immédiat des bulles gazeuses (Rahman *et al.*, 2003).

2.4.3.4. Recherche de la flore fongique de contamination dans la poudre de cacao fermentée et séchée

2.4.3.4.1. Dénombrement et isolement des moisissures dans la poudre de cacao

Les moisissures ont été recherchées et dénombrées selon la norme ISO 21527-1 (2018). La recherche a été faite via un ensemencement dans la masse en déposant 1 ml de chaque dilution retenue dans des boîtes de Pétri stériles puis en y ajoutant 20 mL de gélose Sabouraud-chloramphénicol en surfusion. Le mélange a été homogénéisé par de légers mouvements circulaires puis laissé à température ambiante jusqu'à solidification. Les boîtes ont été incubées à 25 °C pendant 72 H à 7 jours. Après incubation, les boîtes présentant une croissance fongique ont été isolées successivement sur Czapek Yeast Extrait Agar (CYA) (Merck) et sur le milieu Sabouraud + chloramphénicol conformément aux méthodes décrites par Kra *et al.* (2011) et Compaore *et al.* (2016).

2.4.3.4.2. Purification des isolats de moisissures

Après isolement, les colonies morphologiquement différentes enregistrées sur les boîtes de Pétri ont été prélevées et cultivées par repiquages successifs en points individuels sur les milieux Sabouraud-Chloramphénicol et Czapek. La deuxième purification a été réalisée dans les mêmes conditions qu'à l'isolement (30 °C pendant 3 à 7 jours), selon la méthodologie décrite par Ouattara-Sourabie *et al.* (2011). Les isolats purs ont été obtenus à partir des dernières colonies développées lors des repiquages successifs par épuisement sur la gélose Sabouraud. Trois cycles de repiquages ont été nécessaires pour parvenir à l'obtention de colonies pures.

2.4.3.4.3. Identification des moisissures isolées des fèves de cacao

Les colonies purifiées ont été identifiées sur la base de leurs caractères macroscopiques (forme, relief et couleur des colonies, caractéristiques de la surface, pigmentation, délai de culture) et microscopiques (cloisonnement des hyphes, présence de clamydospores, forme et taille des conidies, phialides). En surface, les caractères observés sont l'aspect (poudreux, cotonneux, duveteux.), la forme (en coupole, étoilée.), la taille (petite, étendue, envahissante.) et la couleur des colonies (blanche, verte ...). Au revers, il est observé la capacité du mycélium à pénétrer dans la gélose, la couleur du revers, la présence ou pas de pigment. L'examen macroscopique a été réalisé selon les travaux de Cahagnier et Richard-Mollard, (1998). Pour les analyses microscopiques, la méthode de scotch a été observée. Un petit morceau de scotch

est appliqué par la face collante sur la colonie fongique à l'aide d'une pince, puis déposé sur une lame porte-objet.

La préparation ainsi obtenue a été recouverte d'une lamelle, puis observée au microscope optique aux différents grossissements (x10, x 40) ainsi que (x100). Le diluant utilisé comme réactif était le bleu de méthylène. Les caractères observés sont l'aspect du mycélium (cloisonné ou pas), la forme des spores, des têtes conidiennes et celle des conidiospores.

L'étude microscopique du mycélium est basée sur :

- L'absence ou présence de cloisons
- Couleur des filaments mycéliens
- Mode de ramification des cloisons
- Différenciation des phallophores

La fréquence d'isolement (Fr) des espèces fongiques est calculée selon Samson *et al.* (2004).

$$Fr(\%) = \frac{\text{Nombre d'échantillons par espèce}}{\text{nombre total d'échantillons}} \times 100 \quad (6)$$

2.4.4. Détermination de la qualité physico-chimique des fèves de cacao séchées

2.4.4.1. Élimination des corps étrangers

Après fermentation, toutes les fèves ont été tamisées sur un tamis 1 cm de diamètre et à la fin tous les corps étrangers sont retirés. Il s'agit de matières non liées au cacao, comme les tiges et les pierres, qui peuvent endommager les appareils des fabricants. Il y a aussi celles liées au cacao mais sans valeur commerciale, telles que le placenta, l'écorce de cabosses et les assiettes contenant très peu d'amande (Figure 31)



Fèves tamisées



Corps étrangers

Figure 31: Tamis des fèves de cacao

2.4.4.2. Évaluation du nombre de fèves saines et normales

Pour le grainage, le nombre de grains a été déterminé selon la norme ISO 245 : 2017 et exprimé par le nombre de grains entier compté dans 100 g d'échantillon. Pour ce faire, 100 g de fèves ont été pesés et le nombre de fèves a été compté. Cette opération a été répétée trois fois. Le critère de bonne qualité est attaché à un grainage inférieur ou égal à 100 fèves ; c'est-à-dire que le poids spécifique d'une fève doit être supérieur ou égal à 1 g (Guehi *et al.*, 2007).

2.4.4.3. Évaluation du niveau et du degré de fermentation.

Le niveau et le degré de fermentation (test de coupure) ont été évalués conformément à la méthode d'Efraim *et al.* (2010). Trois cents fèves ont été prélevées dans chaque lot pour chaque support de fermentation et ont été coupées longitudinalement jusqu'au centre. Les deux moitiés ont ensuite été examinées visuellement à la lumière du jour. Toutes les fèves coupées ont été disposées sur un support comprenant 100 carrés, un carré par fève, afin de faciliter la visualisation.

Le degré de fermentation (fèves ardoisées, violettes et brunes), la morphologie (fèves plates), l'état physiologique (fèves germées) et la présence de mycélium de moisissure ou d'insectes (fèves moisies, mitées) ont été évalués conformément à la méthode de Kealey *et al.* (2004). Le score du test de coupure a été déterminé en utilisant l'équation de Hii *et al.* (2011).

$$\text{Score cut - test} = 10 \times \% \text{brune}) + (5 \times \% \text{Violet/brun}) + (0 \times \% \text{violet et ardoisé})$$

(7)

2.4.4.4. Détermination du rendement

Au sixième jour de la fermentation, 250 kg de fèves fermentées issues de chaque fermenteur ont été pesés avant de procéder à l'étape du séchage. À la fin du séchage, les fèves ont été pesées, et le poids pour chaque support de fermentation est noté (Figure 32)



Figure 32: Prise de la masse après séchage

Le rendement a été évalué selon l'équation suite :

$$\text{Rendement} = \frac{n_i}{250} \times 100 \quad \text{avec } n_i \text{ la masse des fèves fermentées et séchées} \quad (8)$$

2.4.4.5.Évaluation du pourcentage de coque

La détermination du pourcentage de coque a été effectuée selon la méthode AOAC 968.10 et 970.23. Ainsi, 100 g de fèves de cacao ont été décortiqués et la coque a été également pesée. La proportion de coque est obtenue en faisant le rapport entre le poids total sur le poids de la coque obtenue selon l'équation suivante.

$$\text{Coque (\%)} = \frac{n_i}{N} \times 100 \quad (9)$$

n_i la masse de coque et séchées ; N : 100 g de fève contenant la coque.

2.4.4.6.Quantification de la teneur en eau des fèves après séchage

Un échantillon de 500 grammes de chaque échantillon a été prélevé et mis dans l'appareil (DICKY JOHN). Après une minute, la valeur du taux d'humidité est déterminée directement sur l'écran de l'appareil sous forme numérique.

2.4.4.7. Évaluation du potentiel d'hydrogène des fèves fermentées et séchées

Le pH des fèves de cacao séchées et broyées a été mesuré selon la méthode OICCC N°9 (1963). 10 g de poudre de cacao homogénéisé dans 90 mL d'eau distillée à 25 °C puis filtré après 15 minutes. La sonde du pH- metre a été introduite et valeur obtenue est enregistrée. Trois essais ont été effectués par échantillon.

2.4.4.8. Détermination de l'activité de l'eau

Trois grammes de poudre de fèves conservées ont été prélevés, après avoir laissé les échantillons à température ambiante pendant une heure dans des capsules. Les échantillons ont ensuite été conservés durant 24 heures avec des standards (0,25 ; 0,5 ; 0,760 ; 0,984) avant d'être analysés à l'aide d'un water-meter (AQUA LAB).

2.4.4.9. Évaluation de l'indice de fermentation

L'indice de fermentation (FI) a été déterminé selon la méthode de Gourieva.B & Tserevitinov. B (1979) révisée par Dwijatmoko (2018). Environ 0,5 g de fèves broyées ont été mélangées avec 50 mL d'une solution méthanol acidifiée /HCl (97 :3, v/v). La solution a été homogénéisée pendant 15 min sur un shaker de paillasse (certamat® M, Allemagne) puis conservée au réfrigérateur à 4 °C pendant 16 H. Après filtration sur papier filtre cellulose (Novolab, type 601, Belgique), le volume a été ajusté à 50 mL avec la solution méthanol/HCl. L'indice de fermentation a été déterminé en faisant le rapport de l'absorbance à 460 nm à celle de 530 nm à l'aide d'un spectromètre UV-Vis (Cary bio, USA). Trois analyses ont été réalisées pour chaque échantillon.

2.4.4.10. Quantification du taux de cendre des fèves de cacao après séchage

Pour évaluer la teneur en cendre (Sels minéraux totaux), la poudre des fèves de cacao issue de chaque type de fermentation a été incinérée dans un four à moufle à 550 °C jusqu'à l'obtention complète de cendre. Ainsi, 5 g d'échantillon sec sont placés dans des creusets préalablement nettoyés, séchés et pesés, dont la masse initiale est notée M_0 . Après avoir ajouté l'échantillon, le creuset est pesé à nouveau et noté M_1 , puis placé dans un four à 550 °C pendant 4 heures jusqu'à la combustion complète de la totalité de la poudre obtenue, conformément à la norme ISO 2171 (2007). Après refroidissement au dessiccateur, les creusets et leur contenu calciné sont à nouveau pesés et leur masse est mentionnée M_2 . Les analyses ont été effectuées triplicat pour chaque échantillon. Le pourcentage en cendre (%C) est donné par la formule ci après.

$$\% C = \frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} \times 100\% \quad (10)$$

C = Pourcentage en cendres ; M_0 = masse du creuset vide (g) ; M_1 = masse du creuset contenant l'échantillon sec (g) ; M_2 = masse du creuset contenant l'échantillon calciné (g)

2.4.4.11. Évaluation de la teneur en sucres totaux

La teneur en sucres totaux a été estimée suivant la méthode colorimétrique au phénol sulfurique développée par Souissi *et al.* (2018). À 1 mL de la solution de l'échantillon (0,1 % dans l'eau), on ajoute d'abord 1 mL d'une solution de phénol (préparée en mélangeant 80 g de phénol avec 20 g d'eau distillée glacée). Ensuite, 5 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4 , 95 % massique, densité 1,84) sont ajoutés rapidement pour homogénéiser le mélange, cette étape étant essentielle à l'analyse (Benefield.L, 1976). Les tubes sont laissés au repos 10 minutes, puis le mélange est agité et est immédiatement placé dans un bain-marie à 30 °C pendant vingt minutes. Une coloration jaune stable se développe.

Après refroidissement dans l'eau à température ambiante, une partie de la solution contenue dans les tubes à essais est prélevée afin de remplir la cuvette photo spectrométrique aux trois quarts. L'absorbance est mesurée à 485 nm au spectrophotomètre UV.

La teneur en hexose est exprimée par rapport à un droit étalon élaboré à partir du même sucre. Cette courbe représente les absorbances en fonction de la concentration croissante en sucre en μg . La teneur en hexoses du soda est obtenue en insérant l'absorbance de l'échantillon inconnu dans l'équation de la droite avec $R^2 = 0,9956$ à partir de la courbe d'étalonnage.

2.4.4.12. Quantification de la teneur en matière grasse et caractéristiques

2.4.4.12.1. Extraction du beurre de cacao par l'hexane

La matière grasse est généralement accumulée à l'intérieur des graines oléagineuses. L'hexane est le solvant le plus utilisé pour l'extraction des lipides (Fine *et al.*, 2013). Elle est couramment déterminée par des méthodes gravimétriques empiriques, telles que Soxhlet (AOAC, 1980), basées sur des principes développés au 19^e siècle (Hammond, 2001). Le principe de ces méthodes est la dissolution des corps gras dans le solvant non polaire (l'hexane). Les lipides membranaires sont moins bien dissouts dans des solvants non polaires comme l'hexane. La matière grasse est extraite en continu du broyat des fèves de cacao à l'aide d'un extracteur de Soxhlet (Palmquist *et al.*, 2003).

Ainsi, la poudre de cacao d'une masse (10 g) issue des fèves fermentées et séchées a été pesée sur une balance électronique et la masse (M_0) est notée. L'échantillon est mis dans une cartouche de cellulose (Schleicher & Schuele) et fermée avec du coton. La cartouche a été placée dans un extracteur qui est raccordé à un réfrigérant d'une part et à un ballon d'autre part de masse notée (M_1). Un volume de 60 mL d'Hexane (HPLC-S, Biosolve) a été mis dans le

ballon et une partie est versée dans l'extracteur de sorte que la poudre macère 6 H avant le lancement de l'extraction.

L'extracteur contenant la cartouche et le ballon a été positionné sur l'appareil avec le robinet correspondant au poste d'extraction ouverte. Le ballon a été porté en ébullition à 119 °C. L'extraction s'est faite par un système de flux et de reflux. Les vapeurs de solvant se sont condensées dans le réfrigérant pour couler dans l'extracteur où il extrait les lipides de l'échantillon. Le solvant en contact avec l'échantillon est continuellement renouvelé.

Après 8 heures d'extraction, le ballon contenant la matière grasse et le solvant (hexane) est récupéré. Le solvant est ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif (BAIN MARIE Heidolph LABOROTA, pompe Labobase/Laborata 4000 Heidolph G4) en ajustant progressivement la pression de 600-550 mbar à 100 mbar à une température de 40 °C pour éliminer les dernières traces d'hexane.

Trois extractions ont été réalisées pour chaque échantillon.

La teneur en huile est déterminée selon la norme française NF V 03-908.

$$Teneur\ en\ lipides = \frac{(M1 - M0)}{Pe} \times 100 \quad (11)$$

M_0 : masse à vide du ballon d'extraction (en gramme)

M_1 : masse du ballon contenant les lipides (en gramme)

P_e : la prise d'essai (en gramme)

2.4.4.12.2. Indice d'acide et teneur en acides gras libres

L'indice d'acide (I.A.) d'une matière grasse est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g de matière grasse. La teneur en acides gras libres (% A.G.L.) est le pourcentage en acides gras d'une matière grasse, exprimé en pourcentage en acide oléique pouvant être dosé directement avec du KOH titré (AOCS, 1998). Ces paramètres renseignent l'altération de la matière grasse.

La valeur d'acidité est calculée selon l'équation suivante :

$$Valeur\ d'acidité = \frac{(VKOH * NKOH * 56,1)}{PMG} \quad (12)$$

V_{KOH} : représente le volume de potasse alcoolique utilisé en mL, N_{KOH} : la normalité de la potasse, PMG : la masse de graisse extraite en mg, et 56,1 : le poids moléculaire de KOH .

2.4.4.12.3. Analyse de la composition en acide gras par la méthode GC-FID

Le beurre extrait de la poudre de cacao issu des différents échantillons a été utilisé pour la détermination du profil des acides gras. Les lipides ont été transméthylisés en utilisant NaOH/MeOH puis BF₃/MeOH selon la méthode décrite par Gautier (2015). Les esters méthyliques d'acides gras ont été analysés sur une chromatographie en phase gazeuse (CPG) (Agilent Technologies) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Les esters ont été séparés sur une colonne capillaire en silice fondue tubulaire ouverte de 50 m x 0,20 mm de diamètre interne recouverte de carbowax 20 M. La température de l'injecteur et du détecteur était respectivement de 200 et 300 °C. L'identification et la quantification des acides gras ont été réalisées par comparaison de leur pic avec les aires de pic pertinentes des acides gras standard correspondants. Chaque acide gras a été ensuite exprimé en pourcentage des acides gras totaux quantifiés. Toutes les expériences ont été réalisées triplicat.

▪ Estérification

Les acides gras totaux contenus dans le beurre de cacao ont été soumis à un processus d'estérification visant à les convertir en esters méthyliques d'acides gras libres selon la méthode standard (AOAC, 1998). Les esters méthyliques sont obtenus à partir des acides gras métabolisés avec un mélange BF₃/méthanol et analysés par chromatographie en phase gazeuse (Système GC 6890A) couplée à un détecteur FID (Coulibaly *et al.*, 2009).

Pour chaque échantillon, 10 mg de la matière grasse a été déposé dans un tube sovirol dans lequel, 0,2 mL d'hexane (biosolve) et 0,5 mL de solution A de BF₃ (Préparation de solution : 55 mL méthanol sec (méthanol de grade analytique, Scharlau), 20 ml hexane (Biosolve), 25 mL BF₃ (Trifluorure de bore 14 % dans le méthanol, Sigma-Aldrich)) ont été ajoutés et bien homogénéisés pour faciliter la dissolution. Le tout a été chauffé à 70 °C dans un bain-marie pendant 90 min. Après chauffage, les tubes ont été refroidis pendant 10 à 15 min à température ambiante. Un volume de 0,5 mL de Chlorure de sodium NaCl (NaCl technique, VWR) saturé et 0,2 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 10 % ont été ajoutés. Le tout est vigoureusement agité puis dilué avec 8 mL d'Hexane (Biosolve).

▪ Analyse GC-FID

Après agitation vigoureuse du tube, 0,5 µL de la couche supérieure de la solution est retiré et injecté dans le chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) (figure 33). Le système GC (Agilent Technologies Inc.) équipé d'une

colonne capillaire CP9205 VF-WAX capillary column (30 m x 250 µm x 0.25 µm, Agilent Technologies) a été utilisé. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1,234 mL/min. L'identification des esters méthyliques d'acides gras (FAME) a été effectuée en fonction des temps de rétention et comparés aux standards analytiques FAME Mix qui comprend une gamme d'esters de C4 – C24 (composant Supelo 37, dans du dichlorométhane, sigma-Aldrich) dans du dichlorométhane.

Le profil en acide gras est exprimé de manière relative, c'est dire que la composition en chacun des acides gras exprimée en pourcentage par rapport à la teneur totale en acide gras (AGT). Pour cela, les aires de pics correspondantes aux acides gras ont été additionnées. La concentration relative d'un acide gras est alors déterminée par le rapport de son aire sur la somme de toutes les aires, comme l'indique l'équation suivante :

$$\text{Concentration AG} = \frac{\text{Aire AG}}{\text{Aire totale des acides AG}} \quad (13)$$

2.4.4.12.4. Détermination de la teneur en matières azotées totales ou protéines

La méthode de KJEDHALL, décrite par BIPEA (1976) selon la norme française NF V 18-100, a été utilisée pour déterminer le taux de protéines brutes. Cette méthode permet d'évaluer la teneur en protéines d'un corps en mesurant la quantité d'azote contenu dans la matière organique. Cette méthode comprend trois étapes, notamment : la minéralisation, la distillation et le dosage de l'ion ammonium du distillat par titrage avec un acide fort titré. Pour ce faire, une quantité de 1 g de la poudre de cacao est pesée et introduite dans un papier filtre quantitatif.

Les différents papiers contenant les échantillons sont introduits dans un tube à minéraliser. Deux blancs constitués de papier filtre quantitatif ne contenant rien dans le tube à minéraliser ont été préparés. Trois témoins de minéralisation ont été également préparés en introduisant un papier filtre quantitatif comprenant une quantité de 150 à 200 mg de Glycine dans les tubes à minéraliser.

▪ Minéralisation

La minéralisation de 1 g de poudre de cacao est effectuée par l'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré (25 mL à 95 %) en présence d'une pastille de catalyseur (pastilles de sulfate de cuivre, CuSO₄). Dans chacun des tubes, on introduit un catalyseur de minéralisation (Kjetab) pour l'augmentation de la température de minéralisation. Un volume de 20 ml d'acide sulfurique

(H₂SO₄) concentré a été ajouté à chaque tube. Les tubes ont été placés dans leur support, qui a ensuite été disposé sur le minéralisateur.

Un extracteur de fumée a été adapté après avoir soigneusement obturé les ouvertures non reliées aux tubes à l'aide de feuilles d'aluminium. La chauffe est lancée à 190 °C (T₁) pendant 01 H 00 et surveiller s'il n'y a pas trop de mousse. Après 1 heure, la température est augmentée jusqu'à 290 °C (T₂) pendant 1 H 00 tout en continuant de surveiller s'il y a trop de mousse.

Enfin, lorsque les 1 heures sont terminées, la température est à nouveau augmentée à 420 °C. Lorsque la température est atteinte et que les premiers tubes changent de couleur (Vert), les plaques sont adaptées à l'avant et à l'arrière du support pour chaque tube et laisser agir pendant 2 H 00. Après les 2 H 00, les plaques sont enlevées du support puis ôter le support du minéralisateur, le poser sur une plaque en métal et activé l'extracteur pour de fumée. Les tubes bouchés peuvent être conservés pendant trois jours avant d'être analysés.

▪ Distillation et titrage

La distillation consiste à transformer les ions ammoniacs avec de la soude (NaOH) 40 %. Étant volatile, l'ammoniac passe dans un réfrigérant et récupéré dans une solution d'acide chlorhydrique. Les tubes sont passés aux distillateurs en commençant par les blancs et les témoins. Pour cela, 50 mL d'eau distillée ont été prélevés et raccordés à l'embout du distillateur. Une fiole conique de 250 mL contenant 50 mL d'acide borique (H₃BO₃) à 4 % et 5 gouttes de réactif de Tashiro (mélange de rouge de méthyle et de bleu de méthylène) a été placée à l'extrémité du tuyau relié au réfrigérant de distillation de l'appareil.

▪ Expression des résultats

La teneur en azote total, exprimée à deux décimales en pourcentage de masse, est donnée par la formule suivante (Lainé, 1980) :

$$N(\%) = \frac{(V - V_0) \cdot 280}{E} \quad (14)$$

N = Teneur en azote total (%)

V = Volume d'acide utilisé pour le titrage de l'échantillon (ml)

V₀ = volume d'acide utiles pour le titrage du blanc (ml)

E = Masse de la prise d'essai de l'échantillon (mg)

Pour la matière protéique totale, l'atome d'azote en pourcentage (% N) obtenu est utilisé pour calculer le pourcentage de protéine brute (% P) en utilisant la méthode de AOAC (1995) suivante :

$$MPT(\%) = N * 6,25 \quad (15)$$

MPT = Teneur en matière protéique totales (%)

N = Teneur en azote total

2.4.4.12.5. Évaluation de la teneur en glucides totaux

La teneur en glucides totaux a été calculée en soustrayant la somme des pourcentages de protéines, de lipides et de cendre de 100 % comme décrite par la relation suivante :

$$\% \text{ glucides Totaux} = 100 - (\% \text{ protéines} + \% \text{ lipides} + \% \text{ cendre}) \quad (16)$$

2.4.4.12.6. Détermination de la valeur énergétique

Elle est obtenue en faisant la somme des énergies apportées par chacun de ces macronutriments. La valeur énergétique (VE) est calculée par application des coefficients thermiques (Livesey 2001) avec 4 kilocalories pour 1 g de protéines ; 9 kilocalories pour 1 g de lipides et 4 kilocalories pour 1 g de glucides.

$$E \text{ (Kca/100g)} = [(4 \times \text{proteines} + 9 \times \text{lipides} + 4 \times \text{glucides})] \quad (17)$$

2.4.4.12.7. Évaluation de la fraction en fibres

Le dosage des fibres totales a été réalisé par la méthode de Van Soest (1963) avec un traitement d'une solution de détergent neutre (NDF) et acide (ADF), suivie de la mesure des résidus. Au cours de l'analyse, les échantillons prélevés sont traités avec un détergent neutre (NDF) selon la norme ISO 16472 (AOAC 2002 :04) qui représente le résidu pour isoler les parois cellulaires et un détergent acide (ADF) selon la norme ISO 13906 (AOAC, 973.18) qui représente le résidu insoluble qui contient la lignine et la cellulose pour extraire les composants solubles dans l'acide. La différence entre NDF et ADF donne la lignine et d'autres résidus.

Pour les analyses, un gramme de poudre de cacao (1 g) a été soumis successivement à des détergents neutres (NDF) puis acides (ADF) et enfin à de l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄ 1N) dans des conditions standards pour solubiliser les différents composants des fibres. Trois analyses ont été effectuées :

La préparation des creusés et la délapidation de la poudre de cacao ont été effectuées les deux premiers jours. La filtration sur le fibertec s'est effectuée avec l'action du détergent neutre (NDF) le troisième jour avec 100 mL du réactif préalablement chauffé à 100 °C. Une goutte

d'antimousse a été ajoutée puis portée à ébullition pendant 1 heure puis filtrer à l'aide d'une pompe à vide du système avant d'être rincé successivement avec de l'eau distillée et de l'acétone.

A la fin, l'acétone est évaporée et le résidu, placé dans un dessiccateur. Le détergent acide (ADF) a été appliqué dans les mêmes conditions que la précédente au quatrième jour. Le cinquième jour a consisté à l'action de la détergente lignine sulfurique (ADL) en plaçant dans un cristalliseur, les creusets ayant subis l'hydrolyse d'ADF. Le sixième jour a permis de déterminer de la teneur en cendre à une température de 525 °C pendant 3 heures avant de redescendre la température jusqu'à 105 °C.

A la fin du programme, placer les creusets dans un dessiccateur. Les résidus acidifiés sont filtrés sous vide et rincés avec de l'eau chaude jusqu'à l'obtention du pH 7, puis, placés à l'étuve à 103 °C pendant une nuit puis minéralisés à 550 °C en 4 h (Van-Soest, 1963).

La teneur totale de fibre dans un échantillon est évaluée en faisant la somme du pourcentage d'hémicellulose, de la lignine et de la cellulose selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Fibre} = \% \text{ Hémicellulose} + \% \text{ lignine} + \% \text{ cellulose} \quad (18)$$

2.4.4.12.8. Détermination de la teneur en composés phénoliques

La détermination des composés phénoliques totaux de la poudre de cacao a été effectuée en trois phases qui sont : l'élimination de la matière grasse, l'extraction des composés phénoliques et l'estimation de la teneur en composition phénolique.

▪ Élimination de la matière grasse

La matière grasse de la poudre de cacao a été éliminée à l'aide d'une extraction au soxhlet pendant 8 h. Le solvant utilisé est le chloroforme. Après l'extraction de la matière grasse, le chloroforme a été éliminé des extraits combinés par évaporation rotative sous vide partiel à 40 °C et 100 mbar. La poudre a été retirée de la cartouche d'extraction et finement broyée dans un mortier et d'un pilon. Elle a été ensuite conservée dans des flacons en verre de 30 mL muni d'un bouchon à 4 °C jusqu'à la phase d'extraction des polyphénols.

▪ Extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols a été réalisée avec un mélange d'acétone-eau 80 %(v/v) pendant 30 min à température ambiante. Pour ce faire, 5 mg de poudre de cacao dégraissée ont

été placés dans un ballon de 100 mL. Après centrifugation (10 min à 10 000 ×g), 80 ml de la solution d'extraction ont été ajoutés à la poudre dans le ballon. Le surnageant a été utilisé pour les expériences. Le ballon a été ensuite placé dans un bain à ultrason pendant 1 h à la température ambiante. L'extrait polyphénolique contenu dans le ballon a été filtré à l'aide d'un papier filtre et le résidu a été rincé avec la solution d'extraction. La phase organique de l'extrait a été éliminée à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C. Le ballon contenant la phase aqueuse de l'extrait a été plongé dans le bain à ultrason à nouveau pendant 1 min. L'extrait a été recueilli dans un flacon puis conservé à 4 °C.

▪ Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Kelebek *et al.*, 2014). Dans des tubes de 5ml, 2,5 ml du réactif de folin-Ciocalteu (10 %) ont été ajoutés à 30 µL l'extrait polyphonique de poudre de cacao. Le milieu réactionnel a été placé à l'obscurité pendant 2 min. Ensuite, 2 mL de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5g/l), ont été ajoutés au milieu réactionnel.

Après ajout du carbonate de sodium, les tubes ont été vortexés et le nouveau milieu a été incubé dans un bain-marie à 50°C pendant 15 min. Après refroidissement, l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible contre un blanc contenant le solvant d'extraction à la place de l'échantillon. Les solutions d'étalonnage (0,06 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1 mg/mL) ont été préparées par dilutions successives de la solution mère dans de l'éthanol.

Les coefficients de corrélation ont été déterminés en appliquant un modèle de régression linéaire dans Excel® (Microsoft), avec R² = 0,9986. Le blanc était constitué de 5 mL de réactif de Folin (1/10) et de 4 mL de Na₂CO₃ (7,5 g/L). La teneur en composés phénoliques totaux de chaque échantillon a été quantifiée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de poudre de cacao, en se référant à la courbe d'étalonnage.

▪ Détermination de la teneur en flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon la méthode décrite par Dehpour *et al.* (2009) : 500 µL de chaque extrait de poudre de cacao à analyser ont été ajoutés à 1500 µL de méthanol à 95 %, 100 µL de AlCl₃ à 10 % (m/v), 100 µL d'acétate de sodium 1M et 2,8 mL d'eau distillée. En résumé, 50 µL de NaNO₂ à 5 % ont été ajoutés à 100 µL des extraits appropriés.

Après 6 minutes d'incubation, 500 μL d'une solution d' AlCl_3 à 10 % ont été incorporés pour former un complexe flavonoïde-aluminium. Suite à une incubation supplémentaire de 7 minutes, 250 μL de NaOH à 1 M ont été ajoutés, puis le mélange a été centrifugé à $5000 \times g$ pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV, en utilisant un blanc contenant le solvant d'extraction à la place de l'échantillon. La teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en milligrammes (mg) équivalant quercétine/g de poudre de cacao en se référant à la courbe d'étalonnage de quercétine avec $R^2 = 0,996$.

▪ Détermination de la teneur en tanins totaux

Le dosage des tanins est effectué par spectrophotométrie selon la méthode décrite par Bainbridge *et al.* (1996) suivant 3 étapes :

- La détermination des polyphénols totaux est la première étape.
- Ensuite, les composés non tanniques ont été dosés avec la polyvinylpyrrolidone.
- Enfin, les tanins totaux ont été calculés en faisant la différence entre la concentration des polyphénols totaux et les polyphénols non tanniques. Pour le dosage des composés non tanniques, 100 mg de polyvinyle ont été déposés dans des flacons de 15 mL. Un millilitre d'eau distillée et 1 mL de l'extrait ont été ajoutés aux flacons. Après avoir vortexé les flacons, ils ont été centrifugés à 3 000 g pendant 10 min et refroidis à 4 °C. Un volume de 200 μL de surnageant de chaque échantillon est mélangé avec 300 μL d'eau distillée, 250 μL de folin et 1250 μL de Na_2CO_3 dans des tubes ependophes de 2 mL. Le mélange est ensuite vortexé, puis mis dans les capsules pour la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre UV après 45 min d'incubation à 725 nm. Une droite d'étalonnage de l'acide tannique a été réalisée pour la quantification des tanins totaux. La quantité de composés non tanniques a été exprimée en mg d'équivalents d'acide tannique par 1 g de poudre de cacao extrait avec $R^2 = 0,9986$.

2.4.4.13. Profil en composés alcaloïdes et phénoliques par HPLC-DAD

Le profil des composés alcaloïdes et des composés phénoliques de la poudre de cacao dégraissée a été analysé par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse muni d'un détecteur par barrette de diodes (HPLC-DAD).

2.4.4.13.1. Extraction composés alcaloïdes et phénoliques

Une extraction des polyphénols a été réalisée en suivant la méthode suivante : cinquante milligrammes (50 mg) de poudre de cacao ont été pesés et placés dans un tube à centrifuge de dimensions 16 x 100 mm². Par la suite, trois millilitres (3 ml) de méthanol ont été ajoutés, et le mélange a été agité pendant 20 à 30 secondes à l'aide d'un agitateur ULTRA-TURRAX® T 25 (Ika Labortechnik, Staufen, Allemagne).

L'agitateur a ensuite été rincé avec 2 mL de méthanol/eau : MeOH/H₂O (80/20), et les solutions ont été combinées. Le tube de centrifugation a été refroidi à 0 °C pendant 15 minutes, puis centrifugé à 5 000 tr/min pendant 10 minutes. Le surnageant méthanoïque, contenant les composés phénoliques, a été transféré dans un ballon en forme de poire de 50 mL. Cette procédure d'extraction a été répétée trois fois supplémentaires, avec une phase de refroidissement de seulement 2 minutes entre chaque extraction. Le méthanol a été évaporé des extraits combinés sous vide partiel à 40 °C et 100 mbar (Bachir Bey, 2016). Le résidu obtenu a été dissous dans 1,5 ml de méthanol (Lichrosolv®) et transféré dans un flacon HPLC à travers un filtre seringue de 0,45 µm (PTFE Multoclear®, Service de chromatographie en phase gazeuse, Langerwehe, Allemagne). Trois extractions ont été entreprises jusqu'à ce que l'on n'observe plus de composés phénoliques lors de l'injection en HPLC (Agilent 1100).

2.4.4.13.2. Évaluation de la concentration des composés alcaloïdes et phénoliques

Les composés phénoliques ont été élués à l'aide de deux gradients de phase mobile différents (phase A : (H₂O/MeOH (9/1+0,1 % (H₃PO₄) et la phase B ; MeOH+0,1% (H₃PO₄) avec un débit de 1 mL/min. 10 µL de chaque standard et des échantillons ont été injectés. L'HPLC est utilisé sous les caractéristiques suivantes : Colonne C18 (Poroshell 120 EC-C18 (100 x 4.6mm,4µ) avec un débit de 1 ml/min. La température de la colonne était de 40 °C sous un programme d'élution (Tableau XIV). Les différentes concentrations ont été déterminées avec des droites d'étalonnage des différents standards (théobromine, caféine, catéchine et épicatechine) avec R²=0,99. Un volume de 10µl de chaque standard et des échantillons a été injecté à l'HPLC (Agilent 1100, Hewlett-packard-strasse 8, 76337 Waldbronn, Germany) avec la colonne C18 (Poroshell 120 EC-C18 (100 x 4.6mm).

Tableau XIV: Programme d'élution au cours de l'injection des composés phénoliques et alcaloïdes

Temps(min)	H2O/MeOH(9/1+0,1H3PO4)	MeOH+0,1(H3PO4)
Con	100	0
20	80	20
56	74	26
86	24	76
88	0	100
93	0	100
94	100	0
99	100	0

2.4.4.14. Détermination des minéraux et éléments traces métalliques

La détermination de la teneur minérale des fèves de cacao issues des différents supports de fermentation a été effectuée par incinération à 550 °C et la cendre bouillie avec de HCL à 20 % dans un Becher, puis filtrée dans un flacon standard de 100ml. Trois groupes de minéraux ont été évalués. Pour ce faire, 0,5g de chaque échantillon est prélevé et mélangé dans un solvant (HCl ; HNO₃) (1/3) pour une extraction au soxhle. Après extraction, un refroidissement pendant 10 à 15 min est fait. L'extrait est donc porté dans un ballon de 50 mL avec de l'eau distillée et filtré avec du papier filtre (MN 615 ¼.Ø 150). La solution filtrée est mise dans les pots en plastiques de 125 mL. Une quantité de cet échantillon dans chaque pot est mise dans les tubes de 4,5 mL pour les analyses.

Les minéraux majeurs (calcium (Ca), magnésium (Mg), sodium (Na), potassium (K)), les minéraux en trace (fer (Fe), zinc (Zn), cuivre (Cu), manganèse (Mn), aluminium (Al), arsenic (As), molybdène (Mo), chrome (Cr), nickel (Ni)) et les métaux lourds (cadmium (Cd) et plomb (Pb)) ont été dosés à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique (Varian 220FS Spectre AA, Les Ulis, France). La méthode utilisée pour ces analyses est conforme à la méthode EPA (2007). Le phosphore (P) a été dosé par calorimétrie à l'aide du vanado molybdate, selon la procédure AOAC 965.17 (AOAC,1999). Quant au mercure (Hg), il a été analysé par génération de vapeur froide (Co. Vap.) sur un P-E FIMS-400 équipé d'un échantillonneur S10. Un échantillon de référence provenant de parties de la routine quotidienne du laboratoire a été utilisé pour le contrôle de la qualité. Après standardisation initiale des techniques lors d'une étude pilote, les échantillons ont été traités de la même manière. Les teneurs en minéraux des échantillons ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnage des minéraux standards. La plage

d'étalonnage pour les minéraux était de 0 à 10 mg/L et de 0 à 2,5mg/L pour les métaux traces. Le coefficient de corrélation linéaire (r) a été fixé à $< 0,995$.

2.5. Analyse des fèves après torréfaction

2.5.1. Transformation des fèves en liqueurs et analyse sensorielle

2.5.1.1. Torréfaction des fèves de cacao

La torréfaction a été réalisée avec un torréfacteur réglé à 140 °C. Une quantité de 3 kg de fèves fermentées et séchées prélevés sur chaque support de fermentation ont été étalées en monocouche sur des grilles préchauffées dans l'étuve. Lorsque la température cible de 140 °C après 35 minutes est atteinte, les grilles sont retirées de l'étuve puis placées sur la paille.

2.5.1.2. Broyage grossier

Après séparation de leur coque et de leur germe, 200 g d'amandes sont pesés et broyés à chaud à une température comprise entre 50 et 70 °C. Ce broyage est réalisé à l'aide de moulins cylindriques à billes équipés de rouleaux de plus en plus serrés, permettant de réduire les particules à une taille fine de 20 à 30 microns. Ce broyage donne une pâte fluide et épaisse, odorante et de couleur brun foncé, appelée « pâte de cacao ou liqueur de cacao ».

Le diagramme de fabrication de la liqueur de cacao est représenté par la Figure 33.

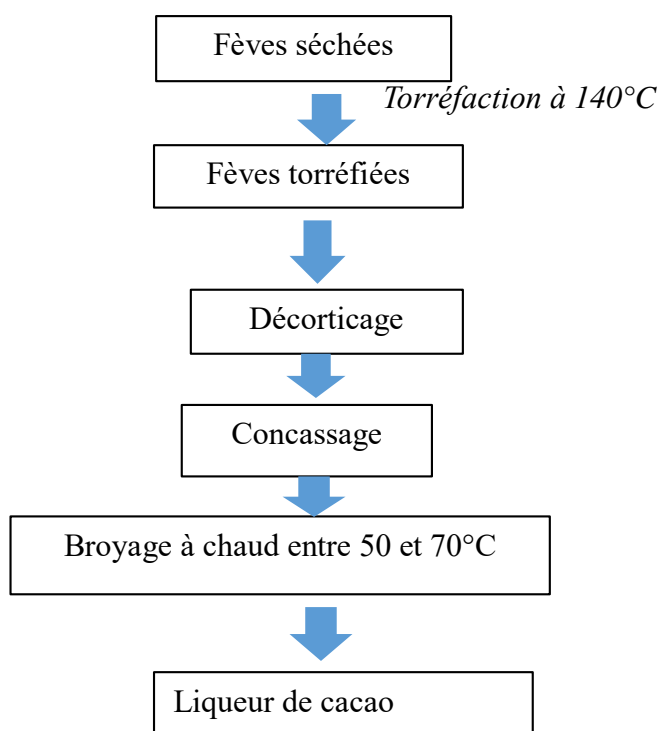


Figure 33: Diagramme de fabrication de la liqueur de cacao (Puratos BELCODAD, Belgique)

2.5.2. Évaluation de la qualité organoleptique de la liqueur de cacao

2.5.2.1. Extraction et dosage des sucres et acides organiques

2.5.2.1.1. Extraction des sucres et acides organiques

Une extraction a été effectuée suivant la méthode expliquée plus haut. Ainsi, 10 g de fèves de poudre de cacao fermentées et séchées sur chaque support de fermentation a été transférée dans un flacon jaugé de 100 mL contenant 50 mL d'eau distillée chauffée à 75 °C. La suspension a été centrifugée puis filtrée à travers des seringues de 0,45 µm de diamètre avant injection.

2.5.2.1.2. Dosage des sucres et acides organiques

Les acides organiques (acides oxalique, malique, lactique, citrique, acétique et succinique) et les sucres réducteurs (glucose et fructose) ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP ; Agilent 1200, Hewlett-packard-strasse 8, 76337 Waldbronn, Allemagne) couplée à un détecteur d'indice de réfraction (RID). L'élution a été réalisée avec de l'acide sulfurique (5 mM) à un débit de 0,6 mL/min pendant 25 minutes dans une colonne d'exclusion d'ions (Bio-Rad Aminex HPX-87 H, Hercules, USA) à une température de 50 °C. L'identification a été réalisée sur la base des temps de rétention des standards correspondants et la quantification par des courbes de calibration (Ho *et al.*, 2015). Les résultats sont exprimés en mg/100 g d'extrait. La quantification a été réalisée sur la base des courbes d'étalonnage des standards de chaque composé acide (acide citrique, acide malique, acide oxalique, acide acétique, acide lactique et acide succinique) et sucres solubles (glucose et fructose) sur une série de dilutions (0,25 à 1 mg/mL) préalablement injectés dans les mêmes conditions.

2.5.2.2. Détermination du profil en acides aminés libres par HPLC

Avant toute analyse, les fèves séchées ont été délipidées. Le dosage des acides aminés a été réalisé à l'HPLC Stein and Moore par hydrolyse des protéines selon la méthode de Bouaziz *et al.* (2008) avec quelques modifications. Pour parvenir à cela, la préparation des divers échantillons a été entreprise en mesurant précisément cinq cents grammes de liqueur de cacao, représentant approximativement 10 mg d'azote, dans des flacons 'Schott' de 100 mL. Subséquemment, 10 mL d'acide chlorhydrique (HCl) 6 N contenant 0,1 % de phénol ont été introduits et le mélange a été homogénéisé. L'azote a été insufflé pendant une minute, puis le flacon hermétique a été chauffé pendant 24 heures dans une étuve à 110 °C. Après hydrolyse, le flacon a été ouvert et refroidi dans de la glace pilée. Par la suite, 30 mL de tampon citrate à

pH 1,5 ont été ajoutés. Le pH a été ajusté successivement à pH 1 avec de la soude (NaOH) à 7,5 N (normalité), puis automatiquement à pH 2,2 avec de la soude 1 N.

Dans un ballon jaugé de 100 mL, 1 mL d'une solution à 50 μ M/mL de norleucine dans le tampon citrate à pH 2,2 a été introduit. Le contenu du ballon à pH 2,2 a ensuite été transféré quantitativement dans un ballon jaugé en utilisant le tampon citrate à pH 2,2, et porté au trait de jaugé avec le même tampon. Le ballon a été agité et le contenu a été filtré à travers un filtre de 0,2 μ m. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un détecteur en fluorescence. L'appareil utilisé était un chromatographe Merck, comprenant une pompe Waters Model 655 A-12, un contrôleur de gradient basse pression L-5000 LC (Hitachi) et un injecteur rhéodyne avec une boucle d'injection de 20 μ L. Il était également équipé d'un spectrophotomètre à détection en fluorescence F-1050 et d'un intégrateur Merck Modèle D-2000. Les acides aminés ont été séparés selon les conditions suivantes : colonne Super-spher 100 RP-18, Lichrocart 250-3, température 20 °C, débit : 0,3 mL/min. Vingt μ L ont été dans des flacons de 2ml puis injectés dans la colonne HPLC.

2.5.2.3. Analyse des composés volatils par Micro-extraction (SPME)

Outre l'extraction par solvant et des techniques de distillation, la SPME (Solid Phase Micro-Extraction) est utilisée pour extraire les composés volatils d'une matrice solide, liquide ou gazeuse (Yang & Peppard, 1994). La SPME repose sur le principe de l'adsorption des composés volatils présents dans une atmosphère saturée sur un polymère (Pawliszyn, 2002). L'extraction des composés volatils des fèves issues des différents supports de fermentations a été effectuée selon le protocole publié par Feng *et al.* (2014).

▪ Extraction des composés volatils

Le principe d'extraction de la SPME consiste en trois étapes.

- Équilibre : établissement de l'équilibre entre la quantité de composés volatilisés et la qualité de composés présents dans l'échantillon.
- Extraction ou adsorption : Mise en équilibre entre la fibre, sur laquelle les composés volatils s'adsorbent et une phase liquide (immersion) ou gazeuse (espace de tête). Cette phase dépend du type de composés à extraire, du temps de rétention et de la fibre.
- Désorption thermique des solutés adsorbés : la fibre est introduite dans un injecteur de chromatographie en phase gazeuse (CPG) chauffé où les solutés sont instantanément résorbés et transférés à l'intérieur de la colonne chromatographique.

Le profil aromatique volatil des liqueurs de cacao torréfiées a été extrait en utilisant la technique de microextraction en phase solide dans l'espace de tête (SPME), couplée à la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), selon la méthode décrite par Markey & Tech (2021) avec quelques modifications. Trois grammes de liqueur de cacao ont été placés dans un flacon de 20 mL, lequel a été immédiatement scellé avec un bouchon à vis magnétique équipé d'un septum en PTFE.

▪ **Analyse GC-MS**

L'analyse et l'identification des composés d'arômes contenus dans tous les échantillons analysés sont effectués selon la méthode de Nodet *et al.* (2009). L'approche la plus courante pour détecter les composés volatils est la GC-MS, qui est largement utilisée dans les domaines de l'alimentation, de l'agriculture et des produits pharmaceutiques. La GC-MS implique les caractéristiques de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masses. La chromatographie en phase gazeuse (GC) offre une grande capacité de séparation des composés, tandis que la spectrométrie de masse (MS) permet une identification précise et unique. Cette combinaison est efficace pour analyser des composés présentant des poids moléculaires et des polarités variées (Dong & Li, 2020). Cependant, pour la détection de volatils dans des systèmes complexes, la GC-MS a de certaines limites dans la capacité à séparer des substances similaires.

▪ **Séparation et identification des composés volatils**

Une colonne HP5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent J1W GC Column, USA) avec un débit d'hélium constant 1,17 mL/min a été utilisée. L'injection de blanc (sans échantillon de poudre de cacao) a été réalisée au départ et entre les fèves issues de chaque support de fermentation pour éliminer le bruit. Dans notre cas, les composés piégés sur la fibre SPME (DVB/PDMS/CARB) sont résorbés (4 min) dans l'injecteur en mode splitless (280 °C) d'un chromatographe en phase gazeuse (Agilent, 7890A (G 3440A) serial #(N10051144)) couplé à un spectrophotomètre de masse (Agilent, 5975C inert XLEL/CIMSD With triple-Axis Detector). La température du four du GC est initialement à 40 °C et est maintenue pendant 2 minutes. Elle a ensuite été portée à 200 °C par programmation de 4 °C/min, suivi d'une montée en température de 20 °C/min jusqu'à 300 °C et cette température est maintenue pendant 5 min. Les composants sont fragmentés par impact électronique (70 eV) et le spectre de masse de ces molécules est enregistré. La plage de balayage était comprise entre 35 et 550 amu (Atomic Masse Unity). Les chromatogrammes ont été analysés avec le logiciel Mass Hunter Analysis (Logiciel B.08.00. Agilent Technologie, Santa Clara, Californie, USA) et l'identification des

composés volatils a été réalisée en comparant aux bibliothèques spectrales NIST17 et Wiley 275 (National Institute of standards and Technology, Gaithersburg, USA) version 2016 avec un taux de correspondance supérieur ou égal à 80 %. De plus, les indices de retentions (RI) expérimentaux ont été calculés suite à l'injection d'un mélange de n-alcanes C8-C30 (sigma Aldrich) dans les mêmes conditions chromatographiques que celles mentionnées précédemment. Cela a permis de comparer ces RI avec les RI de la littérature. Ces indices de rétentions sont calculés avec la formule suivante :

$$RI = \frac{((100n) + 100[(Tri - Trm)])}{((Tm - 1) - Tm)}$$

Tri, temps de rétention du composé inconnu, Trm temps de rétention de l'alcane suivant le composé contenant n carbones, et Trm-1m le temps de rétention de l'alcane précédent.

2.5.2.4. Mesure de la couleur de la liqueur de cacao

Les mesures de couleurs ont été analysées par le système de couleur CIE Lab (Lab*) à l'aide d'un colorimètre modèle Colorflex EZ 45/0 LAV (Kruibeke Associates Laboratory, Elscolab, Belgique). Dans ce système de coordonnées, la valeur L* est une mesure de la luminosité du matériau, variant de 0 pour le noir à 100 pour le blanc. La valeur a* varie de -100 pour le vert à +100 pour le rouge, et la valeur b* varie de -100 pour le bleu à +100 pour le jaune. Dix millilitres de chaque liqueur ont été placés séquentiellement dans un plat de cristallisation en verre (10 cm de diamètre) placé en dessous.

2.5.2.5. Analyse des descripteurs sensoriels de la liqueur de cacao

L'analyse sensorielle s'est effectuée sur des liqueurs préparées à partir de six lots distincts de fèves issues des six supports de fermentation. Elle a été réalisée dans une cabine de dégustation neutre sur base individuelle avec un panel de dégustateurs qualifiés sous consentement éclairé. L'analyse a suivi les protocoles du laboratoire d'évaluation sensorielle du centre de recherche PURATOS. Toutes les méthodes ont été réalisées conformément aux directives et réglementations en vigueur. L'évaluation des arômes avec des descripteurs correspondants a été réalisée par un test de discrimination sensorielle (test du triangle).

❖ Constitution du panel

Le panel était constitué de 10 juges dont 8 de l'équipe permanente d'évaluation sensorielle de la liqueur de cacao et des produits à base de cacao de la structure de BELCODADE (PURATOS) (4 hommes et 4 femmes) et deux membres venus de l'extérieur

(un homme et une femme). Tous les juges avaient une tranche d'âge comprise entre 25 et 50 ans qui ont été informés des conditions requises pour participer à cette étude (état de santé, disponibilité, intérêt, honnêteté).

❖ **Étape de dégustation**

Les échantillons ont été présentés dans des gobelets en plastiques de 50 mL codifiés et chaque juge reçoit les échantillons dans un ordre aléatoire. L'eau était utilisée pour rincer la bouche entre les échantillons. Des échantillons en double de la liqueur ont été évalués lors de trois séances de dégustation pour arriver au profil sensoriel. Trois liqueurs différentes sont analysées par jour sur les 18 échantillons.

❖ **Exploitation des résultats**

Après l'analyse individuelle, les résultats sont discutés et un consensus est cherché. Les juges ont été disposés autour d'une table sans dispositif de séparation afin de permettre une communication verbale selon la réponse attendue. Les produits ont été décrits sur la base des descripteurs reçus. Dans le même temps, une analyse descriptive quantitative (QDA) a été appliquée pour évaluer les plages d'attributs de saveur sur une échelle de 0 à 7.

Ces nombres entiers sont justifiés pour chaque descripteur de liqueur par :

- 0 : aucun présent ;
- 1 : peut-être présent mais pas sûr à chaque fois ;
- 2 : clairement présent à faible intensité ;
- 3 : clairement présent à intensité modérée ;
- 4 : clairement présent à haute intensité ;
- 5 : une des saveurs les plus importantes ;
- 6 : les saveurs les plus importantes ;
- 7 : domine toutes les autres saveurs.

Les juges étaient invités à évaluer 10 attributs (cacao, astringent, amer, acide, torréfié, fruité, noisette, légume, floral, Épicé) et les caractères de note gustative. Un descripteur est retenu s'il est mentionné par un minimum de 30 % des juges. En plus de la description, un test hédonique a été également réalisé avec les panélistes pour évaluer le niveau d'acceptabilité des liqueurs pour chaque support de fermentation (quels échantillons étaient plus appréciés /complexes ?).

2.6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels R (version 4.0.2, R Development Core Team, Boston, États-Unis), pour les analyses en composantes principales

(ACP) et les coefficients de corrélation de Pearson. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab 18.1 (version 10.0.19045 Build 19045), suivie d'un test de Dunnett lorsque des différences significatives étaient observées ($p < 0,05$). Cette analyse visait à comparer les valeurs obtenues avec les fèves fermentées sur différents supports à celles issues du support témoin, constitué de feuilles de bananier. L'hypothèse nulle stipule qu'il n'existe aucune différence significative entre le support témoin et les autres supports de fermentation. Une classification hiérarchique ascendante (CHA) a également été réalisée avec MINITAB 18 pour comparer les données des différents supports à celles des feuilles de bananier (témoin). Les représentations graphiques ont été réalisées avec GraphPad Prism (version 8.0.1, GraphPad Software Corporation, San Diego, Californie, États-Unis) et Excel. Une représentation thermique couplée à un dendrogramme, exécutée par Morpheus Heatmap a été réalisée pour synthétiser efficacement le suivi des acides organiques et des sucres solubles au cours de la fermentation et de la teneur en minéraux après séchage.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE I : ENSEMBLE DES SUPPORTS DE FERMENTATION ET DE SÉCHAGE DES FÈVES DE CACAO DANS QUELQUES PRINCIPALES ZONES DE PRODUCTION CACAOYÈRE EN CÔTE D'IVOIRE

La fermentation est une étape cruciale dans la production du cacao. Pourtant ses dernières années, divers supports sont utilisés par les producteurs de cacao pour le processus de la fermentation des fèves de cacao avec très peu de données. Ce chapitre vise à comparer via une enquête, les techniques de fermentation et de séchage utilisés par les producteurs de cacao dans trois principales zones (Nawa, San-Pédro et Daloa) en Côte d'Ivoire.

1. RÉSULTATS

1.1. Identification sociodémographique des producteurs

1.1.1. Répartition des producteurs enquêtés par rapport aux sexes

L'activité prédominante dans les trois zones étudiées est la production de cacao. A la fin de l'enquête, au total se sont 919 producteurs qui ont été retenus selon les critères définis. Les résultats révèlent que la pratique de la cacaoculture est largement dominée par des hommes dans toutes les zones d'étude (Figure 34). Plus spécifiquement, dans la zone de San-Pédro, 89,6 % de la population interrogée sont composés d'hommes contre 10,4 % de femmes. De même, dans la zone de Soubré, ce sont 92,8 % hommes contre 7,2 % femmes, et dans la zone de Daloa, 93,2 % d'hommes contre 6,8 % de femmes interrogées. Dans l'ensemble, les résultats indiquent que sur 919 producteurs interrogés dans les trois zones étudiées, 91,73 % (843 producteurs) sont des hommes.

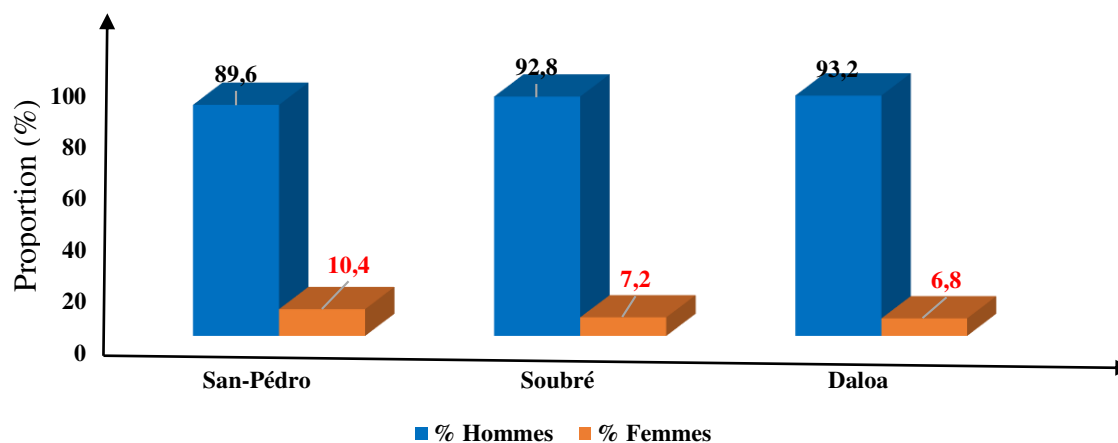


Figure 34: Proportion de la population enquêtée selon le genre

1.1.2. Répartition des personnes enquêtées par rapport à l'âge

Les données recueillies montrent que les producteurs de cacao dans les trois zones de production sont majoritairement des adultes, avec 166 personnes sur les 336 enquêtées, âgées entre 35 et 40 ans dans la zone de San-Pédro soit 49,4 %. Dans la zone de Soubré, parmi les 363 personnes enquêtées de manière aléatoire, 193 (53,2 %) se situent dans la tranche d'âge [35 et 40 ans]. Dans la zone de Daloa, sur 220 personnes enquêtées, 174 (79,1 %) avaient un âge supérieur à 35 ans (Tableau XV).

Tableau XV: Fréquence de la population enquêtée selon l'âge

Soubré			San-Pédro			Daloa		
Age	Nb. cit.	Fréq.	Age	Nb. cit.	Fréq.	Age	Nb. cit.	Fréq.
Moins de 18 ans	0	0,0%	Moins de 18 ans	0	0,0%	Moins de 18 ans	0	0,0%
De 18 à 23 ans	0	0,0%	De 18 à 23 ans	1	0,3%	De 18 à 23 ans	0	0,0%
De 24 à 29 ans	3	0,8%	De 24 à 29 ans	21	6,3%	De 24 à 29 ans	8	3,6%
De 30 à 34 ans	76	20,9%	De 30 à 34 ans	27	8,0%	De 30 à 34 ans	38	17,3%
De 35 à 40 ans	193	53,2%	De 35 à 40 ans	166	49,4%	De 35 à 40 ans	91	41,4%
Plus de 40 ans	91	25,1%	Plus de 40 ans	121	36,0%	Plus de 40 ans	83	37,7%
TOTAL OBS.	363	100%	TOTAL OBS.	336	100%	TOTAL OBS.	220	100%

Moyenne = 5,02 Ecart-type = 0,70 Moyenne = 5,15 Ecart-type = 0,84 Moyenne = 5,13 Ecart-type = 0,8

Nb. Cit : Nombre de personnes citées ; Fréq : Fréquence

1.1.3. Répartition des personnes enquêtées par rapport à la situation matrimoniale

Les résultats obtenus auprès des personnes interrogées révèlent que les producteurs dans les diverses zones étudiées résident dans un foyer, totalisant 289 sur les 336 individus, soit 86 % des personnes enquêtées dans la zone de San-Pédro. Dans la zone Soubré, parmi les 363 personnes interrogées, 318, soit 87,6 % vivent dans un foyer et 88,2 % dans la zone de Daloa. Les résultats détaillés de cette enquête sont présentés par la Figure 35.

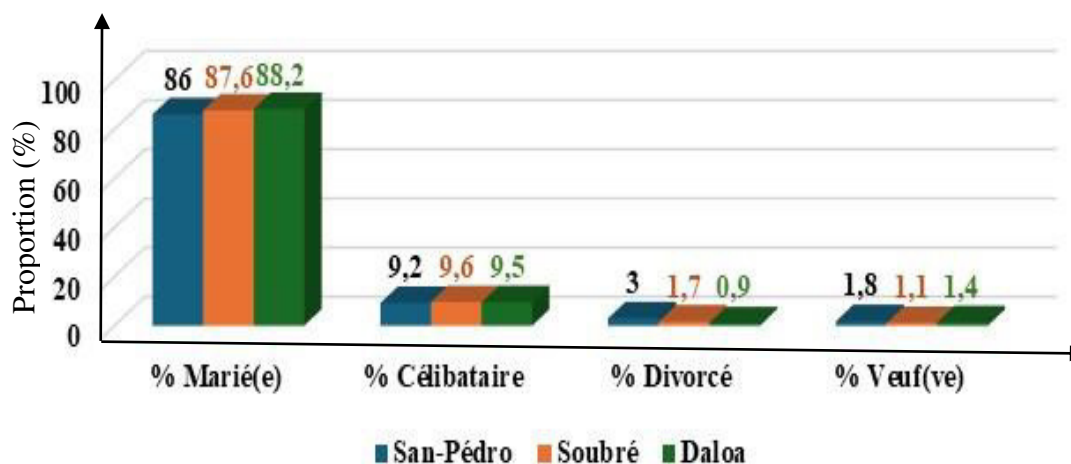


Figure 35: Situation matrimoniale des personnes enquêtées

1.1.4. Superficie occupée par la cacaoculture dans les zones enquêtées

Dans toutes zones d'études, la superficie occupée par la cacaoculture dans l'assolement des exploitations était en moyenne inférieure à quatre hectares. En effet, 59,2 % des producteurs enquêtés dans la zone de San-Pédro, 56 % dans la zone de Soubré et 66,8 % dans la zone de Daloa, avaient tous des plantations dont la surface exploitée par la cacaoculture était inférieure ou égale à 4 hectares (Figure 36).

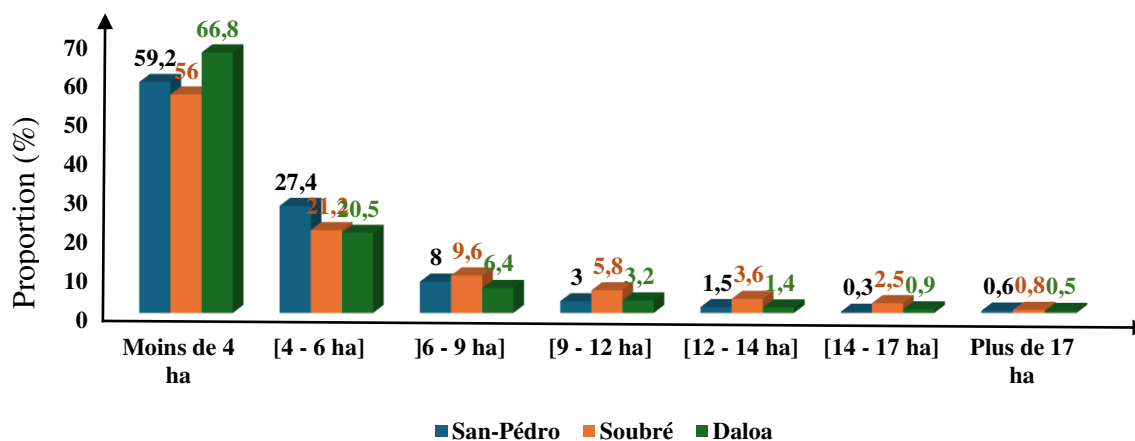


Figure 36: Répartition en fonction de l'espace occupé par le cacaoyer

1.2. Supports de fermentation et facteurs motivants/limitants

1.2.1. Ensemble des supports de fermentation utilisés par les producteurs

Sept supports de fermentation distincts sont utilisés pour la fermentation des fèves de cacao dans l'ensemble des trois zones de l'étude avec des proportions d'utilisation variables. Ce

sont : les feuilles de bananier, les feuilles de palmier, les cabosses de cacao, les bâches en polypropylène, les bâches en plastique, les sacs en polypropylène et les sacs en jute.

Les bâches plastiques se distinguent comme étant les supports les plus utilisés avec 40,7 % dans la zone de San-Pédro ; 44,5 % à Soubré et 40,3 % à Daloa. Les sacs, en revanche, se positionnent comme le deuxième support de fermentation le plus fréquemment utilisé, avec une utilisation de 38 % dans la région de San-Pédro, comparativement à 16,7 % pour les feuilles de bananier, qui servent de support de référence.

Les sacs sont utilisés de manière équivalente aux feuilles de bananier (22 %), Dans la zone de Soubré. Seule la zone de Daloa où le pourcentage d'utilisation des feuilles de bananier comme supports de fermentation était plus élevé, soit 31,1 %. Les bâches en polypropylène et les cabosses de cacao étaient peu utilisées, présentant des proportions réduites sur l'ensemble des trois zones d'étude (Figure 37).

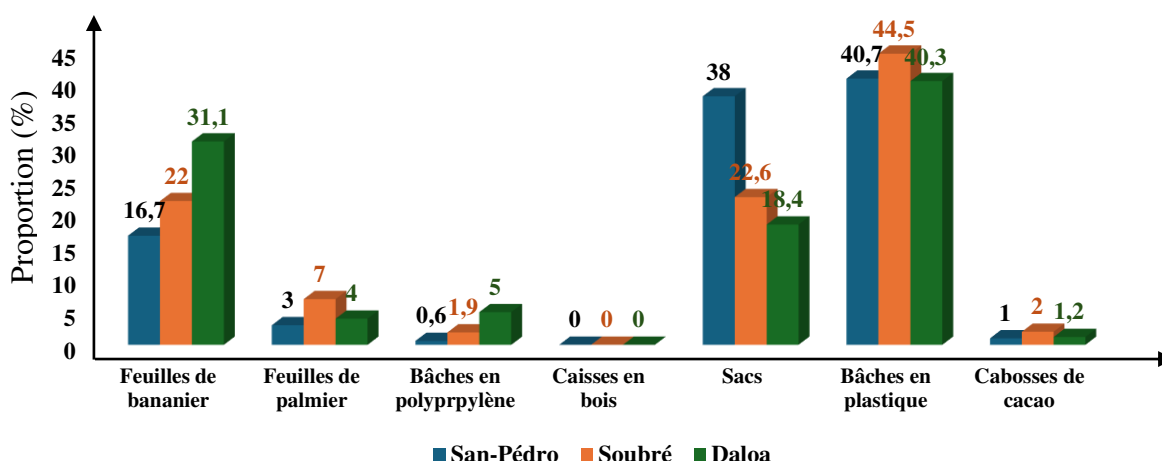


Figure 37: Répartition des zones d'études en fonction des supports de fermentation utilisés

1.2.2. Temps de fermentation

La durée de fermentation varie selon les localités de production de cacao et est comprise entre 2 et 7 jours en fonction de la saison. La Figure 38 illustre la répartition des durées de fermentation selon les différentes régions étudiées. Dans la zone de San-Pédro, 45,5 % des producteurs fermentent leurs fèves sur une période inférieure ou égale à quatre (4) jours, tandis que 55,5 % optent pour une durée comprise entre cinq (5) et sept (7) jours. À Soubré, seuls 14,9 % des producteurs fermentent sur quatre (4) jours ou moins, contre une large majorité de 85,1 % qui choisissent une durée de cinq (5) à sept (7) jours. Enfin, dans la région de Daloa, 40 % des producteurs suivent un temps de fermentation égal ou inférieur à quatre (4) jours, contre 60 % qui vont au-delà, jusqu'à sept (7) jours.

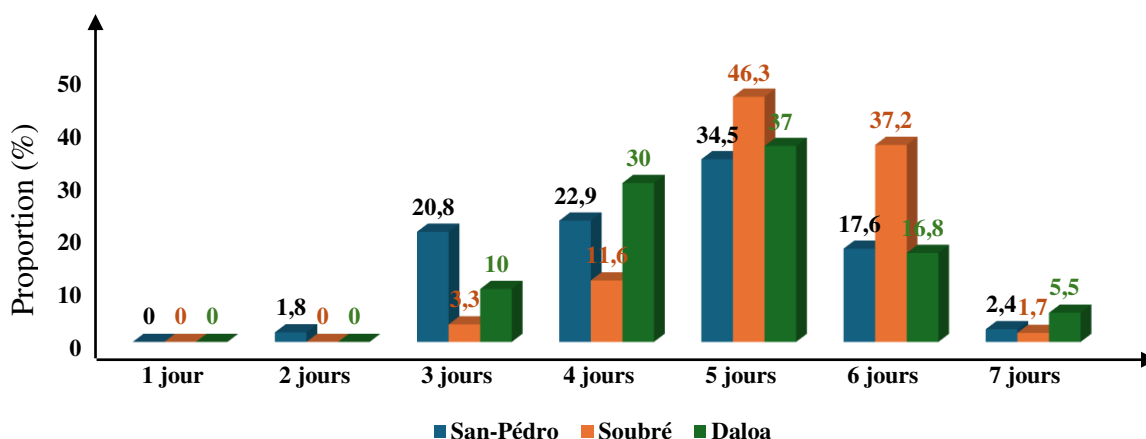


Figure 38: Temps de fermentation en fonction des zones d'étude

1.2.3. Taux de brassage dans les zones enquêtées

L'enquête réalisée auprès des producteurs a permis de classer ces derniers en deux catégories en fonction de la pratique du brassage de la masse de fèves de cacao pendant la fermentation. Le taux de brassage présenté dans le Tableau XVI est généralement faible dans toutes les régions enquêtées soit 6,3 % dans la zone de Soubré, 5,1 % dans la zone de San-Pédro et 4,5 % dans la zone de Daloa.

Tableau XVI: Proportion des brassages des fèves en fonction des zones enquêtées

	Soubré (363)		San-Pédro (336)		Daloa (220)	
	Nb.ci	Freq	Nb.ci	Freq	Nb.ci	Freq
Bassage	340	93,7%	319	94,9%	210	95,5%
Pas de brassage	23	6,3%	17	5,1%	10	4,5%

Nb. Cit : Nombre de personnes cité ; Fréq : Fréquence

1.2.4. Facteurs motivants et limitants de l'utilisation des supports de fermentation

L'utilisation de nouvelles technologies s'est justifiée par plusieurs raisons selon les personnes enquêtées dans les trois zones. En effet, dans la zone de San-Pédro (Figure 39 a), l'utilisation des sacs comme support de fermentation a été justifiée par de nombreux cas de vol des fèves fraîches de cacao stockées pour la fermentation dans les campagnes avec une proportion de 36 %. Quant aux bâches plastiques, leur utilisation était plus justifiée par le manque de feuilles de bananier à 54,20 %, insuffisance de feuilles de bananier à 20,30 % et la

grande quantité de fèves après écabossage destiné à la fermentation à 25 %. Les feuilles de bananier et feuilles de palmier étaient adoptés par l'ensemble des producteurs pour la qualité finale des fèves après fermentation avec proportions respectives de 30 % et 25 %.

Dans la zone de Soubré (Figure 39 c), l'utilisation des sacs comme support de fermentation s'explique par plusieurs facteurs, dont le vol à 44,5 %, le transport des fèves fraîches vers le village à 25 %, et la grande quantité de fèves de cacao à 33,3 %. Les feuilles de palmier, les sacs et bâches plastiques par le manque de feuilles de bananier à 31 %, 26 % et 41 % respectivement.

L'utilisation des feuilles de bananier comme supports de fermentation était principalement justifiée par la qualité finale des fèves après fermentation et séchage, avec des taux préférentiels de 39 % et 21 %. De plus, cette pratique répondait à l'exigence des responsables de coopératives pour l'utilisation des feuilles de bananier, représentant 17 % des cas. En revanche, l'utilisation des feuilles de palmier était motivée par la grande quantité de fèves, qui ne pouvaient être contenues dans les feuilles de bananier, avec un taux de 26 %. Les bâches en polypropylène ont été justifiées à 15 % par l'insuffisance des feuilles de bananier.

Dans la zone de Daloa (Figure 39 b), l'utilisation des bâches en polypropylène, sacs et des feuilles de palmier comme supports de fermentation a été majoritairement encouragée par les cas de vols constatés respectivement à 26,16 %, 31,5 % et 21 %. Quant aux bâches en polypropylène, leur utilisation a été justifiée par le manque de feuilles de bananier à 47,53 %. En revanche, les feuilles de bananier étaient justifiées par la bonne fermentation et des recommandations de la part des responsables de coopératives, respectivement à 22,56 % et 33,76 %. Les feuilles de palmier étaient en majeure parties utilisées pour le manque ou l'insuffisance de feuilles de bananier à 22 %.

Par ailleurs, l'utilisation des cabosses de cacao comme support de fermentation a été entièrement (100 %) justifiée par des cas d'oubli de cabosses lors du stockage en tas avant l'écabossage final, dans les trois zones enquêtées.

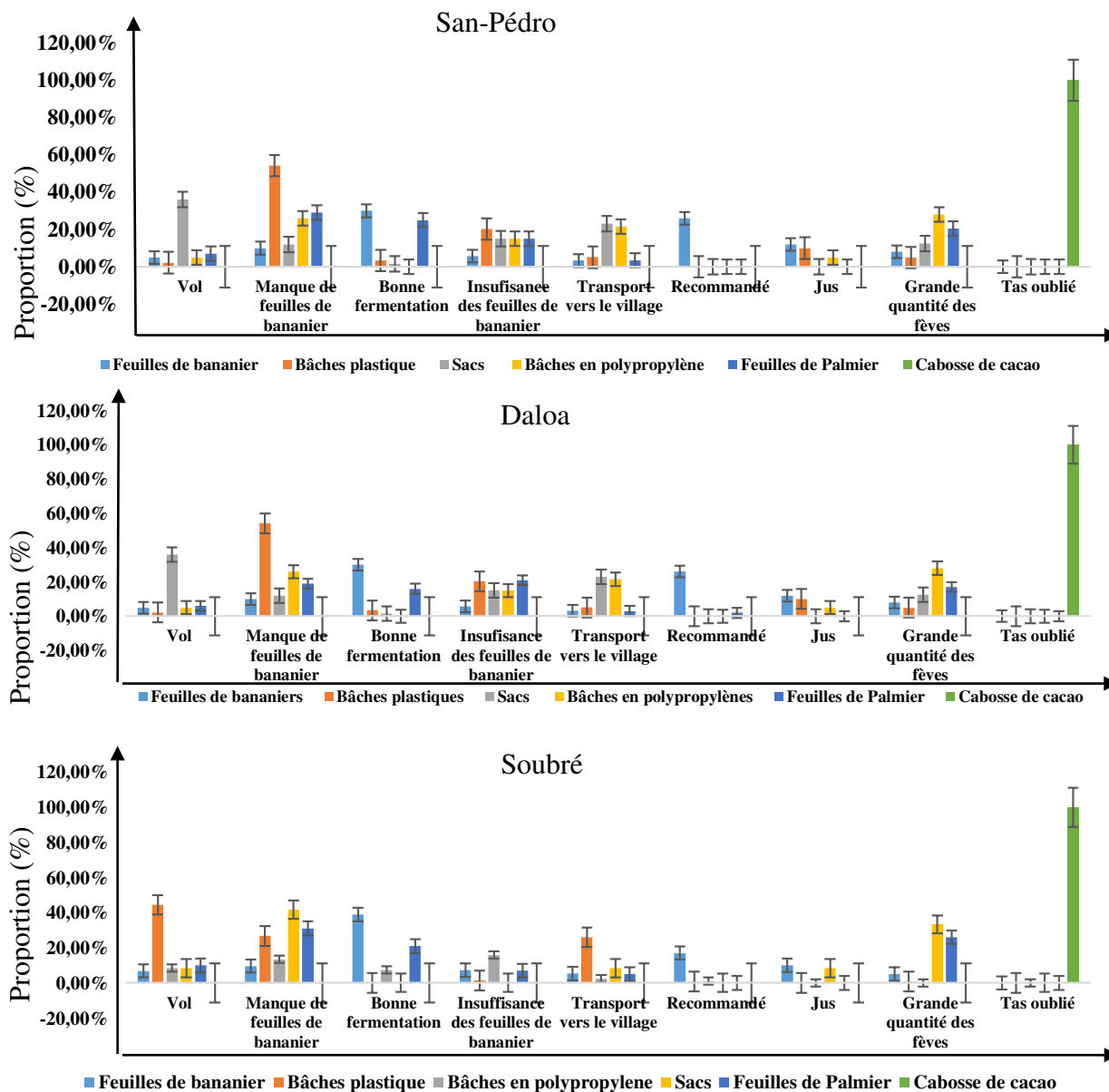


Figure 39: Facteurs limitants ou motivants de l'utilisation des supports de fermentation

a : Zone de San-Pédro ; b : zone de Daloa ; c : Zone de Soubré

1.2.5. Corrélation entre les facteurs motivants ou limitants et les supports de fermentation

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) réalisée a permis de visualiser les disparités entre les opinions des producteurs relatives aux nouvelles pratiques post-récolte (Figure 40) dans un espace bidimensionnel. L'analyse révèle que 66 % de la variabilité totale des données dans la zone de San-Pédro est expliquée par les deux premières composantes principales (PC1 et PC2) (Figure 40 a).

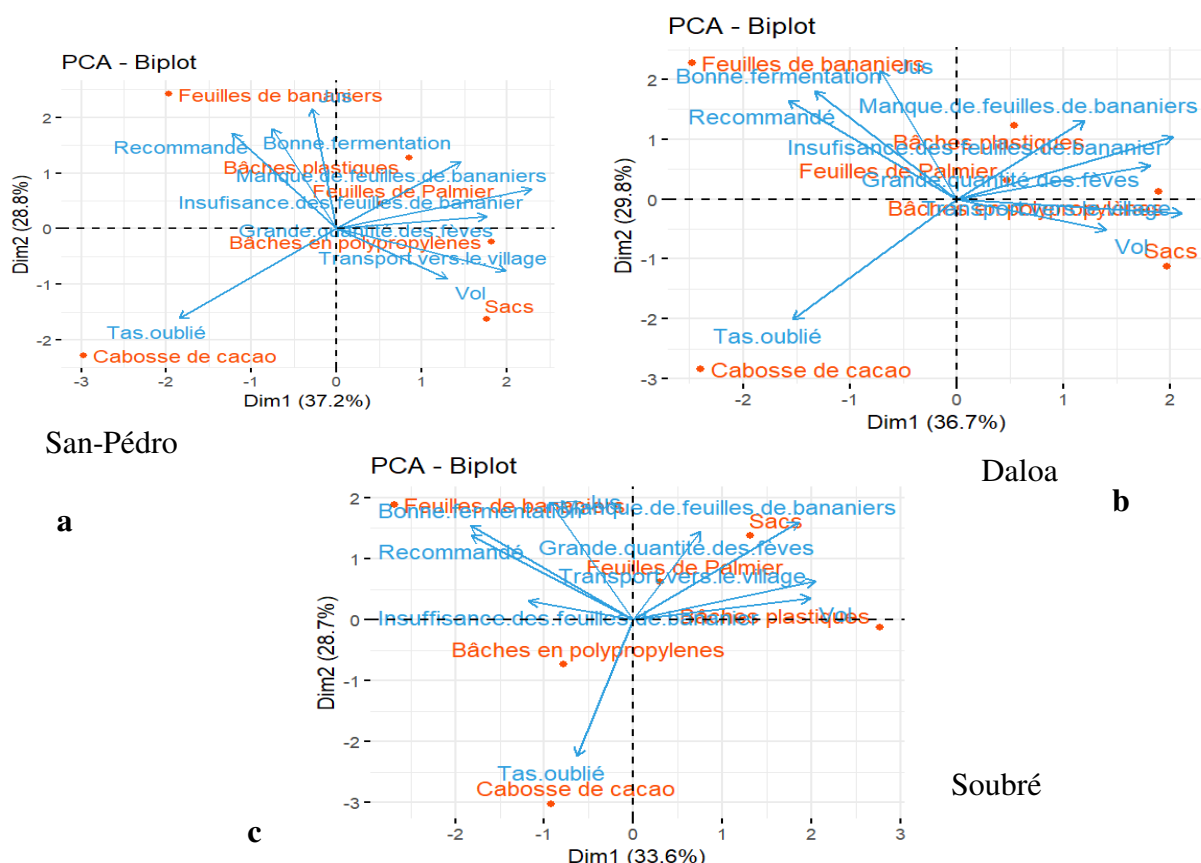
La PC1 représente 37,2 % de la variabilité totale et est associée à une forte quantité de fèves, une insuffisance de feuilles de bananier et un transport positivement corrélé par le transport des fèves de cacao vers le village. La PC2, représentant 28,8 % de la variabilité totale est expliquée par l'extraction du jus de cacao, la recommandation des structures cacaoyères et une bonne fermentation. La projection des charges sur les axes PC1-PC2 a mis en évidence la répartition des supports de fermentation en fonction des justifications observées.

Ces résultats ont permis de classer les producteurs en quatre groupes principaux en fonction de leurs motivations dans la fermentation. Le premier groupe représente les producteurs utilisant les feuilles de bananier comme support de fermentation, le deuxième par ceux utilisant les bâches plastiques, les feuilles de palmier et bâches en polypropylène. Le troisième par ceux qui utilisent les sacs et le quatrième groupe par les producteurs utilisant les cabosses de cacao comme supports de fermentation.

L'utilisation de feuilles de bananier comme support de fermentation est expliquée par la bonne fermentation des fèves de cacao, la consommation du jus de cacao et la recommandation fréquente de ce support. En revanche, l'utilisation de bâches plastiques et de feuilles de bananier et bâches en polypropylène est corrélée par le manque ou l'insuffisance de feuilles de bananier pour la fermentation mais par la réutilisabilité et le rendement de ces supports. L'utilisation de sacs est justifiée par le vol fréquent de fèves de cacao fraîches dans les champs et transport des fèves du champ vers le village. Les cabosses de cacao sont occasionnellement utilisées en cas d'oubli de ses cabosses lors du ramassage pour l'écabossage final.

Dans la zone de Soubré, l'analyse des (PC1 et PC2) a révélé 62,3 % de la variabilité totale (Figure 40 b). La PC1 représentait 33,6 % et était associée aux cas de vol signalé ainsi qu'au transport des fèves fraîches vers le village, montrant une corrélation positive en opposition à l'insuffisance des feuilles de bananier. La PC2 représentait 28,7 % de la variabilité totale et était expliquée par la grande quantité de fèves de cacao, ainsi que par une bonne fermentation, en opposition aux cas d'oubli de cabosses sous les cacaoyers lors du ramassage. La projection des charges sur les axes PC1-PC2 révèle que l'utilisation de sacs comme supports de fermentation était justifiée par la grande quantité de fèves et le transport vers le village par des camions transporteurs. L'emploi de feuilles de palmier et de bâche plastique était motivé par la présence d'une grande quantité de fèves fraîches, tandis que l'utilisation de bâches en polypropylène était justifiée par l'insuffisance des fèves de cacao. L'utilisation des cabosses de cacao s'est régulièrement distinguée par des tas oubliés lors du ramassage sous les cacaoyers.

Dans la zone de Daloa la somme des deux premières composantes principales représente un taux de 66,5 % de la variabilité totale (Figure 40 c). La PC1, qui représente 36,7 % de cette variabilité est principalement expliquée par la présence importante de fèves fraîches, l'insuffisance des feuilles de bananier, le manque de feuilles de bananier et les cas de vol de fèves fraîches. La PC2, avec 29,8 % de la variabilité totale, est expliqué par une bonne fermentation, les recommandations, le jus de cacao positivement corrélé en opposition aux tas oubliés. La projection des charges sur les axes PC1-PC2 a révélé que l'utilisation de bâches plastiques, de bâches en polypropylène et de feuilles de palmier était caractérisée par la quantité de fèves fraîches, l'insuffisance ou le manque de feuilles de bananier. Les feuilles de bananier étaient caractérisées par une bonne fermentation, la consommation de jus de cacao et les recommandations alors que les sacs étaient associés aux cas de vols signalés, tandis que les cabosses de cacao étaient liées aux cas d'oubli.



a : Zone de San-Pédro ; b : Zone de Daloa ; c : Zone de Soubré

Figure 40: Facteur d'utilisation des supports de fermentation

1.3. Supports de séchages et facteurs motivants/limitants

Les résultats des enquêtes ont révélé que parmi les 919 personnes présentes dans les trois zones de culture du cacao, 713 personnes, soit 76 % de la population, utilisent des bâches en plastique noir comme supports de séchage. En outre, 185 personnes (19 %) utilisent des bâches en polypropylène, 26 personnes (3 %) utilisent des claies, et 16 personnes (2 %) préfèrent les aires cimentées (Figure 41).

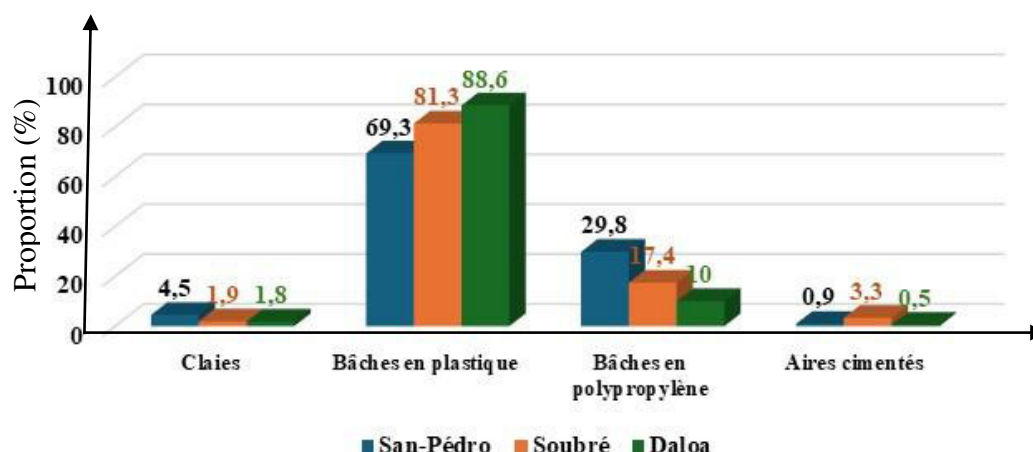


Figure 41: Supports de séchage en fonction des zones d'étude

1.3.1. Temps de séchage

Le séchage des fèves de cacao après la fermentation est différemment utilisé par les producteurs dans les trois zones de production. Le Tableau XVII révèle que dans les zones de San-Pédro et de Daloa, plus de 50 % des producteurs réalisent des séchages solaires d'au moins 5 jours. Dans la zone de Soubré, les producteurs effectuent un séchage d'une durée plus longue (6 jours), avec plus de 45 % des producteurs suivant cette pratique.

Tableau XVII: Différents temps de séchage selon la zone d'étude

San-Pédro			Soubré			Daloa		
Temps de séchage	Nb. cit.	Fréq.	Temps de sechage	Nb. cit.	Fréq.	Temps de séchage	Nb. cit.	Fréq.
1 jour	0	0,0%	1 jour	0	0,0%	1 jours	0	0,0%
2 jours	0	0,0%	2 jours	0	0,0%	2 jours	0	0,0%
3 jours	25	7,4%	3 jours	0	0,0%	3jours	4	1,8%
4 jours	70	20,8%	4 jours	23	6,3%	4jours	18	8,2%
5 jours	192	57,1%	5 jours	136	37,5%	5 jours	122	55,5%
6 jours	49	14,6%	6 jours	166	45,7%	6 jours	74	33,6%
TOTAL OBS.	336	100%	7 jours	38	10,5%	7jours	2	0,9%
Moyenne = 4,79 Ecart-type = 0,78			TOTAL OBS. 363 100%			TOTAL OBS. 220 100%		
			Moyenne = 5,60 Ecart-type = 0,76			Moyenne = 5,24 Ecart-type = 0,69		

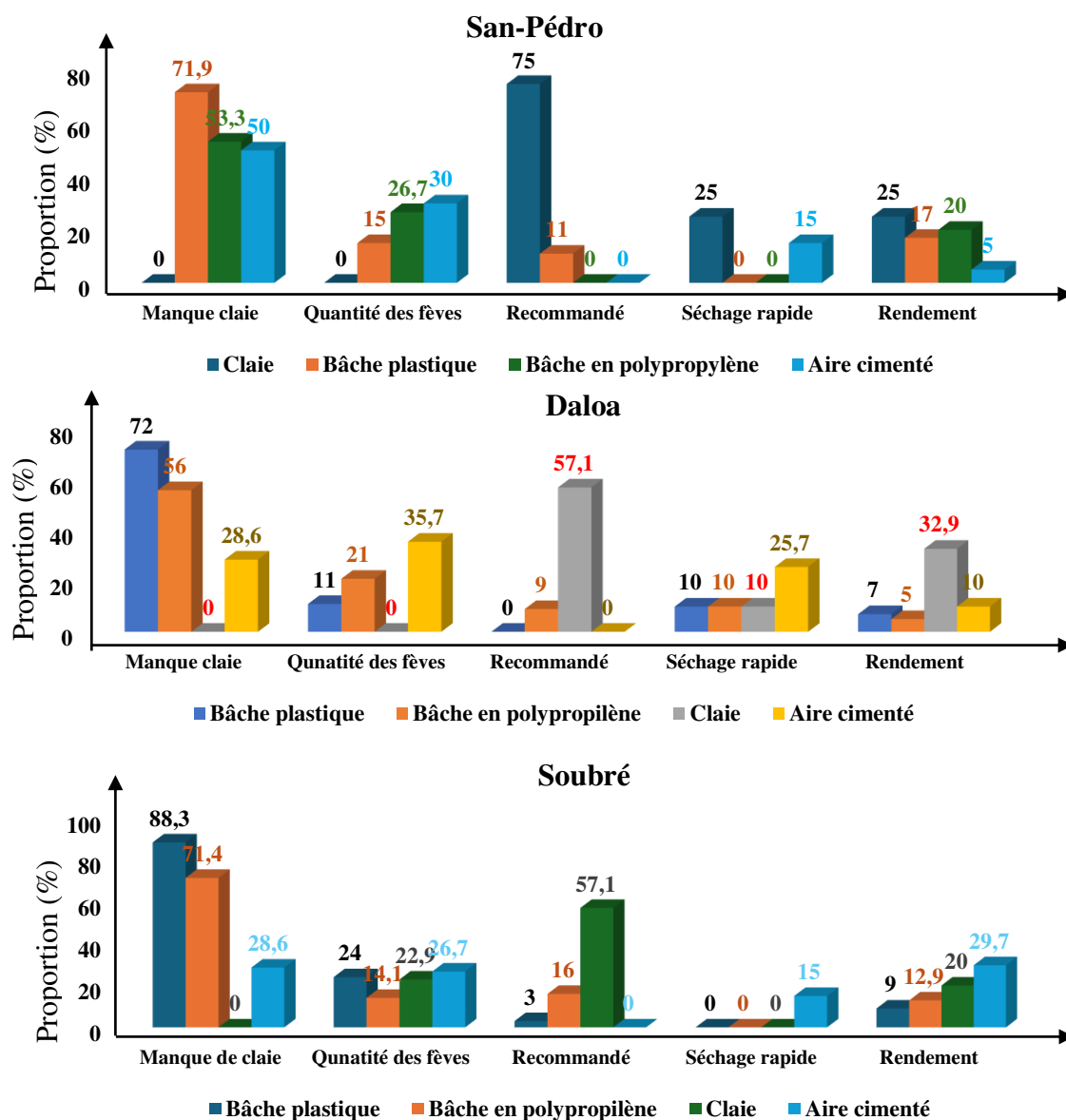
Nb. Cit : Nombre de personnes cité ; Fréq : Fréquence

1.3.2. Facteurs motivants ou limitants l'usage des nouveaux supports de séchage

À l'issue des enquêtes, quatre supports de séchage ont été répertoriés : la claie, l'air cimenté, la bâche plastique et la bâche en polypropylène. La diversification dans l'utilisation de ces supports de séchage a été motivée par plusieurs facteurs en fonction de la zone d'étude. En effet, dans la zone de Daloa (Figure 42 b), l'utilisation des bâches plastiques et bâches en polypropylène comme supports de fermentation a été majoritairement justifiée par manque de claie à des proportions respectives de 72 % et 56 %. Les aires cimentées se sont quant à elles justifiées par la grande quantité des fèves de cacao destinée au séchage à des proportions significatives de 35,7% et 25 %. En revanche, l'utilisation des claies a été justifiée par recommandation des agents de coopératives avec une proportion de 57,1 %, mais aussi à son rendement à la fin du séchage à 32,9 %.

Dans la zone de San-Pédro (Figure 42 a), les producteurs ont également observé les motivations d'utilisation de supports de séchage. En effet, l'utilisation de ces supports de séchage était justifiée par le manque de claie avec des proportions supérieures à 50 %. Les bâches en polypropylène et aires cimentées ont été justifiées par la grande quantité des fèves après fermentation à des proportions de 30 % et 26 %. Par ailleurs, les claies sont utilisées pour sa recommandation de la part de la coopérative auxquelles ils appartiennent à une proportion de 75 % et à un séchage rapide à 25 % et le rendement après séchage à une proportion de 25 %.

Les facteurs de motivation sur l'utilisation de ces nouveaux supports de séchage restent inchangés dans leurs ensembles. Ainsi, dans la zone de Soubré (Figure 42 c), les bâches plastiques et les bâches en polypropylène ont été motivées par le manque de claie à 88,3 et 71,4 %. Les claies étaient en grande partie utilisées sous recommandation avec une proportion de 57,1 % à Daloa et Soubré.



a : zone de San-Pédro ; b : Zone de Soubré ; c : Zone de Daloa

Figure 42: Facteurs limitants ou motivants de l'utilisation des supports de séchage

1.3.3. Corrélation entre les facteurs limitants ou motivants et des supports de séchage

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour mieux comprendre la diversification dans l'utilisation des supports de séchage dans les trois zones d'étude (Figure 43). Dans la zone de San-Pédro (Figure 43 a), les deux premières composantes principales (PC1 et PC2) ont contribué à hauteur de 95,7 % de la variabilité totale. La PC1 représentait 75,1 % de cette variabilité totale et était positivement corrélée à la recommandation, en opposition au manque de claies et à la quantité de fèves à sécher. En revanche, la PC2, représentant 20 % de la variabilité totale, était expliquée par le rendement après séchage, positivement corrélé, à

l'opposé de la rapidité du processus de séchage. La projection des charges sur les axes PC1-PC2 montre que, dans cette zone, l'utilisation des bâches plastiques et des bâches en polypropylène est caractérisée par le manque de claie. En revanche, les surfaces cimentées sont associées à une grande quantité de fèves et à un séchage rapide de celles-ci.

Dans la zone de Daloa (Figure 43 b), l'analyse des deux premières composantes principales (PC1 et PC2) était expliquée par 98,23 % de la variabilité totale. Trois groupes distincts de producteurs ont émergé. La PC1 représentant plus de 66 % de la variabilité totale et étant influencée par le rendement et la recommandation, chargée négativement en opposition au manque perçu de claies. En revanche, la PC2, représentant 31,5 % de la variabilité, était caractérisée par le séchage rapide. Ainsi, cette analyse suggère que l'utilisation des aires cimentées était associée au séchage rapide et à la quantité de fèves stockées pour le séchage. Quant à l'utilisation des claies comme supports de séchage, les producteurs l'ont justifiée par la recommandation et le rendement obtenu. En revanche, l'utilisation de bâches en polypropylène et de jute comme supports de séchage était expliquée par le manque de claies.

Les résultats de l'analyse dans la zone de Soubré (Figure 43 c) ont également révélé l'utilisation des mêmes supports de séchage, mais avec des justifications différentes parmi les producteurs de cacao. L'analyse en ACP a indiqué que les deux premières composantes principales, PC1 et PC2, expliquaient 89,1 % de la variabilité totale. La PC1, représentant 54,5 % de la variabilité, était principalement expliquée par le séchage rapide, la quantité de fèves de cacao et le rendement avec une charge positive. La PC2, représentant 34,6 % de la variabilité, était expliquée par le manque de claies, avec une charge positive en opposition à la recommandation, qui était chargée négativement. L'utilisation de supports tels que les claies étaient caractérisées par la recommandation, tandis que l'utilisation de bâches en polypropylène et de bâches en plastique était expliquée par le manque de claies. En revanche, les aires cimentées étaient associées au séchage rapide, au rendement et à la quantité de fèves de cacao à sécher.

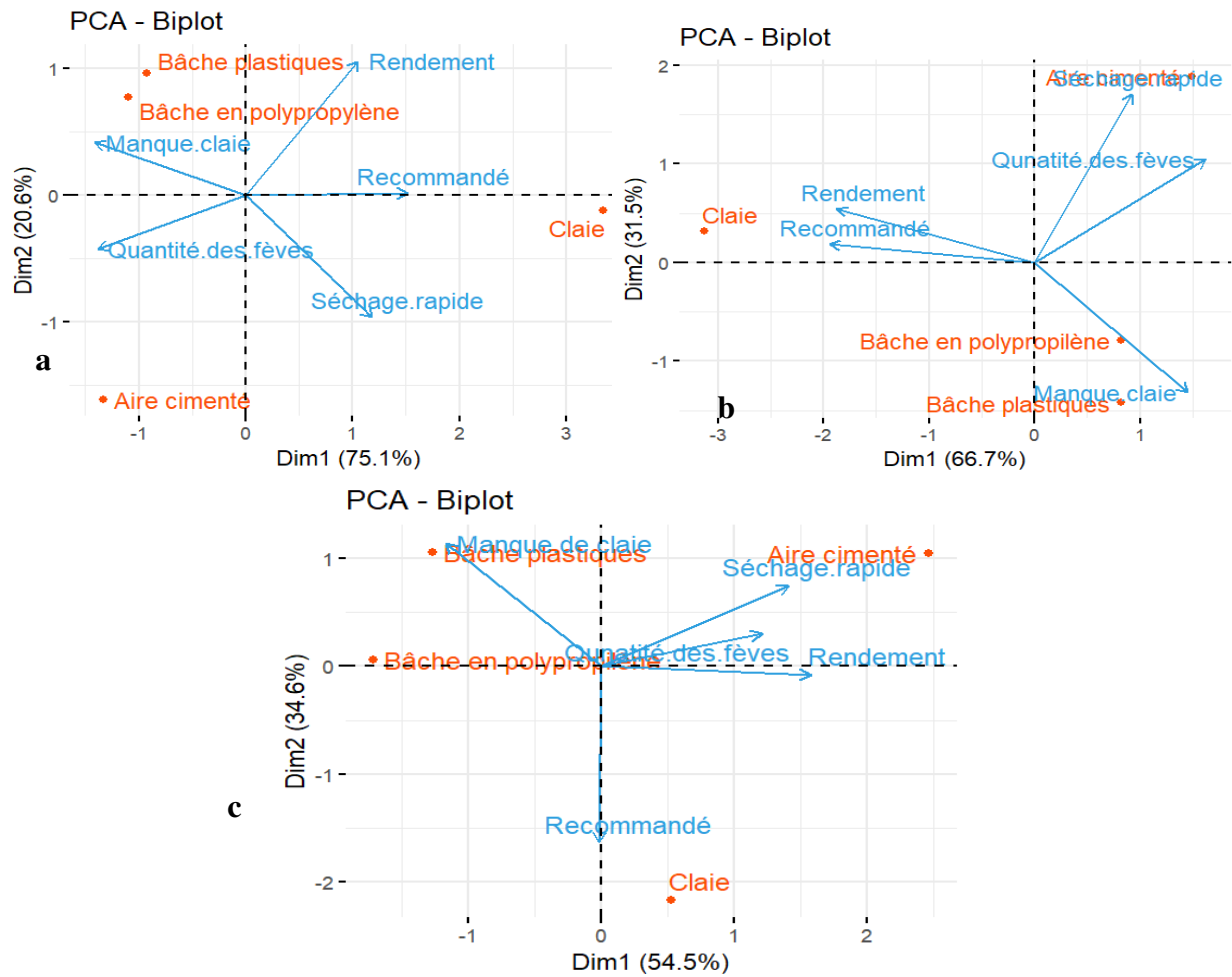


Figure 43: Facteurs d'utilisation des supports de séchage

a : Zone de San-Pédro ; b : Zone de Daloa ; c : Zone de Soubré

2. DISCUSSION

Le contexte socio-culturel des trois zones d'étude exerce une influence notable sur le rôle occupé par les femmes au sein des communautés dédiées à la culture du cacao. Les résultats de l'enquête indiquent une prédominance masculine dans le secteur cacaoyer, avec des proportions significatives de participants masculins : 89,6 % dans la zone de San-Pédro, 92,8 % dans la zone de Soubré, et 93,2 % dans la zone de Daloa. La prépondérance masculine dans ce domaine pourrait s'expliquer par la nature ardue de ce travail demandant un effort physique et un courage particulier.

Par ailleurs, la sous-représentation des femmes dans le domaine de la cacaoculture peut être attribuée à des facteurs évoqués par Kouakou *et al.* (2018) qui selon lesquels le rôle traditionnellement assigné aux femmes est centré principalement sur la reproduction familiale. En effet, historiquement exclues de l'héritage foncier, les femmes jouent un rôle actif dans la production vivrière durant les premières phases de la culture cacaoyère. Cependant, au-delà de cette période initiale, leur implication dans l'exploitation du cacao devient marginale, se limitant fondamentalement aux activités de cassage et de transport des fèves.

Le matériel de fermentation utilisé par les producteurs de cacao dans les trois zones enquêtées se compose principalement de sacs en polypropylène, sacs en jute, de bâches en polypropylène, de cabosses de cacao, feuilles de palmier, feuilles de bananier et de bâche en plastique noir. La proportion d'utilisation des supports de fermentation constitués de bâches plastiques était supérieure à celle des autres supports dans toutes les localités étudiées avec $51,36 \pm 3,68$ % contre $32,96 \pm 11,35$ % pour les sacs (polypropylène, jute), $2,5 \pm 2,2$ % pour les bâches en polypropylène et $25,03 \pm 10,9$ % pour les feuilles de bananier (Support témoin). Les caisses en bois ne sont pas utilisées dans les trois zones d'étude.

Les résultats diffèrent de ceux obtenus par Kouakou *et al.* (2018), qui ont rapporté un pourcentage d'utilisation de feuilles de bananier comme supports de fermentation de 70 %, 60 % et 64 % respectivement à Abengourou, Oumé et Soubré. Cette disparité pourrait s'expliquer par les variations climatiques impactant négativement les bananiers et par l'expansion des cacaoyers, étouffant fréquemment les bananiers dans les plantations cacaoyères.

Cependant, l'absence d'utilisation des caisses en bois pourrait être attribuée à la complexité de leur fabrication et aux dommages causés par les termites en l'absence de conditions de conservation appropriées (Yao, 2014). Selon les observations d'Ardhana et Fleet (2003), l'adoption de la fermentation en caisse reste peu courante parmi les producteurs, notamment en raison des ressources financières nécessaires à l'acquisition de ce type

d'équipement. Ces derniers privilégient généralement des méthodes de fermentation plus traditionnelles, auxquelles ils sont depuis longtemps habitués. Les cabosses de cacao et les feuilles de palmier ont été généralement constaté lors des échanges avec les producteurs et sont utilisés pour leurs disponibilités et l'accessibilité bien qu'ils soient utilisés avec des pourcentages relativement faibles. En effet, l'utilisation des cabosses de cacao comme supports de fermentation pourrait être envisagée, étant donné que ces cabosses sont produites naturellement par le cacaoyer. Par ailleurs, bien que les bâches en polypropylène soient coûteuses, leur utilisation pourrait permettre de surmonter les défis liés à la gestion de grandes quantités de fèves fraîches à fermenter.

La durée de fermentation des fèves dans les trois zones d'étude varie en fonction de la période de récolte, distinguant la saison des pluies ou de la saison sèche. Une moyenne de temps de fermentation générale est comprise entre 5 à 7 jours a été observée à $66,87 \pm 15,95$ % et conforme aux normes requises pour une fermentation efficace. Dans la zone de San-Pédro, 45,5 % des producteurs présentent une durée de fermentation inférieure ou égale à quatre jours, tandis que 55,5 % se situent entre 5 et 7 jours. Les pourcentages correspondants dans la zone de Soubré sont de 14,9 % inférieure ou égale à quatre jours contre 85,1 % entre 5 et 7 jours, et dans la zone de Daloa, de 40 % inférieure ou égale à quatre jours contre 60 % entre 5 et 7 jours.

Ces résultats témoignent d'une fermentation parfois méprisée dans les localités examinées. Nos résultats sont attestés par les études menées par Camu *et al.* (2008), qui ont signalé une insuffisance générale de temps de fermentation dans toutes leurs zones d'étude en Côte d'Ivoire. Cette disparité peut s'expliquer par l'influence des saisons de pluies et de sécheresse. Selon les producteurs, pendant la saison des pluies, le temps de fermentation est réduit au profil du temps de séchage qui s'allonge permettant aux fèves de poursuivre la fermentation. En revanche, pendant la saison sèche, les temps de séchage sont plus courts, limitant la possibilité pour les fèves de mener à bien le processus de fermentation.

Le brassage des fèves de cacao est une étape cruciale visant à uniformiser le processus de fermentation, prévenant la formation de fèves ardoisées ou insuffisamment fermentées, comme le soulignent Guéhi *et al.* (2010). Cependant, le brassage des fèves pendant la fermentation est largement sous-pratiqué dans l'ensemble des trois régions étudiées. La proportion de brassage était faible dans toutes les zones d'étude : 6,3 % (Soubré), 5,1 % (San-Pédro) et 4,5 % (Daloa) conforme aux constatations de Kouakou *et al.* (2018). Selon Aneani & Takrama (2006), de nombreux producteurs manquent d'informations sur l'importance du brassage pendant la fermentation pour l'homogénéité des fèves et leurs qualités finales.

Les diverses pratiques de fermentation adoptées par les producteurs trouvent leur justification dans plusieurs raisons qui ont été évoquées lors de nos entretiens. Les échanges avec les chefs de village et les producteurs ont permis de recueillir ces motivations à l'égard de l'adoption de nouvelles méthodes de fermentation. Il est notable que tous les producteurs interrogés n'ont en aucun cas abandonné l'utilisation des feuilles de bananier, qu'ils considèrent comme le support de fermentation incontestable.

En effet, ces producteurs bénéficient des avantages de la fermentation réalisée sur les feuilles de bananier, en raison de l'association fréquente des cacaoyers avec les bananiers. Cette pratique permet de bénéficier de l'ombrage offert par les bananiers pendant les premières années de production. Ainsi, les feuilles de bananier sont aisément accessibles et sont couramment employées pour la fermentation, comme souligné par Kouakou *et al.* (2018). Mais, au cours de l'enquête, d'autres raisons ont émergé en faveur de l'adoption de nouvelles pratiques de fermentation des fèves de cacao. Les résultats révèlent que la dégradation progressive des sols ne permettait plus le développement des bananiers dans les plantations de cacaoyers. De plus, au-delà de cinq ans après la mise en place de la plantation, l'ombrage généré par les cacaoyers entraînait la disparition des bananiers dans les champs de cacaoyers.

Les analyses de corrélation menées sur les motivations liées à la diversification des pratiques post-récolte ont révélé que les feuilles de bananier sont largement perçues comme des supports de fermentation efficaces. De plus, cette pratique était motivée par plusieurs facteurs, notamment les recommandations des coopératives encadrantes, la recherche du jus de cacao apprécié comme boisson et la qualité des fèves obtenues après le séchage. Les feuilles de bananier étaient plus utilisées dans la région du Haut-Sassandra et expliquées par la disponibilité des bananiers dans les champs et leurs environs, permettant aux producteurs d'acquérir facilement les feuilles nécessaires à la fermentation.

En revanche, l'utilisation de bâches en polypropylène, de bâches plastiques et de feuilles de palmier était davantage motivée par l'insuffisance, voir le manque de feuilles de bananier dans ces régions. Certains ont également mentionné l'impact de l'acidité du sol générée par l'océan Atlantique, qui influence la zone de San-Pédro et entrave le développement des bananiers. Par ailleurs, l'utilisation de sacs comme supports de fermentation était motivée par la récurrence de vols de fèves fraîches constatée ces dernières années dans les champs. Afin de faire face à cette situation, l'écabossage est effectué directement dans les sacs qui sont scellés et disposés en bordure de routes. À la fin de l'écabossage, des véhicules de transport ou des motos (tricycles) les récupèrent directement pour les convoier au village, et après un délai de

cinq jours, le processus de séchage est initié. Les producteurs ont également argumenté que cette pratique les protégeait des dommages pendant les saisons de pluies, car les sacs leur permettaient de conserver les fèves fraîches plus longtemps.

Par ailleurs, l'utilisation des cabosses de cacao était limitée à une seule occasion des cas d'oubli de certains tas lors du ramassage. Pendant la cueillette, de petits tas sont préalablement disposés pour faciliter la visibilité lors de la constitution de tas plus importants, généralement réalisée par les femmes. Cependant, il arrive parfois que d'autres petits tas soient oubliés et échappent à l'écabossage initial. Ainsi, les producteurs, constatant ces cabosses oubliées après quelques jours, procèdent à une micro-fermentation dans les cabosses, qui sont fractionnées à l'aide de gourdins. Les fèves sont ensuite conservées à l'intérieur pendant 3 à 4 jours de fermentation avant d'être séchées séparément.

Les résultats de l'enquête révèlent que la bâche plastique noire, la bâche en polypropylène, les aires cimentées et les claies constituent les quatre principaux types d'aires de séchage. Parmi les 919 personnes interrogées dans les trois zones de culture de cacao, les bâches en plastique sont les supports les plus largement utilisés pour le séchage, avec des fréquences de 69,3 % dans la zone de San-Pédro, 81,3 % dans la zone de Soubré et 88,6 % dans la zone de Daloa. Quant aux bâches en polypropylène, leur utilisation vient au second plan après les bâches plastiques. En effet, ce sont 29,8 % des personnes enquêtées à San-Pédro, 17,4 % à Soubré et 10 % à Daloa qui utilisent ces supports pour le séchage.

Ces résultats divergent de ceux obtenus par Kouakou *et al.* (2018), qui ont identifié les supports de séchage tels que claies, aires cimentées et bâche plastique, avec les claies en tête avec une fréquence de plus de 50 %. Ces variations reflètent les évolutions auxquelles les producteurs sont confrontés au fil du temps dans la culture du cacao. Toutefois, l'utilisation des bâches en polypropylène pour le séchage des fèves a connu une augmentation au fil des années, en raison de l'absence des claies, comme l'ont confirmé les producteurs lors des entretiens. Les producteurs ont expliqué que les matériaux nécessaires à la fabrication des claies, en particulier le bambou, ont été détruits ces dernières années en raison de l'expansion de la riziculture. En effet, ces bambous poussent généralement dans les basfonds, désormais consacrés à la riziculture pour répondre aux besoins alimentaires.

Le temps de séchage dans les zones de San-Pédro et de Daloa était de 5 jours avec au moins 50 % des producteurs, tandis que dans la zone de Soubré, 55 % des producteurs consacrent un temps de séchage compris entre 6 et 7 jours. Ces lacunes dans le processus de séchage sont des pratiques préjudiciables à la qualité des fèves de cacao. En effet, le séchage,

en plus de déshydrater les fèves, permet d'éliminer l'acide, notamment volatil, formé lors de la fermentation (Jaquet *et al.*, 1980). Un séchage insuffisant entraîne ainsi des fèves présentant des taux d'humidité et d'acidité volatils élevés.

Les choix des différents supports de séchage ont été justifiés par plusieurs raisons, comme révélé par l'analyse en composantes principales. Il apparaît que les claies sont préférées pour leur rendement satisfaisant et sur recommandation. En revanche, l'utilisation des autres supports est souvent motivée par le manque de bambou pour la fabrication des claies et la nécessité de traiter de grandes quantités de fèves à sécher.

3. CONCLUSION PARTIELLE

La fermentation des fèves de cacao en Côte d'Ivoire présente des variations significatives selon les régions de production. Les supports utilisés pour cette étape incluent principalement les feuilles de bananier, les feuilles de palmier, les bâches en polypropylène, les sacs (en jute ou en polypropylène), les cabosses de cacao, ainsi que les bâches plastiques.

Parmi ces zones, seule la zone de Soubré se distingue par une préférence marquée pour l'utilisation des feuilles de bananier après les bâches plastiques. La durée de fermentation, généralement inférieure à cinq jours (entre 2 et 5 jours) dans les zones de San-Pédro et de Daloa, est d'environ six jours dans la zone de la soubré. Toutefois, ces durées restent inférieures à la durée minimale de sept jours recommandés pour une fermentation optimale.

Par ailleurs, dans ces trois zones d'étude, le séchage des fèves s'effectue principalement à l'air libre, à l'aide de supports variés, notamment les claies, les aires cimentées, les bâches en polypropylène et les bâches plastiques noires. De manière générale, la zone de Soubré présente une meilleure efficacité dans les processus de fermentation et de séchage des fèves de cacao.

Cependant, ces pratiques spécifiques pourraient influencer directement la qualité commerciale, microbiologique, biochimique et organoleptique des fèves de cacao et des produits dérivés. Il est donc essentiel d'évaluer l'impact de ces technologies post-récolte, notamment les supports de fermentation qui est l'acteur du développement des arômes, sur la qualité finale des fèves afin d'assurer leur valeur marchande et leur conformité aux normes de qualité internationales.

CHAPITRE II : VARIATION DES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES AU COURS DE LA FERMENTATION

La mise en place des différents dispositifs de fermentation des fèves de cacao est un processus essentiel pour assurer la qualité et le développement des arômes caractéristiques du cacao. Le chapitre précédent a permis d'identifier cinq nouveaux supports de fermentation utilisés par les producteurs pour la fermentation des fèves de cacao en Côte d'Ivoire. Cependant, les données sur la qualité des fèves fermentées sur ces supports sont actuellement limitées.

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer les nouveaux supports de fermentation en suivant de manière rigoureuse le processus et analyser la qualité finale des fèves de cacao obtenues. Ces résultats seront ensuite comparés à celles fermentées sur des feuilles de bananier (Témoin). Il s'agit donc d'évaluer la variation des paramètres physico-chimiques et microbiologiques au cours de la fermentation, susceptibles d'impacter la qualité finale des fèves de cacao.

Pour une meilleure analyse, une codification a été utilisée pour un même support de fermentation dans les trois zones d'étude :

F1 pour les feuilles de bananier (Support Témoin),

F2 pour les feuilles de pamier,

F3 pour les cabosses de cacao,

F4 pour les bâches en polypropylène,

F5 pour sacs en polypropylène

F6 pour les sacs en jute

1. RÉSULTATS

1.1. Évolution de la température et du pH de fermentation

La cinétique de variation de la température et du pH a suivi une tendance similaire, avec une augmentation progressive dès le premier jour de fermentation. Les valeurs maximales de pH ont été enregistrées entre les jours 3 et 5, tandis que la température a culminé entre 25 et 50 °C, avant de diminuer en phase finale de fermentation (Figure 44).

Les résultats observés avec les fèves de variété *Forastero* dans les zones de San-Pédro et de Daloa, ont présenté des valeurs plus proches avec quelques différences significatives ($p < 0,05$) comparés aux différents supports de fermentation. En effet, la plage de température observée à San-Pédro (25 à 50 °C) était légèrement supérieure à celle de Daloa (24 à 47 °C). Cependant, avant le premier brassage (jour 2) à San-Pédro, la température a été comprise entre 26 et 47 °C, tandis qu'à Daloa, elle oscillait entre 26 et 45 °C. Les fèves en fermentation sur les

supports F2 ($47,93 \pm 0,76$ °C) et F6 ($46,67 \pm 0,55$ °C) ont affiché une température de fermentation plus élevée comparée au témoin F1 ($45,67 \pm 0,35$ °C) à San-Pédro.

Dans la zone de Daloa, ce sont plutôt les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($45,83 \pm 1,34$ °C) qui ont montré une grande température de fermentation suivi de celles fermentées sur le support F4 ($43,43 \pm 0,77$ °C). Après le premier brassage, la température a repris sa croissance pour atteindre la valeur maximale de 50 °C à San-Pédro et 47 °C à Daloa avant de diminuer les derniers jours de la fermentation.

Dans la zone de San-Pédro, les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($50,00 \pm 0,50$ °C) et F2 ($50,33 \pm 0,50$ °C) avaient la plus grande température de fermentation après quatre jours. Les fèves issues de F5 ($48,53 \pm 1,88$ °C) au jour 5, F6 ($47,10 \pm 1,84$ °C) et F4 ($46,33 \pm 2,14$ °C) au jour 4 avaient des températures de fermentations similaires. Quant aux fèves en fermentation sur le support F3, elles ont observé la plus faible température de fermentation avec une valeur maximale de $35,33 \pm 1,15$ °C au jour 3 de la fermentation.

Dans la zone de Daloa, ce sont plutôt les fèves en fermentation sur les supports F5 ($47,43 \pm 4,33$ °C) au jour 5 et F4 ($45,96 \pm 1,12$ °C) au jour 4 qui ont obtenues les valeurs maximales de température proche du support témoin F1 ($46,73 \pm 1,76$ °C) au jour 4 de la fermentation. Cependant, les fèves en fermentation sur les supports F6 ($41,56 \pm 1,25$ °C) au jour 4 et F2 ($44,63 \pm 0,90$ °C) au dernier de fermentation ont enregistré une température moyenne avec des différences significatives ($P < 0,05$). Les fèves en fermentation sur le support F3 ($33,63 \pm 1,06$ °C) a montré une température plus faible dans tous les supports analysés.

L'analyse des échantillons de la variété *Mercedes* collectés dans la zone de Soubré a montré une évolution de la température de 26 °C à 46 °C, proche de celle obtenue avec les fèves de la variété *Forastero*. Avant le brassage, la température a atteint son maximum dans la masse de fèves en fermentation sur le support F2 ($38,60 \pm 0,69$ °C), suivi de F4 ($37,40 \pm 1,51$ °C). En revanche, la température la plus basse a été enregistrée pour les fèves fermentées sur le support F3 ($31,83 \pm 0,76$ °C). Après le brassage, une augmentation supplémentaire de la température a été observée, atteignant son maximum avec les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($46,73 \pm 0,25$ °C), proche de F2 ($46,67 \pm 1,52$ °C) et F4 ($46,50 \pm 0,50$ °C) au jour 4 de la fermentation. Les fèves en fermentation sur les supports F5 ($43,96 \pm 0,83$ °C) au jour 5 et F6 ($42,40 \pm 1,35$ °C) ont présenté des températures moyennes. La température de fermentation la plus basse a été observée au jour 4 sur le support F3 (38 °C).

La variation de la température de fermentation a également conduit à une variation du pH au cours de la fermentation. En effet, l'analyse de la cinétique de croissance des deux

variétés étudiées a montré une augmentation du pH de 2 à 6 sur l'ensemble des supports dans les trois zones d'étude. Le pH était plus acide pendant les trois premiers jours de fermentation, puis a augmenté au cours des jours suivants.

Dans la zone de San-Pédro, la plus grande valeur de pH a été enregistrée pour les fèves en fermentation sur le support F2 ($5,99 \pm 0,01$) au jour 4. Cette valeur est proche de celle enregistrée pour les fèves en fermentation sur le témoin F1 ($6,17 \pm 0,58$) au jour 5. Les fèves en fermentation sur les supports F3 (jours 3 à 4) et F5 (jours 2 à 4) ont montré un pH plus acide tout au long du processus. La valeur maximale de pH a été enregistrée le dernier jour de fermentation, soit $4,37 \pm 0,34$ pour F3 et $4,84 \pm 0,07$ pour F5 au jour 5.

Dans la zone de Daloa, le pH était de $4,68 \pm 0,07$ au jour 6 sur le support F3 et de $4,95 \pm 0,01$ au jour 3 sur le support F5. De même que la zone de Daloa et San-Pédro, la variation du pH était à la même allure d'évolution entre 2 et 6 dans la zone de Soubré sur l'ensemble des supports. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées avec les fèves en fermentation sur les support F4 ($4,81 \pm 0,15$) au jour 4, et le support F2 ($6,21 \pm 0,01$) au jour 6 semblable à la valeur maximale observée avec les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($6,38 \pm 0,03$) au dernier jour de la fermentation. Tout comme la variété *Forastero* à San-Pédro et Daloa, les fèves en fermentation sur les supports F3 et F5 ont enregistré la plus faible valeur de pH comprise entre 2 et 4. Cependant, les valeurs maximales ont été observées au jour 6 avec sur le support F3 ($4,38 \pm 0,02$) et au jour 4 sur le support F5 ($4,81 \pm 0,15$).

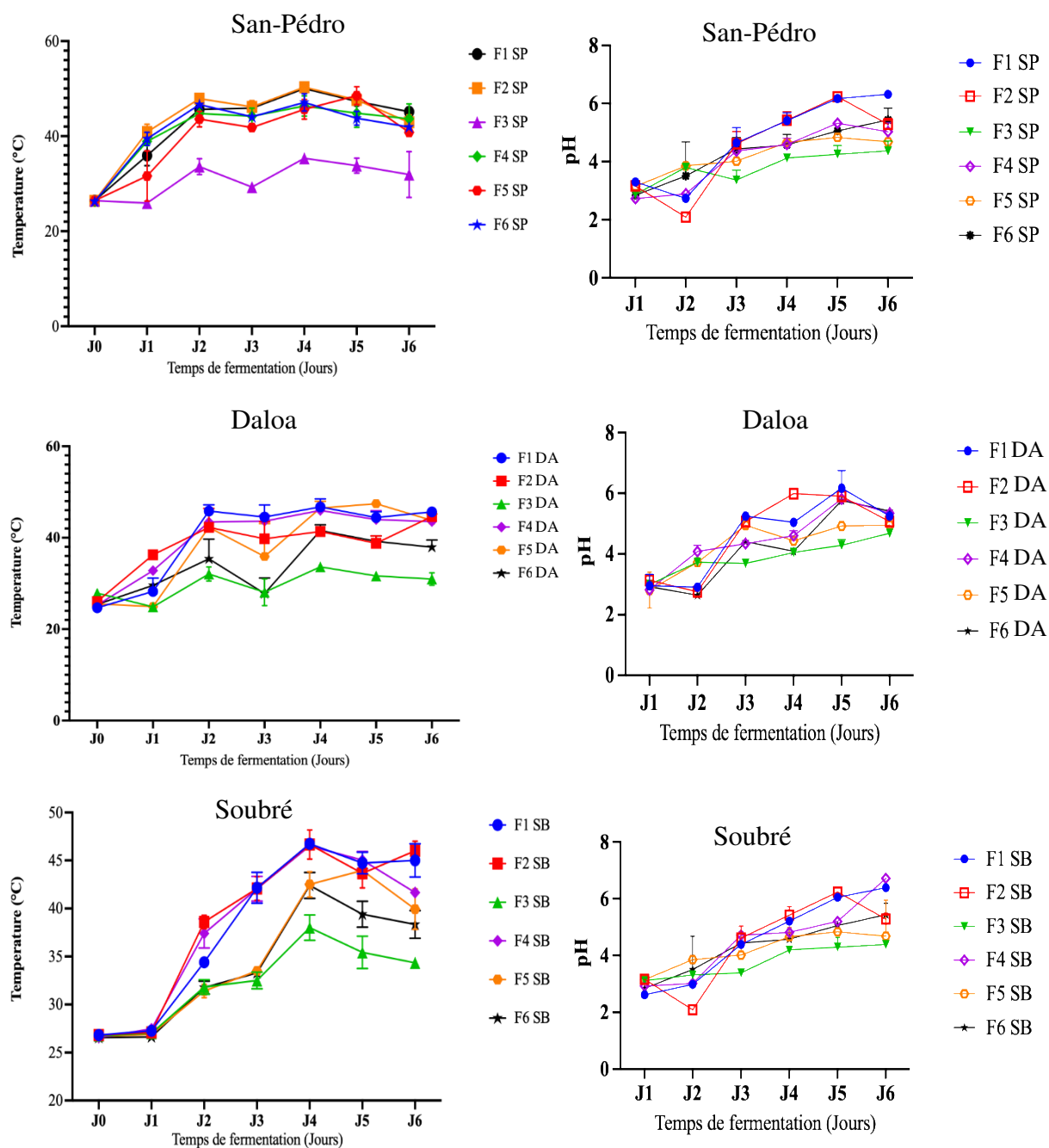


Figure 44: Évolution de la température et du pH au cours de la fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier San-Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; ; J1 : Jour 1 ; J2 : Jour 2 ; J3 : Jour 3 ; J4 : Jour 4 ; J5 : Jour 5 ; J6 : Jour 6

1.2. Croissance de la flore microbienne au cours de la fermentation

La cinétique de croissance totale des levures, des bactéries lactiques, des bactéries acétiques et des *Bacillus* au cours de la fermentation dans les différents supports de fermentation

est illustrée par la Figure 45. Les résultats ont mis en évidence une corrélation positive entre la croissance microbienne, le temps et le support de fermentation.

L'analyse des résultats du dénombrement de la population levurique a révélé une population comprise entre 1 et 3.10^6 UFC/g pour les fèves de variété *Forastero*, et entre 1 et 2.10^6 UFC/g pour les fèves de variété *Mercedes*. La croissance maximale des levures a été enregistrée au cours des premiers jours de fermentation, avec les fèves fermentées sur le support F5 ($3,54 \pm 0,14.10^6$ UFC/g), soit environ trois fois la valeur enregistrée sur le support témoin F1 ($1,72 \pm 0,03.10^6$ UFC/g) au jour 2. Sur les autres supports, la population de levures était d'environ 2.10^6 UFC/g à San-Pédro. Quant à la zone de Daloa, la population la plus importante a été dénombrée sur le support témoin F1 ($3,20 \pm 0,23.10^6$ UFC/g) suivie de F5 ($2,50 \pm 0,12$) au jour 2 de la fermentation.

Par ailleurs, dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, la croissance des levures a été observée avec une variabilité entre 1,36 et $2,5.10^6$ UFC/g, plus faible que celle de la variété *Forastero*. Les fèves fermentées sur le support F5 ($2,50 \pm 0,12.10^6$ UFC/g) ont enregistré la plus grande population au troisième jour de la fermentation, soit approximativement deux fois supérieur aux valeurs obtenues sur le support témoin F1 ($1,18 \pm 0,00.10^6$ UFC/g) enregistré au deuxième jour de la fermentation. Les fèves issues des supports F2 ($1,89 \pm 0,16.10^6$ UFC/g) et F6 ($1,78 \pm 0,07.10^6$ UFC/g) au troisième jour de la fermentation ont également montré une plus grande croissance de levures comparée au support témoin.

Cependant, la fermentation sur le support F3, dans toutes les zones d'étude, a montré une croissance maximale des levures avec un retard par rapport aux autres supports. Une population de $2,87 \pm 0,21.10^6$ UFC/g au quatrième jour à San-Pédro, $2,12 \pm 0,16.10^6$ UFC/g au quatrième jour à Soubré, et $2,70 \pm 0,12.10^6$ UFC/g au sixième jour de fermentation dans la zone de Daloa a été observée.

La croissance des bactéries lactiques s'est échelonnée entre 0 et 26.10^7 UFC/g sur l'ensemble des supports dans les trois zones d'étude. Plus spécifiquement, avec les fèves de variété *Forastero* analysées, sa croissance a évolué 0 à 26.10^7 UFC/g à San-Pédro tandis qu'elle évoluait plus faiblement à Daloa avec une population comprise entre 0 et 17.10^7 UFC/g. La croissance était plus accrue dans la masse de fèves en fermentation sur le support F5 ($26,49 \pm 0,57.10^7$ UFC/g) au jour 3 de la fermentation à San-Pédro suivi de F4 ($23,27 \pm 2,31.10^7$ UFC/g) comparer à la valeur maximale obtenue sur le support témoin F1 ($20,45 \pm 0,12.10^7$ UFC/g). La croissance des bactéries lactiques dans la masse de fèves fermentée sur le support F3 a atteint

son maximum au quatrième jour avec une population plus faible ($11,95 \pm 0,06.10^7$ UFC/g) par rapport aux autres supports.

Dans la zone de Daloa, la croissance maximale des levures a été enregistrée au troisième jour avec les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($17,50 \pm 0,64 \times 10^7$ UFC/g), suivi des supports F6 ($16,63 \pm 0,25. 10^7$ UFC/g) et F4 ($16,27 \pm 0,77. 10^7$ UFC/g) au jour 2. Le support F5 a montré une croissance maximale légèrement plus tard, au jour 5, avec $16,95 \pm 0,45 .10^7$ UFC/g, tandis que la plus faible population, soit $9,90 \pm 0,25.10^7$ UFC /g, a été enregistré sur le support F3 au jour 5.

Toutefois, la croissance des bactéries lactiques pour la variété *Mercedes* à Soubré a évolué de 0 à $22,95.10^7$ UFC/g. Sa croissance maximum a été atteinte tardivement comparé à la variété *Forastero*. Les fèves fermentées Témoin F1 ($20,36 \pm 1,80.10^7$ UFC/g) suivi de F4 ($18,40 \pm 1,35.10^7$ UFC/g) et F5 ($16,72 \pm 0,77.10^7$ UFC/g).

La fermentation dans la cabosse de cacao a également enregistré une plus faible population de bactéries lactique. Soit $11,95 \pm 0,06.10^7$ UFC/g au quatrième jour de la fermentation à San-Pédro, $9,90 \pm 0,25.10^7$ UFC/g à Daloa et $10,31 \pm 0,06.10^7$ UFC/g au cinquième jour de la fermentation.

Les bactéries acétiques ont montré une croissance notable dans les trois zones étudiées, variant de $13,13$ à $40,10^7$ UFC/g. Pour la variété *Forastero*, la croissance des bactéries acétiques était comprise entre 5 et $33,10^7$ UFC/g, comparable à celle observée avec les fèves de variété *Mercedes* (entre 9 et $40,00 .10^7$ UFC/g) avec des différences significatives ($P < 0,05$). Dans la zone de San-Pédro, les fèves fermentées sur le support F2 ont montré la population la plus élevée ($37,09 \pm 0,00.10^7$ UFC/g), suivies de celles sur le support F6 ($33,27 \pm 5 ,01. 10^7$ UFC/g) au jour 4 de la fermentation. Ces valeurs étaient supérieures à la population maximale enregistrée sur le support témoin F1 ($31,5 \pm 0,70. 10^7$ UFC/g) au jour 5 de la fermentation.

Dans la zone de Daloa, la population de bactéries acétiques variait entre 18,68 et $33,10^7$ UFC/g. La croissance maximale a été atteinte avec les fèves fermentées sur le support F2 ($33,00 \pm 0,00.10^7$ UFC/g) au jour 5, dépassant la valeur maximale enregistrée sur le support F1 ($28,68 \pm 0,19.10^7$ UFC/g) au même jour. Les fèves fermentées sur les supports F4 ($27,04 \pm 0,19.10^7$ UFC/g) et F5 ($26,68 \pm 0,45.10^7$ UFC/g) ont montré des valeurs proches de celles du support témoin au jour 5. La plus faible croissance a été observée sur le support F3 ($13,13 \pm 1,74.10^7$ UFC/g) au jour 4 à San-Pédro, tandis que dans la zone de Daloa, elle a été enregistrée sur le support F6 ($18,68 \pm 0,57.10^7$ UFC/g) au dernier jour de la fermentation.

En ce qui concerne la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, la population de bactéries acétiques a varié de 0 à $40,10^7$ UFC/g. La croissance maximale a été atteinte au jour 5 sur le support témoin F1 ($40,00 \pm 0,38 \cdot 10^7$ UFC/g), similaire à celle observée sur le support F2 ($38,5 \pm 0,32 \cdot 10^7$ UFC/g) au jour 4. La plus faible population a été observée sur le support F3 ($13,14 \pm 1,74 \cdot 10^7$ UFC/g) au jour 4 de la fermentation.

Le développement des bactéries du genre *Bacillus* s'est avéré semblable et plus prononcé durant les derniers jours de la fermentation sur l'ensemble des supports, avec une variation entre $1,59 \cdot 10^7$ et $16,59 \cdot 10^7$ UFC/g. L'analyse des fèves de la variété *Forastero* a montré une population comprise entre 0 et $16,59 \cdot 10^7$ UFC/g à San-Pédro, tandis qu'à Daloa, elle évoluait de manière légèrement plus faible, entre 0 et $11,95 \cdot 10^7$ UFC/g. La population maximale a été enregistrée au jour 6 de la fermentation avec les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($16,59 \pm 0,57 \cdot 10^7$ UFC/g), suivi du support F4 ($10,68 \pm 0,32 \cdot 10^7$ UFC/g) à San-Pédro. Le support F3 a toutefois enregistré la plus faible population ($7,31 \pm 0,45 \cdot 10^7$ UFC/g) au dernier jour de la fermentation.

À Daloa, la population la plus élevée a également été enregistrée sur le support témoin F1 ($11 \pm 0,70 \cdot 10^7$ UFC/g) au jour 6 de la fermentation, légèrement supérieure à la croissance maximale observée sur le support F6 ($9,68 \pm 1,48 \cdot 10^7$ UFC/g). La plus faible population a toujours été observée sur les fèves fermentées sur le support F3 ($1,92 \pm 0,12 \cdot 10^7$ UFC/g), soit cinq fois inférieure à celle du support témoin F1.

Dans la zone de Soubré, avec la variété *Mercedes*, la population des *Bacillus* était plus faible, variant de 0 à $2,59 \cdot 10^7$ UFC/g. La croissance maximale a été atteinte au jour 4 avec les fèves fermentées sur les supports témoins F1 ($2,59 \pm 0,32 \cdot 10^7$ UFC/g) et F2 ($2,50 \pm 0,38 \cdot 10^7$ UFC/g), environ deux fois supérieure à la plus faible population observée sur les fèves fermentées sur le support F5 ($1,59 \pm 0,77 \cdot 10^7$ UFC/g) au même jour 4. La plus faible population a été enregistrée sur les fèves fermentées sur le support F5 ($0,27 \pm 0,00 \cdot 10^7$ UFC/g).

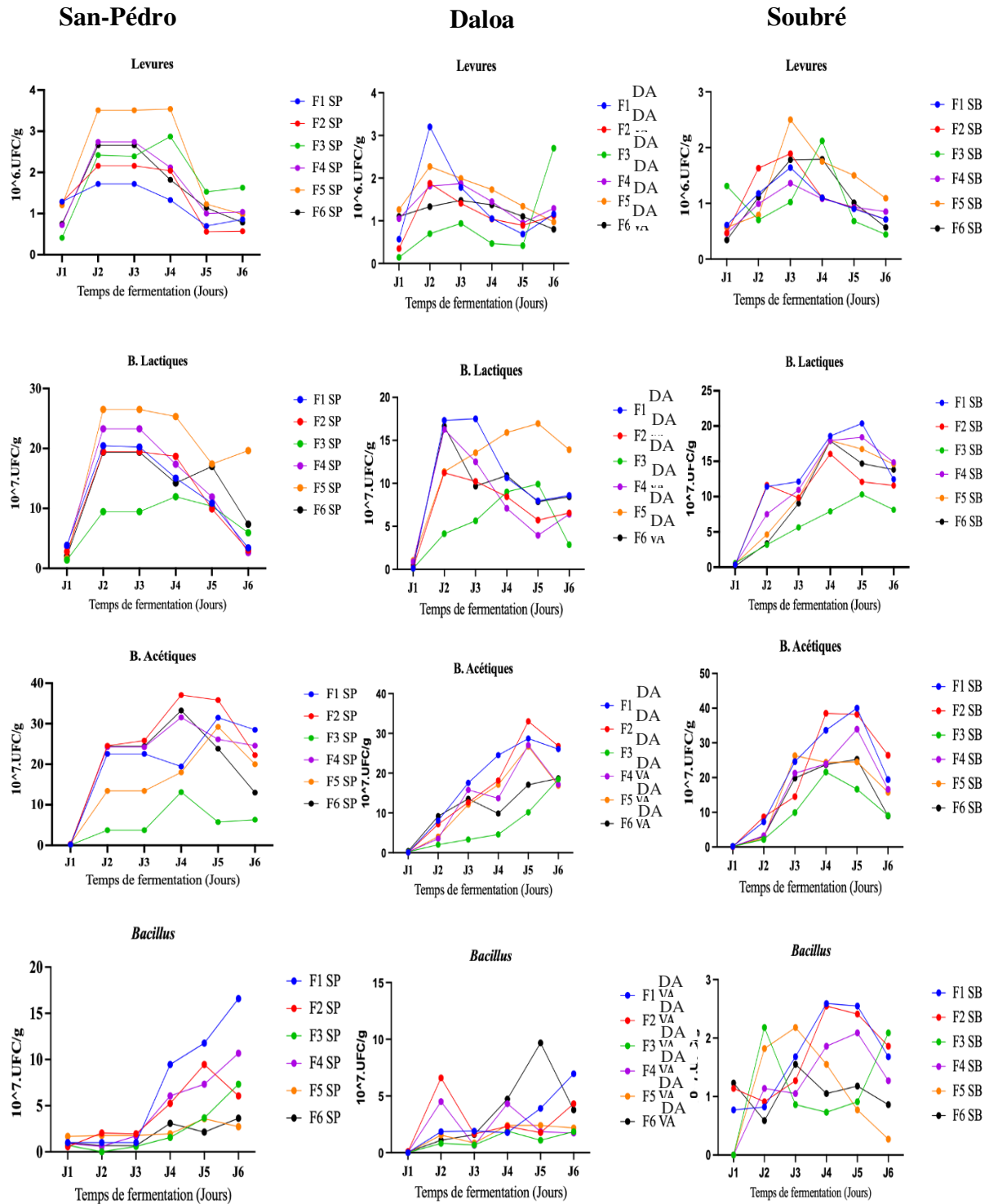


Figure 45: Évolution de la flore microbienne au cours de la fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier San-Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; J1 : Jour 1 ; J2 : Jour 2 ; J3 : Jour 3 ; J4 : Jour 4 ; J5 : Jour 5 ; J6 : Jour 6

1.3. Temps de croissance maximal des différents microorganismes cibles

Pour une meilleure visibilité, les différents pics atteints par ces microorganismes au cours de la fermentation dans chaque support de fermentation ont été répertoriés dans le Tableau XVIII. Il ressort que les levures et les bactéries lactiques ont été présentes au début des fermentations et elle s'est ensuite augmentée jusqu'à des populations maximales selon le support de fermentation et de la zone d'étude. Quant aux bactéries acétiques et *Bacillus* leurs croissances se sont révélées majoritaire les derniers jours de la fermentation dans l'ensemble. Toutefois, les cabosses de cacao ont été les seuls supports où la croissance des levures et bactéries a atteint son maximum avec un retard en comparaison aux taux de croissance sur les autres supports.

Tableau XVIII: Pic de croissance des différents microorganismes cible

Zone d'étude	Support	Levure et moisissure		Bactérie Lactique (LAB)		Bactérie (AAB)		Acétique		<i>Bacillus</i>	
		T. E	Taille (UFC/g de pulpe)	T. E	Taille (UFC/g de pulpe)	T. E	Taille (UFC/g de pulpe)	T. E	Taille (UFC/g de pulpe)	T. E	Taille (UFC/g de pulpe)
San-Pédro	F1	J2	1,72.10 ⁶	J2	20,45.10 ⁷	J5	31,50.10 ⁷	J6	16,59.10 ⁷		
	F2	J2	2,16.10 ⁶	J2	19,45.10 ⁷	J4	37,09.10 ⁷	J5	09,45.10 ⁷		
	F3	J4	2,87.10 ⁶	J4	11,95.10 ⁷	J4	13,13.10 ⁷	J6	07,36.10 ⁷		
	F4	J2	2,74.10 ⁶	J3	23,27.10 ⁷	J4	31,54.10 ⁷	J5	10,68.10 ⁷		
	F5	J3	3,54.10 ⁶	J3	26,49.10 ⁷	J5	29,22.10 ⁷	J5	03,59.10 ⁷		
	F6	J2	2,66.10 ⁶	J2	19,36.10 ⁷	J4	33,27.10 ⁷	J6	03,64.10 ⁷		
Soubré	F1	J3	1,64.10 ⁶	J5	20,36.10 ⁷	J5	40,00.10 ⁷	J4	02,59.10 ⁷		
	F2	J3	1,89.10 ⁶	J4	16,05.10 ⁷	J4	38,50.10 ⁷	J4	02,55.10 ⁷		
	F3	J4	2,12.10 ⁶	J5	10,32.10 ⁷	J6	21,59.10 ⁷	J2	02,18.10 ⁷		
	F4	J3	1,36.10 ⁶	J5	18,41.10 ⁷	J5	33,95.10 ⁷	J5	02,09.10 ⁷		
	F5	J3	2,50.10 ⁶	J4	17,95.10 ⁷	J3	26,31.10 ⁷	J3	02,18.10 ⁷		
	F6	J3	1,78.10 ⁶	J4	17,90.10 ⁷	J5	25,27.10 ⁷	J3	01,59.10 ⁷		
Daloa	F1	J2	3,20.10 ⁶	J3	17,50.10 ⁷	J5	28,68.10 ⁷	J6	06,54.10 ⁷		
	F2	J2	1,88.10 ⁶	J2	11,22.10 ⁷	J5	33,00.10 ⁷	J2	06,59.10 ⁷		
	F3	J6	2,70.10 ⁶	J5	09,90.10 ⁷	J6	18,45.10 ⁷	J4	01,90.10 ⁷		
	F4	J3	1,87.10 ⁶	J2	16,27.10 ⁷	J5	27,04.10 ⁷	J2	04,31.10 ⁷		
	F5	J3	1,99.10 ⁶	J5	16,95.10 ⁷	J5	26,68.10 ⁷	J4	02,40.10 ⁷		
	F6	J3	1,48.10 ⁶	J2	16,63.10 ⁷	J6	18,68.10 ⁷	J5	09,68.10 ⁷		

F1: Feuille de bananier; F2 : Feuille de palmier; F3: Cabosse de cacao; F4: Bâche en polypropylène ; F5: Sac en polypropylène; F6: Sac en jute San

1.4. Variation de la concentration des sucres réducteurs et des acides organiques au cours de la fermentation

1.4.1. Variation de la concentration des sucres réducteurs au cours de la fermentation

La composition en sucres réducteurs et acides organiques analysée par HPLC est illustrée par la Figure 46. Les résultats ont révélé que la concentration des sucres réducteurs

(Fructose et glucose) a augmenté les premiers jours de la fermentation avant de baisser à la fin de la fermentation avec tous les échantillons analysés. Toutefois, la concentration du fructose était plus élevée que celle du glucose.

La concentration en glucose variait selon le support de fermentation, la zone d'étude et la variété analysée. Pour la variété *Forastero*, la concentration en glucose oscillait entre 1,47 et 5,75 mg/g à Daloa, et entre 1,02 et 3,92 mg/g à San-Pédro. La valeur maximale pour la variété *Forastero* a été observée au jour 1 de la fermentation avec les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($5,75 \pm 0,05$ mg/g) et le support F6 ($5,00 \pm 0,20$ mg/g) à Daloa. À San-Pédro, les fèves fermentées sur le support F6 ($3,90 \pm 0,07$ mg/g) ainsi que sur le support témoin F1 ($3,16 \pm 0,04$ mg/g) au jour 3 de la fermentation ont également montré des concentrations élevées en glucose, tout comme celles sur le support F3 ($3,92 \pm 0,05$ mg/g).

Dans la zone de Soubré, pour la variété *Mercedes*, la concentration de glucose a été faible sur tous les supports de fermentation, variante entre 0,05 et 0,59 mg/g. Cette concentration était environ dix fois inférieure à celle mentionnée à Daloa et six fois à celle de San-Pédro. Les concentrations les plus élevées de glucose ont été observées avec les fèves fermentées sur le support F5 ($0,59 \pm 0,07$ mg/g) au jour 1 de la fermentation. Ces valeurs étaient cinq fois supérieures à celles du support témoin F1 ($0,12 \pm 0,02$ mg/g) au même jour.

La concentration en fructose pour la variété *Forastero* a varié de 1,46 à 4,86 mg/g dans la zone de San-Pédro, tandis qu'elle oscillait entre 1,41 et 7,12 mg/g à Daloa. Les valeurs les plus élevées ont été observées sur les supports témoins F1 ($5,93 \pm 0,32$ mg/g) et le support F6 ($5,92 \pm 0,08$ mg/g) au jour 2 de la fermentation à Daloa. Les fèves fermentées sur le support F3 ($7,12 \pm 0,03$ mg/g) ont enregistré la concentration la plus élevée, mais au dernier jour de la fermentation. Toutefois, des concentrations similaires ont été observées à San-Pédro, sur les mêmes supports qu'à Daloa. Notamment, les fèves en fermentation sur le support F6 ($4,63 \pm 0,04$ mg/g) au jour 2, le support F3 ($4,86 \pm 0,03$ mg/g) au jour 1 de la fermentation et le support témoin F1 ($4,01 \pm 0,14$ mg/g) au jour 3 de la fermentation.

Dans la zone de Soubré, la concentration en fructose varie entre 0 et 1,65 mg/g. Les fèves en fermentation dans les supports F3 ($1,46 \pm 0,05$ mg/g), F6 ($1,19 \pm 0,06$ mg/g) et le témoin F1 ($1,65 \pm 0,08$ mg/g) ont enregistré les plus grandes concentrations en fructose.

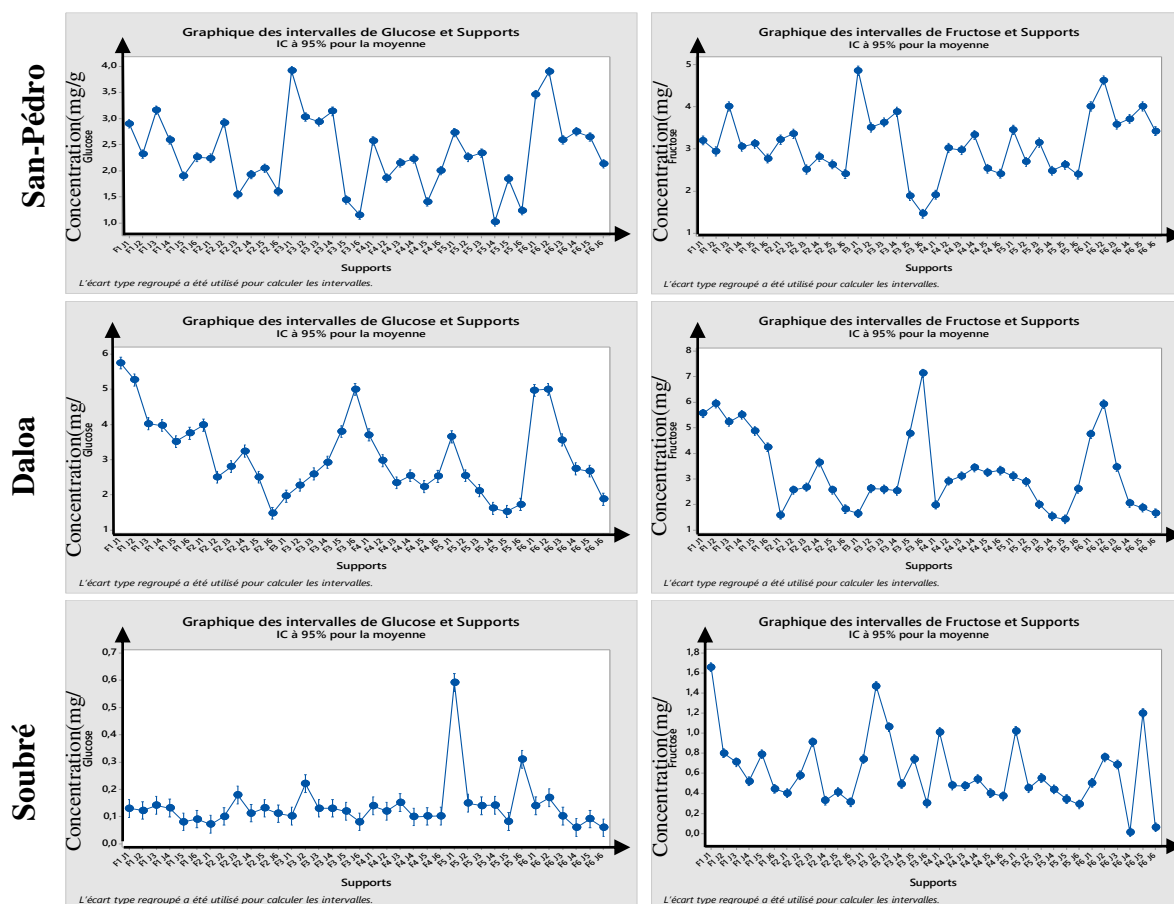


Figure 46: Variation de la concentration en sucre réducteur au cours de la fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier San-Pédro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâches-en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute ; J1 : Jour 1 ; J2 : Jour 2 ; J3 : Jour 3 ; J4 : Jour 4 ; J5 : Jour 5 ; J6 : Jour 6.

1.4.2. Variation de la concentration des acides organiques au cours de la fermentation

L'évaluation exhaustive des fèves issues de chaque support de fermentation, basée sur les acides organiques identifiés dans l'ensemble des trois zones d'étude : l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide oxalique et l'acide succinique a été conduite via une classification hiérarchique agglomérative conjointe à une carte thermique et représenté par la Figure 47 (du bleu représentant la plus faible valeur au rouge représentant la valeur la plus élevée). Les résultats obtenus révèlent qu'avec les fèves de variété *Forastero* dans les zones de San-Pédro et Daloa, les principaux acides organiques majoritaires étaient l'acide citrique, l'acide lactique et l'acide acétique. Alors que celle de la variété *Mercédès* dans la zone de Soubré, était l'acide oxalique, l'acide succinique, l'acide acétique et l'acide lactique.

La concentration en acide citrique a montré une diminution progressive de 15,44 à 1,08 mg/g à San-Pédro et de 10,06 à 1,08 mg/g à Daloa. Initialement, l'acide citrique était plus concentré avec les fèves fermentées sur les supports F4 ($15,44 \pm 0,04$ mg/g) au jour 1 et le support F3 ($13,62 \pm 0,04$ mg/g), comparé à $9,76 \pm 0,03$ mg/g sur le support témoin (F1). La diminution a été plus marquée avec les fèves fermentées sur le support F3 ($1,98 \pm 0,02$ mg/g) au jour 6 de la fermentation, contre $5,12 \pm 0,04$ mg/g pour le support témoin au même jour (Figure 47). À Daloa, initialement les concentrations en acide citrique des fèves en fermentation sur les supports témoins F1 ($10,06 \pm 0,06$ mg/g), F5 ($8,50 \pm 0,40$ mg/g), F3 ($8,40 \pm 0,30$ mg/g), et F6 ($8,03 \pm 0,04$ mg/g) étaient plus élevées au jour 1. Cependant, la baisse de concentration a été avec les fèves fermentées sur les supports F6 ($1,08 \pm 0,02$ mg/g) au jour 6.

La concentration en acide lactique et acide acétique a progressivement évolué de manière similaire sur l'ensemble des supports de fermentation pour la variété *Forastero*. Sa concentration variait entre 0,31 et 12,28 mg/g, supérieure aux résultats observés à San-Pédro, où elle oscillait entre 0,25 et 4,16 mg/g. La valeur maximale de concentration en acide lactique a été observée avec les fèves en fermentation sur le support F5 ($4,16 \pm 0,03$ mg/g) au jour 3, légèrement supérieure à celle du support témoin F1 ($3,71 \pm 0,03$ mg/g) à San-Pédro.

La concentration en acide acétique variait entre 0,32 et 5,12 mg/g à San-Pédro, tandis qu'elle oscillait entre 1,17 et 5,27 mg/g à Daloa. Les concentrations les plus élevées ont été observées avec les fèves en fermentation sur le support F4 ($5,12 \pm 0,12$ mg/g) au jour 4 et sur le support F2 ($5,01 \pm 0,01$ mg/g). Les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($5,27 \pm 0,03$ mg/g) ainsi que sur le support F6 ($5,00 \pm 0,30$ mg/g) au jour 2 de la fermentation présentaient les concentrations les plus élevées en acide acétique.

Dans la zone de Soubré, les premiers jours de fermentation ont été marqués par une concentration prédominante en acide succinique, dont la concentration est passée de 4,17 à 0,38 mg/g. Les fèves en fermentation sur le support F4 ($4,17 \pm 0,03$ mg/g) au jour 2 présentaient une concentration plus élevée que celle observée sur le support témoin F1 ($2,57 \pm 0,04$ mg/g) au jour 2 également. Ensuite, la concentration en acide oxalique a montré une diminution significative avec des valeurs comprises entre 0,02 et 4 mg/g. La concentration la plus élevée a été observée dans les fèves fermentées sur le support F5 ($10,27 \pm 0,03$ mg/g) au jour 3 de la fermentation, soit environ trois fois supérieure à celle du support témoin F1 ($1,42 \pm 0,01$ mg/g) obtenue au jour 4 de la fermentation.

La concentration en acide lactique a été comprise entre 0,40 et 3,27 mg/g, avec une dominance sur les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($3,27 \pm 0,03$ mg/g) au jour 2,

suivie du support F4 ($2,26 \pm 0,02$ mg/g) au jour 1 de la fermentation. Quant à la concentration en acide acétique, elle variait entre 0,47 et 3,62 mg/g. Les fèves en fermentation sur le support F6 ($3,62 \pm 0,02$ mg/g) au jour 5 ainsi que sur le support témoin F1 ($3,13 \pm 0,03$ mg/g) au jour 2 ont montré les concentrations les plus élevées.

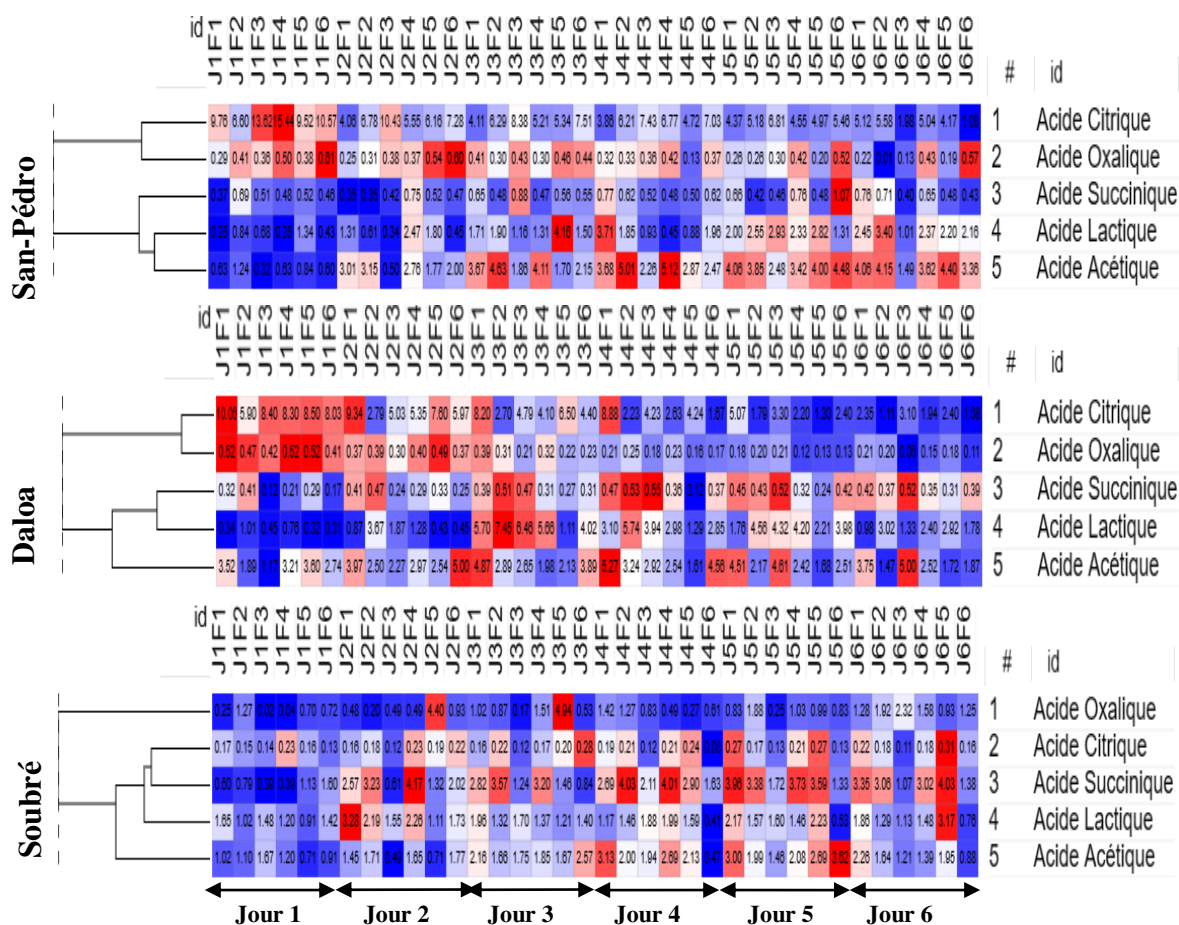


Figure 47: Évolution des acides organiques au cours de la fermentation

F1 : Feuille de bananier; F2: Feuille de palmier; F3: Cabosse de cacao; F4 : Bâche en polypropylène; F5: Sac en polypropylène; F6 : Sac en jute; DA : Daloa ; SB : Soubré ; J1 : Jour 1 ; J2 : Jour 2 ; J3 : Jour 3 ; J4 : Jour 4 ; J5 : Jour 5 ; J6 : Jour 6 ; Du bleu représentant la plus faible valeur au rouge représentant la valeur la plus élevée.

2. DISCUSSION

Le pH représente un indicateur adéquat pour évaluer le niveau global d'acidité dans les processus de fermentation et la diffusion de l'acide dans les fèves marquant le début du processus de fermentation interne. Au cours du processus de fermentation, la température a augmenté de 25 à 50 °C sur l'ensemble des supports dans les trois zones étudiées, à l'exception des cabosses dont la température de fermentation était inférieure à 40 °C tout au long du processus. En effet, les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) ont maintenu un pH plus acide, oscillant entre 2 et 4. Cette tendance s'est observée tout au long des six jours de la fermentation. Cette variation du pH serait liée à l'activité des levures et des bactéries lactiques plus lente comparée aux autres supports analysés quelle que soit la zone d'étude. Cette observation pourrait s'expliquer par l'espacement entre les cabosses, favorisant un environnement plus aéré, ainsi que par le faible nombre de fèves (40 fèves) à l'intérieur de chaque cabosse fermentée. Ce nombre restreint de fèves pourrait être insuffisant pour induire une activité microbienne significative, limitante ainsi l'augmentation de la température au cours du processus de fermentation.

Ardhana & Fleet (2003) ont à ce titre démontré que la condition de température (40 °C) et de pH (4) caractérise la phase alcoolique propice à l'épanouissement des processus microbiens liés aux réactions biochimiques au cours de la fermentation. Mais, selon De Vuyst & Weckx (2015), les fèves considérées comme bien fermentées sont celles dont la température maximale de fermentation se situe entre 45 et 50 °C.

Le temps et la température jouent un rôle important dans le métabolisme de la levure et donc dans la production de composés d'arômes (Langraf, 2002). Dans l'ensemble des trois zones d'étude, les supports F2, F4, F5 et F6 ont montré une température maximale dépassant les 45 °C, comparable à celle observée sur le support témoin F1 sur les six jours de fermentation. Notamment, la fermentation sur les feuilles de palmier (F2) et sur les feuilles de bananier (F1) a généré une température de fermentation particulièrement élevée dans les trois zones, atteignant une valeur maximale comprise entre 48 et 50 °C. Cette augmentation de température sur les supports F1 et F2 dans toutes les zones d'étude pourrait être attribuée aux caractéristiques biologiques de ces supports, favorisant ainsi une activité microbienne plus intense pour assurer une fermentation optimale. En effet, selon Ho *et al.* (2014c), la production d'éthanol et d'acide citrique par la levure, ainsi que l'oxydation de l'éthanol en acide acétique par les bactéries acétiques, sont souvent accompagnées d'une élévation de température au cours de la fermentation.

Des études ont également montré que, lors de la fermentation aérobie, l'éthanol et l'acide acétique diffusent dans les fèves et déclenchent une réaction exothermique, entraînant une élévation de la température. Cette augmentation thermique peut, selon certains auteurs, provoquer la mort de l'embryon de la graine (Sandhya *et al.*, 2016).

De même, le pH mesuré dans ces supports (F2, F4, F5 et F6) dans les trois zones d'étude a également affiché des valeurs comprises entre 2 et 6, similaires à celles du support témoin F1. Nos résultats concordent avec ceux de Vanderschueren *et al.* (2020), qui ont rapporté un pH final de fermentation compris entre 5,2 et 6. Ces différentes observations de la variation du pH et la température ont motivé à l'évaluation de croissances microbienne par un dénombrement de la flore microbienne (levures et bactéries) de fermentation qui représente, en effet, une étape essentielle du procédé post-récolte.

Pour identifier les supports favorisant des conditions optimales de croissance microbienne en fonction de la variété et de la zone de production, une approche analytique a été utilisée. La microflore de fermentation isolée au cours de notre étude comprenait des levures, des bactéries lactiques, des bactéries acétiques et des bactéries du genre *Bacillus*, ce qui concorde avec les résultats rapportés dans plusieurs études antérieures (Thompson *et al.* 2012. Bankoff *et al.*, 2013a;). Nos résultats ont mis en évidence une corrélation entre la croissance microbienne, le temps de fermentation, le support utilisé, la variété de cacao et la zone d'étude.

Dans toutes les zones d'étude, la croissance des levures était similaire sur les différents supports dès les premiers jours de fermentation, culminant entre le deuxième et le quatrième jour. Cette croissance était accompagnée d'une légère augmentation de la température, variante de 25 à 40 °C. Cette observation concorde avec les travaux de Schwan & Wheals (2004b), qui indiquent que les levures, responsables de la fermentation alcoolique, émergent entre 18 et 24 heures après le début de la fermentation. Les supports F2 et F5 ont montré une croissance des levures généralement supérieure à celle observée sur le support témoin F1 dans l'ensemble des trois zones d'étude.

Pour la variété *Forastero*, la croissance maximale des levures a été enregistrée un jour après le début de la fermentation, avec les fèves fermentées sur le support F2 ($5,28 \pm 0,05 \cdot 10^6$ UFC/g), et sont environ cinq fois la valeur obtenue sur le support témoin F1 ($1,71 \pm 0,03 \cdot 10^6$ UFC/g) au jour 2 de la fermentation. La croissance des levures a également atteint son maximum sur le support F5 ($3,51 \pm 0,14 \cdot 10^6$ UFC/g) au jour 3 à San-Pédro.

Dans la zone de Daloa, le support F2 a montré une croissance maximale ($3,20 \pm 0,23 \cdot 10^6$ UFC/g), environ deux fois supérieure à celle du support témoin F1 ($1,18 \pm 0,00 \cdot 10^6$ UFC/g),

qui prédominait également au jour 2 de la fermentation. Les fèves fermentées sur les supports F5 ($2,5 \pm 0,12.10^6$ UFC/g) et F2 ($1,89 \pm 0,16.10^6$ UFC/g) ont enregistré la plus grande population de levures à trois jours de la fermentation pour la variété *Mercedes* à Soubré. Les résultats sont dans une certaine mesure différents de Sanchez *et al.* (1985) qui ont observé une population maximale de cellules de levure de 3.10^6 UFC/g lors de la fermentation en pots plastique des fèves de cacao en Côte d'Ivoire. En effet, les fèves contenues dans la cabosse sont stériles à l'origine et ne peuvent être colonisées que par des micro-organismes indigènes, issus des contaminants naturels intervenant au cours du processus de fermentation.

Les organismes contaminants proviennent de la surface externe de la cabosse, des mains des travailleurs, des instruments de découpe, ainsi que des paniers non lavés utilisés pour le transport des graines. Ils peuvent également être issus du mucilage séché présent sur les parois des récipients ayant servi à des fermentations antérieures, ainsi que de divers matériaux végétaux et de la végétation entrant en contact avec les grains. Jespersen *et al.* (2005) ont démontré que certaines espèces de levures associées aux fermentations des fèves de cacao au Ghana provenaient de la surface des gousses et des plateaux utilisés pour la fermentation.

Cependant, la plus grande population de levures observée dans les sacs en polypropylène pourrait s'expliquer par la structure et l'usage antérieur de ces sacs pour la fermentation. En effet, ces sacs en polypropylène, utilisés comme emballages pour des produits alimentaires tels que le riz, le sucre, la farine de blé et bien d'autres, sont généralement recouverts de sachets plastiques pour éviter l'humidité. De plus, ces sacs offrent une meilleure étanchéité, et les fèves à l'intérieur sont plus accolées les unes aux autres après avoir été scellées par le producteur, créant ainsi des conditions anaérobies favorables à la croissance des levures.

Quant à la variété *Mercedes*, la croissance maximale des levures observée sur les supports F5 et F2 confirme la prédominance de croissance des levures sur ces supports. La croissance observée sur les supports F1 et F2 pour les deux variétés pourrait être liée aux propriétés imperméables de ces supports dès le premier jour de fermentation, favorisant un environnement anaérobie facultatif propice à la croissance des levures. La croissance maximale obtenue sur ces supports de fermentation était nettement inférieure à celle observée par Bankoff *et al.* (2013), qui ont comparé trois supports de fermentation (feuilles de bananier, caisses en bois et bâches plastiques). Ils ont observé une population de levures atteignant des pics de 153.10^8 UFC/g et 144.10^7 UFC/g dans les caisses en bois et les bâches plastiques, respectivement, contre 9.10^7 UFC/g dans les fermenteurs utilisant des feuilles de bananier.

La faible population de levures observée pourrait s'expliquer par l'utilisation de la cabosse de cacao elle-même comme support de fermentation. Le retard observé dans la cinétique de croissance des levures sur les cabosses de cacao dans les trois zones d'étude pourrait également s'expliquer par la faible teneur en sucres du mucilage entourant les fèves, ce dernier constituant un facteur essentiel à la croissance des levures. Les fèves à l'intérieur de la cabosse sont initialement stériles et ne peuvent être contaminées que par des micro-organismes endogènes provenant de contaminants naturels associés au processus de fermentation.

La croissance des bactéries lactiques était positivement corrélée à celle des levures, ces deux micro-organismes évoluant parfois simultanément dans un intervalle de température compris entre 26 et 35 °C. Cela se produisait dans un environnement de pH très acide des fèves en fermentation, particulièrement entre les jours 2 et 4 jours. Schwan & Wheals (2004) et De Vuyst & Weckx (2016a, b) ont montré dans leur étude que les levures et les bactéries lactiques se développent simultanément pendant environ 24 et 36 heures de fermentation au cours de la phase anaérobie du processus de fermentation du cacao. Selon ces auteurs, cette phase démarre à une température ambiante d'environ 25 à 30 °C dans les conditions riches en glucide et acides. Leur croissance maximale a été révélée à la suite de celle de la population levitique et plus accrue sur les supports F5, F4, F6 et dans certaines conditions supérieures au support témoin témoins F1. Dans la zone de San-Pédro le support F5 ($26,49 \pm 0,57.10^7$ UFC/g) et F4 ($23,27 \pm 2,31.10^7$ UFC/g) au jour 3 de la fermentation ont montré une croissance plus accrue comparée à la valeur maximale obtenue sur le support témoin F1 ($20,45 \pm 0,12.10^7$ UFC/g). De même, dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, le support F5 ($22,95 \pm 1,61.10^7$ UFC/g) a présenté la plus grande population, légèrement supérieure au support témoin F1 ($20,36 \pm 1,80.10^7$ UFC/g). Sauf dans la zone de Daloa où la croissance maximale a été plutôt observée au troisième jour sur le support témoin F1 ($17,50 \pm 0,64.10^7$ UFC/g).

Cependant, la valeur observée était plus proche de celles des supports F6 ($16,63 \pm 0,25.10^7$ UFC/g) et F4 ($16,27 \pm 0,77.10^7$ UFC/g) au jour 2 de la fermentation et sur le support F5 ($16,95 \pm 0,25.10^7$ UFC/g) un peu plus tard au jour 5. Toutefois, nos résultats sont proches de ceux obtenus par Bankoff *et al.* (2013a) sur la feuille de bananier (pic de 153.10^7 UFC/g). La différence observée entre les différents supports de fermentations s'expliquerait par la différence de configuration des supports (forme, taille, étanchéité, profondeur) et aux fèves retirées des cabosses et attensées sur les supports F1 (feuilles de bananier) et F5 (sacs en polypropylène), F4 (bâche en polypropylène) et F6 (sac en jute) qui fermentent un ciment et

empêchent donc l'entrée de l'air et créent un environnement anaérobie préférentiel à la croissance de ces bactéries lactiques. En effet, tout comme les levures, les bactéries lactiques sont des microorganismes qui se développent plus en absence d'oxygène et donc ne peuvent croître que dans les conditions anaérobies.

La faible population observée sur les différents supports de fermentation dans la zone de Soubré pourrait être due à une modification de la composition en sucres du mucilage des fèves fraîches, induite par l'hybridation de la variété *Mercedes*. Cette modification pourrait affecter la disponibilité des substrats nécessaires à la croissance microbienne pendant la fermentation. Ces résultats confirment les observations faites par Koffi *et al.* (2013) qui ont évalué la microflore de fermentation sur les supports en bâche plastique, caisse en bois et feuille de bananier. En revanche, le niveau de croissance observé sur les cabosses de cacao était initialement plus bas que celui observé sur les feuilles de bananier, mais il s'est avéré plus élevé au dernier jour de la fermentation. Cela pourrait être lié à l'activité tardive des levures à convertir les sucres en éthanol vu les conditions anaérobies insuffisantes dans les cabosses de cacao pour être utilisées par les bactéries pour la suite de leurs activités.

Par ailleurs, la croissance des bactéries acétiques variait de $13,13$ à 40.10^7 UFC/g. Le support F2 a montré une cinétique de croissance plus rapide pour la variété *Forastero*. En effet, le support F2 à San-Pédro et Daloa ont été enregistrés respectivement $37,09.10^7$ UFC/g et $33,07.10^7$ UFC/g. Dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, c'était plutôt le support témoin F1 (40.10^7 UFC/g) qui avait enregistré la plus grande croissance de bactérie acétique. Cette grande croissance serait liée à l'activité précédant des levures et bactérie lactique sur ces supports. Dans leurs actions, les bactéries acétiques, oxydent l'éthanol produit par les levures en acide acétique après le brassage par suite de la destruction du mucilage autour de la graine par les levures et les bactéries lactiques. Ce qui pourrait le plus créer l'entrée d'air en plus du brassage dans la masse des fèves au cours de la fermentation et favoriser la croissance des bactéries acétiques. Ardhana & Fleet (2003) ont également rapporté que les bactéries acétiques prospèrent plus sur les conditions aérobies.

La population maximale de bactéries acétiques enregistrées dans les supports F1 et F2 pour les deux variétés dans toutes les zones d'études serait également liée à l'augmentation rapide de la température au cours de la fermentation sur ces supports de fermentation. De plus, nos résultats sont comparables à ceux d'Ardhana & Fleet (2003) qui ont obtenu au cours de leurs études une population de bactéries acétique comprise entre $10^6 - 10^9$ UFC/g avec les sacs en polypropylène et sac en jute en Indonésie.

Le développement des *Bacillus* s'est avéré plus prononcé durant les derniers jours de la fermentation telle que rapporté par la littérature (Lima *et al.*, 2011; Hompson *et al.*, 2012). La croissance des *Bacillus* variait entre $1,59.10^7$ et $16,59.10^7$ UFC/g. Cette croissance était plus élevée sur le support témoin F1 ($16,59.10^7$ UFC/g) à San-Pédro constituant environ deux fois la population maximale dénombrée sur le support F6 ($9,68.10^7$ UFC/g) à Daloa pour les fèves de variétés *Forastero*. La croissance maximale avec la variété *Mercedes* dans la zone de Soubré a été également observée sur les supports F1, mais avec une population plus faible que celle de la variété *Forastero* avec $2,59.10^7$ UFC/g.

La croissance des *Bacillus* et des bactéries acétiques sur les supports F1, était corrélée positivement à une élévation de température de 45 à 50 °C et de pH de 4 et 6 sur ces supports avant de diminuer les derniers jours après le deuxième brassage. Cette observation pourrait s'expliquer par la capacité aux *Bacillus* de résister à un niveau de température au cours de la fermentation. Selon Schwan *et al* (1986), les *Bacillus* tolèrent les températures plus élevées et leurs actions symbiotiques avec les bactéries acétiques entraîne la mort de l'embryon de la graine et empêche la germination des fèves. Yao *et al.* (2014) ont également démontré que la croissance de *Bacillus* est favorable à la production des acides organiques et d'arôme tels que les pyrazines et le 2,3-butanediol qui impactent la qualité du chocolat produit.

Les résultats ont révélé que la concentration des sucres réducteurs (Fructose et glucose) a augmenté les premiers jours de la fermentation avant de baisser à la fin de la fermentation tel que rapporté par Hirko *et al.* (2023). Toutefois, la concentration du fructose était plus élevée que celle du glucose. Une augmentation des concentrations des sucres réducteurs (fructose et glucose) a été observée et varie sur l'ensemble des trois zones d'étude. Cette augmentation pourrait s'expliquer par la réduction du saccharose contenu dans le mucilage des fèves en fructose et glucose sous l'action des levures. Selon Ho *et al.*, (2014) le saccharose des fèves de cacao a subi une hydrolyse complète pendant les fermentations, ce qui conduit à une augmentation progressive des concentrations de fructose et de glucose.

La valeur maximale du glucose pour la variété *Forastero* a été observée dans les fèves fermentées à un jour de la fermentation sur le support témoin F1 ($5,75 \pm 0,05$ mg/g), et F6 ($5,00 \pm 0,20$ mg/g) dans la zone de Daloa. Dans la zone de San-Pédro, la concentration maximale a été observée sur les fèves en fermentation sur les mêmes supports F6 ($3,90 \pm 0,07$ mg/g) et le support témoins F1 ($3,16 \pm 0,04$ mg/g) au jour 3 de la fermentation. Mais également sur le support F3 ($3,92 \pm 0,05$ mg/g). Cependant, dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, la concentration observée était plus faible que les valeurs observées sur la variété *Forastero*.

Toutefois, la concentration du glucose était plus élevée dans les fèves en fermentation sur le support F5 ($0,59 \pm 0,07$ mg/g) à un jour, soit deux fois le support F3 ($0,22 \pm 0,02$ mg/g) au jour 2 et 5 fois celle obtenue sur le support témoins F1 ($0,12 \pm 0,02$ mg/g). Les valeurs plus élevées en fructose ont été révélées sur F3 ($7,12 \pm 0,03$ mg/g) tandis que les supports témoins F1 ($5,93 \pm 0,32$ mg/g) et le support F6 ($5,92 \pm 0,08$ mg/g) était sensiblement plus proches dans la zone de Daloa. Cette observation été confirmée avec les analyses des fèves collectées dans la zone de San-Pédro avec le F6 ($4,63 \pm 0,04$ mg/g) au jour 2, le support F3 ($4,86 \pm 0,03$ mg/g) au jour 1 et le support témoin F1 ($4,01 \pm 0,14$ mg/g) au jour 3 de la fermentation.

La concentration plus basse en glucose observé pour la variété *Mercedes*, la concentration en fructose était également plus faible comparé à la variété *Forastero*. Le F1 ($1,65 \pm 0,08$ mg/g) au jour 1 ainsi que les supports F3 ($1,46 \pm 0,05$ mg/g) au jour 2. Les contractions maximales observées dans l'ensemble sur le support témoin F1 ainsi que sur les supports F3 et F6 est positivement corrélé à la croissance accrue des levures et bactéries lactiques sur ces mêmes supports. Toutefois, les plus grandes concentrations observées sur les supports F1 et F6 dans les premières heures pourraient être liées au plus l'activité significative des levures au cours de la fermentation dans ces supports.

Cependant, selon Crafacck *et al.* (2013) la différence de concentration en sucres réducteurs serait liée aux levures, possédant une activité pectinolytique élevée, permettant l'hydrolyse du mucilage entourant les fèves et induisant ainsi la liquéfaction de la pulpe. De plus, selon De Vuyst et Leroy (2020), les levures utilisent préférentiellement le glucose issu de la conversion du saccharose, fermentant ce substrat en pyruvate par glycolyse pour produire de l'ATP. Ce processus favorise une production accrue d'éthanol et de dioxyde de carbone (CO₂), assurant des conditions anaérobies en transformant les sucres disponibles (saccharose, glucose et/ou fructose) en éthanol avec libération de CO₂, dans un environnement acide et anaérobie.

De façon générale, en présence d'une solution acide, l'hydrolyse du saccharose conduit au sucre inverti constitué d'un mélange de D-glucose et de D-fructose. Von Wright & Axelsson (2019) ont montré que les bactéries lactiques, initialement présentes dans la pulpe de cacao, se développaient de manière anaérobie en consommant préférentiellement du fructose. Elles participent également à la conversion de l'acide citrique, jouant un rôle clé dans les transformations biochimiques au cours de la fermentation. Cependant, la plus grande concentration en fructose observée sur le support F3 s'expliquerait par la faible température de fermentation ($T < 40$ °C) durant tout le processus qui réduit l'activité microbiologique et favoriserait d'avantage la conversion du saccharose.

Les acides organiques jouent un rôle clé dans le développement du caractère du chocolat (De Vuyst & Weckx, 2015). Les acides organiques identifiés au cours de la fermentation étaient l'acide citrique, l'acide lactique et l'acide acétique dans la zone de San-Pédro et Daloa avec la variété *Forastero*. Le changement observé pour les acides oxaliques et acides succiniques n'était pas significatifs pour tous supports. Mais, la concentration élevée en acide citrique sur tous les supports au début de la fermentation s'expliquerait par la composition initiale du mucilage des fèves fraîches dans la cabosse riches en acide citrique (Lefeber *et al.*, 2010).

La concentration en acide citrique a été mesurée entre 1 et 10 mg/g dans la zone de Daloa, entre 1 et 15 mg/g dans la zone de San-Pédro, et à des niveaux très faibles dans la zone de Soubré pour la variété *Mercedes*, avec des valeurs comprises entre 0,11 et 0,38 mg/g. Toutefois, au cours du processus de fermentation, une diminution progressive de la concentration a été observée, les valeurs atteintes comprennent entre 1,08 et 15,44 mg/g à San-Pédro, et entre 1,08 et 10,06 mg/g à Daloa. Ces résultats sont proches à ceux de Ho *et al.* (2014) dans les fèves de cacao non fermentées, avec 13-14 mg/g d'acide citrique.

Dans l'ensemble, les fèves en fermentation sur les supports F3, F4 et F5 ont présenté des concentrations en acides citrique, lactique et acétique plus élevée tout comme le support témoins F1 pour la variété *Forastero*. En effet, les fèves fermentées sur le support F4 ($15,44 \pm 0,04$ mg/g) au jour 1 et le support F3 ($13,62 \pm 0,04$ mg/g) avait enregistré des concentrations initiales supérieures à celle obtenue sur le support témoins F1 ($9,76 \pm 0,03$ mg/g) au jour 1 de la fermentation dans la zone de San-Pédro. La concentration observée avec les fèves fermentées sur le support témoins F1 ($10,06 \pm 0,06$ mg/g) au jour 1 a plutôt enregistré une plus grande concentration légèrement supérieure à F5 ($8,50 \pm 0,40$ mg/g), F3 ($8,40 \pm 0,30$ mg/g) et F6 ($8,03 \pm 0,04$ mg/g) également au jour 1 de la fermentation. La conversion a été plus abondante avec les fèves fermentées sur les F6 (1,08 mg/g), F4 (1,94 mg/g) et F2 (1,11 mg/g) à la fin de la fermentation. La plus grande conversion observée dans ces supports au cours de la fermentation est en accord avec la croissance microbienne observée sur ces mêmes supports avec l'augmentation de la température et du pH de fermentation. Nos résultats corroborent les travaux de Von Wright & Axelsson (2019), qui ont montré que la conversion de l'acide citrique présent dans la pulpe en acides lactique et acétique entraîne une augmentation du pH de 3 à 4.

Dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, ce sont plutôt l'acide oxalique, l'acide succinique, l'acide acétique et l'acide acétique qui ont montré une plus grande concentration contrairement à la concentration en acide citrique qui n'était pas significative. Cette observation est en adéquation avec les résultats de Hamdouche, (2015) qui a également observé au cours de

leurs travaux que l'acide oxalique était le plus présent durant toute la fermentation. En effet, la concentration de l'acide citrique observée sur tous les supports avec la variété *Mercedes* était comprise entre 0,37 à 2,47 mg/g contrairement à l'acide oxalique (0,39 à 4,03mg/g) et de l'acide succinique (0,04 à 10,27mg/g). Les fèves en fermentation sur le support F4 (4,17 mg/g) étaient plus dominant au jour 2 de la fermentation en acide oxalique alors que celles fermentées sur le support F5 (10,27 mg/g) étaient plus concentrées en acide succinique au jour 4 de fermentation.

La forte concentration en acide oxalique et en acide succinique enregistrée dans les fèves de la variété *Mercedes* dans la zone de Soubré pourrait être attribuée à des différences variétales. Ces variations reflétaient une modification de la composition du mucilage des graines de cette variété hybride (*Mercedes*). Cela se confirme d'ailleurs par la faible concentration de glucose variant entre 0,06 et 0,59 mg/g à Soubré contre 1 et 3 mg/g à San-Pédro et Daloa. Mais également du fructose (0,06 et 1,65 mg/g) contre 1 et 7 mg/g à San-Pédro et Daloa. Toutefois, les concentrations plus élevées observées sur les supports F4 et F5 seraient liées à leur structure commune (polypropylène) plus étanches et plus imperméable que les autres supports.

La concentration en acide lactique était nettement plus élevée à Daloa, variant entre 0,31 et 12,28 mg/g, préférentiellement aux valeurs enregistrées à San-Pédro, soit entre 0,25 et 4,16 mg/g pour les fèves de la variété *Forastero*. Dans la zone de Soubré, les fèves de variété *Mercedes* ont montré des concentrations variantes entre 0,40 et 3,27 mg/g, proches de celles observées à San-Pédro. La production de l'acide acétique au cours de la fermentation variait cependant avec des concentrations sensiblement égales à celles des fèves de variété *Forastero*. À San-Pédro, la concentration mesurée variait entre 0,32 et 5,12 mg/g, tandis qu'elle oscillait entre 1,17 et 5,27 mg/g dans la zone de Daloa. En revanche, les fèves de la variété *Mercedes* à Soubré présentaient une concentration plus faible, comprise entre 0,47 et 3,62 mg/g. Ces résultats s'expliqueraient par la plus grande activité des bactéries lactiques et acétiques au cours de la fermentation dans ces supports. Selon Ho *et al.* (2015) et Romanens *et al.* (2019) après la phase de levure dominante, se développent principalement des espèces de bactéries lactiques hétérofermentaire, qui convertissent les glucoses en acides lactiques, acides acétiques, éthanol, dioxyde de carbone et/ou mannitol.

La valeur maximale des acides lactiques a été enregistrée le 3^e jour de fermentation sur le support F5 ($4,16 \pm 0,03$ mg/g). Cette concentration était légèrement supérieure à celle enregistrée sur le support témoin F1 ($3,71 \pm 0,03$ mg/g) à San-Pédro. Quant à la zone de Daloa, la concentration en acide lactique a plus été produite avec les fèves en fermentation sur le support F4 ($12,28 \pm 0,20$ mg/g) au jour 4 largement supérieur comparé au support témoin F1

($7,44 \pm 0,11$ mg/g). Les fèves de variété *Mercedes* dans la zone de Soubré avaient une plus faible concentration en acide lactique. Mais les fèves en fermentation sur le support témoin F1 ($3,27 \pm 0,03$ mg/g) au jour 2 et de F4 ($2,26 \pm 0,02$ mg/g) au jour 1 de la fermentation avaient de meilleurs concentrations. Ces observations s'expliqueraient par la plus grande activité de bactéries lactiques sur ces supports au cours de la fermentation. La production d'acide acétique a été plus abondante sur les supports F4 ($5,12 \pm 0,12$ mg/g) au jour 4 et F2 ($5,01 \pm 0,01$ mg/g) dans la zone de San-Pédro. Elle a également été élevée sur les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($5,27 \pm 0,03$ mg/g) et F6 ($5,00 \pm 0,30$ mg/g) au jour 2 à Daloa.

Quant à la zone de Soubré avec les fèves de variété *Mercedes*, la plus grande concentration a été produite avec les fèves en fermentation sur le support F6 ($3,62 \pm 0,02$ mg/g) au jour 5 et le support témoin F1 ($3,13 \pm 0,03$ mg/g) au jour 2. Les productions plus abondantes de métabolites enregistrées sur les supports F4, F5 et le témoin F1 seraient liées à une activité accumulée des levures, des bactéries lactiques et des bactéries acétiques. Cette activité plus élevée serait liée à la quantité des fèves rassemblées dans la même masse contrairement aux autres supports. En effet, selon Pelicaen *et al.* 2019) les concentrations d'acides acétiques élevées sont produites en présence à la fois de levure et bactérie lactiques.

3. CONCLUSION PARTIELLE

À la fin de cette étude, il apparaît que les fèves de variété *Forastero* ont favorisé une croissance plus importante de la microflore de fermentation et une production accumulée de métabolites par rapport aux fèves de variété *Mercedes*. Pendant la fermentation, les fèves fermentées sur des feuilles de palmier, des bâches en polypropylène, des sacs en polypropylène et des sacs en jute ont atteint des températures supérieures à 45°C , optimales pour une fermentation efficace. Leur pH final, compris entre 2 et 6, était proche de celui du support témoin. Ces supports ont également produit davantage de sucres réducteurs (fructose, glucose) et d'acides organiques (citrique, lactique, acétique). Au début de la fermentation, la croissance des levures (10^6 UFC/g) et des bactéries lactiques (10^7 UFC/g) était élevée et similaire dans ces supports, tandis qu'à la fin, celle des bactéries acétiques (10^7 UFC/g) et des *Bacillus* (10^7 UFC/g) augmentent fortement. En revanche, les fèves fermentées dans les cabosses de cacao ont atteint des températures inférieures à 40°C et un pH acide (2 à 4). Elles ont également montré une croissance microbienne plus lente et une production réduite de métabolites comme les sucres réducteurs et les acides organiques.

CHAPITRE III : COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE ET VALEUR MARCHANDE DES FÈVES DE CACAO FERMENTÉES ET SÉCHÉES

Les fèves séchées sont l'ingrédient principal utilisé dans la fabrication de divers produits semi-finis tels que la liqueur de cacao, le beurre de cacao, le tourteau de cacao et la poudre de cacao. La qualité des fèves de cacao doit être contrôlée avant la vente du cacao. Cette opération est cruciale dans la mesure où elle peut considérablement influencer le prix final payé au producteur. À l'issue d'un suivi rigoureux des procédés de fermentation pour chaque support identifié, les fèves ont été séchées en couche mince à l'air libre, exposées à la lumière du soleil. Le séchage a été effectué sur une bâche en polypropylène, couramment utilisée pour l'entreposage des fèves dans les magasins des coopératives agricoles de cacao, en raison de l'absence de claies adaptées. À l'issue du processus de séchage, une évaluation des paramètres de qualité physico-chimique et nutritionnelle des fèves séchées a été réalisée pour une meilleure appréciation. L'objectif étant d'évaluer l'influence des nouveaux supports de fermentation et de déterminer le support de fermentation qui produirait des fèves de la meilleure qualité.

Pour une meilleure analyse, une codification a été utilisée pour un même support de fermentation dans les trois zones d'étude :

- **F1** pour les feuilles de bananier (Support Témoin),
- **F2** pour les feuilles de pamier,
- **F3** pour les cabosses de cacao,
- **F4** pour les bâches en polypropylène,
- **F5** pour sacs en polypropylène
- **F6** pour les sacs en jute

1. RÉSULTATS

1.1. Composition physico-chimique des fèves fermentées et séchées

Les différentes réactions cinétiques de température et de pH, qui ont conduit à la croissance des microorganismes essentiels à la fermentation et à la production de divers métabolites, ont induit des modifications externes et internes des fèves de cacao finales. Ces modifications se sont manifestées tant au niveau physique que chimique, influençant ainsi la valeur marchande des fèves de cacao finales.

1.1.1. Coloration de la coque des fèves de cacao fermentées et séchées

Dans l'ensemble, une différence a été observée sur la couleur de la coque des fèves juste après le séchage selon le support de fermentation utilisé (Figure 48). Les fèves fermentées sur les feuilles de bananier (F1), feuilles de palmier (F2), bâche en polypropylène (F4), sac en polypropylène (F5) et sac en jute (F6) ont des coques de couleurs brun foncé sensiblement identique. Quant aux fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3), elles ont montré des coques de couleurs brun clair.

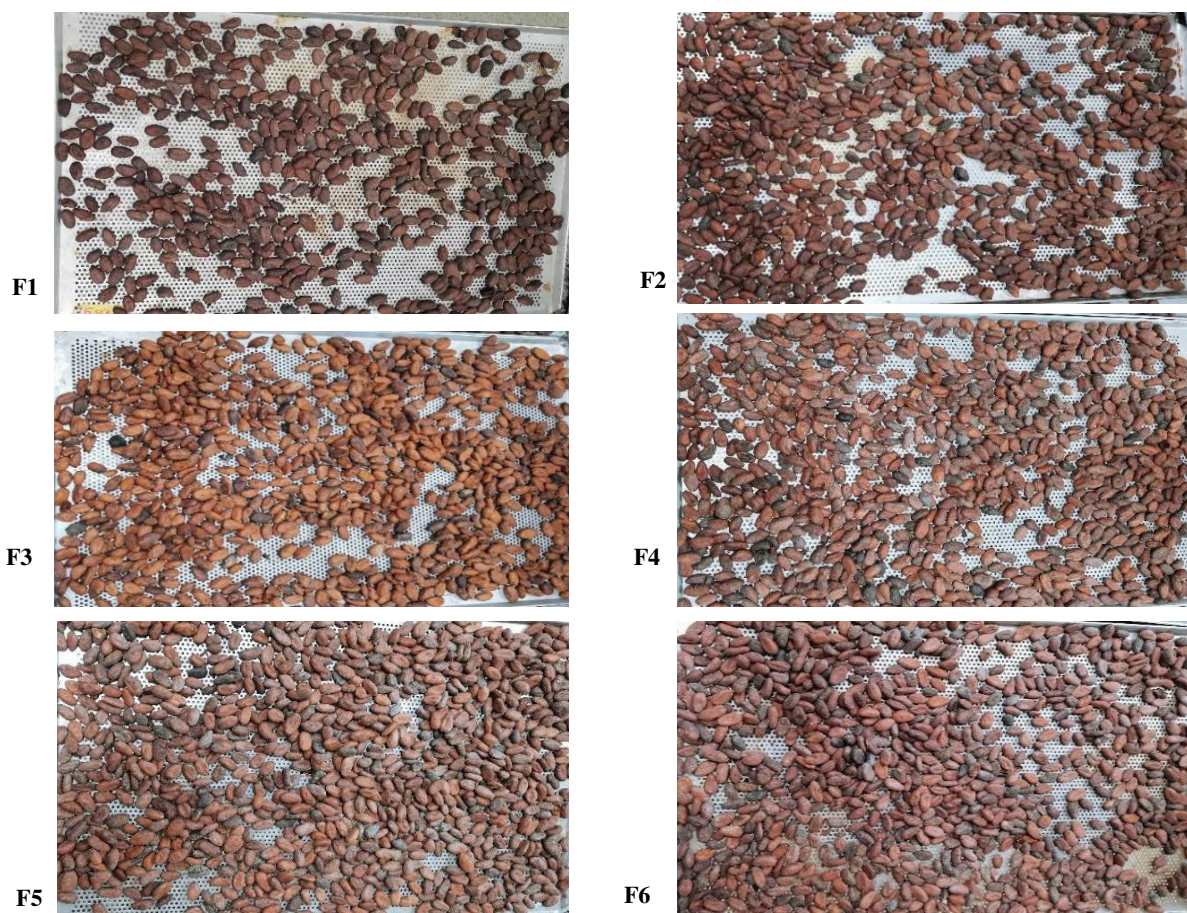


Figure 48: Coloration de la coque des fèves fermentées et séchées selon les supports

F1 : feuille de bananier; F2 : feuille de palmier; F3 : cabosse de cacao ; F4 : bâche en polypropylène; F5 : sac en polypropylène ; F6 : sac en jute

1.1.2. Potentiel d'hydrogène

Le pH des fèves séchées était compris entre 4 et 6 avec des différences significatives ($P < 0,05$) sur l'ensemble des supports de fermentation (Tableau XIX). La variété du cacao n'a pas d'influence significative sur le pH. Dans les trois zones d'étude et pour les deux variétés examinées, les fèves fermentées sur le support F3 ont enregistré des valeurs de pH largement

supérieures au seuil recommandé de 5,5. La moyenne de pH était de $6,26 \pm 0,04$ à San-Pédro, $6,36 \pm 0,0$ à Daloa et $6,23 \pm 0,04$ à Soubré. Toutefois, les analyses statistiques avec Dunnett ont montré qu'en comparaison avec celles du support témoin, les fèves fermentées sur les F2 ($5,16 \pm 0,00$) à San-Pédro et F2 ($5,09 \pm 0,01$) Soubré ainsi celles du support F4 ($5,42 \pm 0,02$) à Daloa a été plus proches sans différence caractéristiques ($P < 0,01$).

1.1.3. Teneur en eau

La teneur en eau des fèves analysées, présentait des valeurs aussi variables d'un support à l'autre d'une plage comprise entre 6,5 et 8,85 % avec des différences significatives ($P < 0,05$), (Tableau XIX). La variété n'a cependant eu d'impact significatif. Néanmoins, les fèves fermentées sur les supports F4 ($8,85 \pm 0,13$ %) et F5 ($8,76 \pm 0,20$ %) dans la zone de San-Pédro, F5 ($9,03 \pm 0,15$ %) et F6 ($8,23 \pm 0,3$ %) à Daloa, et les fèves fermentées sur le support F5 ($9,1 \pm 0,26$ %) à Soubré ont montré une teneur supérieure à 8 %.

Par ailleurs, le test de Dunnett a montré qu'aucune différence significative n'a été observée avec les fèves fermentées sur le support F6 ($7,6 \pm 0,17$ %) en comparaison avec celle du support témoin ($7,86 \pm 0,35$ %) pour les échantillons collectés à San-Pédro. De même, les fèves fermentées sur les supports F2 ($7,83 \pm 0,3$ %), F3 ($6,8 \pm 0,26$ %) et F4 ($7,86 \pm 0,11$ %) dans la zone de Daloa et celles des supports F2 ($7,11 \pm 0,81$ %), F4 ($7,83 \pm 0,66$ %) et F6 ($7,9 \pm 0,4$ %) à Soubré n'ont montré aucune différence significative en comparaison avec celles du support témoin F1.

1.1.4. Activité de l'eau

La variation de support de fermentation et de la variété de cacao n'a pas montré d'influence significative sur le produit final (Tableau XIX). En effet, dans l'ensemble, la teneur variait entre $0,43 \pm 0,00$ et $0,59 \pm 0,13$ sur l'ensemble des supports dans les trois zones d'étude, sans qu'aucune différence significative ne soit observée entre les deux variétés étudiées en comparaison avec les fèves fermentées sur le support témoin F1 selon le test de Dunnett. Toutefois, les valeurs les plus élevées ont été observées avec les fèves de cacao de variété *Mercedes* à Soubré plus spécifiquement sur les fèves fermentées sur les supports F2 ($0,56 \pm 0,10$), F4 ($0,59 \pm 0,13$) et témoins F1 ($0,52 \pm 0,07$).

1.1.5. Teneur en cendre

L'analyse de la teneur en cendres (minéraux totaux), a relevé une proportion située entre 2 % et 4 % sur l'ensemble des supports, avec des différences significatives ($P < 0,05$) (Tableau

XIX). Pour la variété *Forastero* étudiée dans les zones de San-Pédro et Daloa, la teneur en cendres variait de 2,22 à 3,23. Une prédominance a été observée avec les fèves fermentées sur le support F3 ($3,23 \pm 0,23$ %) sensiblement égale à celles du support F5 ($2,86 \pm 0,04$ %) et du support témoin F1 ($3,15 \pm 0,30$ %) à San-Pédro (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). Les fermentées sur le support F3 ($3,06 \pm 0,13$ %) à Daloa ont montré la plus grande teneur en cendre dans la zone de Daloa avec une différence significative en comparaison avec les fèves fermentées sur les supports F2, F4, F5 et le témoin F1. Relativement à la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, la teneur en cendre était comprise entre 2,45 et 2,84 % sans aucune différence significative (Dunnett; $\alpha = 0,05$).

1.1.6. Sucres totaux

La teneur en sucres totaux (Tableau XIX) était fonction du support de fermentation utilisé, mais également de la zone d'étude avec des différences significatives ($P < 0,05$). En effet, la concentration en sucres totaux des fèves de la variété *Forastero* dans la zone de San-Pédro variait entre 33,52 et 89,73 mg/100g, tandis que dans la zone de Daloa, elle variait entre 31,49 et 62,98 mg/100 g, avec des valeurs moins élevées.

Les fèves fermentées sur le support F5 ($89,73 \pm 0,00$ mg/100 g) présentaient une concentration en sucres totaux nettement supérieure par rapport à celles fermentées sur le support témoin F1 ($51,39 \pm 0,13$ mg/100g), selon le test de Dunnett dans la zone de San-Pédro. Dans la zone de Daloa, la plus grande concentration a été observée sur les fèves fermentées sur le support F4 ($62,98 \pm 0,50$ mg/100g).

Les résultats obtenus dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes* étaient similaires à ceux de la zone de Daloa, avec des concentrations comprises entre 31,10 et 52,59 mg/100g. Cependant, la plus grande concentration a été observée sur les fèves fermentées sur le support F3 ($52,59 \pm 0,11$ mg/100g), cette valeur étant significativement différente de celle des fèves issues du support témoin F1 ($41,40 \pm 0,00$ mg/100g).

1.1.7. Teneur en protéine

La teneur moyenne en protéines (Tableau XIX) analysée dans les fèves a manifesté une variabilité de 13 à 16 % dans les trois zones, révélant des différences significatives ($P < 0,05$).

Dans la zone de Daloa, les valeurs enregistrées variaient entre 13,77 % et 15,12 %, dépassant celles de la zone de San-Pédro. Là, tous les supports ont produit une teneur presque identique d'environ 14 % pour la même variété (*Forastero*), malgré la différence de support de

fermentation. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées avec les fèves fermentées sur le support F4 ($14,75 \pm 0,40$ %) à San-Pédro, sans différence significative par rapport à celles des supports F1 ($14,63 \pm 0,01$ %). Les fèves fermentées sur le support F3 ($16,85 \pm 0,17$ %) à Daloa ont montré la plus grande proportion, avec une différence significative par rapport à celles du support témoin F1 et également par rapport à celles des supports F2, F5, F6.

Les résultats obtenus avec les fèves de variété *Mercedes* dans la zone de Soubré ont montré une teneur en protéines sensiblement égale à celle obtenue avec la variété *Forastero*, oscillant entre $14,03 \pm 0,65$ % et $15,72 \pm 0,57$ %, démontrant une différence caractéristique (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). Les fèves fermentées sur le support F3 ($15,72 \pm 0,57$ %) ont enregistré la plus haute teneur en protéines, sans différence significative par rapport à celles des supports F2 ($14,29 \pm 1,37$ %), F4 ($14,75 \pm 0,45$ %), F6 ($14,57 \pm 0,29$ %) et du support témoin ($14,03 \pm 0,65$ %).

1.1.8. Teneur en glucide

La teneur en glucides (Tableau XIX) obtenue par calcul de différence a montré une variabilité de 28 % à 33 % dans les trois zones d'étude, révélant une différence significative ($P < 0,05$). La variété de cacao *Forastero* a présenté une variabilité de 23 % à 35 %. Les échantillons collectés dans la zone de San-Pédro n'ont pas montré de différence significative par rapport à ceux du support témoin F1 ($23,41 \pm 4,06$ %), selon le test de Dunnett ($\alpha = 0,05$), à l'exception de ceux issus du support F2 ($35,23 \pm 5,16$ %) qui ont montré une teneur plus élevée. En revanche, dans la zone de Daloa, la plus grande teneur a été obtenue avec les fèves fermentées sur le support F4 ($41,14 \pm 2,25$ %), sans différence significative par rapport à celles du support témoin F1 ($43 \pm 1,97$ %) selon le test de Dunnett. Pour les échantillons de variété *Mercedes* collectés dans la zone de Soubré, les résultats ont révélé qu'à l'exception des fèves fermentées sur le support F3 ($24,38 \pm 1,95$ %), les fèves fermentées sur les autres supports n'ont présenté aucune différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) par rapport à celles du support témoin ($28,71 \pm 1,52$ %).

1.1.9. Teneur en beurre de cacao

La teneur en lipide (beurre de cacao) de cacao pour la variété *Forastero* observée dans les zones de San-Pédro et Daloa, oscillait entre 42,4 %, et 58,7 % (Tableau XIX) avec des différences significatives ($P > 0,05$). Néanmoins, la valeur maximale a été enregistrée avec les fèves fermentées sur le support F1 ($58,7 \pm 4,38$ %), suivie par celles sur le support F5 ($55,3 \pm$

3,25 %) à San-Pédro, sans différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). Les fèves fermentées sur le support F3 ($55,5 \pm 1,27$ %) à Daloa ont présenté une teneur plus élevée que celles du support témoin F1 ($43 \pm 1,97$ %).

Par ailleurs, seules les fèves fermentées sur le support F4 ont présenté des valeurs proches de celles du support témoin F1, sans démontrer de différences significatives. Pour la variété *Mercedes* à Soubré, la teneur en beurre de cacao était nettement inférieure en comparaison à la variété *Forastero* et variait de $53,22 \pm 0,3$ % à $57,85 \pm 0,21$ %.

Toutefois, à l'exception des fèves fermentées sur le support F3 ($57,85 \pm 0,21$ %), qui ont présenté une teneur plus élevée, aucune différence significative n'a été observée entre les autres supports et les échantillons issus du support témoin F1 ($54,4 \pm 0,84$ %).

1.1.10. Valeur énergétique

L'analyse de la valeur énergétique des fèves de cacao (Tableau XIX) dans les trois zones d'étude a révélé des valeurs comprises entre 601,2 et 680,42 kcal/100 g, avec des différences significatives ($P < 0,05$). Les fèves de la variété *Forastero* fermentées sur le support témoin F1 ($680,42 \pm 23,16$ kcal/100g) à San-Pédro et sur le support F3 ($665,5 \pm 6,36$ kcal/100 g) à Daloa ont affiché la plus haute valeur énergétique.

Le test de comparaison de Dunnett a montré qu'à l'exception des fèves fermentées sur le support F2 ($627,98 \pm 26,11$ kcal/100 g) qui ont présenté une valeur inférieure dans la zone de San-Pédro, les échantillons provenant des autres supports n'ont montré aucune différence significative par rapport à ceux du support témoin F1 ($680,42 \pm 23,16$ kcal/100 g). En ce qui concerne la zone de Daloa, seules les fèves fermentées sur le support F4 ($601,2 \pm 16,12$ kcal/100 g) ont montré une similitude avec celles du support témoin F1 ($604,4 \pm 9,62$ kcal/100 g), qui présentaient des valeurs inférieures significatives par rapport aux autres supports.

Cependant, dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, les échantillons collectés ont montré des valeurs énergétiques comprises entre $654,92 \pm 10,86$ et $678,55 \pm 0,29$ kcal/100 g, sensiblement équivalentes à celles des fèves de la variété *Forastero*. La plus haute valeur énergétique a été enregistrée avec les fèves fermentées sur le support F3 ($678,55 \pm 0,29$ kcal/100 g), sans différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) par rapport à celles du support témoin F1 ($660,54 \pm 4,15$ kcal/100 g) ainsi que par rapport aux supports F2, F4, F5 et F6.

Tableau XIX: Composition globale et valeur calorifique des fèves marchandes (Moy $\pm$ SD).

Supports	pH	%Humidité	Aw	%cendre	Sucre totaux	Protéine (%)	Lipide (%)	Glucide (%)	VE (Kcal /100g)
F1 SP(T)	5,07$\pm$0,02^a	7,86$\pm$0,35^a	0,45$\pm$0,01^a	3,15$\pm$0,30^a	51,39$\pm$0,13^a	14,63$\pm$0,01^a	58,7$\pm$4,38^a	23,41$\pm$4,06^a	680,42$\pm$23,16^a
F2 SP	5,16 $\pm$ 0,00 ^a	7,16 $\pm$ 0,47	0,47 $\pm$ 0,02 ^a	2,66 $\pm$ 0,14	38,98 $\pm$ 0,00	14,44 $\pm$ 0,08 ^a	47,7 $\pm$ 5,23 ^a	35,23 $\pm$ 5,16	627,98 $\pm$ 26,11
F3 SP	6,26 $\pm$ 0,04	6,5 $\pm$ 0,30	0,48 $\pm$ 0,03 ^a	3,23 $\pm$ 0,23 ^a	53,82 $\pm$ 0,00	14,74 $\pm$ 1,33 ^a	50,7 $\pm$ 4,95 ^a	31,31 ^a $\pm$ 6,23	640,5 $\pm$ 24,91 ^a
F4 SP	4,9 $\pm$ 0,01	8,85 $\pm$ 0,13	0,46 $\pm$ 0,02 ^a	2,57 $\pm$ 0,04	33,52 $\pm$ 0,00	14,75 $\pm$ 0,40 ^a	51,80 $\pm$ 7,64 ^a	30,86 $\pm$ 8 ^a	648,62 $\pm$ 38,32 ^a
F5 SP	5,43 $\pm$ 0,07	8,76 $\pm$ 0,20	0,45 $\pm$ 0,0 ^a	2,86 $\pm$ 0,04 ^a	89,73 $\pm$ 0,00	14,63 $\pm$ 0,16 ^a	55,3 $\pm$ 3,25 ^a	27,19 $\pm$ 3,38 ^a	664,94 $\pm$ 16,37 ^a
F6 SP	5,27 $\pm$ 0,04	7,6 $\pm$ 0,17 ^a	0,45 $\pm$ 0,01 ^a	2,72 $\pm$ 0,01	43,67 $\pm$ 0,00	14,51 $\pm$ 0,84 ^a	53,1 $\pm$ 3,53 ^a	29,67 $\pm$ 3,62 ^a	654,62 $\pm$ 17,67 ^a
F1 DA(T)	5,51$\pm$0,02^a	7,43$\pm$0,47^a	0,43$\pm$0,00^a	2,63$\pm$0,47^a	39,76$\pm$0,00^a	14,69$\pm$0,12^a	43$\pm$1,97^a	39,66$\pm$1,92^a	604,4$\pm$9,62^a
			0,43 $\pm$ 0,00		32,50 $\pm$ 0,00				
F2 DA	5,69 $\pm$ 0,0	7,83 $\pm$ 0,3 ^a	a	2,4 $\pm$ 0,04 ^a		15,12 $\pm$ 0,49 ^a	51,8 $\pm$ 0,84	30,58 $\pm$ 0,21	649 $\pm$ 4,80
F3 DA	6,36 $\pm$ 0,0	6,8 $\pm$ 0,26 ^a	0,46 $\pm$ 0,03 ^a	3,06 $\pm$ 0,13	53,14 $\pm$ 0,16	16,85 $\pm$ 0,17	55,5 $\pm$ 1,27	24,66 $\pm$ 1,44	665,5 $\pm$ 6,36
F4 DA	5,42 $\pm$ 0,02 ^a	7,86 $\pm$ 0,11 ^a	0,44 $\pm$ 0,00 ^a	2,63 $\pm$ 0,15 ^a	62,98 $\pm$ 0,50	13,77 $\pm$ 0,71	42,4 $\pm$ 3,11 ^a	41,14 $\pm$ 2,25 ^a	601,2 $\pm$ 16,12 ^a
F5 DA	5,48 $\pm$ 0,02	9,03 $\pm$ 0,15	0,46 $\pm$ 0,02 ^a	2,63 $\pm$ 0,05 ^a	31,49 $\pm$ 0,00	14,39 $\pm$ 0,65 ^a	51,8 $\pm$ 4,81	31,17 $\pm$ 4,22	648,4 $\pm$ 23,75
F6 DA	5,56 $\pm$ 0,02	8,23 $\pm$ 0,3	0,46 $\pm$ 0,04 ^a	2,22 $\pm$ 0,22	37,11 $\pm$ 4,87 ^a	14,25 $\pm$ 0,15 ^a	48,3 $\pm$ 3,25	35,16 $\pm$ 3,68	632,32 $\pm$ 15,16
F1 SB(T)	5,08$\pm$0,01^a	7,7$\pm$0,36^a	0,52$\pm$0,07^a	2,84$\pm$0,03^a	41,40$\pm$0,00^a	14,03$\pm$0,65^a	54,4$\pm$0,84^a	28,71$\pm$1,52^a	660,54$\pm$4,15^a
F2 SB	5,09 $\pm$ 0,01 ^a	7,11 $\pm$ 0,81 ^a	0,56 $\pm$ 0,10 ^a	2,67 $\pm$ 0,2 ^a	36,09 $\pm$ 0,00	14,29 $\pm$ 1,37 ^a	54,9 $\pm$ 0,42 ^a	28,08 $\pm$ 1,05 ^a	663,54 $\pm$ 2,52 ^a
F3 SB	6,23 $\pm$ 0,04	6,46 $\pm$ 0,23	0,49 $\pm$ 0,09 ^a	2,56 $\pm$ 0,26 ^a	52,59 $\pm$ 0,11	15,09 $\pm$ 1,55 ^a	57,85 $\pm$ 0,21	24,38 $\pm$ 1,95	678,55 $\pm$ 0,29
F4 SB	4,79 $\pm$ 0,06	7,83 $\pm$ 0,66 ^a	0,59 $\pm$ 0,13 ^a	2,76 $\pm$ 0,14 ^a	31,10 $\pm$ 0,00	14,75 $\pm$ 0,45 ^a	53,22 $\pm$ 0,3 ^a	29,19 ^a $\pm$ 0,68	654,765 $\pm$ 1,98 ^a
F5 SB	5 $\pm$ 0,01	9,1 $\pm$ 0,26	0,49 $\pm$ 0,05 ^a	2,51 $\pm$ 0,09 ^a	34,25 $\pm$ 0,06	15,72 $\pm$ 0,57	54,9 $\pm$ 0,42 ^a	26,83 ^a $\pm$ 0,91	664,28 $\pm$ 2,48 ^a
F6 SB	5,48 $\pm$ 0,04	7,9 $\pm$ 0,4 ^a	0,49 $\pm$ 0,04 ^a	2,46 $\pm$ 0,58 ^a	37,25 $\pm$ 0,00	14,57 $\pm$ 0,29 ^a	53,16 $\pm$ 2,60 ^a	29,56 $\pm$ 2,85 ^a	654,92 $\pm$ 10,86 ^a

Pour chaque composant, les moyennes $\pm$ écart-types, Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1) avec un seuil de $p \leq 0,05$ selon le test de DUNNETT ; VE : Valeur énergétique ; feuille de bananier (F1) ; feuille de palmier (F2) ; cabosse de cacao (F3) ; bâche en polypropylène (F4) ; sac en polypropylène (F5) ; sac en jute (F6) ; SP : San-Pédro ; SB (Soubré) ; VA (Daloa) ; T : Témoin ; Aw : Activité de l'eau

1.1.11. Interaction de la composition globale des fèves séchées avec les supports de fermentation

Les analyses multivariées (ACP et CHA) réalisées ont permis de discriminer les supports de fermentation selon la composition physico-chimique des fèves de cacao analysées (Figure 49). La somme des axes PC1 et PC2 représentait plus de 60 % de la variabilité totale exprimée dans les trois zones d'étude, soit 78,1 % à San-Pédro et 83,2 % à Daloa et Soubré (Figure 49).

À San-Pédro, l'axe PC1 regroupait 48,8 % de la variabilité totale (Figure 49 a). Il était positivement corrélé aux fèves fermentées sur les supports F1 et F5, caractérisées par leur teneur en lipides et de leur valeur énergétique, en opposition aux fèves fermentées sur le support F2, caractérisées par leur teneur en glucides. Les fèves fermentées sur les supports F4 et F6, corrélées négativement par PC2, regroupant 29,3 % de la variabilité totale, étaient caractérisées par le taux d'humidité, tandis que celles issues F3 étaient principalement caractérisées par un pH élevé. La CAH a révélé deux clusters principaux, avec 99,94 % de similarité : un groupe comprenant les supports F1, F3, F2, F6 et F4, et un autre regroupant le support F5. De plus, le support F5 s'est distingué dans cette zone par sa grande proportion de sucres totaux, atteignant $89,73 \pm 0,00$ %, contre $51,39 \pm 0,13$ % pour le support témoin (Figure 49 a).

Par ailleurs, dans les zones de Daloa et de Soubré la somme des axes PC1 et PC2 atteignait 83,2 %. Dans ces deux zones, les fèves fermentées sur le support F3 étaient positivement corrélées à PC1, regroupant 56,8 % de la variabilité totale à Daloa et 58,7 % à Soubré (Figure 49 b ; c). À Daloa (Figure 49 c), les fèves se caractérisaient par des niveaux élevés de cendres, de pH et de protéines tandis qu'à Soubré (Figure 49 e), elles se distinguaient par leurs concentrations en sucres totaux, lipides, valeur énergétique et un pH élevé. D'autres parts, les fèves fermentées sur les supports F6, F2 et F5 à Daloa étaient marquées par leur teneur en eau, activité de l'eau, valeur énergétique et lipides. En revanche, à Soubré, les fèves fermentées sur le support F4, ainsi que sur le support témoin F1, présentaient une corrélation négative à PC2, regroupant respectivement 24,5 % et 26,4 % de la variabilité totale, et étaient caractérisées par leur teneur en glucides.

La CAH a permis de regrouper trois clusters à Daloa avec 99,97 % de similarité et de 99,99 % pour deux clusters à Soubré (Figure 49 b ; c). À Daloa, les fèves fermentées sur les supports F1, F2, F5 et F6 formaient un premier groupe, tandis que celles des supports F3 et F4 constituaient respectivement les deuxièmes et troisièmes groupes. À Soubré, les fèves fermentées sur les supports F1, F2, F4, F5 et F6 formaient un groupe distinct, tandis que celles du support F3 formaient un deuxième groupe à 99,99 % de similarité.

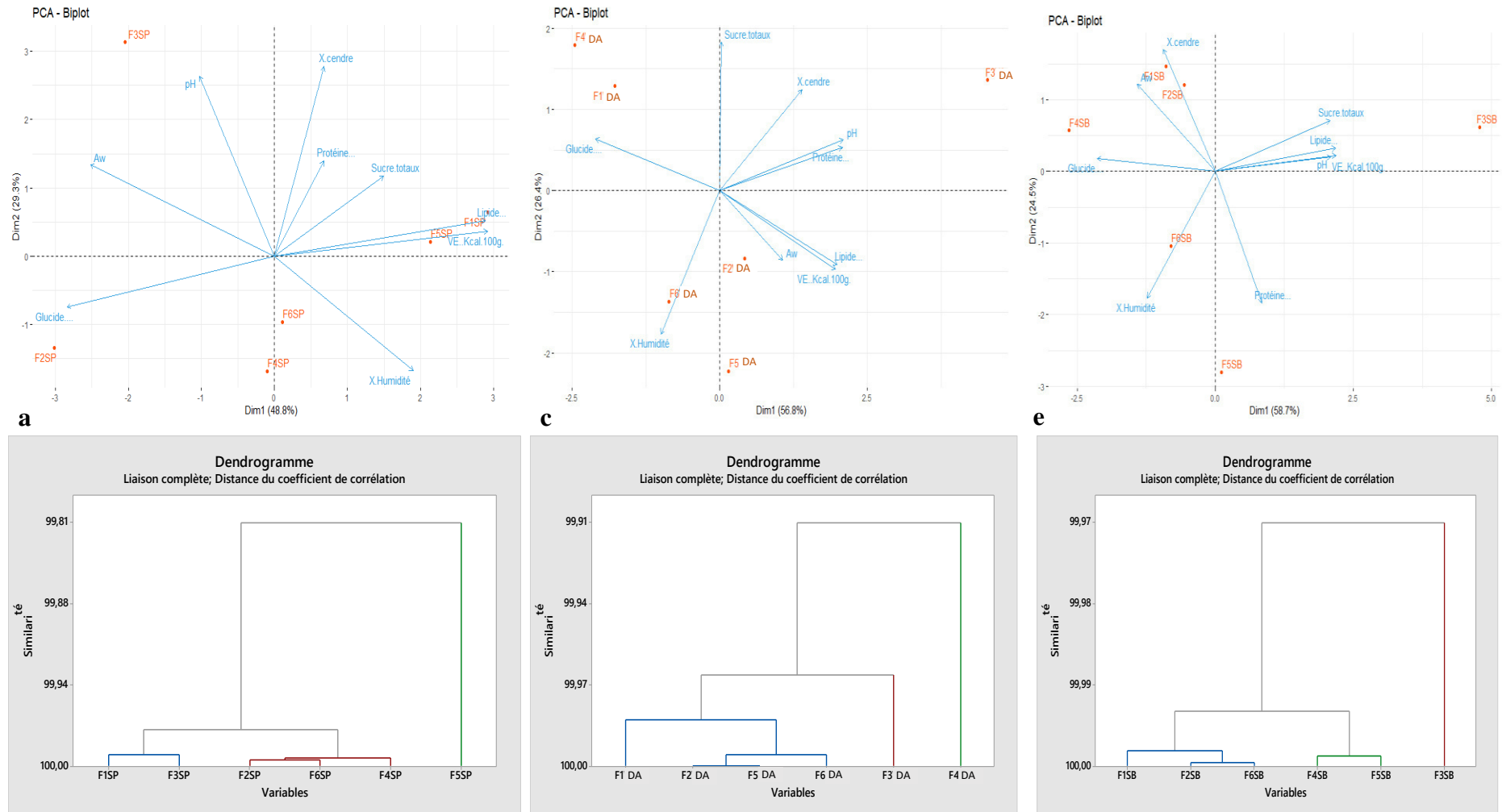


Figure 49: Corrélation reprenant les valeurs des paramètres physico-chimiques des fèves séchées en fonction du support de fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâches-en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; VA : Daloa ; SB : Soubré ; a : zone de San-Pédro ; b : zone de Daloa ; c : zone de Soubré

1.2. Valeur marchande des fèves de cacao

1.2.1. Degré de fermentation et le niveau de dégradation des fèves

Le degré et niveau de dégradation de fermentation (Cut tes) réalisé est illustré par la Figure 50.



Figure 50: Degré de fermentation et le niveau de dégradation des fèves

Les facteurs évalués au cours du Cut test ont montré des différences significatives ($P < 0,05$) (Tableau XX). Toutefois, aucune n'a été observée au niveau des variétés de cacao analysés. Cependant, les fèves fermentées sur le support F3 dans les trois zones d'étude se significativement distinguées du support témoin et des autres supports (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). Dans les trois zones d'étude, les fèves issues de F3 ont montré une plus faible proportion de fèves brunes : $80,67 \pm 4,50$ % à San-Pédro, $77,67 \pm 1,52$ % à Daloa et $85,33 \pm 0,57$ % à Soubré, comparé à une proportion comprise entre 93 % et 98 % pour les autres supports. De plus, elles ont présenté un score au Cut-test plus faible ($838,33 \pm 8,66$ à San-Pédro, $833,33 \pm 7,63$ à Daloa et $886,66 \pm 7,63$ à Soubré) comparé au support témoin. Par ailleurs, les fèves fermentées sur le support F3 avaient un pourcentage plus élevé de fèves violettes : $6,33 \pm 2,08$ % à San-Pédro, $6,67 \pm 0,57$ % à Soubré et $6,33 \pm 1,52$ % à Daloa. Elles ont également montré un pourcentage de fèves germées et mitées dépassant 3 % dans les trois zones d'étude, à l'exception de Daloa où le pourcentage de fèves mitées était de $2,67 \pm 0,57$ % mais proche de 3 %.

1.2.2. Indice de fermentation

L'analyse de l'indice de fermentation (IF) dans les trois zones d'étude (Tableau XX) a montré des valeurs comprises entre 0,90 % et 1,60 %, sans différence significative pour la variété de cacao. À San-Pédro, les fèves fermentées sur les supports F2 ($1,35 \pm 0,11$ %) et F4 ($1,18 \pm 0,17$ %) présentaient des valeurs équivalentes à celles du support F1 ($1,41 \pm 0,10$ %). À Daloa, les fèves fermentées sur les supports F2 ($1,23 \pm 0,04$ %) et F6 ($1,20 \pm 0,13$ %) étaient également similaires à celles du témoin F1 ($1,29 \pm 0,05$ %). À Soubré, les fèves fermentées sur

le support F2 ($1,60 \pm 0,14$ %) avaient des valeurs comparables à celles du support témoin F1 ($1,42 \pm 0,04$ %), sans différence significative. En revanche, les fèves fermentées sur le support F3, ont présentés un indice de fermentation plus faible : $0,89 \pm 0,02$ % à San-Pédro, $0,84 \pm 0,07$ % à Daloa et $0,93 \pm 0,06$ % à Soubré.

Tableau XX: Évaluation du Cut test des fèves en fonction du support et de la zone de production (Moy $\pm$ SD)

Supports	Brune	Violette	Claire	Ardoisée	Germée	Mitée	Moisie	Plate	IF	Score Cut test	Grade
F1 SP(Témoin)	98,33 $\pm 0,57^a$	1,00 $\pm 1,00^a$	0,67 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,41 $\pm 0,10^a$	998,33 $\pm 2,89^a$	I
F2 SP	98,33 $\pm 1,15^a$	1,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,35 $\pm 0,11^a$	990 $\pm 8,66^a$	I
F3 SP	80,67 $\pm 4,50$	6,33 $\pm 2,08$	1,00 $\pm 1,00^a$	0,67 $\pm 1,15^a$	6,33 $\pm 1,52$	1,33 $\pm 1,52$	3,67 $\pm 1,15$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,89 $\pm 0,02$	838,33 $\pm 8,66$	II
F4 SP	97,33 $\pm 15^a$	1,00 $\pm 0,00^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	0,67 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,18 $\pm 0,17^a$	978,33 $\pm 11,55^a$	I
F5 SP	97,00 $\pm 1,00^a$	2,33 $\pm 0,57^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,67 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,98 $\pm 0,01$	981,67 $\pm 7,64^a$	I
F6 SP	98,33 $\pm 15^a$	1,54 $\pm 1,00^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,90 $\pm 0,06$	988,33 $\pm 7,63$	I
F1 DA(Témoin)	93,67 $\pm 1,15^a$	5,67 $\pm 1,52^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,67 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,29 $\pm 0,05^a$	965,00 $\pm 5,00^a$	I
F2 DA	96,33 $\pm 0,57^a$	3,67 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,23 $\pm 0,04^a$	981,67 $\pm 2,89^a$	I
F3 DA	77,67 $\pm 1,52$	11,33 $\pm 1,52$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,67 $\pm 1,15^a$	5,00 $\pm 1,00$	2,67 $\pm 0,57$	2,67 $\pm 0,57$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,84 $\pm 0,07$	833,33 $\pm 7,63$	II
F4 DA	93,67 $\pm 1,52^a$	6,33 $\pm 1,52$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,06 $\pm 0,04$	968,33 $\pm 7,64^a$	I
F5 DA	95 $\pm 1,00^a$	3,33 $\pm 1,15^a$	0,67 $\pm 0,57$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,97 $\pm 0,015$	966,67 $\pm 15,27^a$	I
F6 DA	96,00 $\pm 1,00^a$	2,33 $\pm 1,15$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,67 $\pm 0,57$	1,33 $\pm 0,57$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,20 $\pm 0,13^a$	971,66 $\pm 5,77^a$	I
F1SB (Témoin)	93,33 $\pm 3,05$	5,33 $\pm 1,52^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,42 $\pm 0,04^a$	960,00 $\pm 22,91^a$	I
F2SB	95,00 $\pm 1,00^a$	4,66 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,60 $\pm 0,14^a$	973,33 $\pm 12,58^a$	I
F3SB	85,33 $\pm 0,57$	6,67 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,33 $\pm 0,57^a$	3,00 $\pm 1,00$	1,00 $\pm 1,00$	3,67 $\pm 0,57$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,93 $\pm 0,06$	886,667 $\pm 7,63$	II
F4SB	94,67 $\pm 0,57^a$	5,33 $\pm 0,57^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,08 $\pm 0,03$	973,33 $\pm 2,88^a$	I
F5SB	94,67 $\pm 1,52$	5,33 $\pm 1,52^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,08 $\pm 0,19$	973,33 $\pm 7,63^a$	I
F6SB	96,00 $\pm 2,64^a$	4 $\pm 2,64^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	1,11 $\pm 0,24$	980,00 $\pm 13,23^a$	I

Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1) avec un seuil de $p \leq 0,05$ selon le test de DUNNETT.

1.2.3. Rendement

Le rendement obtenu après la fermentation et séchage des fèves de cacao est consigné sur le Tableau XXI. Les fèves de variété *Forastero*, dans les zones de San-Pédro et Daloa avaient un rendement qui variait de 52 % à 64 %. Les fèves fermentées sur le support F4 (64 %) à San-Pédro étaient prédominantes. Alors que dans la zone de San-Pédro, les fèves fermentées sur les supports F1, F2 et F3 ont présenté des rendements similaires de 56%, de même que celles fermentées sur les supports F6 à San-Pédro et sur les supports F2, F3, F4, F5 à Daloa. À Soubré, le rendement était compris entre 52 % et 60 % proche de la variété *Mercedes*. Les fèves fermentées sur le support témoin F1 (60 %) avait le rendement le plus élevé. Les fèves fermentées sur les supports F2 et F3 ont enregistré les mêmes rendements de 52 %, de même que les fèves fermentées sur les supports F4, F5 et F6 à Soubré avec un rendement de 56 %.

1.2.4. Grainage

Les résultats de l'analyse du grainage (Tableau XXI) ont révélé, dans l'ensemble, un nombre inférieur à 100 fèves sur 100 g pesés avec des différences significatives ($P < 0,05$) d'un support à un autre. Les fèves issues de la variété *Forastero* étaient moins constantes que celles de la variété *Mercedes*. Le nombre de fèves dénombré dans ces deux zones, variant de $76,66 \pm 10,50$ à $98,66 \pm 4,6$ fèves/100 g pesés. Le plus petit nombre dénombré a été enregistré avec les fèves fermentées sur le support F2 ($76,66 \pm 10,50$) pour la zone de San-Pédro et sur le support F4 ($93 \pm 5,56$) pour la zone de Daloa.

À Soubré, avec la variété *Mercedes*, le nombre de fèves variait entre 75,3 et 80 fèves/100g. Les fèves fermentées sur les supports F1 ($75,33 \pm 1,15$) et F2 ($76,00 \pm 0,00$) ont enregistré le plus petit nombre de fèves. Le test de comparaison avec les fèves fermentées sur les feuilles de bananier par Dunnett n'a montré aucune différence significative entre tous les échantillons analysés dans les trois zones d'étude.

1.2.5. Pourcentage de coque

Après le grainage, les fermentées et séchées ont été décortiquées et le pourcentage de coque (Tableau XXI) a été évaluée. Les données consignées révèlent que le pourcentage de coque des fèves de cacao de variété *Forastero* collectées dans la zone de San-Pédro oscille entre 9 % et 11%, tandis que dans la zone de Daloa, il varie de 10 % à 12 %.

Les résultats montrent qu'à l'exception des fèves fermentées sur le support F3 ($9,95 \pm 6,26 \%$), toutes les autres fèves ont présenté un pourcentage de coque similaire à celui du support témoin. Cela a été observé pour les échantillons collectés dans la zone de San-Pédro. Cependant, les fèves fermentées sur les supports F2 ($12,96 \pm 5,69 \%$), F4 ($12,8 \pm 5,42 \%$), F5 ($12,38 \pm 5,48 \%$) et F6 ($12,12 \pm 5,56 \%$) dans la zone de Daloa avaient un pourcentage de coque supérieur à 12% . Toutefois, le pourcentage de coque des fèves fermentées sur les supports F2 ($12,96 \pm 5,69 \%$) et F3 ($10,6 \pm 6,36 \%$) ont présenté une différence significative en comparaison avec celles du support témoin.

Dans la zone de Soubré, avec la variété *Mercedes*, le pourcentage de coque des fèves fermentées variait entre $9,76 \pm 6,36 \%$ et $12,17 \pm 4,79 \%$ avec une différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). Le pourcentage de coque le plus élevé a été observé sur les fèves fermentées sur le support F4 ($12,17 \pm 4,79 \%$) tandis que celles du support F3 ($9,76 \pm 6,36 \%$) avaient également observé le plus faible pourcentage de coque avec une différence significative en comparaison avec celles du support témoin F1 ($11,22 \pm 5,08 \%$).

Tableau XXI: Facteur de la qualité marchande de fèves de cacao (Moy $\pm$ SD)

Supports	Grainage	% coque	Rendement (%)
F1 SP(Témoin)	80,66 $\pm$ 02,08^a	11,58 $\pm$ 05,07^a	56,20
F2 SP	76,66 $\pm$ 10,50 ^a	11,13 $\pm$ 05,16 ^a	56,00
F3 SP	89,66 $\pm$ 09,01 ^a	09,95 $\pm$ 06,26	56,00
F4 SP	83,00 $\pm$ 30,00 ^a	11,39 $\pm$ 04,90 ^a	64,00
F5 SP	80,33 $\pm$ 01,52 ^a	11,74 $\pm$ 05,43 ^a	60,00
F6 SP	82,66 $\pm$ 01,52 ^a	11,45 $\pm$ 05,27 ^a	52,00
F1 DA (Témoin)	95,00 $\pm$ 02,64^a	11,85 $\pm$ 05,50^a	52,00
F2 DA	97,33 $\pm$ 01,15 ^a	12,96 $\pm$ 05,69	60,00
F3 DA	98,66 $\pm$ 04,60 ^a	10,60 $\pm$ 06,36	60,00
F4 DA	93,00 $\pm$ 05,56 ^a	12,80 $\pm$ 05,42 ^a	60,00
F5 DA	95,66 $\pm$ 07,50 ^a	12,38 $\pm$ 05,48 ^a	60,00
F6 DA	90,66 $\pm$ 02,30 ^a	12,12 $\pm$ 05,56 ^a	52,00
F1 SB(Témoin)	75,33 $\pm$ 01,15^a	11,22 $\pm$ 05,08^a	60,00
F2 SB	76,00 $\pm$ 00,00 ^a	11,09 $\pm$ 05,09 ^a	52,00
F3 SB	77,00 $\pm$ 02,64 ^a	09,76 $\pm$ 06,36	52,00
F4 SB	79,00 $\pm$ 20,00 ^a	12,17 $\pm$ 04,79 ^a	56,00
F5 SB	80,00 $\pm$ 04,58 ^a	11,93 $\pm$ 50,00 ^a	56,00
F6 SB	76,66 $\pm$ 02,51 ^a	11,57 $\pm$ 05,48 ^a	56,00

Pour chaque composant, les moyennes $\pm$ écart-types, Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1) avec un seuil de $p \leq 0,05$ selon le test de DUNNETT ; feuille de bananier (F1) ; feuille de palmier(F2) ; cabosse de cacao(F3) ; bâche en polypropylène (F4) ; sac en polypropylène (F5) ; sac en jute (F6) ; SP : San-Pédro ; SB (Soubré) ; DA (Daloa)

1.2.6. Corrélation de la qualité morphologique avec les supports appliqués

L'analyse statistique de la qualité marchande des fèves de cacao réalisé par l'ACP et CAH ont permis de discriminer les différents supports en fonction des valeurs obtenues sur les différents paramètres (Figure 51).

Dans les trois zones d'étude, la somme des projections (PC1-PC2) est supérieure à 60 % de l'ensemble des variabilités. Les fèves fermentées sur le support F3 corrélées positivement à PC1 respectivement (77,5 %) à San-Pédro, 75,3 % à Daloa et 72,2 % à Soubré. Dans l'ensemble, ce support est caractérisé par un taux élevé en grainage, fèves germées, moisies, mitées, ardoisées et violettes avec les fèves de variété *Forastero* à San-Pédro et Daloa. Les fèves fermentées dans la cabosse de cacao à Soubré ont seulement montré un taux élevé en fèves germées, moisies, violettes, mitées.

Dans la zone de San-Pédro (Figure 51 a), les fèves fermentées sur les supports ; sacs en polypropylène (F5) ; feuilles de palmier et le support témoin (F1) corrélés négativement à PC1 sont caractérisées par un taux élevé de fèves brunes, d'indice de fermentation, de score Cut test et de coque. Quant aux fèves fermentées sur la bâche en polypropylène corrélées positivement à PC2, elles sont caractérisées par leur bon rendement à l'opposé des fèves fermentées sur les sacs en jute (F6).

La classification hiérarchique ascendante (CHA) reprenant toutes les valeurs analysées, a confirmé que les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) étaient fortement différentes de celles des feuilles de bananier. Cependant, une similarité a été observée entre les fèves fermentées sur les feuilles de palmier (F2), les sacs en jute (F6) et le support témoin (F1). D'autre part, les fèves fermentées sur les sacs en polypropylène (F5) et les bâches en polypropylène (F4) ont également montré une similarité.

Dans la zone de Daloa, (Figure 51 b), les fèves fermentées sur les sacs en polypropylène et les bâches en polypropylène, corrélées positivement à PC2, ont montré un plus grand rendement. En revanche, celles fermentées sur les feuilles de bananier (témoin) et les de palmier, corrélées négativement à PC1, ont présenté un meilleur score au Cut-test, ainsi qu'une plus grande proportion de fèves brunes, un meilleur indice de fermentation et un pourcentage plus élevé de coques.

Le dendrogramme obtenu a révélé trois principaux clusters distincts. Les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) se sont avérées différentes des échantillons. En revanche, les fèves fermentées sur les feuilles de palmier (F2), les sacs en polypropylène (F5)

et les sacs en jute (F6) ont montré une similarité avec celles fermentées sur les feuilles de bananier (Témoin ; F1).

Dans la zone de Soubré (Figure 51 c), les fèves fermentées sur les feuilles de palmier et les feuilles de bananier, corrélées négativement à PC2, ont présenté un indice de fermentation élevé. En revanche, celles fermentées sur les bâches en polypropylène (F4) et les sacs en polypropylène (F5) se distinguent par un meilleur rendement, un meilleur grainage et un pourcentage de coque plus élevé. Les fèves fermentées sur les sacs en jute (F6) ont plutôt affiché un score plus élevé au test de coupure et une proportion plus élevée de fèves brunes.

En résumé, le dendrogramme illustre que les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) se distinguent davantage des fèves témoins par rapport aux autres supports de fermentation étudiés.

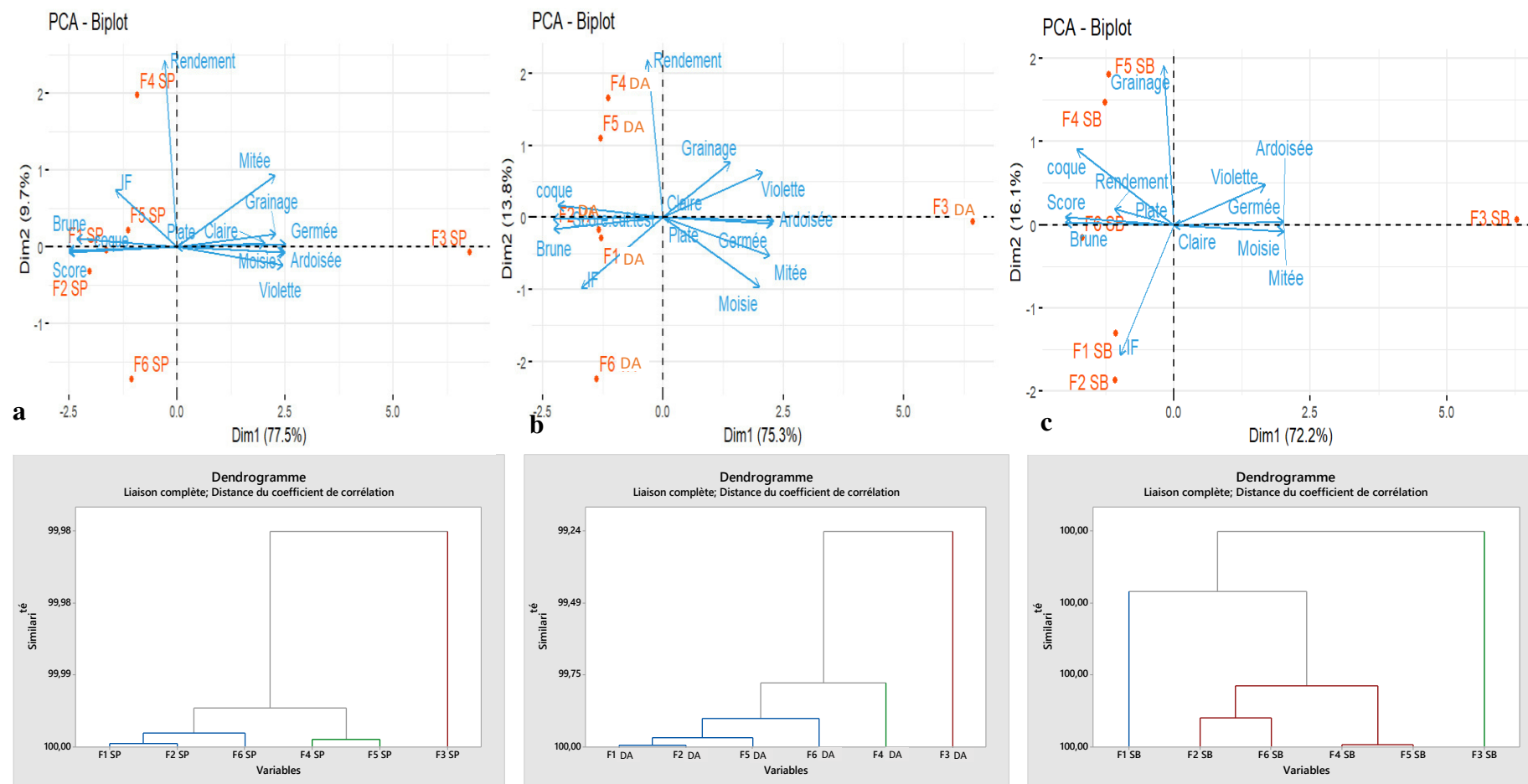


Figure 51: Corrélation entre les paramètres de la qualité morphologiques de fèves séchées en fonction du support de fermentation.

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; a : zone de San-Pédro ; b : zone de Daloa ; c : zone de Soubré

1.3.Composition biochimique des fèves de cacao collectées

1.3.1. Acidité et profil en acides gras du beurre de cacao des fèves marchandes

1.3.1.1. Indice d'acidité des acides gras

L'indice d'acidité pour la variété *Forastero* s'étendait de 1,27 mg KOH/g à 1,77 mg KOH/g à San-Pédro et de 1,03 mg KOH/g à 1,12 mg KOH/g à Daloa (Tableau XXII). La valeur la plus élevée a été observée uniquement avec le beurre extrait des fèves fermentées sur le support F6 ($1,77 \pm 0,01$ mg KOH/g) à San-Pédro, dépassant légèrement la valeur seuil de 1,75 mg KOH/g. Aucune différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) n'a été observée par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin F1, qui présentaient des indices d'acidité de $1,27 \pm 0,05$ mg KOH/g à San-Pédro et $1,03 \pm 0,12$ mg KOH/g à Daloa.

Dans la zone de Soubré, avec la variété *Mercedes*, tous les supports ont produit du beurre avec un indice d'acidité variant entre $1,40 \pm 0,16$ mg KOH/g et $1,66 \pm 0,16$ mg KOH/g, restant inférieurs à la valeur recommandée de 1,75 mg KOH/g. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées avec le beurre extrait des fèves fermentées sur le support F4 ($1,66 \pm 0,16$ mg KOH/g), sensiblement équivalentes à celles issues du support F1 ($1,40 \pm 0,16$ mg KOH/g).

1.3.1.2. Composition en acide gras des beurres extraits

Le chromatogramme obtenu (Figure 52) pour chacun des échantillons de beurre de cacao a permis de déterminer la proportion de chaque acide gras du beurre de cacao pour chaque support de fermentation avec des temps de rétention spécifiques à chaque acide gras. Ainsi, quatre acides gras ont été identifiés avec des variations significatives ($P < 0,05$) sur l'ensemble des supports de fermentation et dans les trois zones d'étude. Ce sont : l'acide palmitique (C16 :0), l'acide stéarique (C18 :0), l'acide oléique (C18 :1) et l'acide linoléique (C18 :2). L'acide oléique était le plus abondant, tandis que l'acide linoléique présentait la teneur la plus basse.

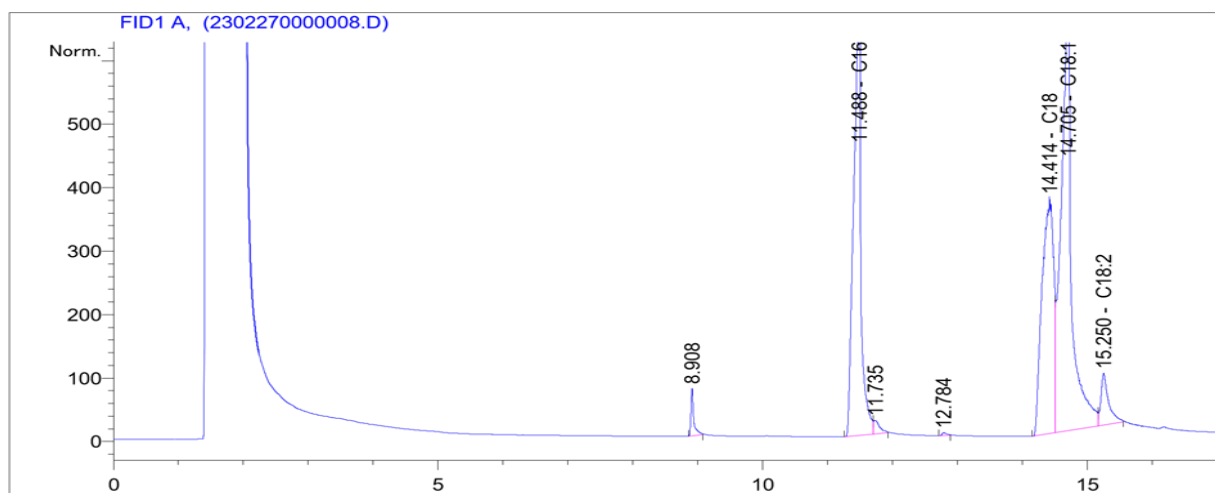


Figure 52: Exemple de chromatogramme du profil d'acide gras

La proportion des acides gras saturés s'est comprise entre 55 % et 60 % (Tableau XXII). Les fèves fermentées sur les supports F2 (60,07 %) à San-Pédro, F2 (60,03 %) Soubré et F6 (60,57 %) à Daloa ont exhibé les concentrations les plus élevées. Aucune différence significative ne soit observée (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) en comparaison avec les fèves fermentées sur le support témoin F1 dans les trois zones d'étude.

Pour l'acide palmitique, la proportion du beurre de cacao de la variété *Forastero*, analysée dans les zones de Daloa et San-Pédro, variait entre 26 % et 29 %. Cette proportion était similaire à celle observée dans la variété Mercedes collectée à Soubré, où elle fluctuait entre 24,55 % et 28,80 %. Les analyses statistiques ANOVA ont révélé des différences significatives ($P < 0,05$) entre les différents échantillons analysés. Les proportions les plus élevées ont été observées dans les fèves fermentées sur le support F3, avec des échantillons collectés à San-Pédro et Soubré atteignant respectivement $28,74 \pm 0,04$ % et $29,51 \pm 0,57$ %, sans différence significative par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin, qui étaient respectivement à $28,57 \pm 0,83$ % et $28,80 \pm 1,10$ %. Dans la zone de Daloa, la proportion la plus élevée a été observée avec les fèves fermentées sur le support F4 ($29,04 \pm 0,17$ %), sans différence significative par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin F1 ($28,12 \pm 0,20$ %).

Pour l'acide stéarique, la proportion variait entre 27,04 % et 34,07 % dans les fèves de la variété *Forastero* analysées à San-Pédro et Daloa. Dans les échantillons collectés à Soubré avec la variété Mercedes, la proportion était légèrement inférieure, oscillant entre 25 % et 32 %. Les analyses statistiques de Dunnett, avec un seuil $\alpha = 0,05$, n'ont pas révélé de différence significative par rapport aux différents supports témoins pour chaque zone d'étude. Cependant,

les fèves fermentées sur les supports F2 ($33,16 \pm 0,35$ %) à San-Pédro, F4 ($34,07 \pm 1,18$ %) à Daloa et F4 ($34,75 \pm 0,61$ %) à Soubré présentaient des teneurs plus élevées en acide stéarique.

Les résultats de l'analyse des acides gras insaturés des échantillons de la variété *Forastero* variaient entre $39,92 \pm 0,37$ % et $43,91 \pm 2,16$ %, tandis que pour les échantillons de la variété *Mercedes*, la proportion variait entre 55,38 % et 60,03 %. Les fèves fermentées sur les supports F3 ($43,06 \pm 0,67$ %) à San-Pédro et F4 ($43,91 \pm 2,16$ %) à Daloa ont présenté les concentrations les plus élevées. En revanche, dans la zone de Soubré, les fèves fermentées sur le support F3 ont affiché la proportion la plus élevée ($44,61 \pm 1,15$ %). Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre tous les supports de fermentation dans les trois zones d'étude, en comparaison avec le support témoin F1 selon le test de Dunnett. Ces acides gras insaturés sont constitués d'acide oléique (C18 :0) et d'acide linoléique (C18 :2).

La teneur en acide oléique dans les échantillons de la variété *Forastero*, collectés dans les zones de San-Pédro et Daloa, variait entre $36,62 \pm 0,41$ % et $40,38 \pm 2,18$ %, ce qui était comparable à celle des échantillons de la variété *Mercedes*, variant entre 37,67 % et 40,87 %. Les fèves fermentées sur les supports F4 ($39,00 \pm 1,14$ %) à San-Pédro et F4 ($40,38 \pm 2,18$ %) à Daloa ont montré les concentrations les plus élevées en acide oléique. Cependant, il n'y a pas eu de différence significative par rapport aux fèves fermentées sur les supports F1 ($38,67 \pm 1,36$ %) à San-Pédro et F1 ($37,53 \pm 0,66$ %) à Daloa.

Pour les échantillons de variété *Mercedes*, les fèves fermentées sur le support F3 ($40,87 \pm 0,98$ %) ont présenté les concentrations les plus élevées, similaires à celles du support témoin F1 ($40,06 \pm 2,38$ %). Aucune différence significative n'a été observée par rapport au support témoin F1 dans les trois zones d'étude selon le test de Dunnett au seuil de 5 %.

La proportion d'acide linoléique se distinguait comme étant la plus faible parmi tous les acides gras identifiés. Elle oscillait entre 2 % et 3 % pour la variété *Forastero* dans les zones de San-Pédro et Daloa, tandis que pour les échantillons de variété *Mercedes*, cette proportion variait entre 2 % et 4 %, légèrement supérieure à celle de la variété *Forastero*. Les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($3,35 \pm 0,16$ %) à San-Pédro étaient comparables à celles fermentées sur les supports F3 ($3,19 \pm 0,19$ %), F4 ($3,27 \pm 0,00$ %) et F5 ($2,94 \pm 0,06$ %), montrant les proportions les plus élevées.

À Daloa, la plus grande proportion a été observée avec les fèves fermentées sur le support F4 ($3,53 \pm 0,02$ %), sans différence significative par rapport au support témoin F1 ($3,15 \pm 0,20$ %). Les fèves fermentées sur le support F3 ($3,74 \pm 0,17$ %) ont montré une proportion plus

élevée, similaire à celle observée avec les supports témoins F1 ($3,58 \pm 0,15$ %) et F5 ($3,17 \pm 0,01$ %), selon le test de Dunnett.

Tableau XXII: Composition en acides gras des beurres extraits, du profil en composés phénoliques et alcaloïdes puriques (Moy $\pm$ SD).

Supports	%AGL	C16 : 0	C18 : 0	AGS	C18 : 1	C18 : 2	AGI
F1SP(Té moin)	1,27 $\pm$ 0,05^a	28,57 $\pm$ 0,83^a	29,39 $\pm$ 2,37^a	57,97$\pm$1,53^a	38,67$\pm$1,36^a	3,35$\pm$0,16^a	42,02$\pm$1,53^a
F2 SP	1,59 $\pm$ 0,05 ^a	26,92 $\pm$ 0,01 ^a	33,16 $\pm$ 0,35 ^a	60,07 $\pm$ 0,37 ^a	37,09 $\pm$ 0,33 ^a	2,83 $\pm$ 0,03	39,92 $\pm$ 0,37 ^a
F3 SP	1,68 $\pm$ 0,03 ^a	28,74 $\pm$ 0,04 ^a	28,20 $\pm$ 0,71 ^a	56,93 $\pm$ 0,67 ^a	39,87 $\pm$ 0,47 ^a	3,19 $\pm$ 0,19 ^a	43,06 $\pm$ 0,67 ^a
F4 SP	1,59 $\pm$ 0,07 ^a	26,77 $\pm$ 0,23 ^a	30,97 $\pm$ 1,37 ^a	57,72 $\pm$ 1,14 ^a	39,00 $\pm$ 1,14 ^a	3,27 $\pm$ 0,00 ^a	42,27 $\pm$ 1,14 ^a
F5 SP	1,49 $\pm$ 0,04 ^a	27,39 $\pm$ 0,41 ^a	31,44 $\pm$ 2,19 ^a	58,82 $\pm$ 1,78 ^a	38,23 $\pm$ 1,71 ^a	2,94 $\pm$ 0,06 ^a	41,17 $\pm$ 1,78 ^a
F6 SP	1,77 $\pm$ 0,01 ^a	27,47 $\pm$ 0,64 ^a	32,37 $\pm$ 0,47 ^a	59,84 $\pm$ 0,17 ^a	37,34 $\pm$ 0,12 ^a	2,82 $\pm$ 0,05	40,15 $\pm$ 0,17 ^a
F1VA(Té moin)	1,03$\pm$0,12^a	28,12 $\pm$ 0,20^a	31,20 $\pm$ 1,08^a	59,31 $\pm$ 0,87^a	37,53 $\pm$ 0,66^a	3,15 $\pm$ 0,20^a	40,68 $\pm$ 0,87^a
F2 DA	1,12 $\pm$ 0,32 ^a	26,05 $\pm$ 0,39	34,07 $\pm$ 1,18 ^a	60,11 $\pm$ 0,78 ^a	37,22 $\pm$ 0,68 ^a	2,66 $\pm$ 0,09 ^a	39,88 $\pm$ 0,78 ^a
F3 DA	1,49 $\pm$ 0,28 ^a	28,15 $\pm$ 0,35 ^a	29,98 $\pm$ 0,06 ^a	58,12 $\pm$ 0,29 ^a	39,09 $\pm$ 0,08 ^a	2,78 $\pm$ 0,21 ^a	41,87 $\pm$ 0,29 ^a
F4 VA	1,03 $\pm$ 0,16 ^a	29,04 $\pm$ 0,17 ^a	27,04 $\pm$ 2,34 ^a	56,08 $\pm$ 2,16 ^a	40,38 $\pm$ 2,18 ^a	3,53 $\pm$ 0,02 ^a	43,91 $\pm$ 2,16 ^a
F5 DA	1,12 $\pm$ 0,16 ^a	26,77 $\pm$ 0,18	31,37 $\pm$ 4,83 ^a	58,14 $\pm$ 4,65 ^a	39,20 $\pm$ 4,60 ^a	2,65 $\pm$ 0,04 ^a	41,85 $\pm$ 4,65 ^a
F6 DA	1,12 $\pm$ 0,16 ^a	27,40 $\pm$ 0,28 ^a	33,18 $\pm$ 0,59 ^a	60,57 $\pm$ 0,31 ^a	36,62 $\pm$ 0,41 ^a	2,78 $\pm$ 0,09 ^a	39,42 $\pm$ 0,31 ^a
F1SB(Té moin)	1,40 $\pm$ 0,16^a	28,80 $\pm$ 1,10^a	27,56 $\pm$ 3,64^a	56,35 $\pm$ 2,54^a	40,06 $\pm$ 2,38^a	3,58 $\pm$ 0,15^a	43,64$\pm$2,54^a
F2 SB	1,56 $\pm$ 0,28 ^a	27,76 $\pm$ 0,42 ^a	32,28 $\pm$ 0,45 ^a	60,03 $\pm$ 0,02 ^a	36,96 $\pm$ 0,00 ^a	2,99 $\pm$ 0,03	39,96 $\pm$ 0,02 ^a
F3 SB	1,59 $\pm$ 0,16 ^a	29,51 $\pm$ 0,57 ^a	25,87 $\pm$ 1,72 ^a	55,38 $\pm$ 1,15 ^a	40,87 $\pm$ 0,98 ^a	3,74 $\pm$ 0,17 ^a	44,61 $\pm$ 1,15 ^a
F4 SB	1,66 $\pm$ 0,16	24,55 $\pm$ 0,38	34,75 $\pm$ 0,61 ^a	59,30 $\pm$ 0,22 ^a	37,67 $\pm$ 0,19 ^a	3,02 $\pm$ 0,03	40,69 $\pm$ 0,22 ^a
F5 SB	1,61 $\pm$ 0,00 ^a	27,47 $\pm$ 0,10 ^a	30,96 $\pm$ 0,36 ^a	58,43 $\pm$ 0,47 ^a	38,39 $\pm$ 0,46 ^a	3,17 $\pm$ 0,01 ^a	41,56 $\pm$ 0,47 ^a
F6 SB	1,70 $\pm$ 0,28 ^a	27,55 $\pm$ 0,99 ^a	31,61 $\pm$ 0,43 ^a	59,16 $\pm$ 0,56 ^a	37,99 $\pm$ 0,56 ^a	2,84 $\pm$ 0,00	40,83 $\pm$ 0,56 ^a

Pour chaque composant, les moyennes $\pm$ écart-types, Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1) avec un seuil de $p \leq 0,05$ selon le test de Dunnett ; %AGL : proportion en acide gras libre ; AGS : Acide gras saturé ; AGI : Acide gras insaturé ; feuille de bananier (F1) ; feuille de palmier(F2) ; cabosse de cacao(F3) ; bâche en polypropylène (F4) ; sac en polypropylène (F5) ; sac en jute (F6) ; SP : San-Pédro ; SB (Soubré) ; VA (Daloa)

1.3.1.3. Rapport des caractéristiques physico-chimiques et composition en matière grasse avec les supports appliqués

L'analyse en composante principale (ACP) a été entreprise sur le but de discriminer les différents supports de fermentation dans les différentes zones d'études selon les variations physico-chimiques évalués (Figure 53). Dans l'ensemble, les tracés des chargements et des scores montrent que les deux premières composantes principales (PC1 et PC2) expliquent plus de 60 % de la variabilité totale des données, avec une explication spécifique de 86,5 % à San-Pédro, 89 % à Soubré et 91,2 % à Daloa.

L'analyse du profil en acides gras du beurre de cacao a révélé la présence de différents groupes en fonction de leur prédominance. Dans la zone de San-Pédro (Figure 53 a), les

supports F2 et F6, corrélés négativement avec PC1, étaient associés à des fèves présentant des niveaux élevés d'acide palmitique et d'acides gras saturés. En revanche, les supports F4 et F3, corrélés positivement avec PC1, étaient caractérisés par des fèves riches en acide oléique, acide stéarique et acides gras insaturés. En outre, les fèves fermentées sur les supports F1 et F5, corrélés positivement avec PC1, ont montré une proportion accrue de beurre de cacao. Notamment, le support témoin F1, corrélé négativement avec PC2, présentait une faible teneur en acides gras libres comparativement aux autres supports.

À une similarité de 99,67 %, la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) intégrant toutes les données de caractérisation des différents beurres extraits a permis d'identifier trois principaux clusters. Les fèves fermentées sur les supports F6, F5 et F4, étroitement liées au support témoin F1, formaient le premier groupe, caractérisé par des valeurs élevées de pourcentage de lipides, C18, acides gras saturés et insaturés. Quant aux fèves fermentées sur les supports F3 et F2, constituant les deuxièmes et troisièmes groupes, elles se distinguaient par leurs niveaux de C18 : 1 et de pourcentage d'acides gras libres.

Quant à la zone de Daloa (Figure 53 b), les supports F6 et F2, corrélés négativement avec PC1, étaient associés à des fèves présentant des proportions plus élevées d'acides gras saturés et d'acide stéarique. En revanche, le support F4 était caractérisé par des fèves riches en acides gras insaturés, en acide oléique et en acide linoléique. F3 et F5 étaient corrélés positivement avec PC2, se distinguaient par des fèves ayant des pourcentages plus élevés de beurre de cacao et d'acides gras libres. La CHA a révélé, avec une similarité de 99,53 %, la présence de deux principaux clusters. Le premier regroupe les fèves fermentées sur les supports F4 et le support témoin F1, caractérisés par des proportions de C18 : 2 et C16 : 0. Le deuxième groupe est constitué des fèves fermentées sur les supports F2, F6, F3 et F5, distinguées par leurs pourcentages en acides gras libres, lipides, C18 : 0, acides gras saturés et insaturés.

Dans la zone de Soubré (Figure 53 c), les supports F2, F6, F4 et F5, corrélés négativement avec PC1, étaient associés à des fèves présentant des proportions plus élevées d'acides gras saturés et d'acide palmitique. En revanche, le support F3, corrélé positivement avec PC1, se distinguait par des fèves ayant des proportions plus élevées de beurre de cacao, d'acides gras insaturés, d'acide linoléique et d'acide oléique. Le support F1, quant à lui, présente une proportion plus faible d'acides gras libres. La CHA a révélé, avec une similarité de 99,57 %, la présence de deux principaux clusters. Le premier regroupe les fèves fermentées sur le support F3 et le témoin F1, caractérisés par leurs compositions en lipides, C18 : 1, C16 : 0, acides gras insaturés et C18 : 2. Le deuxième groupe est constitué des fèves fermentées sur les

supports F2, F5, F6 et F4, distingués par leurs proportions en acides gras libres, acides gras saturés et C18 : 0.

Une analyse de corrélation de Pearson a été réalisée en combinaison avec l'analyse en composantes principales (ACP) pour examiner la relation entre la teneur en beurre de cacao et les différentes caractéristiques des fèves fermentées sur les six supports de fermentation dans chaque zone d'étude. Cette approche a permis d'approfondir la compréhension des interactions entre ces variables. Les matrices de corrélation ont été examinées pour évaluer les relations entre la teneur en beurre et le profil en acides gras dans chaque zone. Les valeurs en rouge indiquent une forte corrélation négative ($\leq -0,70$) entre deux variables, tandis que celles en bleu représentent une forte corrélation positive ($\geq 0,70$). De nombreuses relations significativement positives ont été observées entre les paramètres. Dans tous les échantillons analysés, une corrélation significativement positive a été observée entre C16, C18 : 1, C18 : 2 et les acides gras insaturés (AGI), ainsi qu'entre C18 et les acides gras saturés (AGS). De plus, des corrélations significatives ont été trouvées entre C18 : 1, C18 : 2 et AGI, ainsi qu'entre C18 : 2 et AGI.

Cependant, il a été noté que les fèves de la variété *Mercedes* ont montré une corrélation significativement négative entre la teneur en beurre et la proportion en acides gras libres, contrairement aux fèves de la même variété prélevée à Soubré. Par ailleurs, des corrélations négatives importantes ont été observées, notamment entre C6 et C16 : 1, ainsi qu'entre C18 : 2 et AGI. De plus, des corrélations négatives ont été identifiées entre C18 et AGS, avec C18 : 1, C18 : 2 et AGI.

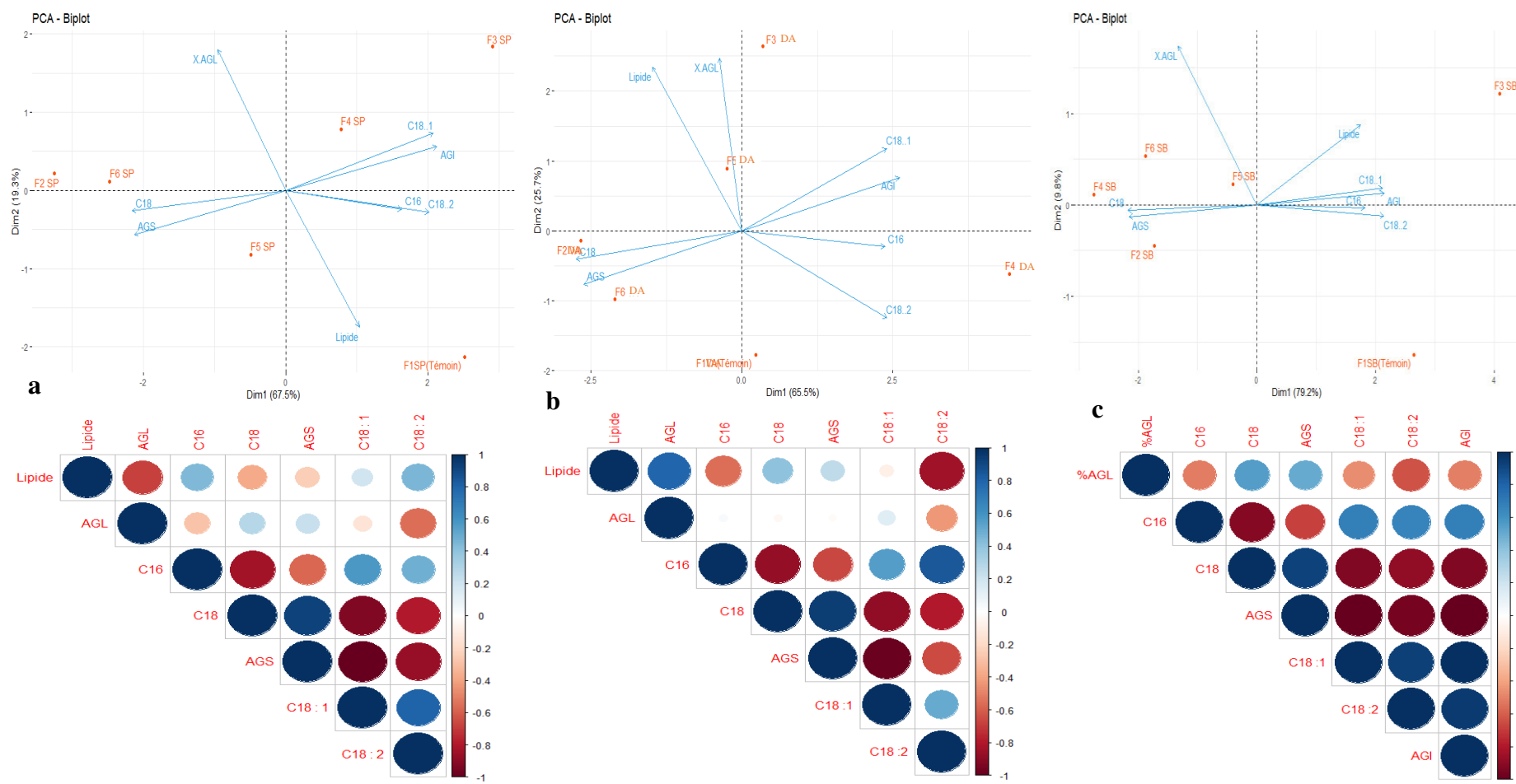


Figure 53: Interaction de la teneur en beurre de cacao et son profil en fonction du support de fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; VA : Daloa ; SB : Soubré ; a : zone de San-Pédro ; b : zone de Soubré ; c : zone de Daloa

L'analyse de la similarité entre les différents supports de fermentation (CHA) révèle que deux grands groupes pour chacune des zones (Figure 54). La zone de San-Pédro regroupe d'une part les fèves fermentées sur les supports F4, F5 et F6 dans le même groupe que F1 (Témoin) et d'autre part celles des fèves fermentées sur les supports F3 et F2. À Daloa, se sont les fèves fermentées sur le support F4 qui étaient plus similaires à F1 formant le groupe 1 tandis que le deuxième groupe était formé des fèves fermentées sur les supports F2, F6, F3 et F5. En revanche, dans la zone de Soubré, les fèves fermentées sur les supports F3 ont présentées des caractéristiques plus similaires à celles du support témoin formant le premier groupe. Les supports F2, F4, F5 et F6 ont formés le second groupe.

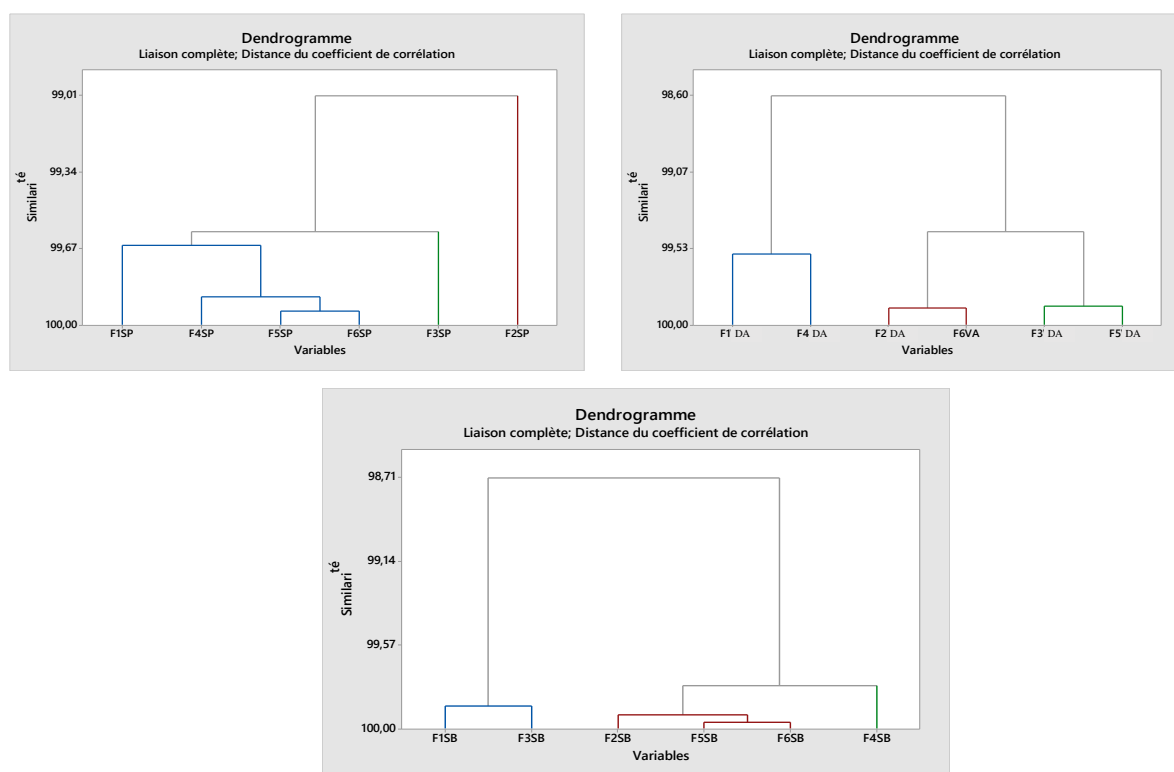


Figure 54: Analyse de similarité entre les différents supports de fermentation dans les trois zones d'étude

1.3.2. Teneur en minéraux des fèves de cacao analysées

La concentration en minéraux dans les fèves de cacao fermentées et séchées a été regroupée dans un heat mape (Figure 55). Les minéraux identifiés ont été regroupés en trois catégories principales : les macroéléments tels que le phosphore (P), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le potassium (K) et le sodium (Na) ; ensuite les métaux lourds comprenant le cadmium (Cd), le mercure (Hg), le plomb (Pb) et l'arsenic (As) ; et enfin les Oligoéléments tels que le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le zinc (Zn), le cobalt (Co), le fer (Fe), le

manganèse (Mn), l'aluminium et le molybdène (Mo). Dans l'ensemble, les fèves fermentées dans la cabosse de cacao ont présenté des teneurs plus importantes pour les tous minéraux analysés.

La proportion en macroéléments (Figure 55 a) était similaire pour les deux variétés, suivant la hiérarchie suivante : $K > Mg > Ca > P > Na$. La proportion de potassium était plus élevée, oscillant entre 0,68 et 1,02 % de matière brute (MB). Dans les zones de San-Pédro et Daloa, les concentrations variaient de 0,72 à 1,02 % MB, tandis qu'à Soubré, elles étaient comprises entre 0,75 et 0,98 % MB. Les concentrations les plus élevées ont été retrouvées dans les fèves fermentées sur le support F3, avec respectivement 1,02 % MB à San-Pédro et Daloa, et 0,98 % MB à Soubré.

La concentration en magnésium variait entre 0,24 et 0,37 % MB, soit entre 0,24 et 0,36 % MB à San-Pédro et Daloa, et entre 0,24 et 0,37 % MB à Soubré. Les fèves fermentées sur le support F3 enregistré des valeurs similaires de 0,36 % MB dans les deux zones, et de 0,29 % MB sur le support F6 également. Par ailleurs, les fèves fermentées sur le support F3 présentaient la concentration la plus élevée avec 0,37 % MB dans la zone de Soubré.

La plage de concentrations du calcium variait de 0,12 à 0,86 % de matière brute (MB). À San-Pédro et Daloa, sa proportion était comprise entre 0,14 et 0,86 % MB, tandis qu'à Soubré, elle variait entre 0,12 et 0,14 % MB. Les fèves fermentées sur les supports F6 (0,86 % MB) ont présentées la plus grande proportion à San Pédro. Cependant, celles de F5 (0,14 % MB), F4 (0,13 % MB) et F2 (0,13 % MB) étaient pratiquement similaires à San-Pédro et Daloa. À Soubré, les concentrations les plus importantes ont été observées dans les fèves fermentées sur les supports F5 (0,14 % MB), F2 (0,14 % MB) et F6 (0,14 % MB).

La proportion de phosphore variait de 0,10 à 0,15 % de matière brute (MB). Les fèves fermentées sur le support F3 présentaient la proportion la plus élevée avec 0,15 % MB, dans les zones de San-Pédro et Daloa tandis que dans zone de soubré ce sont celles fermentées sur le support F6 (0,15 % MB). En revanche, la concentration en sodium était la plus faible, variant entre 0,04 et 0,05 % MB dans les trois zones d'étude.

La teneur en métaux lourds observée dans tous les échantillons analysés était très faible (Figure 55 b). Cependant, le cadmium et le plomb présentaient des concentrations légèrement plus élevées. Le mercure était généralement présent en très faible concentration, tandis qu'aucune trace d'arsenic n'a été détectée dans tous les échantillons. La concentration de plomb oscillait entre 0,1 et 0,18 mg/kg de matière brute (MB). À San-Pédro, les valeurs étaient comprises entre 0,1 et 0,18 mg/kg MB, à Daloa entre 0,04 et 0,1 mg/kg MB, et à Soubré entre

0,05 et 0,1 mg/kg MB. Les fèves fermentées sur le support F1 à San-Pédro (0,18 mg/kg MB), sur le support F3 à Daloa (0,1 mg/kg MB), et sur le support F3 à Soubré (0,1 mg/kg MB) ont présentées des concentrations la plus élevées.

La concentration de cadmium variait entre 0,07 et 0,11 mg/kg de matière brute (MB) dans d'ensemble. Sa concentration variait entre 0,09 et 0,11 mg/kg MB à San-Pédro avec une prodominance dans les fèves fermentées sur le support F4 (0,11 mg/kg MB). Par ailleurs, dans les zones de Daloa et de Soubré elle varie entre 0,07 et 0,10 mg/kg MB avec une teneur plus élevée avec le support F3 (0,10 mg/kg MB).

Les oligoéléments (Figure 55 c) évalués présentaient des concentrations les plus élevées de l'ensemble des minéraux analysés, comprenant le chrome, le cuivre, le nickel, le zinc, le cobalt, le fer, le manganèse, l'aluminium et le molybdène avec une hiérarchie suivante : Zn > Fe > Al > Cu > Mg > Ni > Co > Cr > Mo.

La concentration de chrome et de cobalt dans tous les échantillons analysés était presque minimale, avec des valeurs respectives allant de 0 à 1 mg/kg MB pour le chrome et de 1 à 3 mg/kg MB pour le cobalt. Le molybdène n'a été détecté qu'à des niveaux négligeables sur le support F2 à San-Pédro, avec une concentration de 0,07 mg/kg MB.

Par ailleurs, la concentration en zinc a été la plus élevée dans l'ensemble, variant entre 37 et 56 mg/kg MB. À San-Pédro et Soubré, les concentrations étaient comprises entre 41 à 49 mg/kg MB, tandis qu'à Daloa, elles étaient comprises entre 37 à 54 mg/kg MB. Les fèves fermentées sur le support F3 présentaient les concentrations les plus élevées dans les trois zones d'étude avec des valeurs respectives de 56 mg/kg MB à San-Pédro, 54 mg/kg MB à Daloa et 49 mg/kg MB à Soubré. À l'inverse, les fèves fermentées sur le support témoin (F1) montraient des concentrations de 44 mg/kg MB à San-Pédro, 41 mg/kg MB à Soubré et 37 mg/kg MB à Daloa.

La teneur en fer a été comprise entre 33 et 48 mg/kg de matière brute (MB). Les concentrations variaient de 33 à 39 mg/kg MB à San-Pédro, de 33 à 48 mg/kg MB à Soubré, et de 36 à 50 mg/kg MB à Daloa. Les fèves fermentées sur le support F3 présentaient les concentrations les plus élevées dans les trois zones d'étude, avec respectivement 39 mg/kg MB à San-Pédro, 48 mg/kg MB à Soubré, et 50 mg/kg MB à Daloa. En comparaison, les fèves fermentées sur le support témoin (F1) montraient des concentrations de 37 mg/kg MB à San-Pédro, 36 mg/kg MB à Soubré, et 38 mg/kg MB à Daloa.

La concentration en aluminium mesurée variait entre 15 et 40 mg/kg de matière brute (MB). À San-Pédro, les teneurs allaient de 21 à 40 mg/kg MB, à Soubré de 17 à 38 mg/kg MB, et à Daloa de 15 à 37 mg/kg MB. Les fèves fermentées sur le support F5 ont présenté la

concentration la plus élevée à San-Pédro, avec 40 mg/kg MB. En revanche, les échantillons prélevés à Soubré et Daloa ont montré des concentrations maximales dans les fèves fermentées sur le support F3, avec respectivement 38 mg/kg MB et 37 mg/kg MB.

Quant au cuivre sa concentration variait entre 18 et 26 mg/kg de matière brute (MB), avec des valeurs allant de 18 à 26 mg/kg MB à San-Pédro, de 18 à 26 mg/kg MB à Soubré, et de 19 à 23 mg/kg MB à Daloa. Les fèves fermentées sur le support F3 présentaient des concentrations de 23 mg/kg MB à San-Pédro, 26 mg/kg MB à Soubré, et 25 mg/kg MB à Daloa.

Pour le manganèse, les concentrations analysées variaient entre 12 et 22 mg/kg MB, avec des teneurs allant de 12 à 22 mg/kg MB à San-Pédro, de 15 à 18 mg/kg MB à Soubré, et de 15 à 22 mg/kg MB à Daloa. Les plus fortes concentrations ont été enregistrées dans les fèves fermentées sur les supports F3 (22 mg/kg MB) et F5 (22 mg/kg MB) à San-Pédro, F6 (18 mg/kg MB) à Soubré, ainsi que F5 (17 mg/kg MB) et F2 (17 mg/kg MB) à Daloa.

La concentration en nickel variait entre 4,5 et 8,1 mg/kg de matière brute (MB) dans l'ensemble des échantillons. Plus spécifiquement, les concentrations allaient de 4,5 à 5,3 mg/kg MB à San-Pédro, de 6,5 à 8,1 mg/kg MB à Soubré, et de 4,8 à 5,8 mg/kg MB à Daloa. Les fèves fermentées sur les supports F5 (5,3 mg/kg MB) et F6 (5,3 mg/kg MB) à San-Pédro, sur le support F6 (8,1 mg/kg MB) à Soubré, et sur les supports F4 (5,3 mg/kg MB), F5 (5,7 mg/kg MB) et F6 (5,8 mg/kg MB) à Daloa, ont affiché les concentrations les plus élevées.

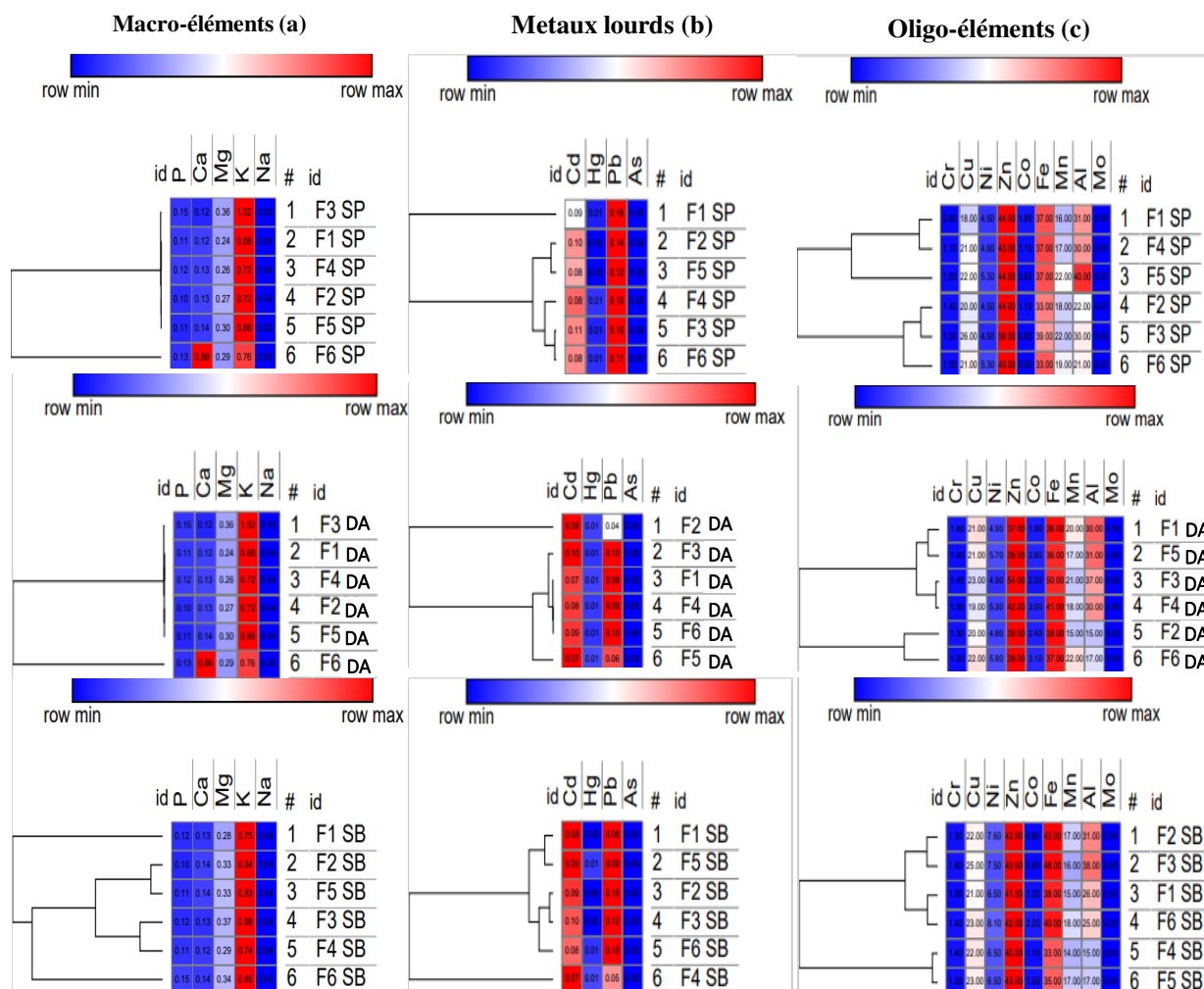


Figure 55: Composition en minéraux des fèves de cacao

En rouge, sont les variables les plus dominantes alors que les variables en bleu sont les plus faibles ; MB : matière brute ; F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro ; a : macroéléments ; b : oligoéléments, c : métaux lourds.

1.3.3. Interdépendance de la composition en minéraux des fèves de cacao avec les différents supports de fermentation

Dans l'ensemble, les chargements et les scores des deux premières composantes principales (PC1 et PC2) montrent qu'elles expliquent plus de 60 % de la variabilité totale des données (Figure 56).

À San-Pédro, elles expliquent 63,9 %, à Soubré 73,1 %, et à Daloa 73,2 % de la variabilité. Les supports F3 et F5 montrent une corrélation positive significative avec PC1 (39,2 %), contrairement aux supports F2 et F4 ne présentent pas cette corrélation dans la zone de San-Pédro (Figure 56 a). En revanche, le support témoin (F1) est positivement corrélé avec PC2 (24,7 %), contrairement au support F6. Les fèves fermentées en F6 ont montré une

concentration plus importante en calcium (Ca) et Nickel (Ni) tans disque les autres minéraux étaient inégalement repartis dans les fèves fermentées sur les autres supports. Cependant, le plus grand nombre de minéraux étaient plus concentrés avec les fèves fermentées dans le support F3. L'analyse biplot révèle que le support témoin F1 a des fèves de concentrations plus élevées en cobalt (Co) et en plomb (Pb). Les supports F4 et F2 présentant des concentrations similaires en molybdène (Mo), tandis que le support F6 est caractérisé par des fèves plus riches en chrome, vanadium et nickel (Cr, Va et Ni). Le support F5, quant à lui, est associé à des fèves contenant des concentrations dominantes en sodium (Na) et molybdène (Mo). Le support F3 confirme sa plus grande concentration en ces minéraux, avec des fèves montrant une concentration plus élevée en cadmium (Cd), fer (Fe), zinc (Zn), potassium (K), calcium (ça), magnésium (Mg), manganèse (Mn) et phosphore (P). Le dendrogramme obtenu révèle trois principaux groupes de supports. Le premier groupe est formé par les fèves fermentées sur le support F4, plus proches de celles du support témoin F1. Le deuxième groupe comprend les fèves fermentées sur le support F5. Enfin, le dernier groupe est constitué des fèves fermentées sur les supports F2, F3 et F6.

A Daloa (Figure 56 b), F3 est positivement corrélé à PC1 (47,1 %), contrairement à F2, F1, F4 et F5. F6 est corrélé positivement à PC2 (26 %). L'analyse de la variabilité montre que les fèves issues de F6 sont plus concentrées en Co, Ni et Ca. En revanche, celles du support F3 sont principalement riches en Al, Fe, Zn, K, Mg, Cu, P, Cd, Pb, Mn et Na. Les supports F5 et F4 présentent des fèves de faible concentration en Al et Fe, tout comme celles sur F2 et F1 en Na, Mn et Pb. Le dendrogramme obtenu révèle trois groupes distincts : le groupe 1 comprend les fèves fermentées sur les supports F1 et F5, le groupe 2 celles des supports F3 et F4, et enfin le groupe 3 est constitué des fèves fermentées sur les supports F2 et F6.

L'analyse des échantillons de variété Mercedes à Soubré, révèle que F1 et F2 sont positivement corrélés avec PC1 (51,7 %), contrairement aux supports F4 et F (Figure 56 c). Les supports F6 et F5 sont positivement corrélés avec PC2 (20,5 %). Les fèves fermentées sur le support F3 présentent des concentrations plus élevées en Al, Zn, Cd, Cr, Fe, K et Cu. En revanche, celles des supports F4 et F1 montrent une plus grande concentration en Mg et Pb, tandis que celles sur le support F6 sont plus riches en P, ça, Mn et ça. Enfin, les fèves fermentées sur le support F5 montrent une concentration accrue en Hg et Na. Le dendrogramme indique que les fèves fermentées sur le support F6 étaient plus similaires à celles sur le support témoin, formant le premier groupe. Ensuite, les fèves fermentées sur les supports F2 et F3 constituent le deuxième groupe, tandis que celles sur les supports F4 et F5 forment le dernier groupe.

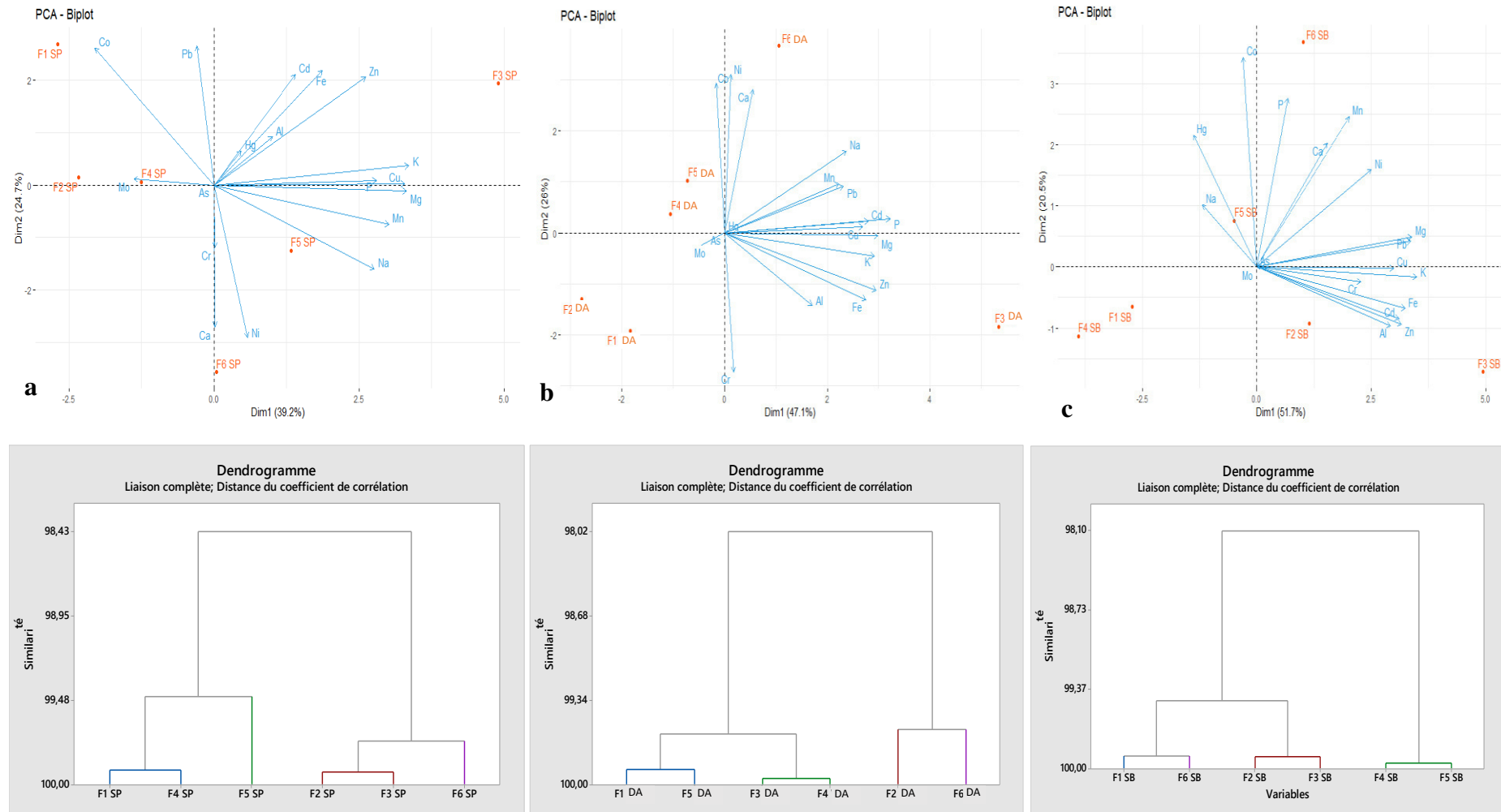


Figure 56: Interdépendance de la teneur en minéraux en fonction support de fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro

1.3.4. Composition en fibres des fèves de cacao

La teneur en fibre totale des échantillons analysés variait entre 37,30 et 81,30 %, avec une différence significative ($P < 0,05$), (Tableau XXIII). Les fèves de variété *Forastero* dans les zones de San-Pédro et Daloa ont révélé une proportion plus élevée en fibre (62 % et 81 %, respectivement) soit deux fois celle de la variété *Mercedes* à Soubré (37 % et 44 %).

Dans la zone de San-Pédro, la proportion en fibres des échantillons oscillait entre 62 % et 75 %. La plus grande proportion a été observée dans les fèves fermentées sur les supports F1 et F5 respectivement $75,09 \pm 0,35$ % et $75,69 \pm 0,72$ %, tandis que celles fermentées sur le support F3 ($62,10 \pm 0,23$ %) présentait la plus faible proportion. Dans la zone de Daloa, la proportion variait de 66 % à 81 %. Les fèves fermentées sur le support F5 ($81,30 \pm 0,05$ %) avaient la plus grande en comparaison avec celle du support témoin (F1 ; $74,83 \pm 0,64$ %), tandis que celles fermentées sur le support F2 ($66,00 \pm 0,34$ %) affichaient la plus faible proportion. À Soubré, la proportion la plus élevée a été observée avec les fèves fermentées sur le support F4 ($44,21 \pm 0,29$ %), tandis que la plus faible proportion était enregistrée sur celles fermentées sur le support F6 ($37,30 \pm 0,24$ %). Par ailleurs, aucune différence n'a été observée avec les fermentées sur le support F2 ($43,43 \pm 0,48$ %) en comparaison avec celles du support témoin F1 ($42,97 \pm 0,20$ %).

Les fractions de fibres insolubles (cellulose, hémicellulose et lignine) analysées dans les trois zones d'étude, ont présenté des distributions significativement variées (Tableau XXIII). La proportion d'hémicellulose s'est révélée plus importante, oscillant entre 21 et 58 % avec une différence statistiquement significative ($P < 0,05$), (Tableau XXIII). Les résultats ont montré que les fèves fermentées sur le support F5 à San-Pédro et Daloa avaient une proportion plus élevée de la variété *Forastero*, respectivement de $46,51 \pm 0,49$ % et $63,06 \pm 0,07$ %. Avec la variété *Mercedes* à Soubré, la plus grande proportion a été enregistrée avec les fèves fermentées sur le support F4 ($27,34 \pm 0,19$ %). Cependant, en comparaison avec les fèves du support F1, les fèves fermentées sur le support F6 à San-Pédro et Daloa n'ont pas présenté de différences significatives (Dunnett ; $\alpha = 0,05$).

En ce qui concerne la cellulose, sa proportion était moyenne et variait entre 9 et 20 % avec des différences significatives ($P < 0,05$), (Tableau XXIII). Les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($19,57 \pm 0,21$ %) et F5 ($19,34 \pm 0,20$ %) à San-Pédro sans aucune différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). A Daloa, la concentration maximale a été enregistrée avec les fèves fermentées sur le support F4 ($13,23 \pm 0,21$ %) significativement différent de celle du support témoin F1 ($19,57 \pm 0,21$ %). Par ailleurs, aucune différence significative n'a été

observée avec les fèves fermentées sur les supports F3 ($10,81 \pm 0,10\%$) et F6 ($11,40 \pm 0,08 \%$) en comparaison avec le celle du support témoin F1 ($10,56 \pm 0,80 \%$). Les fèves issues de la variété *Mercedes* à Soubré ont montré une prédominance avec les fèves fermentées sur le support F3 ($12,21 \pm 0,08 \%$) comparé a celles du support témoin F1 ($11,17 \pm 0,05 \%$).

D'autre part, la proportion en lignine était comprise entre 4 et 13 %, inférieure à celle des celluloses et des hémicelluloses (Tableau XXIII). Cependant, la plus grande proportion a été observée avec les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($12,74 \pm 0,32 \%$) dans la zone de San-Pédro sensiblement égale à celles de fèves fermentées sur le support F5 ($75,69 \pm 0,72 \%$). Les fèves fermentées sur les supports F2 ($8,89 \pm 0,18 \%$) et F4 ($8,84 \pm 0,72 \%$) étaient prédominantes dans la zone de Daloa avec une différence significative en comparaison aux fèves fermentées sur le support témoin F1 ($6,83 \pm 0,13 \%$). Les résultats de l'analyse avec les fèves de la variété *Mercedes* dans la zone de Soubré ont montré une proportion plus faible comparé à la valeur maximale enregistrée avec la variété *Forastero*. Les fèves du support F1 ($7,09 \pm 0,02 \%$) étaient plus concentrées avec des différences significatives en comparaison des fèves fermentées sur les autres supports fermentation.

Tableau XXIII: Composition en fibres des fèves de cacao (Moy $\pm$ SD)

Échantillons	% hémicellulose	% cellulose	% lignine	Total extraits en fibre
F1 SP(Témoin)	$42,72 \pm 0,09^a$	$19,57 \pm 0,21^a$	$12,74 \pm 0,32^a$	$75,09 \pm 0,35^a$
F2 SP	$38,31 \pm 0,69$	$16,86 \pm 0,12$	$10,48 \pm 0,09^a$	$65,645 \pm 0,66$
F3 SP	$40,23 \pm 0,23$	$13,46 \pm 0,13$	$8,41 \pm 0,130$	$62,10 \pm 0,23$
F4 SP	$37,89 \pm 0,10$	$15,20 \pm 0,05$	$9,40 \pm 0,03^a$	$62,48 \pm 0,08$
F5 SP	$46,51 \pm 0,49$	$19,34 \pm 0,20^a$	$9,84 \pm 0,03^a$	$75,69 \pm 0,72^a$
F6 SP	$42,91 \pm 0,02^a$	$15,78 \pm 0,14$	$10,33 \pm 0,33^a$	$69,02 \pm 0,17$
F1 DA(Témoin)	$57,43 \pm 0,03^a$	$10,56 \pm 0,80^a$	$6,83 \pm 0,13^a$	$74,83 \pm 0,64^a$
F2 DA	$43,55 \pm 0,05$	$13,48 \pm 0,20$	$8,89 \pm 0,18$	$66,00 \pm 0,34$
F3 DA	$54,80 \pm 0,11$	$10,81 \pm 0,10^a$	$6,50 \pm 0,01^a$	$72,12 \pm 0,20$
F4 DA	$56,05 \pm 0,51$	$13,23 \pm 0,21$	$8,84 \pm 0,72$	$78,12 \pm 0,12$
F5 DA	$63,06 \pm 0,07$	$11,74 \pm 0,14$	$6,48 \pm 0,02^a$	$81,30 \pm 0,05$
F6 DA	$57,84 \pm 0,34^a$	$11,40 \pm 0,08^a$	$7,19 \pm 0,10^a$	$76,44 \pm 0,32$
F1 SB(Témoin)	$24,71 \pm 0,13^a$	$11,17 \pm 0,05^a$	$7,09 \pm 0,02^a$	$42,97 \pm 0,20^a$
F2 SB	$26,89 \pm 0,11$	$10,34 \pm 0,27$	$6,20 \pm 0,10$	$43,43 \pm 0,48^a$
F3 SB	$26,28 \pm 0,59$	$12,21 \pm 0,08$	$7,38 \pm 0,03$	$45,87 \pm 0,7$
F4 SB	$27,34 \pm 0,19$	$10,27 \pm 0,03$	$6,60 \pm 0,12$	$44,21 \pm 0,29$
F5 SB	$26,16 \pm 0,20$	$10,03 \pm 0,03$	$4,82 \pm 0,07$	$41,01 \pm 0,10$
F6 SB	$21,8 \pm 0,14$	$9,35 \pm 0,09$	$6,08 \pm 0,01$	$37,30 \pm 0,24$

Pour chaque composant, les moyennes $\pm$ écart-types, Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1) avec un seuil de $p \leq 0,05$ selon le test de DUNNETT ; feuille de bananier (F1) ; feuille de palmier(F2) ; cabosse de cacao(F3) ; bâche en polypropylène (F4) ; sac en polypropylène (F5) ; sac en jute (F6) ; SP : San-Pédro ; SB (Soubré) ; VA (Daloa)

1.3.5. Profils des composés phénoliques

La concentration en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins totaux d'une part et d'autre part les résultats des composés phénoliques et des alcaloïdes est présenté dans le Tableau XXIV.

Les résultats des analyses des fèves de variété *Forastero* ont montré des concentrations de polyphénols totaux variant de $54,67 \pm 1,93$ à $74,22 \pm 2,06$ mg/g EqAG, similaires aux concentrations de tanins totaux qui varient de $54,60 \pm 1,93$ à $74,12 \pm 2,06$ mg/g EqAT. Ces valeurs étaient comparables à celles enregistrées pour les fèves de variété *Mercedes*, avec des teneurs en polyphénols totaux et en tanins totaux variant respectivement de $69,94 \pm 2,04$ à $74,03 \pm 0,65$ mg EqAG/g et de $69,86 \pm 2,05$ à $73,97 \pm 0,65$ mg EqAT/g.

Les concentrations les plus élevées ont été observées avec les fèves fermentées sur le support F5 ($74,78 \pm 3,67$ mg/g EqAG ; $74,72 \pm 3,67$ mg/g EqAT) à San-Pédro. Aucune différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) n'a été observée entre les fèves fermentées sur le support témoin et les autres supports.

Les fèves fermentées sur le support F3 ($74,22 \pm 2,06$ mg/g EqAG ; $74,12 \pm 2,06$ mg/g EqAT) à Daloa présentaient la plus grande concentration en polyphénols et tanins, significativement différente de celle du support témoin F1 ($54,67 \pm 1,93$ mg/g EqAG ; $54,6 \pm 1,93$ mg/g EqAT). Dans la zone de Soubré, les fèves fermentées sur le support F4 ($74,03 \pm 0,65$ mg EqAG/g) ont montré la plus grande concentration, significativement différente de celle de F1 ($70,62 \pm 2,69$ mg EqAG/g ; $70,55 \pm 2,69$ mg EqAT/g).

La concentration en flavonoïdes (Tableau XXIV) s'est révélée supérieure à celle des polyphénols et des tanins totaux dans l'ensemble sur les trois zones d'étude. Les niveaux varient de 37,61 à 160 mg/g EqQ à travers les différentes zones d'étude, avec des différences significatives ($p < 0,05$). Les analyses des fèves de variété *Forastero* dans la zone de Daloa ont montré des concentrations variant de $37,61 \pm 4,95$ à $65,24 \pm 0,15$ mg/g EqQ, inférieures à celles observées dans la zone de San-Pédro ($50,25 \pm 1,49$ à $113,42 \pm 1,71$ mg/g EqQ).

Dans la zone de Soubré, les échantillons de la variété *Mercedes* ont montré des concentrations en flavonoïdes supérieures à celles de la variété *Forastero*, variant de $100,17 \pm 2,43$ à $160,41 \pm 1,09$ mg/g EqQ. Cependant, les fèves fermentées sur les supports F6 ($113,42 \pm 1,71$ mg/g EqQ), F5 ($108,06 \pm 10,41$ mg/g EqQ) et F4 ($88,06 \pm 11,29$ mg/g EqQ) ne présentaient pas de différence significative ($\alpha = 0,05$) par rapport à celles du témoin F1 ($94,72 \pm 1,83$ mg/g EqQ) à San-Pédro. De même, la teneur en flavonoïdes des fèves fermentées sur les supports F5

($43,11 \pm 3,58$ mg/g EqQ) et F4 ($37,61 \pm 4,95$ mg/g EqQ) n'était pas significativement différente (test de Dunnett ; $\alpha = 0,05$) de celle du témoin F1 ($38,47 \pm 4,22$ mg/g EqQ) à Daloa.

Cependant, la plus haute concentration a été observée chez les fèves fermentées sur le support F6 ($65,24 \pm 0,15$ mg/g EqQ). Concernant les fèves de variété *Mercedes*, celles fermentées sur le support F6 ($160,41 \pm 1,09$ mg/g EqQ) ont montré la concentration la plus élevée. En revanche, comparées aux fèves fermentées sur le support témoin F1 ($100,17 \pm 2,43$ mg/g EqQ), celles sur le support F5 ($100,65 \pm 2,67$ mg/g EqQ) présentaient des concentrations pratiquement identiques. Les concentrations des composés phénoliques (catéchine et épicatechine) ainsi que des alcaloïdes (théobromine et caféine) sont répertoriées dans le Tableau XXIV. Un exemple de chromatogramme obtenu au cours de l'analyse est illustré dans la Figure 57.

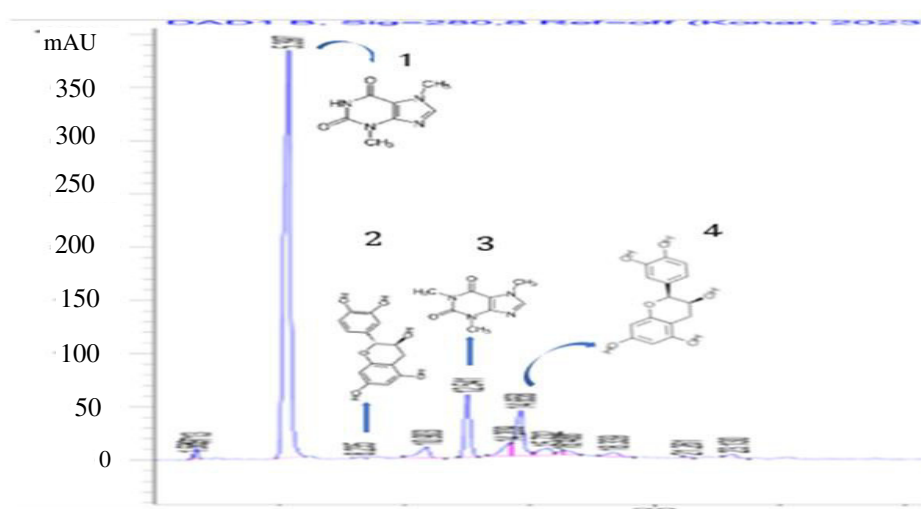


Figure 57: Chromatogrammes des composés phénoliques et des alcaloïdes

1 : théobromine ; 2 : catéchine ; 3 : Caféine ; 4 : Epicatechine

La théobromine s'est révélée être l'alcaloïde le plus prédominant montrant un pic plus élevé (Figure 57), avec des concentrations variant de 6 à 17 mg/g (Tableau XXIV), avec une différence significative ($P < 0,05$). Les fèves fermentées sur le support F3 ont montré une concentration plus élevée de théobromine dans les deux variétés, avec une légère prépondérance pour la variété *Mercedes*. Les concentrations observées étaient respectivement de $15,27 \pm 0,1$ mg/g à San-Pédro, $12,91 \pm 0,09$ mg/g à Daloa et $17,03 \pm 0,06$ mg/g à Soubré. Cependant, comparées aux fèves fermentées sur le support témoin, celles sur les autres supports ont montré une différence significative ($\alpha = 0,05$) à San-Pédro et à Daloa. Par ailleurs, les concentrations de théobromine dans les fèves fermentées sur l'ensemble des supports, à l'exception de celles

fermentées dans les cabosses de cacao, étaient sensiblement égales sans différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) par rapport à celles fermentées sur le support témoin F1.

La concentration de caféine variait entre 1 et 4 mg/g (Tableau XXIV) sur l'ensemble des supports de fermentation, avec des différences significatives ($P < 0,05$). Les fèves fermentées sur le substrat F4 ($3,83 \pm 0,0$ mg/g) à San-Pédro présentaient une concentration plus élevée de caféine que celles fermentées sur le substrat témoin F1 ($2,96 \pm 0,04$ mg/g), cette différence étant statistiquement significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$).

En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les fèves fermentées sur le substrat F3 ($3,18 \pm 0,01$ mg/g) et celles sur le substrat témoin F1. Les fèves fermentées sur le substrat F3 à Daloa et à Soubré ont montré des concentrations de caféine plus élevées, respectivement de $2,26 \pm 0,1$ mg/g et $2,36 \pm 0,1$ mg/g. En revanche, les fèves fermentées sur le substrat témoin F1 à Daloa ($1,95 \pm 0,05$ mg/g) et à Soubré ($1,78 \pm 0,02$ mg/g) ont présenté des concentrations plus faibles (Dunnett ; $\alpha = 0,05$).

L'analyse des composés phénoliques a révélé que la teneur moyenne en catéchine variait entre 0 et 2 mg/g (Tableau XXIV), avec des différences significatives à $P < 0,05$. Les concentrations les plus élevées ont été observées dans les fèves fermentées sur le support F2 pour les variétés *Forastero* à San-Pédro ($1,5 \pm 0,5$ mg/g) et à Daloa ($1,27 \pm 0,10$ mg/g). À Soubré, pour la variété *Mercedes*, la concentration la plus élevée a été enregistrée sur le support témoin F1 ($1,70 \pm 0,20$ mg/g). Aucune différence significative n'a été constatée entre les fèves fermentées sur les substrats F3 ($0,95 \pm 0,06$ mg/g), F4 ($0,98 \pm 0,02$ mg/g) et celles du support témoin F1 ($0,83 \pm 0,07$ mg/g) dans la zone de San-Pédro. La présence de catéchine a été détectée uniquement dans les fèves fermentées sur le substrat F2 à Daloa et à Soubré.

La teneur en épicatechine a montré une variation entre 0,48 et 6,25 mg/g, avec une différence significative à $P < 0,05$ (Tableau XXIV). Les fèves fermentées sur le substrat F3 ont présenté les concentrations les plus élevées en épicatechine pour les deux variétés, atteignant respectivement $5,57 \pm 0,03$ mg/g à San-Pédro, $2,46 \pm 0,1$ mg/g à Daloa, et $6,25 \pm 0,25$ mg/g à Soubré, avec des différences significatives par rapport aux fèves fermentées sur le substrat témoin. Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les fèves fermentées sur les substrats F2 ($1,7 \pm 0,2$ mg/g) et F5 ($1,10 \pm 0,20$ mg/g) par rapport au substrat témoin F1 ($1,55 \pm 0,05$ mg/g) à San-Pédro, ni entre celles fermentées sur le substrat F4 ($1,64 \pm 0,06$ mg/g) et celles sur le substrat témoin F1 ($1,64 \pm 0,06$ mg/g) à Daloa. Aucune différence significative n'a été observée, à l'exception des fèves fermentées sur le substrat F3 par rapport aux fèves sur le substrat témoin à Soubré.

Tableau XXIV: Profils des composés phénoliques et des alcaloïdes (Moy $\pm$ SD)

Supports	TPC (mg /g) EqAG	TFC (mg /g) EqQ	T.T(mg /g) EqAT	Théobromine (mg/g)	Caféine (mg/g)	Catéchine (mg/g)	Epicatéchine (mg/g)
F1							
SP(Témoin)	64,6 $\pm$ 3,80^a	94,72 $\pm$ 1,83^a	64,51 $\pm$ 3,80^a	14,14 $\pm$ 0,06^a	2,96 $\pm$ 0,04^a	0,83 $\pm$ 0,07^a	1,55 $\pm$ 0,05^a
F2 SP	60,39 $\pm$ 2,27 ^a	64,64 $\pm$ 22,11	60,33 $\pm$ 2,27 ^a	10,52 $\pm$ 0,10	2,85 $\pm$ 0,10	1,50 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,2 ^a
F3 SP	64,22 $\pm$ 2,17 ^a	50,25 $\pm$ 1,49	64,18 $\pm$ 2,17 ^a	15,27 $\pm$ 0,10	3,18 $\pm$ 0,01 ^a	0,95 $\pm$ 0,06 ^a	5,57 $\pm$ 0,03
F4 SP	57,21 $\pm$ 1,5 ^a	88,06 $\pm$ 11,29 ^a	57,13 $\pm$ 1,51 ^a	14,74 $\pm$ 0,26	3,83 $\pm$ 0,10	0,98 $\pm$ 0,02 ^a	3,49 $\pm$ 0,50
F5 SP	74,78 $\pm$ 3,67 ^a	108,06 $\pm$ 10,40 ^a	74,72 $\pm$ 3,67 ^a	11,97 $\pm$ 0,03	1,89 $\pm$ 0,11	0,00 $\pm$ 0,00	1,10 $\pm$ 0,20 ^a
F6 SP	65,39 $\pm$ 10,62 ^a	113,42 $\pm$ 1,71 ^a	65,31 $\pm$ 10,6 ^a	12,89 $\pm$ 0,11	2,42 $\pm$ 0,67	0,00 $\pm$ 0,00	3,07 $\pm$ 0,42
F1						0,00 $\pm$ 0,00^a	
DA(Témoin)	54,67 $\pm$ 1,93^a	38,47 $\pm$ 4,22^a	54,6 $\pm$ 1,93^a	12,43 $\pm$ 0,07^a	1,95 $\pm$ 0,05^a		1,64 $\pm$ 0,06^a
F2 DA	68,87 $\pm$ 1,05 ^a	61,43 $\pm$ 10,51	68,81 $\pm$ 1,05 ^a	8,43 $\pm$ 0,10	1,26 $\pm$ 0,04	1,27 $\pm$ 0,10	0,55 $\pm$ 0,05
F3 DA	74,22 $\pm$ 2,06	64,85 $\pm$ 2,59	74,12 $\pm$ 2,06	12,91 $\pm$ 0,09	2,26 $\pm$ 0,10	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	2,46 $\pm$ 0,10
F4 DA	65,43 $\pm$ 1,59	37,61 $\pm$ 4,95 ^a	65,34 $\pm$ 1,59	12,67 $\pm$ 0,06	1,96 $\pm$ 0,03 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	1,50 $\pm$ 0,5 ^a
F5 DA	60,51 $\pm$ 2,67	43,11 $\pm$ 3,58 ^a	60,42 $\pm$ 2,67	12,87 $\pm$ 0,12	1,99 $\pm$ 0,01 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	1 $\pm$ 0,02
F6 DA	65,39 $\pm$ 2,85	65,24 $\pm$ 0,15	65,31 $\pm$ 2,85	6,84 $\pm$ 0,13	1,31 $\pm$ 0,08	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,48 $\pm$ 0,02
F1							
SB(Témoin)	70,62 $\pm$ 2,69^a	100,17 $\pm$ 2,43^a	70,55 $\pm$ 2,69^a	13,31 $\pm$ 0,11^a	1,78 $\pm$ 0,02^a	1,70 $\pm$ 0,20^a	1,96 $\pm$ 0,04^a
F2 SB	72,55 $\pm$ 1,12 ^a	152,16 $\pm$ 3,24	72,49 $\pm$ 1,12 ^a	13,76 $\pm$ 0,06 ^a	1,85 $\pm$ 0,05 ^a	0,00 $\pm$ 0,00	2,02 $\pm$ 0,04 ^a
F3 SB	72,93 $\pm$ 0,39 ^a	151,28 $\pm$ 2,38	72,87 $\pm$ 0,39 ^a	17,03 $\pm$ 0,06	2,36 $\pm$ 0,10	0,00 $\pm$ 0,00	6,25 $\pm$ 0,25
F4 SB	74,03 $\pm$ 0,65 ^a	107,15 $\pm$ 1,12	73,97 $\pm$ 0,65 ^a	13,6 $\pm$ 0,39 ^a	2,18 $\pm$ 0,01	0,00 $\pm$ 0,00	1,96 $\pm$ 0,04 ^a
F5 SB	69,94 $\pm$ 2,04 ^a	100,65 $\pm$ 2,67 ^a	69,86 $\pm$ 2,05 ^a	14,29 $\pm$ 0,79 ^a	1,86 $\pm$ 0,13 ^a	0,00 $\pm$ 0,00	2,22 $\pm$ 0,22 ^a
F6 SB	72,02 $\pm$ 2,38 ^a	160,41 $\pm$ 1,09	71,95 $\pm$ 2,39 ^a	13,72 $\pm$ 0,77 ^a	2,28 $\pm$ 0,22		1,93 $\pm$ 0,16 ^a

Pour chaque composant, les moyennes $\pm$ écart-types, Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1) avec un seuil de $p \leq 0,05$ selon le test de DUNNETT ; feuille de bananier (F1) ; feuille de palmier(F2) ; cabosse de cacao(F3) ; bêche en polypropylène (F4) ; sac en polypropylène (F5) ; sac en jute (F6) ; SP : San-Pédro ; SB (Soubré) ; DA (Daloa)

1.3.6. Corrélation entre les composés phénoliques et alcaloïdes avec les supports de fermentation

L'application de l'analyse en composante principale (ACP) a été entreprise sur le but de visualiser et de synthétiser les impacts de la fermentation sur la composition en alcaloïdes et en composés phénoliques (Figure 58). Les tracés de chargements et de score montrent que les deux composantes principales (PC1 et PC2) expliquent plus de 60 % de la variabilité de l'ensemble des données soit 83 % à San-Pédro, 86,9 % à Daloa et 77,4 % de la variabilité totale.

Dans la zone de San-Pédro (Figure 58 a) les supports F1, F5 et F6 ont montré une corrélation négative avec le PC1, étant associés à des fèves présentant des concentrations plus élevées en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins totaux. En revanche, le support F4 était caractérisé par des fèves ayant une concentration plus élevée en caféine. En revanche, le support F3 a montré une corrélation positive avec le PC2, étant caractérisé par des fèves ayant des concentrations plus élevées en théobromine et épicatechine. De même, le support F2 se distingue par une teneur plus élevée en catéchine.

Les échantillons prélevés dans la zone de Daloa (Figure 58 b) ont révélé que les supports F4 et F5 étaient corrélés négativement avec le PC1, étant associés à des fèves ayant des concentrations plus élevées en caféine et théobromine. Les supports F6 et F2 étaient caractérisés par des fèves présentant des concentrations plus élevées en catéchine et flavonoïdes totaux. Le support F1, corrélé positivement avec le PC2, était plutôt caractérisé par des fèves présentant une faible teneur en polyphénols totaux et tanins totaux. Les différentes analyses effectuées sur les composés phénoliques et alcaloïdes ont montré des corrélations significativement positives ($\geq 0,70$, représentées en rouge) ainsi que des corrélations significativement négatives ($\leq -0,70$, représentées en bleu).

En revanche, les fèves de variété *Forastero* ont montré une corrélation significativement négative entre la teneur totale en flavonoïdes et la théobromine, ce qui est différent des échantillons de variété *Mercedes*.

À San-Pédro (Figure 58a), une forte corrélation négative a été observée entre la teneur en flavonoïdes totaux et tanins totaux d'une part, et la caféine, la catéchine et l'épicatechine d'autre part. En revanche, à Daloa et Soubré, les tanins totaux ont montré une corrélation positive avec la catéchine et l'épicatechine, contrairement à ce qui a été observé à San-Pédro. Cependant, la théobromine a montré une corrélation positive plus marquée avec la caféine et l'épicatechine dans toutes les zones d'étude.

Avec les fèves variété *Mercedes*, dans la zone de Soubré (Figure 58 c), les fèves de la variété *Mercedes* fermentées sur les supports F6, F2 et F4 ont montré une corrélation négative avec le PC1, étant caractérisées par des concentrations élevées en catéchine, flavonoïdes, polyphénols et tanins totaux. En revanche, les fèves fermentées sur les supports F5 et F1 présentaient une teneur élevée en catéchine. Le support F3 était caractérisé par des fèves présentant une concentration plus élevée en catéchine, théobromine et épicatechine.

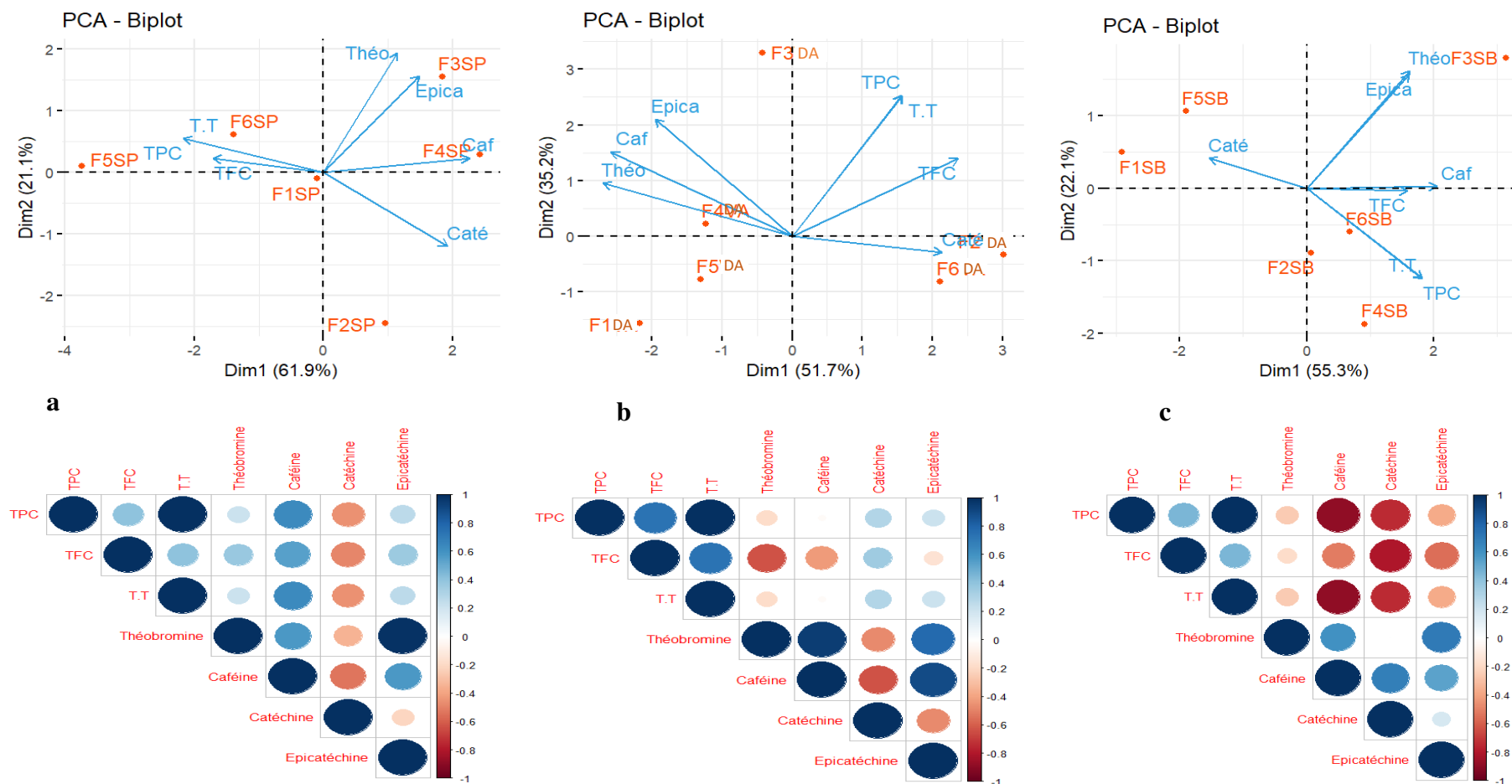


Figure 58: Corrélation des composés phénoliques et alcaloïdes aux les supports de fermentation dans les trois zones d'étude

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; *F2 SP* : Feuille de palmier Sa Pedro ; *F3 SP* : Cabosse de cacao San-Pédro ; *F4 SP* : Bâche en polypropylène San-Pédro ; *F5 SP* : Sac en polypropylène San-Pédro ; *F6 SP* : Sac en jute San-Pédro ; *VA* : Daloa ; *SB* : Soubré ; *SP* : San-Pédro

L'analyse par Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) a révélé la présence de deux groupes distincts avec une similarité de 97,68 % dans la zone de San-Pédro (Figure 59 a). Le premier groupe comprenait les fèves fermentées sur les supports F1, F5, F4 et F6, qui avaient des teneurs similaires en polyphénols, flavonoïdes, tanins et caféine. Le deuxième groupe était constitué des fèves fermentées sur les supports F2 et F3, caractérisées par leur teneur en catéchine et épicatechine. Dans la zone de Daloa, La CAH a révélé la présence de deux groupes distincts avec une similarité de 99,12 % (Figure 59 b). Le premier groupe regroupait les fèves fermentées sur les supports F5, F4 et le témoin F1, caractérisés par leur teneur en épicatechine, caféine et théobromine. Le deuxième groupe était formé par les fèves fermentées sur les supports F2, F3 et F6, avec des concentrations caractéristiques en polyphénols, flavonoïdes, tanins et caféine. Comme observé dans la zone de Daloa, La CAH a révélé deux principaux groupes avec une similarité de 99,36 % dans la zone de Soubré. Le premier groupe comprenait les fèves fermentées sur les supports F4, F5 et le témoin F1, caractérisés par leur teneur en catéchine, polyphénols et tanins totaux. Le deuxième groupe était constitué des fèves fermentées sur les supports F2, F3 et F6, caractérisés par leur teneur en théobromine, épicatechine, caféine et flavonoïdes (Figure 59 c).

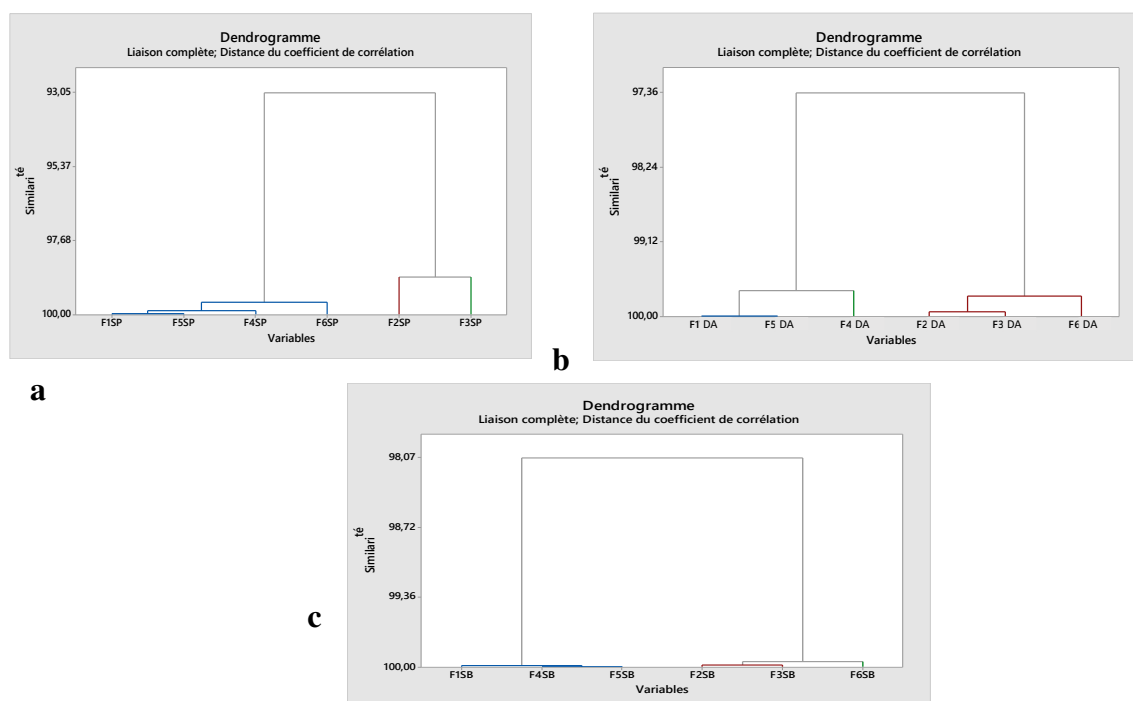


Figure 59: Corrélation de la composition phénolique des fèves de cacao en fonction du support de fermentation

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro

2. DISCUSSION

À la fin de la fermentation, les paramètres de la qualité physico-chimiques, marchande et chimique du produit fini (fèves fermentées et séchées) issu de chacun des supports de fermentation ont été évalués. Une différence significative a été observée dès la fin du séchage à travers la couleur de la coque des fèves pour chaque support de fermentation. En effet, la couleur de la coque des fèves fermentées dans la cabosse de cacao était orange rouge tandis que, les cinq autres tiraient sur la couleur marronne dans l'ensemble des trois zones d'études. Cette différence montre que la qualité finale des fèves de cacao pourrait être jugée sur la couleur de la coque après séchage selon le processus de fermentation.

La taille des fèves est l'un des premiers critères d'évaluation de la qualité marchande des fèves de cacao. Une qualité satisfaisante est définie par un grainage inférieur ou égal à 100 fèves par 100 g, ce qui correspond à un poids individuel de fève égal ou supérieur à 1 g (Bankoff *et al.* 2013a). Les fèves de cacao fermentées sur différents supports ont montré une uniformité de consistance, avec un nombre de fèves variant entre 86 et 94 pour 100 g, toutes respectant le critère de qualité établi. Selon les normes internationales, un grainage inférieur à 100 fèves par 100 g est considéré comme une caractéristique de grande taille (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015). Les fèves fermentées sur le support F2 à San-Pédro, F1 et F2 à Soubré, et F4 à Daloa, ont présentées une consistance notable, suggérant une production potentielle de masse de fèves de cacao recherchée par les industriels. Nos résultats sont supérieurs à ceux de Chen-Yen-Su (2020), qui a obtenu des fèves dont le nombre était compris entre 87 et 83 dans ses études.

Les fèves de plus grande taille, enregistrant 75,3 et 80 fèves par 100 g, ont été observées dans la région de Soubré, en cohérence avec les résultats de Mpondo & Didier (2011). Cette variation pourrait être attribuée à la variété de cacao, notamment la variété *Mercedes*, développée par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) de Côte d'Ivoire pour améliorer la productivité et le rendement des fèves. Selon Karim *et al.* (2020), les fèves de la variété *Mercedes* sont plus volumineuses et offrent un meilleur rendement.

Bien que la coque offre une barrière de protection adéquate contre les moisissures et les insectes, il est préférable que le pourcentage de coques soit aussi bas que possible (10-12 %). Un pourcentage de coque supérieur à cette fourchette, signifie que la matière comestible est inférieure et donc que la valeur des fèves est moins élevée, même si cela protège mieux l'amande (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015). En effet, les coques sont éliminées lors du processus de transformation des fèves de cacao et ont peu de valeur commerciale pour les transformateurs (Afoakwa *et al.* 2008). Les fèves fermentées sur les supports F2 ($12,96 \pm 5,69$ %), F4 ($12,8 \pm$

5,42 %), F5 ($12,38 \pm 5,48$ %) et F6 ($12,12 \pm 5,56$ %) dans la région de Daloa ont montré des pourcentages de coques supérieurs à 12 %, tandis que les fèves fermentées sur les autres supports ont produit des fèves avec des pourcentages de coques inférieurs à 12 %, conformément à la directive 2000/36/CE (UE, 2000). Ces valeurs pourraient être dues à l'épaisseur de la pulpe mucilagineuse, adhérente, qui entoure immédiatement le testa avant la fermentation. Selon Ouattara *et al.* (2008), la proportion plus faible observée sur les autres supports pourrait être attribuée à la dégradation ultérieure de la pectine par les enzymes pectinases microbiennes pendant la fermentation, entraînant ainsi la liquéfaction et le drainage d'environ 10 à 50 % de la pulpe.

La norme ISO 1114 précise qu'un échantillon doit être prélevé conformément à la norme ISO 2292 relative à l'échantillonnage (ISO, 1973). Elle stipule également que 300 fèves doivent être ouvertes ou coupées au centre dans le sens de la longueur, afin d'exposer au maximum la surface coupée des cotylédons. Les fèves fermentées sur tous les supports ont présenté des proportions de fèves brunies, caractéristiques d'une fermentation de qualité, comprise entre 93 et 98 %. Cependant, les fèves fermentées sur le support F3 ont montré une proportion plus faible, variante entre 77 et 85 %. Cette observation indique une qualité satisfaisante des fèves fermentées. En effet selon Guehi *et al.* (2010), les fèves sont considérées de bonne qualité lorsque plus de 60 % d'entre elles sont entièrement brunies. Cependant, en raison de la forte prévalence de fèves germées et moisies issues du substrat F3, ces fèves ont été classées dans la catégorie de cacao de grade II. Ce classement a entraîné une diminution notable du score de coupe des échantillons provenant du support F3, ce qui suggère une fermentation incomplète sur ce type de support. Cette disparité pourrait être expliquée par une observation générale tout au long du processus de fermentation des fèves sur le support F3. Les fèves fermentées à l'intérieur de la cabosse de cacao (F3) ont commencé à germer dans toutes les zones d'étude après 4 jours de fermentation. Ce qui favorise donc la prolifération des moisissures et facilite l'entrée des insectes.

L'indice de fermentation (IF) est établi en fonction de la persistance des anthocyanines et des composés phénoliques bruns générés lors du processus de fermentation, comme décrit par Afoakwa *et al.* (2014). Parmi tous les substrats analysés dans les trois zones étudiées, les fèves fermentées sur les supports F1, F2 et F4 à San-Pédro, ainsi que sur les supports F1, F2, F4 et F6 à Daloa, ont enregistré un indice de fermentation supérieur à 1. De même, les fèves fermentées sur les supports F1, F2, F4, F5 et F6 à Soubré ont également montré un indice de fermentation supérieur à 1. En revanche, les fèves fermentées sur le support F3 dans toutes les zones d'étude ont présenté un indice de fermentation inférieur à 1. Conformément aux

observations de Gourrieva & Tserevitinov (1979), les indices de fermentation supérieurs à 1 sont généralement associés à une fermentation efficace. Il est donc compréhensible que les résultats obtenus pour le support F3, avec un IF inférieurs à 1, indiquent que ces fèves sont sous-fermentées. Cette situation peut s'expliquer par les températures de fermentation relativement basses ($T < 40\text{ °C}$) et les valeurs de pH (entre 2 et 4) enregistrées dans la masse de fèves en fermentation sur ce support tout au long du processus, tel qu'expliqué par Misnawi *et al.* (2003) dans leurs travaux.

Les données relatives au potentiel d'hydrogène (pH) dans les fèves de cacao après fermentation et séchage ont révélé des variations entre les différents échantillons analysés, en fonction du support de fermentation. Cette observation pourrait être attribuée à une altération de l'hétérogénéité biochimique des fèves de cacao au cours du processus de fermentation. Selon Kagambèga *et al.* (2019), des solutions plus ou moins acides pourraient inhiber la prolifération d'un grand nombre de microorganismes. Les valeurs plus élevées ont été enregistrées dans les fèves fermentées sur les supports F1 ($5,51 \pm 0,02$), F2 ($5,69 \pm 0,01$) et F6 ($5,56 \pm 0,02$) dans la région de Daloa ainsi que toutes les fèves fermentées sur le support F3 dans les trois zones d'étude ($6,26 \pm 0,04$ à San-Pédro, $6,23 \pm 0,04$ à Soubré et $6,36 \pm 0,01$ à Daloa). Ces valeurs étaient significativement différentes de celles du support témoin et supérieures à 5,5 conformément à la norme internationale du Codex sur le cacao (86-1981, Rev.1-2001).

Les valeurs élevées du pH observées dans toutes les fèves issues du support F3 pourraient également être expliquées par une température de fermentation relativement basse ($T < 40\text{ °C}$). Conformément aux travaux de recherche de Biehl & Voigt (1996) sur l'acidification, la protéolyse et le potentiel aromatique lors de la fermentation des fèves de cacao, il a été démontré que l'acidification des tissus internes des fèves se produit lorsque la température atteint ou dépasse 40 °C . Cette acidification, induite par la pénétration des acides, entraîne ainsi une baisse du pH. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Bankoff *et al.* (2013a).

La teneur en eau des fèves de cacao commerciales est un indicateur crucial de leur état de conservation et de leur degré de contamination. Il est essentiel de réduire cette humidité à moins de 8 % lors de la phase de séchage afin de prévenir toute croissance spontanée de moisissures et de bactéries pendant le transport et le stockage, comme mentionné dans l'étude de Niikoi Kotey *et al.* (2022). En effet, avec une teneur en humidité de 8 %, les fèves de cacao sont en équilibre avec l'humidité ambiante (environ 70 %) et les températures normales sous les tropiques. Globalement, le taux d'humidité des fèves fermentées et séchées était inférieur à 8 %, à l'exception de celles fermentées sur les supports F4 ($8,85 \pm 0,13\%$) et F5 ($8,76 \pm 0,20$

%) à San-Pédro, F5 ($9,1 \pm 0,26$ %) à Soubré et F5 ($9,03 \pm 0,15$ %) à Daloa. Ces valeurs observées étaient significativement supérieures à 8 % par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin.

Les écarts pourraient être attribués à la conception de ces supports de fermentation. En effet, les supports F4 et F5 sont majoritairement constitués de polypropylène, un matériau imperméable empêchant parfois l'écoulement du jus au cours de la fermentation et réduire considérablement la teneur en eau pendant le séchage. Ces supports sont parfois utilisés par les producteurs pendant les périodes de pluie. Selon ces producteurs, l'utilisation de ces supports durant la fermentation contribue à ralentir le processus de fermentation pendant les saisons pluvieuses et à conserver les fèves en attente de conditions météorologiques favorables pour le séchage. La plus grande teneur en eau observée est donc attribuable à la rétention accrue de jus par ces supports en raison de leur imperméabilité.

Les résultats correspondent à ceux obtenus par Bankoff *et al.* (2013a), qui ont également enregistré des taux d'humidité compris entre 7,53 % et 8,10 %. Cependant, toutes les fèves analysées ont présenté une activité de l'eau (a_w) satisfaisante, comprise entre $0,43 \pm 0,00$ et $0,59 \pm 0,13$ dans l'ensemble, sans différence significative par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin. Cette observation pourrait être attribuée à la poursuite du processus de séchage pendant une période de conservation de trois mois avant l'évaluation de l'activité de l'eau. Cependant, le paradoxe concernant le taux de fèves moisies, malgré une teneur en eau de $6,58 \pm 0,18$ % et une activité de l'eau de $0,48 \pm 0,01$ % enregistrée sur les fèves fermentées sur le support F3, pourrait être dû à une contamination par des moisissures avant même le séchage. Cette contamination pourrait être liée au taux élevé de germination des fèves pendant la fermentation sur ce type de support.

La teneur en cendres des fèves de cacao présente une variabilité significative ($P < 0,05$), oscillant entre 2,22 % et 3,15 %. Plus spécifiquement, entre 2,66 % et 3,23 % pour les fèves collectées à San-Pédro, et entre 2,22 % et 3,08 % pour celles collectées à Daloa, toutes deux de la variété *Forastero*. La teneur en cendres des fèves de la variété *Mercedes* prélevées à Soubré est quant à elle plus faible par rapport à celles de la variété *Forastero*, avec des valeurs pratiquement constantes comprises entre 2,46 % et 2,84 %.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par Karim *et al.* (2020) qui ont rapporté des teneurs en cendres de fèves de cacao de $2,36 \pm 0,22$ % à Divo pour la variété *Forastero*, de $2,97 \pm 0,48$ % à Abengourou pour la même variété, et de $2,06 \pm 0,02$ % à Divo pour la variété "*Mercedes*", ainsi que de $2,97 \pm 0,48$ % à Abengourou pour ce dernier. Cependant, les teneurs en cendres enregistrées sur les fèves fermentées sur le support F3 ($3,23 \pm 0,23$ %) et le témoin

F1 ($3,15 \pm 0,30$ %) à San-Pédro, F3 ($3,06 \pm 0,13$ %) à Daloa et F1 ($2,84 \pm 0,03$ %) à Soubré étaient plus élevées sans présenter de différence significative. En effet, selon Febrianto *et al.* (2022), la teneur en cendres du cacao varie de 0,9 % à 7,1 % en fonction de l'origine des fèves, du génotype, des méthodes de traitement, de la composition minérale des sols (leur type de sol), ainsi que du stade de maturité des fruits. Par ailleurs, les valeurs plus élevées enregistrées sur les supports F1 et F3 suggèrent que les fèves qui en résultent sont susceptibles de concentration notable en minéraux. Par conséquent, l'analyse de la composition minérale des fèves de cacao a révélé une disparité significative, dépendant à la fois de la variété et du support de fermentation. Ces minéraux ont été catégorisés en trois principales classes : les macroéléments, les oligoéléments et les métaux lourds. Selon les directives de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA, 2013), les apports nutritionnels quotidiens recommandés en oligoéléments sont les suivants : le fer (adulte : 9-15 mg), le manganèse (adulte : 3 mg), le cuivre (adulte : 1,7 mg) et le zinc (adulte : 8-13,5 mg).

Les oligoéléments évalués ont présenté les concentrations les plus élevées parmi l'ensemble des minéraux analysés, avec une hiérarchie suivante : $Zn > Fe > Al > Cu > Mg > Ni > Co > Cr > Mo$. Cette séquence hiérarchique de concentration est cohérente avec les l'étude menée par Oliveira *et al.* (2021) portant sur l'analyse de tablettes de chocolat noir contenant en moyenne 60 % de masse de cacao brut. Le zinc, le fer et l'aluminium dominent les différents échantillons de fèves analysés, tandis que le cuivre et le magnésium se trouvent en proportions intermédiaires, et le nickel, le cobalt, le chrome et le molybdène en quantités mineures.

Les concentrations de ces minéraux présentent des variations entre les différentes variétés de cacao, *Forastero* affichant des concentrations supérieures à celles *Mercedes* dans les trois zones d'étude. Ces observations concordent avec les résultats de Karim *et al.* (2020), qui ont constaté des concentrations minérales plus élevées dans les fèves de variété *Forastero* en comparaison à celles de la variété *Mercedes* analysées à Abengourou et Divo. Toutefois, ces différences observées peuvent être attribuées aux diverses origines géographiques (San-Pédro, Daloa et Soubré) ainsi qu'aux différentes techniques de fermentation utilisées.

En effet, les fèves de la variété *Forastero* ont montré des concentrations plus élevées en zinc, variant entre 40 et 56 mg/kg à San-Pédro, entre 37 et 54 mg/kg à Daloa, et entre 40 et 49 mg/kg à Soubré. Selon Karim *et al.* (2020), le zinc joue un rôle crucial en tant que cofacteur dans plus de 300 réactions biochimiques dans le corps humain. Il exerce une influence significative sur la croissance des enfants, la régulation de la perte de cheveux, la détoxification hépatique et l'immunité. De plus, le zinc est indispensable à la fertilité, jouant un rôle essentiel dans la qualité du sperme chez l'homme et dans le processus de nidation de l'œuf dans l'utérus

chez la femme. Sa concentration était plus élevée avec le support F3 dans les trois zones d'étude, avec des concentrations respectives de 56 mg/kg par rapport à 40 mg/kg à San-Pédro, de 50 mg/kg par rapport à 37 mg/kg à Daloa, et de 48 mg/kg par rapport à 41 mg/kg à Soubré.

La concentration en fer était également plus élevée dans les fèves de la variété *Forastero* par rapport à celles de la variété *Mercedes*. Les concentrations les plus élevées ont été observées dans les fèves fermentées sur le support F3, avec 48 mg/kg à San-Pédro, contre 37 mg/kg pour la variété *Forastero*. De même, à Daloa, les fèves fermentées sur le support F5 ont montré une concentration de 50 mg/kg, contre 36 mg/kg pour la variété *Forastero*, tandis qu'à Soubré, la variété *Mercedes* présentait une concentration de 42 mg/kg, comparé à 41 mg/kg.

En revanche, la concentration d'aluminium était plus élevée dans les fèves fermentées sur le support F5, avec 40 mg/kg contre 31 mg/kg sur le support F3 à San-Pédro. À Daloa, pour la variété *Forastero*, elle était de 38 mg/kg sur le support F5 contre 30 mg/kg sur le support F3, et à Soubré, la variété *Mercedes* présentait 37 mg/kg sur le support F3, comparée à 26 mg/kg. À l'exception du magnésium, les différentes variétés de fèves de cacao analysées dans les trois zones d'étude ont montré des concentrations significativement plus élevées que celles indiquées dans la base de données sur les éléments nutritifs de référence standard du National Nutrient Database (USDA, 2015) pour le chocolat noir contenant 70 à 85 % de cacao. Ces résultats soulignent des différences notables dans la composition en nutriments des fèves de cacao comparées aux valeurs de référence pour le chocolat. Selon cette source, le chocolat noir contenant ces pourcentages de cacao présente des quantités de fer (Fe) de 11,90 mg/100g, de cuivre (Cu) de 1,766 mg/100g, et de zinc (Zn) de 3,31 mg/100g. La concentration accrue en minéraux dans les fèves fermentées est susceptible d'être associée à la température et au pH de la fermentation. Selon Vanderschueren *et al.* (2020), leur migration se produit pendant une fermentation adéquate, accompagnée d'une diminution du pH de la pulpe à mesure que les acides organiques pénètrent dans le cotylédon de la graine.

Les macroéléments remplissent des fonctions vitales dans l'organisme. Les macroéléments identifiés dans nos différents échantillons comprennent le potassium (K), le calcium (Ca), le sodium (Na), le magnésium (Mg), le phosphore (P), avec une hiérarchie telle que : $K > Ca > Mg > P > Na$. Le calcium (Ca) et le potassium (K) étaient les plus abondants, suivis du manganèse avec une proportion intermédiaire, et enfin le sodium (Na) et le phosphore en plus faible quantité. Selon Murray *et al.* (2000), le potassium est crucial pour réguler l'équilibre osmotique cellulaire et maintenir les potentiels membranaires, jouant ainsi un rôle essentiel dans la santé cardiovasculaire en stimulant les voies biochimiques et vasculaires. La

concentration en potassium variait entre 0,68 % et 1,02 % de matière brute (MB), avec le support F3 affichant la plus haute concentration (1,02 % MB) par rapport à F1 (0,68 % MB).

En ce qui concerne le calcium, la concentration variait entre 0,12 % et 0,86 % de matière brute (MB), la plus grande concentration étant observée dans les fèves fermentées sur le support F6 (0,86 % MB) par rapport à F1 (0,12 % MB). Selon Soetan *et al.* (2010), le calcium participe à la contraction musculaire, à la transmission de l'influx nerveux, ainsi qu'à la formation et à la solidité des os et des dents. Le manganèse joue un rôle essentiel dans le métabolisme des acides aminés, des lipides et des glucides, contribuant à la production d'insuline ainsi qu'à la minéralisation osseuse (Stegmann. (2019). La concentration en manganèse variait entre 0,24 % et 0,36 % de matière brute (MB), des valeurs inférieures à celles rapportées par le National Nutrient Database for Standard Reference (USDA, 2015). Ce dernier a observé des concentrations relativement élevées en macroéléments dans les fèves de cacao, basées sur du chocolat noir contenant 70 à 85 % de masse de cacao. Selon ces données, les proportions sont de 715 mg/100g de potassium (K), 73 mg/100g de calcium (Ca), et 20 mg/100g de sodium (Na).

Des minéraux non-indigènes, notamment les métaux lourds tels que le cadmium et le plomb, ont également été identifiés dans les échantillons analysés. Cependant, leur concentration était plus basse que celle des autres minéraux dans tous les échantillons, avec une gamme allant de 0 à 0,18 mg/kg de matière brute (MB), sans différence significative observée. Les différents supports de fermentation semblent ne pas avoir d'effet significatif sur les concentrations de métaux lourds.

Par ailleurs, les analyses multivariées ont montré que dans l'ensemble, les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) étaient plus concentrées en minéraux. Il ressort donc qu'une température de fermentation plus faible est susceptible de provoquer une plus grande concentration de minéraux dans les fèves finales. Une variabilité de 13 à 16 % de la teneur moyenne en protéines des fèves a été observée dans les trois zones étudiées, avec tous les supports de fermentation, révélant des différences significatives ($P < 0,05$). Ces valeurs sont en accord avec celles publiées de 15 à 19,8% (Afoakwa *et al.*, 2008). Hormis dans la zone de Daloa, les deux autres zones n'ont pas présenté de différences significatives par rapport au support témoin. Dans la zone de Daloa, les valeurs enregistrées étaient légèrement supérieures, oscillant entre 13,77 % et 15,12 %, par rapport à celles de la zone de San-Pédro, qui sont restées presque constantes (14,44 % et 14,75 %). Une variation approximativement similaire, comprise entre 14,03 % et 15,72 %, a été observée à Soubré avec la variété *Mercedes*. Ces similitudes suggèrent que la variété de cacao étudiée n'a pas induit de différences significatives dans les teneurs en protéines. Cependant, les valeurs les plus élevées ont été enregistrées sur le support

F4 ($14,75 \pm 0,40$ %) à San-Pédro et sur le support F3 ($16,85 \pm 0,17$ %) à Daloa, tandis que le support F5 ($15,72 \pm 0,57$ %) à Soubré a également présenté la teneur en protéines la plus élevée.

Ces variations dans les proportions de protéines sont en accord avec les observations de la littérature scientifique, telles que rapportées par Lerceteau *et al.* (1999). La disparité observée entre les supports F5 et F3 pourrait être expliquée par la faible dégradation des protéines pendant la fermentation, en raison de leur hydrolyse en acides insolubles sous l'action des polyphénols. Selon N'dri (2023), les protéines sont des composants essentiels dans le processus de régénération cellulaire et servent également de source d'énergie. Ainsi, une consommation régulière des produits issus de la fermentation sur ces supports de fermentation serait souhaitable pour maintenir des niveaux de protéines significatifs répondant aux besoins quotidiens estimés à 0,75 g/kg de poids/jour (Eleazu *et al.*, 2011).

Par ailleurs, les fèves analysées présentaient une valeur énergétique élevée, variante de 601,2 à 680,42 kcal/100g. La valeur la plus élevée a été enregistrée dans la zone de San-Pédro, où les fèves fermentées sur le support témoin F1 ont atteint $680,42 \pm 23,16$ kcal/100g. Cependant, de manière générale, les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) ont affiché les valeurs énergétiques les plus élevées, notamment dans les zones de Daloa ($665,5 \pm 6,36$ kcal/100g) et de Soubré ($678,55 \pm 0,29$ kcal/100g). Globalement, la fermentation des fèves de cacao sur ces supports pourrait fournir aux consommateurs une quantité d'énergie suffisante pour le fonctionnement, la réparation et la multiplication de leurs cellules, et pourrait être recommandée dans la formulation des aliments. Selon Kouamé *et al.* (2018), des amandes de fèves de cacao à forte teneur calorifique sont favorables pour compléter les régimes alimentaires riches en protéines ou s'intégrer dans les régimes diététiques hypocaloriques. Ces valeurs énergétiques élevées semblent être directement liées à leur contenu lipidique important.

En effet, la teneur en matière grasse, est un critère de qualité essentiel pour les transformateurs de cacao lors de l'achat de fèves de cacao fermentées. L'analyse de la teneur en beurre de cacao de la variété Forastero dans les régions de San-Pédro et Daloa a montré des variations de 42,4 % à 58,7 %, tandis que pour la variété *Mercedes* à Soubré, elle variait entre 53,22 % et 57,85 %. Ces résultats sont conformes aux normes de la FAO, qui fixent la teneur en matières grasses entre 45 % et 55 % (Barel, 2013).

Toutefois, les valeurs les plus élevées ont été observées avec les fèves fermentées sur le support témoin (F1) dans la zone de San-Pédro, avec une proportion de $58,7 \pm 4,38$ %. Quant aux zones de Daloa et de Soubré, la plus grande proportion a été observée avec les fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3), respectivement $55,5 \pm 1,27$ % et $57,85 \pm 0,21$ %. Nos résultats sont inférieurs aux valeurs rapportées par Serven *et al.* (2017) pour des échantillons

de cacao en République dominicaine ($80,30 \pm 0,13$ %), à Madagascar ($80,56 \pm 0,47$ %) et en Équateur ($76,52 \pm 1,87$ %). Ces variabilités observées, tant au niveau des variétés que des méthodes de fermentation, peut être attribuée à la diversité génétique des plants de cacao et aux facteurs environnementaux, pouvant influencer positivement sur la teneur en matières grasses. Cependant, la plus grande valeur observée sur le support F3 pourrait s'expliquer par la plus faible température et l'acidité enregistrées. Les différents beurres provenant des fèves fermentées sur divers supports de fermentation présentaient une teneur en acides gras libres (AGL (mg KOH/g)) variant entre $1,23 \pm 0,19$ mg KOH/g et $1,59 \pm 0,09$ mg KOH/g. Ces valeurs étaient inférieures à 1,75 mg KOH/g seuil légal pour le beurre de cacao dans l'Union européenne ainsi qu'à la norme du Codex sur le beurre de cacao. (86-1981, Rév.1-2001) sauf le beurre provenant des fèves fermentées sur le support F6 à San-Pédro qui a enregistré une valeur supérieure à 1,75 mg KOH/g.

Il ressort donc qu'à l'exception des fèves fermentées sur le support F6 à San-Pédro, les différents supports de fermentation n'ont pas exercé une influence significative sur l'acidité libre du beurre de cacao au-delà de la limite autorisée. Nos résultats sont comparables aux valeurs obtenues par Nogbou *et al.* (2015), qui ont obtenu une valeur comprise entre 1,32 mg KOH/g et 1,36 mg KOH/g. La fermentation des fèves sur le support F6 pourrait diminuer la viscosité du beurre, entraînant ainsi un défaut de qualité et le rejet du lot de cacao concerné sur le marché international. Toutefois, la valeur obtenue sur F6 dans la région de San-Pédro pourrait être attribuée à une utilisation accidentelle de fèves provenant de cabosses malades. Selon Dand (2015), la qualité finale du beurre est significativement influencée par l'utilisation de cabosses malades non triées lors de l'écabossage.

Par ailleurs, les résultats de l'analyse du profil en acides gras du beurre de cacao par chromatographie en phase gazeuse (système GC 6890A) couplée à un détecteur FID ont révélé la présence de quatre acides gras principaux : l'acide palmitique (C16:0), l'acide stéarique (C18:0), l'acide oléique (C18:1) et l'acide linoléique (C18:2). Ces observations sont conformes aux observations générales de la littérature (Abouo *et al.* 2016). Parmi eux, l'acide palmitique (C16:0), l'acide stéarique (C18:0) et l'acide oléique (C18:1) étaient les plus dominants dans l'ensemble, comme précédemment rapporté par Torres-Moreno *et al.* (2011).

La modification du support de fermentation n'a pas eu d'effet significatif sur le profil en acides gras, notamment en ce qui concerne l'acide stéarique et l'acide oléique. Cependant, les valeurs observées sur les fèves de la variété *Mercedes* étaient légèrement plus élevées que celles de la variété *Forastero*. Cette observation générale pourrait être attribuée à la température de fermentation globale, qui n'a pas dépassé 50 °C et n'a donc pas favorisé l'hydrolyse des lipides

en acides gras. Selon Cissé (2012), l'oxydation des acides gras pourrait être accélérée par l'exposition aux rayonnements ultraviolets et à des températures élevées.

Le profil en acide palmitique n'a pas présenté de différence significative dans la zone de San-Pédro en comparaison aux fèves fermentées sur le support témoin. Cependant, les fèves fermentées sur le support F5 ($26,77 \pm 0,18\%$) présentaient une concentration plus faible par rapport à celles du support témoin F1 ($28,12 \pm 0,20\%$). En ce qui concerne la zone de Soubré, les fèves fermentées sur le support F4 ($24,55 \pm 0,38 \%$) étaient significativement moins élevées en comparaison avec le support témoin F1 ($28,80 \pm 1,10 \%$). Ainsi, les fèves fermentées sur le support témoin pourraient induire des maladies cardiovasculaires chez l'homme. En effet, selon les recherches menées par Ross (2017), l'acide palmitique et l'acide myristique sont parmi les agents les plus thermogènes, augmentant davantage le cholestérol LDL que l'acide stéarique.

La proportion d'acide stéarique variait entre 27,04 % et 34,07 %, surpassant celle de l'acide palmitique. Cette prédominance de l'acide stéarique par rapport à l'acide palmitique pourrait compenser les dommages éventuels induits par l'acide palmitique, voire les corriger. En effet, l'acide stéarique a été identifié comme une graisse alimentaire non thermogène et pourrait même avoir des effets bénéfiques ou neutres sur la pression artérielle et la coagulation, contredisant en partie le risque associé aux maladies cardiovasculaires (Ross, 2012). La présence d'une concentration plus élevée d'acide stéarique dans l'ensemble des fèves fermentées sur les mêmes supports présentant une proportion accrue d'acide palmitique est donc encourageante. Ces résultats concordent avec les études antérieures menées par Sandra *et al.* (2000), qui ont démontré des valeurs moyennes cohérentes pour les proportions d'acides palmitique (23,13-24,59 %), stéarique (33,51-34,04 %) et oléique (32,31-33,50 %) dans le beurre de cacao extrait à partir de fèves séchées artificiellement par un processus de convection à des températures comprises entre 135 et 140 °C.

L'acide oléique et l'acide linoléique sont réputés pour leurs effets préventifs sur les maladies cardiovasculaires (Kris-Etherton *et al.* 1999). La proportion d'acide oléique (36,62 % et 40,38 %) est la plus élevée parmi tous les acides gras analysés, sans différence significative par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin. L'acide linoléique, bien qu'en moindre proportion, était plus dominant dans les fèves fermentées sur les supports F1 (3,35 %) à San-Pédro et F4 (2,53 %) à Daloa pour la variété Forastero. Pour la variété Mercedes à Soubré, il était plus présent sur le support F3 avec une concentration de 3,74 %.

Des données scientifiques ont confirmé que l'acide oléique présent dans les aliments possède des effets préventifs contre plusieurs maladies chroniques (maladies cardiovasculaires, cancer ou déclin cognitif lié à l'âge), ce qui pourrait contribuer à l'augmentation de la longévité

humaine (Solfrizzi *et al.*, 2005 ; Fitó, de la Torre, & Covas, 2007). Selon les données de la littérature, la consommation quotidienne d'acide linoléique présente des effets protecteurs sur les fonctions immunitaires (Jiang *et al.*, 2002).

Le contenu total en sucre des échantillons de fèves de cacao analysés est notable. Dans la région de San-Pédro, les fèves de la variété *Forastero* présentaient une concentration en sucre total oscillant entre 33,52 et 89,73 mg/100 g, tandis qu'à Daloa, elle variait entre 31,49 et 62,98 mg/100g. En revanche, la teneur en sucre total des fèves de la variété *Mercedes* était plus faible, variant entre 31,10 et 52,59 mg/100 g à Soubré. Cependant, la concentration obtenue sur le support F5 ($89,73 \pm 0,00$ mg/100 g) était nettement supérieure à celle du support témoin F1 ($51,39 \pm 0,13$ mg/100g) à San-Pédro. À Daloa, la plus grande teneur a été enregistrée sur le support F4 ($62,98 \pm 0,50$ mg/100 g). Pour les échantillons de Soubré avec la variété *Mercedes*, la plus grande concentration a été observée sur le support F3 ($52,59 \pm 0,11$ mg/100 g). Toutes les analyses effectuées ont révélé une différence significative par rapport aux fèves fermentées sur les autres supports dans les trois zones, en comparaison avec le support témoin. Cette disparité met en évidence les modifications biochimiques prédominantes qui se produisent au sein de l'amande pendant le processus de fermentation.

Les fibres alimentaires insolubles, en tant que composés contribuant à la santé digestive et à la formation de selles molles, sont responsables du caractère laxatif souvent évoqué par les consommateurs, améliorant ainsi le processus digestif (Tarko *et al.* 2013). Les différents échantillons de fèves analysés se révèlent également être une source significative de fibres totales. En effet, la proportion de fibres totales variait de 37 à 84 % dans l'ensemble des échantillons, avec des valeurs comprises entre 62 et 75 % à San-Pédro et entre 66 et 81 % à Daloa pour la variété *Forastero*, et relativement plus faibles (37 à 44 %) pour la variété *Mercedes*, présentant des différences notables marquées. Cette disparité de teneurs entre les deux variétés confirme les observations de Cissé (2012), selon lesquelles la teneur en fibres est naturellement influencée par les conditions de stockage et l'origine des espèces. Cependant, les supports F1 ($75,09 \pm 0,35$ %) et F5 ($75,69 \pm 0,72$ %) à San-Pédro, ainsi que les F5 ($81,30 \pm 0,05$ %) à Daloa, se sont révélés être prédominants. En revanche, dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, c'est le support F3 ($45,87 \pm 0,7$ %) qui présente une différence significative par rapport à la valeur obtenue sur le support témoin F1 ($42,97 \pm 0,20$ %).

Les fibres confèrent aux aliments une qualité supérieure, en raison de leur effet sur la régulation de la digestion et de l'absorption des nutriments. En augmentant le volume des matières fécales, les fibres favorisent la régularité des selles et retardent l'absorption du glucose. L'hémicellulose est le composant prédominant, représentant entre 21 et 58 %, suivi de la

cellulose (9 à 20 %) et de la lignine (4 à 13 %). Les supports F5 à San-Pédro ($46,51 \pm 0,49$ %), Daloa ($63,06 \pm 0,07$ %) et F4 ($27,34 \pm 0,19$ %) à Soubré présentent une concentration plus élevée en hémicellulose, tandis que les supports F1 ($19,57 \pm 0,21$ %), F5 ($19,34 \pm 0,20$ %) à San-Pédro, F4 ($13,23 \pm 0,21$ %) à Daloa et F3 ($12,21 \pm 0,08$ %) à Soubré sont majoritairement composés de cellulose. En revanche, les supports F1 ($12,74 \pm 0,32$ %) à San-Pédro, F2 ($8,89 \pm 0,18$ %), F4 ($8,84 \pm 0,72$ %) à Daloa et F1 ($7,09 \pm 0,02$ %), F3 ($7,38 \pm 0,03$ %) à Soubré présentent une proportion plus élevée de lignine. Ces proportions observées dans ces substrats de fermentation pourraient être bénéfiques dans la prévention de certaines maladies, notamment le syndrome de l'intestin irritable.

Dans l'ensemble, les fèves fermentées sur les supports F4 et F5, ainsi que sur le support témoin (F1), pourraient offrir des avantages pour la santé des consommateurs. Des études antérieures menées par Mensah *et al.* (2008) suggèrent qu'elles pourraient favoriser la digestion en améliorant la fonction gastro-intestinale et en prévenant la constipation. De plus, ces fèves pourraient contribuer à réduire l'incidence de maladies métaboliques telles que le diabète sucré et l'hypercholestérolémie. Les fèves de cacao analysées révèlent également la présence d'anti-nutriments à des concentrations significatives, notamment les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins totaux. La concentration totale en polyphénols et en tanins se situait dans une plage relativement homogène, comprise entre 63 et 70 mg EqAG/g. Ces valeurs sont cohérentes avec celles rapportées par Niemenak *et al.* (2006), qui ont observé des teneurs en polyphénols allant de 49,2 à 67 mg d'équivalent acide gallique par gramme de cacao dans leurs travaux.

Selon Scalbert & Williamson (2000), les polyphénols sont associés à la prévention des maladies cardiovasculaires. En ce qui concerne les tanins, Penchev (2010) a observé leurs fortes propriétés antioxydantes, anti-cancérigènes et anti-radicalaires, susceptibles de réduire ou d'empêcher l'oxydation d'autres composés chimiques. Les fèves fermentées sur les supports F5 ($74,78 \pm 3,67$ mg EqAG/g) à San-Pédro, F4 ($74,03 \pm 0,65$ mg EqAG/g) à Soubré et F3 ($74,22 \pm 2,06$ mg EqAG/g) à Daloa ont montré les concentrations les plus élevées. En revanche, les fèves fermentées sur le support témoin F1 à Daloa ont présenté la concentration la plus faible ($54,67 \pm 1,93$ mg EqAG/g), avec des différences significatives ($P < 0,05$). Cette disparité observée pourrait être attribuée à des variations de variétés de cacao, de pratiques agricoles ou d'environnement. En effet, Niemenak *et al.* (2004) ont rapporté une augmentation de 25 % de la teneur en polyphénols du cacao pendant la fermentation pour certaines variétés, tandis que pour d'autres, elle pourrait diminuer de 11 à 25 %.

Toutefois, l'imperméabilité des supports F5 et F4, qui limite l'écoulement du jus pendant la fermentation, semble être responsable du ralentissement de la dégradation des composés phénoliques. En effet, selon Renard *et al.* (2018), les traitements à haute température altèrent la structure des polyphénols et entraînent une diminution de l'amertume et de l'astringence des fèves de cacao. La constatation de valeurs moins élevées avec les fèves fermentées sur le support F3 à Daloa n'est pas surprenante, étant donné que ce support a généralement enregistré les températures de fermentation les plus basses.

La concentration en flavonoïdes était généralement supérieure à celle des polyphénols totaux, variant de 37,61 à 160 mg/gEqQ. Ces composés semblent exhiber diverses activités biologiques, y compris la capture des radicaux biologiques et des radicaux anioniques superoxydes, comme rapporté par Gill (2016). Les extraits provenant de la variété *Mercedes* dans la zone de Soubré ont présenté les concentrations de flavonoïdes les plus élevées. Plus précisément, ceux des supports F6, F3 et F2 ont dépassé largement les 150 mg/g Eq. Q, contrairement aux échantillons provenant de F1 ($100,17 \pm 2,43$ mg/g Eq.Q). Cette différence significative observée est directement attribuable à l'origine et à la variété de ces échantillons, comme soutenu par Tarasevičienė *et al.* (2023) et Othman *et al.* (2019) qui ont rapporté que des facteurs environnementaux, climatiques, géographiques et d'origine peuvent influencer considérablement la qualité et la quantité des composants phénoliques.

L'analyse des alcaloïdes puriques (théobromine, caféine) a révélé que, dans l'ensemble, la théobromine était présente à une concentration plus élevée que la caféine. En effet, Harahap *et al.* (2012) ont signalé que des concentrations plus élevées de théobromine et de caféine étaient responsables de l'amertume d'un produit et pouvaient présenter des risques de toxicité pour la reproduction. Les résultats montrent que les fèves fermentées sur les supports F3 ($15,27 \pm 0,10$ mg/g) et F4 ($14,74$ mg/g) ont présenté des concentrations plus élevées, proches de celles du support témoin F1 ($14,14$ mg/g) dans la région de San-Pédro. En revanche, la région de Daloa a affiché des concentrations plus faibles par rapport à celles appartenant à Soubré et San-Pédro. Cependant, les fèves fermentées sur les supports F3, F4, F5 et F6 ont présenté des valeurs proches de celles du support témoin (F1). En revanche, la région de Soubré, avec la variété *Mercedes*, a enregistré des concentrations supérieures à celles de San-Pédro et de Daloa.

Toutefois, il a été observé de manière générale que les concentrations de théobromine dans les fèves fermentées sur les supports F3 ($17,03 \pm 0,06$ mg/g) et F5 ($14,29 \pm 0,79$ mg/g) étaient plus élevées que celles du support témoin F1 ($13,31 \pm 0,11$ mg/g). Il apparaît ainsi que les supports F3, F4 et F5 sont plus susceptibles de concentrer davantage de théobromine dans

les fèves au cours de la fermentation. En ce qui concerne la caféine, les fèves de la variété *Mercedes* dans la région de Soubré ont également enregistré des concentrations plus élevées.

Les fèves fermentées sur les supports F3, F4 et F5 étaient prédominantes. En effet, les fèves fermentées sur les supports F3 ($3,18 \pm 0,01$ mg/g) et F4 ($3,83 \pm 0,1$ mg/g) dans la zone de San-Pédro, ainsi que sur le F3 ($2,26 \pm 0,10$ mg/g) dans la zone de Daloa, ont enregistré des concentrations plus élevées que celles du support témoin F1. Il apparaît donc que, dans l'ensemble des trois zones d'étude, les supports F3, F4 et F5 demeurent la meilleure source de théobromine et de caféine. Ces fèves montreraient donc plus d'astringence à la consommation du produit final (Badrie *et al.*, 2015 ; Djali *et al.*, 2018). Les résultats de cette étude sont en accord avec ceux de Ramli *et al.* (2015), qui ont obtenu des concentrations en théobromine de $16,23 \pm 0,33$ à $26,64 \pm 2,78$ mg/g et en caféine de $2,52 \pm 0,13$ à $4,12 \pm 0,04$ mg/g au Ghana et en Malaisie sur des fèves de cacao.

Les analyses réalisées ont révélé la présence de composés phénoliques à des niveaux intéressants, parmi lesquels la concentration en épicatechine variait de 0,5 à 6 mg/g, tandis que celle de la catéchine se situait entre 0 et 1 mg/g. Les fèves fermentées sur les supports F3 à Soubré ($6,25 \pm 0,25$ mg/g) et à San-Pédro ($5,57 \pm 0,03$ mg/g) ont présenté les concentrations les plus élevées en épicatechine. La concentration en catéchine était plus élevée dans les fèves fermentées sur les supports F2 ($1,5 \pm 0,5$ mg/g) à San-Pédro et F2 ($1,27 \pm 0,10$ mg/g) à Daloa pour la variété Forastero. En revanche, les fèves fermentées sur le support F1 ($1,70 \pm 0,20$ mg/g) à Soubré étaient plus riches en catéchine, tandis qu'aucune trace de catéchine n'a été détectée sur les supports F5 et F6. Ainsi, il est raisonnable de suggérer que les fèves fermentées sur le support F2, riches en catéchines, pourraient jouer un rôle bénéfique dans la préservation de la santé des consommateurs en raison de leur puissant pouvoir antioxydant, comme l'ont souligné Bhattacharjee *et al.* (2007). De plus, elles pourraient posséder des propriétés anticancéreuses significatives, telles qu'indiquées par Arce *et al.* (1998).

La concentration élevée en épicatechine observée sur les supports F3 reflète le niveau relativement bas de température de fermentation sur ce support, ce qui pourrait accentuer l'astringence et le goût plus amer du produit final. En effet, selon Kadow *et al.* (2015), le cacao de qualité marchande présentant un faible degré de fermentation se caractérise par une forte astringence désagréable. Les résultats obtenus dans les fèves de cacao à Soubré sont corroborés par Di Mattia *et al.* (2014), qui ont également travaillé sur des variétés hybrides développées à l'Institut de recherche sur le cacao du Ghana (CRIG) dans le but d'améliorer les caractéristiques du cacao. Toutefois, il est la consommation du produit finale issue de fèves fermentées dans les cabosses pourrait répondre aux besoins de l'organisme en épicatechine. En effet selon Prakash

et al. (2019), ce composé possède diverses propriétés biologiques tel que les activités (antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antitumorale, entidiabétique et cardio-vasculaire).

3. CONCLUSION PARTIELLE

L'objectif de la troisième phase de cette étude était d'analyser l'impact de la différente fermentation sur la qualité des fèves de cacao après séchage. Les résultats ont montré que les paramètres de fermentation, la zone d'étude et la variété de cacao affectent significativement les caractéristiques finales des fèves, modifiant ainsi leur composition globale.

Cette étude a mis en évidence l'influence significative des conditions de fermentation, des zones de production et de la variété de cacao sur la qualité finale des fèves. Les fèves de la variété Mercedes, issues de la zone de Soubré, ont présenté une meilleure uniformité ainsi qu'une teneur plus élevée en flavonoïdes. En revanche, la variété Forastero, cultivée à San-Pédro et Vavoua, s'est distinguée par une proportion plus importante de fibres.

L'analyse des fèves fermentées sur différents supports a révélé que, dans l'ensemble, la fermentation permet d'obtenir des fèves de qualité satisfaisante, à l'exception de celles fermentées dans les cabosses de cacao et dans les sacs en polypropylène. Ces supports alternatifs permettent en effet une prolifération accrue de moisissures et de bactéries, compromettant ainsi la qualité et la conservation des fèves fermentées et séchées. Plus spécifiquement, les fèves fermentées dans les cabosses présentaient des taux excessifs de fèves moisies, germées et violettes, dépassant les seuils recommandés, bien qu'elles conservent une teneur plus élevée en minéraux. Quant aux fèves fermentées dans les sacs en polypropylène, elles affichaient un taux d'humidité supérieur à 8 %, ce qui peut nuire à leur stabilité lors du stockage. De plus, ces deux supports ont entraîné une concentration accumulée en polyphénols totaux, tanins, caféine et théobromine, permettant ainsi l'amertume et l'astringence des produits dérivés.

À l'inverse, les fèves fermentées sur des feuilles de palmier, des bâches en polypropylène et des sacs en jute ont montré une qualité comparable à celles fermentées sur feuilles de bananier (témoin), avec des propriétés physico-chimiques, biochimiques et marchandes satisfaisantes.

Toutefois, chaque support de fermentation présente des caractéristiques spécifiques pouvant être optimisées en fonction des besoins du marché et des exigences industrielles.

CHAPITRE IV : FLORE MICROBIENNE D'ALTÉRATION DE LA QUALITÉ DU PRODUIT FINAL DES FÈVES FERMENTÉES ET SECHÉES

Les filières Café-Cacao jouent un rôle crucial dans l'économie de certains pays tropicaux à revenus intermédiaires, notamment en Côte d'Ivoire. Actuellement, des dispositions légales et réglementaires sont mises en place à l'échelle internationale par le Codex Alimentarius et d'autres partenaires au développement, spécifiquement au sein de l'Union européenne, pour renforcer les normes de sécurité alimentaire. L'objectif est de protéger les consommateurs contre les risques associés aux contaminants chimiques et aux mycotoxines, particulièrement l'ochratoxine A (OTA). Ce chapitre se à quantifier la population de la flore fongique contaminante et des bactéries du genre *Bacillus* à forme sporulée dans la les broyats de cacao influencant négativement la qualité du produit final. D'autre part, il cherche à identifier la flore fongique susceptible de produire l'ochratoxine A (OTA) ainsi que les *Bacillus cereus* présumés, potentiellement pathogènes, présents dans ces fèves de cacao fermentées.

1. RÉSULTATS

Les mêmes codes ont été utilisé que précédement pour un même support de fermentation dans les trois zones d'étude : **F1** pour les feuilles de bananier (Support Témoin), **F2** pour les feuilles de pamier, **F3** pour les cabosses de cacao, **F4** pour les bâches en polyprpylène, **F5** pour sacs en polyprpylène et **F6** pour les sacs en jute

1.1.Degré de contamination de la flore fongique

Le niveau de contamination de la flore fongique des fèves de cacao fermentées et séchées est illustré par la Figure 60. La charge totale en colonies de moisissure observée sur les fèves de cacao indique un niveau de contamination de 10^2 UFC/g sans différence significative d'une zone à une autre. La contamination la plus élevée a été constatée dans les fèves fermentées sur les supports F3 et F6 dans l'ensemble des trois zones d'étude, avec des différences significatives par rapport aux fèves fermentées sur le support témoin F1 (Dunnnett ; $\alpha = 0,05$). En effet, dans la zone de San-Pédro, la population fongique était de $30,3 \pm 3,19.10^2$ UFC/g avec le F3, suivie du F6 ($23,03 \pm 0,52.10^2$ UFC/g) contre $12,12 \pm 1,38.10^2$ UFC/g sur le support F1. Une tendance similaire a été observée à Daloa, avec une population de $22,42 \pm 1,38.10^2$ UFC/g sur le support F3 et de $14,85 \pm 2,29.10^2$ UFC/g sur le support F6, contre $6,97 \pm 1,05.10^2$ UFC/g sur le support F1. Les fèves de la variété *Mercedes* dans la zone de Soubré ont également montré un degré plus élevé de contamination sur les fèves fermentées sur le support F3 ($26,06 \pm$

1,38.10² UFC/g) et F6 (11,21 ± 1,89.10² UFC/g) contre 5,76 ± 1,38.10² UFC/g sur le support témoin F1.

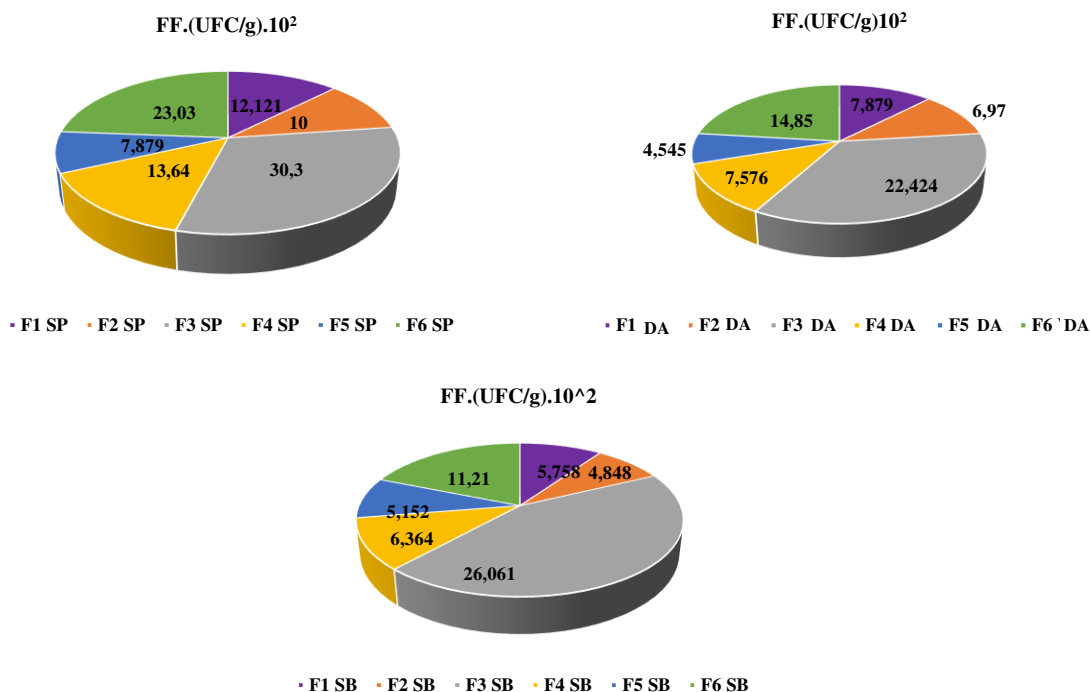


Figure 60: Flore fongique de la poudre de cacao des différents supports de fermentation

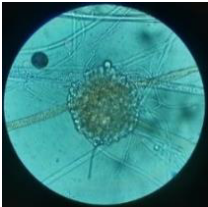
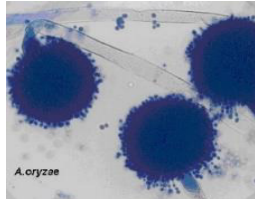
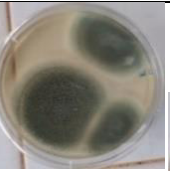
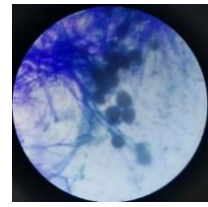
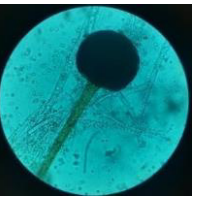
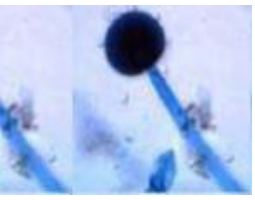
F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; VA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro ; FF : Flore fongique.

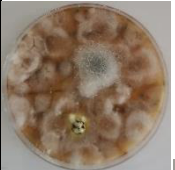
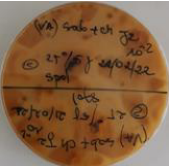
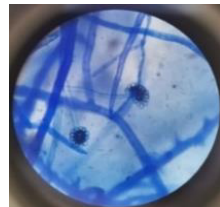
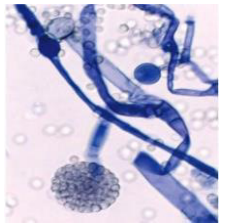
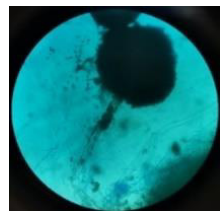
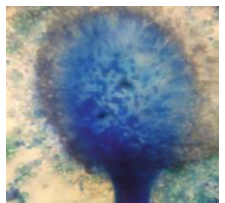
1.2. Espèces de moisissures isolées dans les broyats de fèves de cacao marchandes

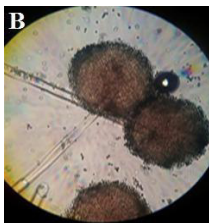
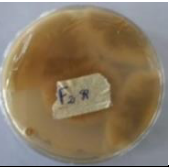
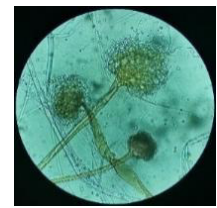
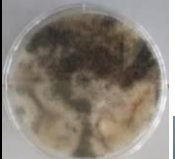
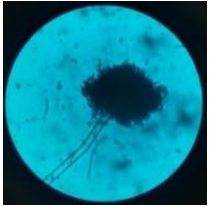
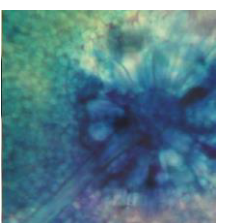
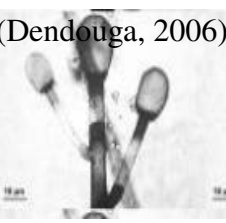
L'étude des caractéristiques macroscopiques, incluant la couleur, l'aspect des colonies et le revers des boîtes, ainsi que des caractéristiques microscopiques, telles que la forme du thalle et des spores des souches de moisissures isolées, a permis d'isoler 13 souches dont 11 ont été identifiées. Parmi ceux-ci, on retrouve *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* et *Rhizomucor*.

Pour le genre *Aspergillus*, les espèces *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sublatus* et *Aspergillus ochraceus* ont été détectées. Le Tableau XXV présente quelques-unes des souches de moisissures isolées des différents échantillons, observées au microscope avec un grossissement de x100.

Tableau XXV: Espèces de moisissures isolées dans les poudres de cacao

Espèce	Aspects macroscopiques	Recto(R) & Verso(V)	Aspect microscopique x40	Description	Image de référence
<i>Aspergillus flavus</i>	Couleur : petite tache vert Aspect : poudreuse Revers : pas de pigment	 		Hyphes septes ; Conidiospore long, et non cloisonné, hyalines ; Phiales directement insérées sur la vésicule ; Conidies globulaires, vert pale, échinulée ; Tête aspergillaire ; unisériée, radiée	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Croissance rapide sur Sabouraud chloramphénicol ; aspect duveteux ; mycélium vert a noirâtre	 		Conidiospore progressivement évasé ; phiales densément groupées sur une vésicule hémisphérique	
<i>Mucor</i> sp	Couleur noirâtre à aspect velouté et poudreuse avec des gouttelettes d'eau en surface. Pas de pigment au revers	 		Des conidies produites par des phiales insérées à l'extrémité dilatée d'un conidiospore large et non cloisonné	

<i>Rhizopus sp</i>	Croissance rapide sur Sabouraud chloramphénicol ; colonie d'aspect cotonneux ; mycélium extensif et aérien de couleur blanchâtre a grisâtre ;	 		Présence de clamydospores ; sporocyste étranglés sous la columelle ; conidiospore lisse se terminant par des spores densément regroupés à l'extrémité	
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	Couleur blanche avec un aspect cotonneuse bombé. au revers pas de pigment	 		Rhizoïdes et court sporcystophore a ramification subterminales ; après rupture du sporocyste, on visualise une columelle bien développée sans apophyse	
<i>Aspergillus clavus</i>	Colonies duveteuses à poudreuse, blanche au début puis jaune et vert jaune. Le revers est incolore.	 		Tête cnidienne unisériées radiées, puis réparties en plusieurs colonnes de spores mal individualisées. Les conidiospores hyalins, verruqueux. Les vésicules sont subglobuleuses les phiales sont insérées directement sur la vésicule.	

<i>Aspergillus-niger</i>	Colonies noires en recto et cotonneuse blanc et en verso la couleur est jaune pale. La croissance rapide et la forme est ronde				Mycélium non cloisonné, la tête porte de nombreux conidiospores, phiales formées sur la vésicule.	
<i>Aspergillus terreus</i>	Colonie noire en recto avec halo blanc. Au verso, la couleur est grise. La croissance est rapide et la forme est ronde				Thalle a mycélium cloisonné, portant de nombreux conidiospores non ramifiés en vésicules ; phiales formées directement sur la vésicule ou sur des meules.	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Couleur : noir plus foncé Aspect : laineuse Revers : pas de pigment				Mycélium hyalin non cloisonné ; conidiospore court, dressés et non ramifier ; têtes aspergillaire radiaire ; conidies en chaîne divergente.	
<i>Rhizomucor pusillus</i>	Croissance rapide sur Sabouraud chloramphénicol ; colonie d'aspect cotonneux ; mycélium extensif et aérien de couleur blanchâtre a grisâtre ;				Sporocystophore ramifier terminé par une columelle faisant saillie dans le sporocyste globuleux	

1.3. Fréquence d'isolement des espèces fongiques dans les fèves marchandes

En termes de diversité des souches isolées, aucune différence significative n'a été observée entre les échantillons de fèves de cacao analysés dans les trois zones (Figure 61). Dans la zone de San-Pédro, un total de 13 souches a été isolé, parmi lesquelles dix ont été identifiées. À Daloa, 11 souches ont été isolées, dont sept ont été identifiées. En revanche, la zone de Soubré a enregistré une fréquence d'isolement plus faible avec la variété *Mercedes*, où un total de 8 souches a été isolé, toutes identifiées.

Le niveau de contamination des fèves marchandes provenant de différentes sources de fermentation dans les trois zones d'étude est représenté par la Figure 61. Dans toutes les zones d'étude, le genre *Mucor* a dominé les différents échantillons analysés, avec des pourcentages variants entre 24 et 30 % à San-Pédro, entre 29 et 41 % à Daloa, et entre 19 et 54 % à Soubré. À Soubré, la variété *Mercedes* a montré une légère prédominance par rapport à la variété *Forastero*.

Pour le genre *Aspergillus*, les espèces *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* présentaient les pourcentages de contamination les plus élevés dans les trois zones d'étude.

Dans la zone de San-Pédro, l'espèce *Aspergillus flavus* était plus abondante sur les supports F1 et F5, avec des pourcentages respectifs de 21,95 % et 20,51 %. En revanche, l'espèce *Aspergillus niger* a été enregistrée sur les supports F4 (19,14 %) et F2 (19,64 %) dans les fèves fermentées.

Dans la zone de Daloa, *Aspergillus niger* était la population dominante dans les fèves fermentées sur les supports F1 (18,18 %) et F4 (18,18 %). En revanche, *Aspergillus fumigatus* était plus abondant sur les supports F3 (21,56 %) et F5 (20 %). L'espèce *Aspergillus flavus* n'a pas été identifiée dans les échantillons prélevés dans la zone de Daloa.

En revanche, dans la zone de Soubré avec les fèves de la variété *Mercedes*, *Aspergillus flavus* a été identifié avec une population plus élevée dans les fèves fermentées sur les supports F6 (16,88 %) et F1 (15,25 %). Cependant, *Aspergillus niger* était plus important dans les fèves fermentées sur les supports F1 (16,94 %) et F3 (24,17 %).

L'espèce *Aspergillus ochraceus* a été identifiée uniquement dans les fèves de la variété *Forastero*, plus spécifiquement dans les fèves fermentées sur les supports F3 et F6, respectivement à 5,71 % et 4,13 % à San-Pédro ainsi qu'à 7,84 % et 15,78 % à Daloa. Les fèves fermentées sur le support F4 à Daloa ont également montré la présence d'*Aspergillus*

ochraceus, mais en proportion plus faible, soit 3,63 %. Aucune trace de l'espèce *Aspergillus ochraceus* n'a été observée dans la zone de Soubré.

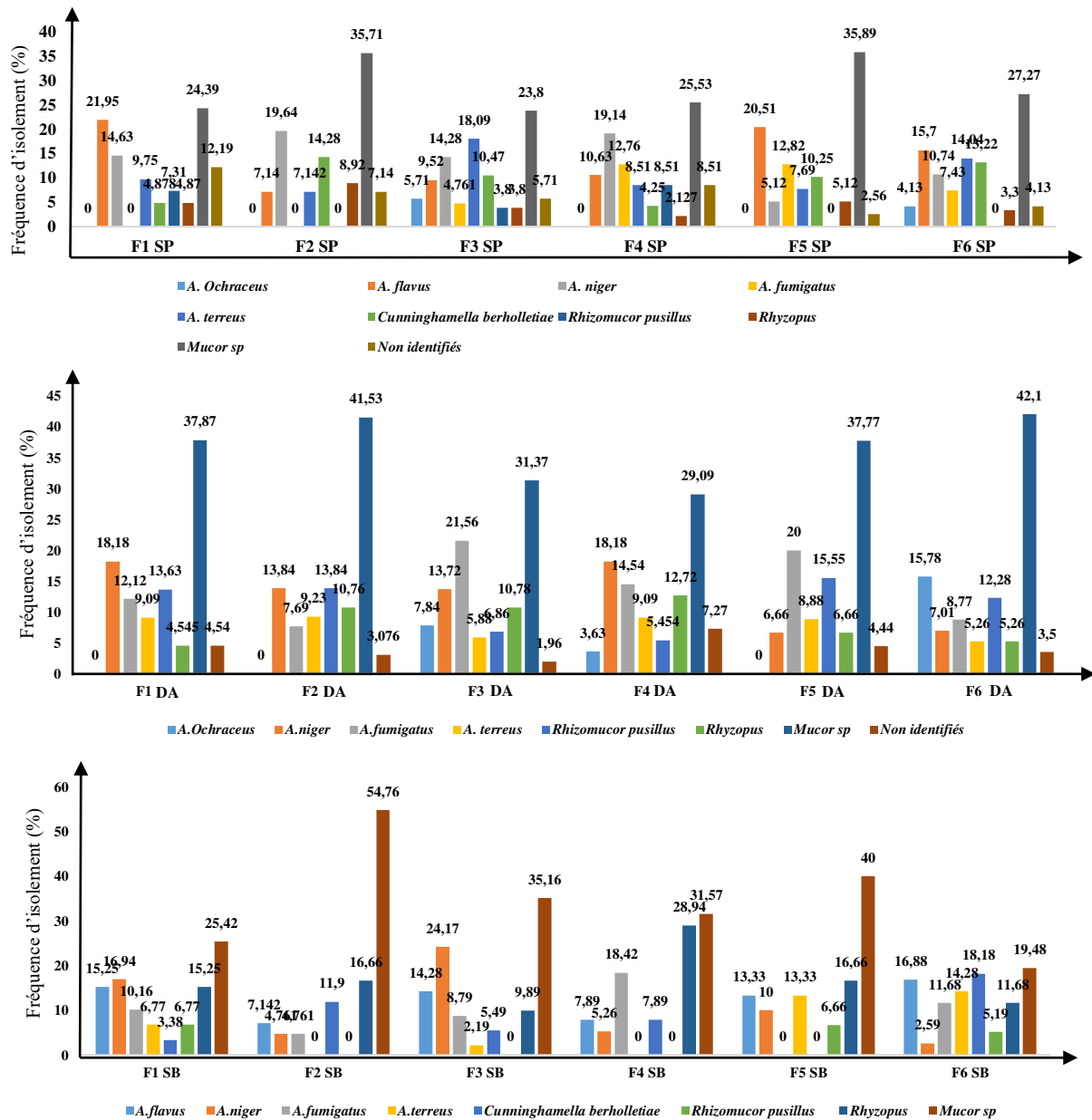


Figure 61: Fréquence de contamination des espèces de moisissure isolées dans les poudres de cacao

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; VA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro

1.4. Degré de contamination des bactéries genre *Bacillus* sporulé des fèves fermentées et séchées

La Figure 63 présente la charge en *Bacillus* thermo tolérant en fonction des différents supports de fermentations.

L'utilisation de la coloration de Gram combinée à une observation microscopique a montré que la majorité des isolats sont des bacilles à Gram positif (Figure 63 c).

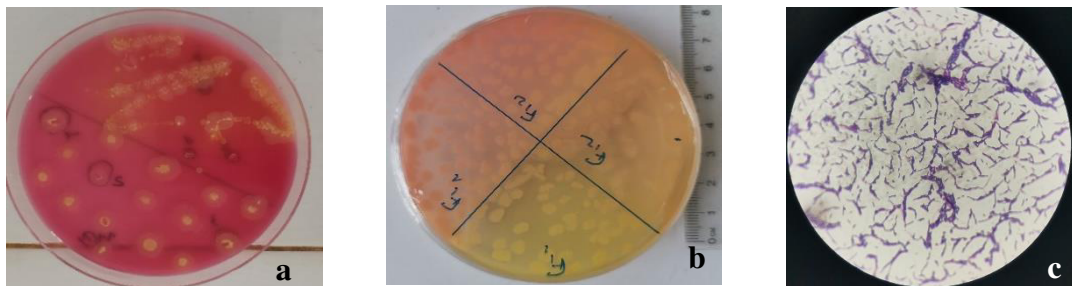


Figure 63: Colonie de bactéries de genre *Bacillus* thermorésistant dans la poudre de cacao

(a ; b): face avant et face reversées colonies après 24 h d'incubation à 30 °C sur milieu gélosé de MYP; c : Gram positif

La charge bactérienne (Figure 64) du genre *Bacillus* dans les fèves marchandes de la variété *Forastero* présentait une variabilité entre 33 et 69.10² UFC/g à San-Pédro et entre 0 et 60.10² UFC/g à Daloa.

Parmi tous les échantillons analysés, la contamination des fèves fermentées dans la cabosse de cacao (F3) était plus prononcée dans ces deux zones, avec respectivement 69,7 ± 5,259.10² UFC/g à San-Pédro et 66,67 ± 13,89.10² UFC/g à Daloa, présentant des différences significatives (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) par rapport au support témoin F1 (33,3 ± 18,9.10² UFC/g) à San-Pédro et 42,42 ± 10,50.10² UFC/g à Daloa.

De même, les échantillons de variété *Mercedes* prélevés à Soubré ont montré que les fèves fermentées sur les supports F3 (106,06 ± 10,50.10² UFC/g) étaient plus contaminées avec une différence significative ($P < 0,05$) en comparaison avec celles du support témoin (F1, 42,42 ± 10,50.10² UFC/g), avec une population bactérienne plus importante que celle de la variété *Forastero*.

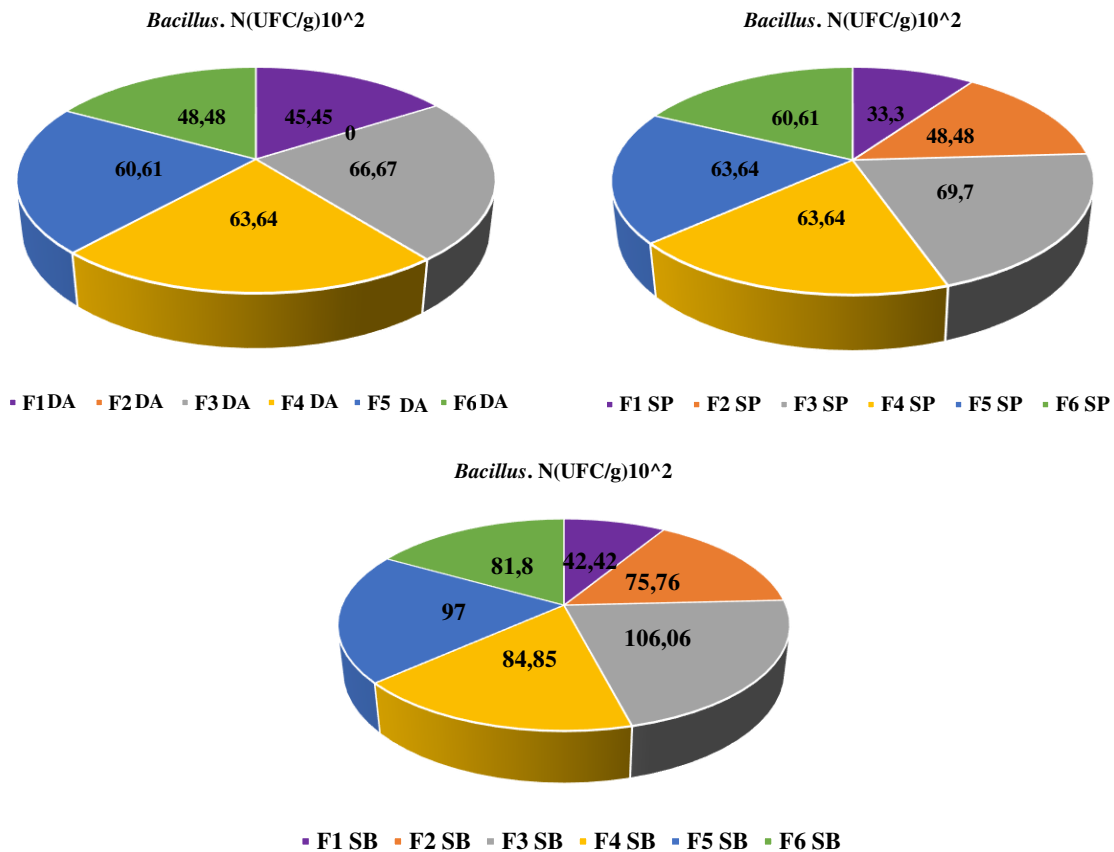


Figure 64: Population de *Bacillus* (forme sporulée) dans la poudre de cacao

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro

1.5. Tests biochimiques des isolats présumés *Bacillus cereus*

Après le dénombrement, les bactéries du genre *Bacillus* isolées de leurs milieux spécifiques ont été soumises à des observations macroscopiques et microscopiques, ainsi qu'à quelques tests biochimiques pour confirmer leur nature sporulée. L'identification et la caractérisation concernent un total de 51 souches isolées à partir de 17 échantillons de poudre de cacao, avec trois souches par échantillon. Toutefois, les échantillons de F4 à Daloa n'ont montré aucune contamination par *Bacillus* (Figure 65).

Les résultats de la caractérisation morphologique indiquent que les souches isolées sont des bâtonnets, courts ou longs, isolés ou en chaînette, avec des extrémités arrondies. La coloration de Gram a ensuite montré que tous les isolats sont des bacilles à Gram positif.

L'étude biochimique des souches s'est concentrée sur la détection des enzymes respiratoires (catalase), des activités hydrolytiques extracellulaires (lécithinase), ainsi que sur la

fermentation du mannitol et du glucose, la production d'indol, l'utilisation du citrate, la mobilité bactérienne et la réduction du nitrate. Ces activités sont variables et reflètent les capacités spécifiques de chaque souche.

Pour tous les supports de fermentation, la plupart des souches isolées étaient positives pour la catalase, suivi d'une réduction du nitrate et d'une production d'indole. De plus, tous les isolats se sont révélés négatifs pour le H₂S. Des colonies entièrement roses certaines, montrant des halos entourés ont été également observées.

Sur cette base, 37 des 51 isolats étaient positifs pour la lécithinase et négatifs pour le mannitol, ce qui représente une proportion de 69,81 %. Cela correspond à 22,64 % des échantillons prélevés à San-Pédro, 24,52 % à Daloa et 22,64 % à Soubré.

Une analyse détaillée a révélé que 66,66 % des souches isolées à partir des fèves fermentées sur les supports F1, F3, F4 et F5 à San-Pédro, F3 et F6 à Daloa, ainsi que F1, F5 et F6 à Soubré, étaient positifs à la lécithinase. Ces souches étaient également négatives au mannitol. Concernant les fèves fermentées sur le support F6 à San-Pédro, 33,33 % des souches isolées étaient positives à la lécithinase et négatives au mannitol. Les fèves fermentées sur les supports F1, F2 et F5 à Daloa, ainsi que sur F3 et F4 à Soubré, ont montré que 100 % des souches isolées étaient positives à la lécithinase et au mannitol. En revanche, les souches isolées des fèves fermentées sur le support F2 à Soubré étaient toutes négatives à la lécithinase et au mannitol.

Le test de mobilité a montré que 31 isolats, soit 58,49 %, étaient mobiles. Cette mobilité se répartit ainsi : 18,86 % pour les échantillons de San-Pédro et Soubré, et 20,75 % pour ceux de Daloa. Concernant la répartition spécifique, 33,33 % des souches isolées à partir des fèves fermentées sur les supports F1, F3, F4 et F5 à San-Pédro, F3 et F6 à Daloa, ainsi que F1, F5 et F6 à Soubré, étaient mobiles. En revanche, 66,66 % des souches isolées sur le support F6 à San-Pédro étaient mobiles, et toutes les souches isolées sur les fèves fermentées sur les supports F2 à San-Pédro et Soubré montraient une mobilité de 100 %.

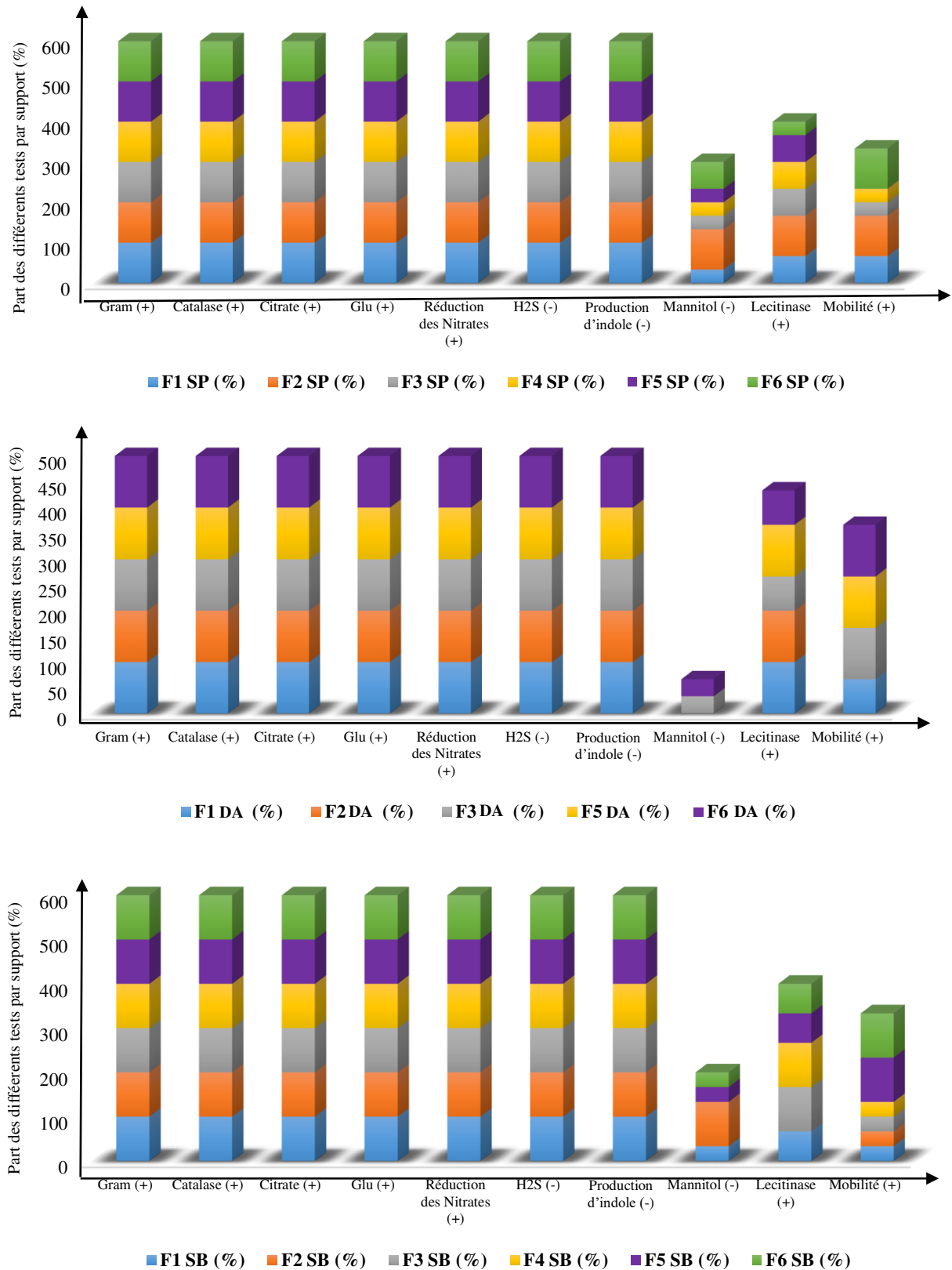


Figure 65: Résultats des tests biochimiques sur les présumés *Bacillus cereus*
 F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; VA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro ; C : colonies isolées

2. DISCUSSION

L'altération de la qualité marchande se produit généralement lentement au cours du stockage. Les contrôles microbiologiques ont pour objectif de détecter les microorganismes pouvant être responsables de ces altérations, et de vérifier l'efficacité des technologies après leur application afin de stocker et de commercialiser les produits microbiologiquement stables. L'évaluation de la flore fongique et des bactéries du genre *Bacillus* dans les fèves marchandes broyées a présenté des résultats qui sont différents d'un support de fermentation à un autre. Selon Schwan & Wheals (2004 b), les moisissures occupent une place importante dans l'écologie des fèves de cacao pendant la fermentation et sont capables de produire des mycotoxines, des composés à l'origine d'une mauvaise odeur du cacao.

L'évaluation du degré de contamination de la flore fongique des fèves de cacao marchandes dans le cadre de cette étude a montré une influence véritable du support de fermentation sur la croissance de la population fongique. Cependant, le taux de contamination d'une zone à une autre n'est pas significativement différent. Toutefois, de tous les supports analysés dans les trois zones d'étude, il ressort que les fèves fermentées sur le support sac en jute (F6) et dans la cabosse de cacao (F3) avaient un taux de contamination plus élevé et constituent une menace pour l'altération de la qualité finale des produits. Les populations étaient de $23,03 \pm 0,52.10^2$ UFC/g pour F6 et $23,03 \pm 0,52.10^2$ UFC/g pour F3 à San-Pédro. À Daloa, les valeurs étaient de $22,42 \pm 1,38.10^2$ UFC/g pour F3 et $14,85 \pm 2,29.10^2$ UFC/g pour F6, tandis qu'à Soubré, la contamination était plus élevée avec $26,06 \pm 1,38.10^2$ UFC/g pour les fèves fermentées sur le support F3.

La plus grande population de moisissure dénombrée sur le support F6 dans toutes les zones d'étude pourrait être expliquée par l'état du support avant son utilisation pour la fermentation. Ces supports, tels que les sacs en jute, sont souvent utilisés pour stocker des fèves de cacao séchées et sont transportés sur de longues distances. Pendant la saison sèche, ils peuvent être exposés à la poussière, tandis qu'en saison des pluies, ils peuvent être soumis à l'humidité et à des conditions de transport difficiles. Toutes ces conditions pourraient donc faciliter des contaminations préalables de ces sacs avant même la fermentation. Selon Elia *et al.* (2016), certains champignons ont un mode de reproduction sexuée, colonisent facilement les produits alimentaires lorsque les conditions de stockages ne sont pas idoines. De plus, au cours de la fermentation, il a été constaté des taches blanches de moisissure dès le 4^{ème} jour sur les fèves avec toutes les fèves fermentées avec les sacs en jute.

Quant aux fèves fermentées dans la cabosse de cacao, le degré de contamination observé serait directement lié au taux de fèves germées et moisi supérieur à 3 % observées après la réalisation de l'épreuve de la coupe. Nos résultats sont inférieurs aux valeurs obtenues par Yao *et al.* (2014) qui ont obtenu une contamination fongique des fèves de cacao brune est de $5,8.10^3$ UFC/g à Alépé, $2,7.10^3$ UFC/g à Duékoué et $1,7.10^3$ UFC/g à Soubré. Nos résultats sont de loin inférieurs à ceux de Mounjouenpou *et al.* (2018) dont les travaux réalisés au cours de la campagne cacaoyère 2007 au Cameroun, ont dénombré une population maximale de moisissure comprise entre $2,02 \pm 1,3.10^4$ et $1,72 \pm 0,10.10^8$ UFC/g. Cette différence pourrait être liée à la différence de conditions climatiques, de stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la microflore (Gacem *et al.*, 2011). Cependant, malgré cette contamination, il a été constaté que les fèves marchandes analysées dans le cadre de cette étude obéissent aux critères de qualité, ne présentent pas de risque de santé. En effet, selon Amina *et al.* (2019), la charge en moisissure dans les échantillons de fèves marchandes doit être moins de 10^6 UFC/g.

L'identification des souches fongiques a été faite essentiellement à partir des caractères cultureux (identification macroscopique) et morphologiques (identification microscopique) à l'objectif x100. Ces caractéristiques ont permis d'identifier certaines souches fongiques par l'utilisation des clés spécifiques de détermination de Chacha (2017). Les principales moisissures isolées au cours de cette étude sont les *Mucors* (majoritaires), *Rhizomucor pusillus*, *rhyzopus* le genre *Aspergillus* constitué de : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus ochraceus* (Figure 61). Ces différentes moisissures identifiées sont conformes à ceux déjà identifiés par la littérature dans les fèves de cacao (Mounjouenpou *et al.*, 2018). La présence d'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus noirs* (*A. carbonarius* et *A. niger*) et surtout d'*A. ochraceus*, implique un risque de production de mycotoxine. L'espèce *Aspergillus niger* a été enregistrée dans les fèves fermentées sur les supports F4 (19,14 %) et F2 (19,64 %) à San-Pédro, ainsi que sur les supports F1 (18,18 %) et F4 (18,18 %) à Daloa. À Soubré, cette espèce a été trouvée sur les supports F1 (16,94 %) et F3 (24,17 %).

L'espèce *Aspergillus flavus* a été identifiée F1 (21,95 %) et F5 (20,51 %) à San-Pédro, et dans les fèves fermentées dans les fèves fermentées sur les F1 (15,25 %), F3 (14,28 %) et F6 (16,88 %, et F5 (13,33 %) à Soubré. En revanche, l'espèce *Aspergillus ochraceus* a été identifié que sur les fèves de variété *Forastero* plus particulièrement sur le support F3 (5,71 %) et F6 (4,13 %) à San-Pédro de même qu'à Daloa avec F6 (15,78 %) et F3 (7,84 %).

Cette disparité peut être attribuée par les conditions climatiques, le stockage (humidité, température et système de ventilation), à la composition matières organiques du sol et le pH (Soumaya & Amina 2018). Selon Gwladys & Tap (2004), *A. ochraceus*, *A. niger* sont potentiellement capables de produire l'*ochratoxine A* (OTA). La forte contamination observée dans les fèves fermentées dans la cabosse de cacao pourrait être due au fait que, lorsque les cabosses sont semi-ouvertes dans les sacs, les fèves sont plus en contact direct avec l'air et le sol. Ces conditions caractérisent la présence d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus ochraceus*, qui peuvent provenir de ces sources. De plus, le pH final des fèves marchandes qui variait entre 5 et 6 qui sont des pH favorables à la prolifération des moisissures mais aussi au taux de germination élevée dans les fèves au cours de la fermentation soit un taux supérieur à 3 %.

D'après Lahachami *et al.* (2023), les champignons peuvent proliférer dans des milieux présentant un pH allant de 3 à 8, avec une croissance optimale observée entre 5 et 6. Le taux de contamination observé avec les fèves fermentées sur le support F6 après fermentation et séchage semble être lié à la présence de moisissures blanchâtres visibles sur la coque des fèves avant et pendant le séchage. Cette contamination pourrait avoir eu lieu pendant le processus de séchage. La présence plus accrue du genre *Mucor* dans l'ensemble est soutenu par Meriem & Loubna (2022) qui ont également démontré qu'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus* sont des souches autochtones, habituellement isolées à partir de la plupart des terrains dans les champs et sur les sols. Nos résultats sont différents de ceux de Kouadio *et al.* (2015) qui ont plutôt obtenu que dans les échantillons de fèves de cacao en provenance de Soubré et Yamoussoukro, 78,91 % des contaminations sont le fait des *Mucors*, 54,05 % pour *Aspergillus*, 30,4 % pour *Penicillium* et le genre *Fusarium* 21,81 %.

La charge des *Bacillus cereus* de forme sporulée des fèves marchandes de la variété *Forastero* variait de 33 à 69.10² UFC/g à San Pedro et de 0 à 60.10² UFC/g à Daloa. Ces niveaux sont inférieurs à ceux des fèves de la variété *Mercedes* dans la zone de Soubré, où les valeurs fluctuaient entre 42 et 106.10² UFC. Ces observations de contamination par les bactéries du genre *Bacillus* dans l'ensemble seraient liées au fait que ces micro-organismes sont reconnus pour être abondants dans le sol. De plus ces microorganismes ont montré une plus grande contamination les derniers jours de fermentation et pourraient facilement s'infiltrer dans les fèves en cas de brisure des fèves. Leur capacité d'être thermotolérants par formation de spores témoigne de leur présence dans ces fèves malgré l'étape du séchage.

En fonction des supports de fermentation, les fèves fermentées dans les cabosses de cacao (F3) ont présenté un taux de contamination plus élevé que celles fermentées sur le support

témoin (F1) et les autres supports. Cette différence était significativement notable selon le test de Dunnett. Les résultats obtenus révèlent un taux de contamination qui diffère par zones, respectivement $69,7 \pm 5,259.10^2$ UFC/g à San Pedro contre $33,3 \pm 18,9.10^2$ UFC/g en F1 ; $66,67 \pm 13,89.10^2$ UFC/g à Daloa contre $42,42 \pm 10,50.10^2$ UFC/g et $106,06 \pm 10,50.10^2$ UFC/g à Soubré contre $42,42 \pm 10,50.10^2$ UFC/g. La contamination plus élevée observée dans les fèves fermentées dans les cabosses de cacao (F3) pourrait être attribuée à un taux élevé de germination des fèves pendant la fermentation, entraînant une proportion plus grande de fèves mitées. De plus, l'acidité des fèves finales après fermentation et séchage pourrait également contribuer à cette contamination accrue.

En effet, après le processus de séchage, les fèves fermentées à l'intérieur de la cabosse ont généralement atteint un pH qui tendait vers 7 dans l'ensemble. Selon les travaux de Merzougui *et al.* (2013), le pH exerce une influence significative sur la résistance thermique des micro-organismes. Un environnement acide avec un pH de 4 lors du traitement peut entraîner une résistance thermique moindre des spores par rapport à un environnement neutre. Des expériences ont révélé que les spores de *B. cereus* étaient moins résistantes lorsque le pH de sporulation était de 5,5 par rapport à un pH de 7.

Toutefois la charge microbienne dénombrée dans les différents échantillons analysés reste inférieure à la moyenne requise pour une toxi-infection. Selon Stenfors *et al.*, (2008) dans le cas des toxi-infections diarrhéiques, la quantité de cellules ou spores de *B. cereus* pathogènes retrouvée dans les aliments incriminés est majoritairement égal ou supérieur à 10^5 UFC par gramme ou millilitre et dans de très rares cas égales ou supérieures à 10^3 par gramme sinon millilitre.

Pour l'identification et la caractérisation des colonies de *Bacillus cereus* isolées de la poudre de cacao, 51 colonies ont été isolées sur l'ensemble des échantillons. Dans un premier temps, l'étude de certains caractères morphologiques et biochimiques, à savoir l'étude des caractéristiques des colonies (forme, aspect et taille) sur des cultures de 48 h en gélose nutritive pour évaluer l'appartenance des souches au genre *Bacillus*.

Les résultats de la caractérisation morphologique montrent que les souches isolées sont des bâtonnets courtes ou longues, isolées ou en chaînette aux extrémités arrondies. L'utilisation de la coloration de Gram a montré que toutes les colonies isolées sont des bacilles à Gram positif. L'étude biochimique des souches a été basée sur les tests de la catalase, de l'utilisation du mannitol et de la lécithinase. L'observation de colonies roses indique l'absence de

fermentation du mannitol par *Bacillus cereus*, tandis que l'apparition d'un halo opaque autour des colonies montre que les lécithines ont été hydrolysées par la lécithinase des *Bacillus*.

Sur cette base, 37 isolâtes sur les 51 étaient positives à la lécitinase et négatives aux mannitols soit une proportion de 69,81 %. Soit 22,64 % avec les échantillons prélevés à San-Pédro, 24,52 % à Daloa et 22,64 % à Soubré (Figure 65). Le test de mobilité a montré que 31 isolats étaient mobiles avec une proportion de 58,49 %. Soit 18,86 % pour les échantillons de San-Pédro et Soubré et 20,75 % pour les échantillons prélevés à Soubré.

Toutefois, selon Logan & De Vos (2009), les présumés *Bacillus cereus* sont spécifiquement caractérisés comme étant des bactéries à Gram positif, avec des activités métabolites suivante : capables de fermenter le glucose, utilisant le citrate ou le mannitol comme substrat et capable de réduire les nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-). Selon ces auteurs, ces bactéries sont capables de dégrader le peroxyde d'hydrogène, dégrader la lécithine, dégrader le tryptophane en indole, capable de se déplacer activement à l'aide de flagelles et produire du H_2S à partir de composés soufrés.

Les résultats obtenus montrent que parmi les supports analysés, seuls les fermentées sur les sacs en polypropylène à San-Pédro, feuilles de bananier, feuilles de palmier, sacs en polypropylène et bâche en polypropylène à Daloa, ainsi que les feuilles de palmier, bâche en polypropylène et cabosses de cacao à Soubré, ont produit des fèves non contaminées par l'espèce *Bacillus cereus*. Ces supports ont ainsi été classés comme exemptés de contamination par cette bactérie. La consommation des produits dérivés des fèves fermentées sur ces supports ne présenterait donc pas de risque de toxi-infectio dans ces zones d'étude.

Cependant, l'observation générale du pourcentage élevé de la forme sporulée serait liée à la phase du séchage qui pourrait créée des conditions défavorables de des bactéries et donc se mettent sous cette forme en attendant les conditions favorables.

En effet, il a été observé que dans le cas du lait UHT (Ultra Haute Température), les spores de ces bactéries peuvent être activées par le choc thermique, entraînant leur germination et la production d'enzymes extracellulaires (Chen *et al.*, 2017). Stenfors *et al.* (2008) ont quant à eux montré que les bactéries à spores, telles que *Bacillus cereus*, ont été identifiées comme étant responsables d'intoxications alimentaires avec une production d'entérotoxines thermostables et thermolabiles impliquées dans les toxi-infections alimentaires. De plus, ces bactéries sont capables de produire la toxine émétique (céréulide) capables de résister à des températures élevées parfois utilisées dans l'industrie agroalimentaire provoquant des vomissements chez le consommateur (Ehling-Schulz *et al.*, 2004).

2. CONCLUSION PARTIELLE

À l'issue du processus de séchage des fèves, les fèves commerciales fermentées sur différents supports de fermentation ont démontré une disparité significative dans la contamination par des populations de bactéries du genre *Bacillus* à forme sporulée et de la flore fongique.

Les bactéries du genre *Bacillus* à forme sporulée ont été plus fréquemment détectées avec les fèves de la variété *Mercedes*, mais leur présence était plus marquée avec les fèves fermentées à l'intérieur de la cabosse de cacao (F3). De plus, l'identification morphologique et biochimique qui ont montré que la majorité de ces bactéries du genre *Bacillus* étaient d'espèces *Bacillus cereus* révèle le risque d'intoxication alimentaire. Cependant, les sacs en polypropylène (F5), feuilles de palmier (F2) et bâches en polypropylène (F4) ont permis d'obtenir des fèves saines sans ambiguïté.

Par ailleurs, la contamination en moisissure était plus prononcée dans les fèves fermentées dans des sacs en jute (48 à 80.10² UFC/g) et dans la cabosse de cacao (63 à 100.10² UFC/g), par rapport à une population variant de 33 à 45.10² UFC/g dans d'autres conditions. L'identification des genres et espèces fongiques a révélé une présence plus marquée des espèces *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus niger* dans les fèves fermentées dans des sacs en jute et dans la cabosse de cacao. Ces résultats étaient significativement différents de ceux observés pour les fèves fermentées sur le support témoin. Les fèves fermentées sur les feuilles de bananier (témoin), les bâches en polypropylène et sac en polypropylène ont plutôt présenté une contamination plus élevée par le genre *Mucor* et *Aspergillus flavus*. L'observation de moisissures telles qu'*Aspergillus ochraceus* potentielles productrices d'ochratoxine A (OTA), ainsi que de *Bacillus cereus* présume dans la majorité des échantillons de fèves fermentées dans les cabosses de cacao et dans des sacs en jute, soulève des préoccupations concernant leur qualité et leur sécurité sanitaire. Mais, bien que ces niveaux de contamination restent inférieurs aux normes établies, ils pourraient représenter un risque d'altération du produit final et d'intoxication pour les consommateurs.

CHAPITRE V : QUALITÉ ORGANOLEPTIQUE ET CARACTÉRISTIQUE SENSORIELLE DE LA LIQUEUR DE CACAO

Les fèves de cacao constituent la principale matière première pour la production de chocolat. Pendant la fermentation, l'action microbienne solubilise la pulpe entourant les fèves et produit une gamme de métabolites finaux, tels que des alcools et des acides organiques, qui diffusent dans les fèves, entraînant leur mort. Ces modifications induisent une série de réactions biochimiques à l'intérieur des fèves, générant des précurseurs chimiques de la saveur, de l'arôme et de la couleur du chocolat (Thompson *et al.*, 2001). L'objectif de ce chapitre est d'évaluer les paramètres de la qualité organoleptique, tels que les acides organiques, les sucres réducteurs, les acides aminés et les composés organiques volatils. Il s'agit également de réaliser une analyse sensorielle pour mesurer l'appréciation et l'acceptabilité des liqueurs obtenues à partir de fèves fermentées sur de nouveaux supports de fermentation, en comparaison avec celles fermentées sur des feuilles de bananier.

1. RÉSULTATS

Des codes ont été utilisés que précédemment pour un même support de fermentation dans les trois zones d'étude :

F1 pour les feuilles de bananier (Support Témoin), **F2** pour les feuilles de pamier, **F3** pour les cabosses de cacao, **F4** pour les bâches en polypropylène, **F5** pour sacs en polypropylène et **F6** pour les sacs en jute.

1.1.Profil en sucres et acides organiques des fèves séchées

Les différents pics des sucres réducteurs (fructose et le glucose) et acides organiques (acide oxalique, l'acide citrique, l'acide succinique, l'acide lactique et l'acide acétique) analysés à l'HPLC est représenté par le chromatogramme de la Figure 66.

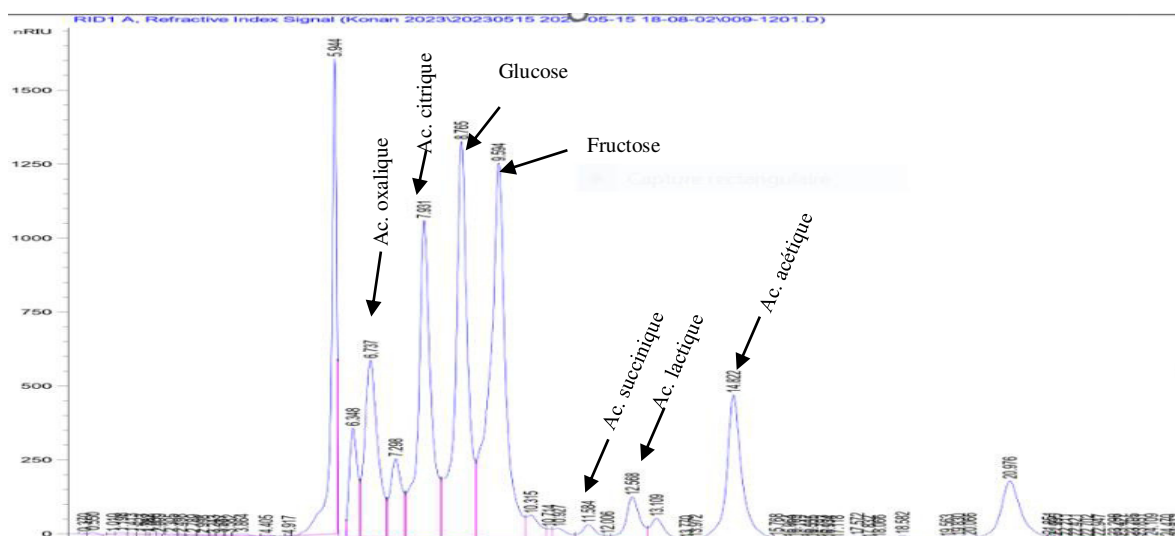


Figure 66: Exemple de chromatogramme des acides organiques et sucres réducteurs.

Les concentrations en sucres réducteurs, ainsi que des acides organiques observées sont illustrées par la Figure 67.

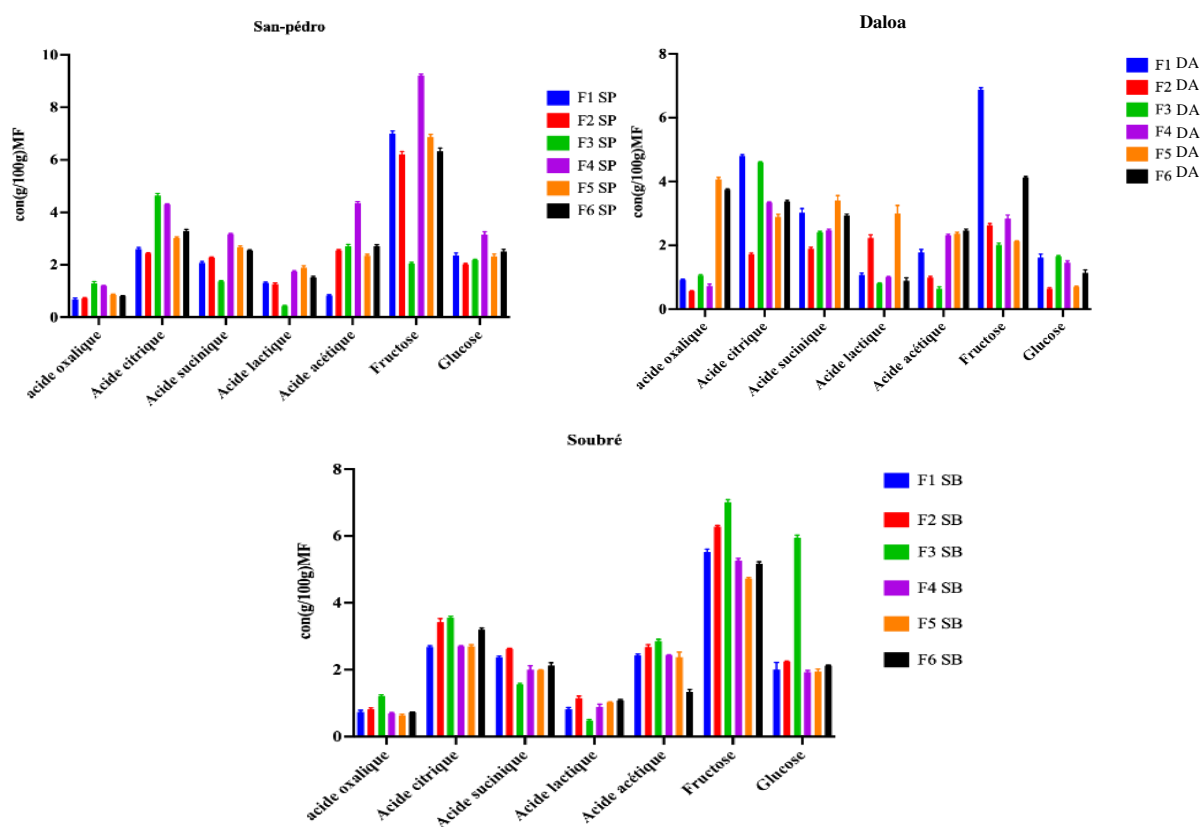


Figure 67: Concentration en acides organiques et sucres réducteurs

La concentration du fructose variait de 2,01 à 9,22 g/100 g avec une différence significative (Dunnnett ; $\alpha = 0,05$). L'analyse avec les fèves issues de la variété *Forastero* a révélé que les fèves fermentées sur le support F4 ($9,22 \pm 0,05$ g/100 g) avaient la concentration

la plus élevée en fructose avec une différence significative en comparaison avec celles des fèves témoins (F1 ; $7 \pm 0,10$ g/100 g) à San-Pédro.

Par contre, à Daloa, la plus grande concentration a été enregistrée avec les fèves fermentées sur le support F1 ($6,88 \pm 0,06$ g/100 g) avec des différences significatives en comparaison avec des fèves fermentées sur les autres supports de fermentation.

Cependant, les fèves fermentées sur les supports F2 ($6,33 \pm 0,04$ g/100 g) et F6 ($6,22 \pm 0,05$ g/100 g) à San-Pédro et les supports F2, F3, F4 et F5 ($2,63 \pm 0,05$; $2,01 \pm 0,06$; $2,8 \pm 0,12$; $2,12 \pm 0,02$ g/100 g respectivement) à Daloa ont présenté des valeurs plus proches. Les fèves fermentées sur le support F3 avaient enregistré la plus faible dans les deux zones, soit $2,04 \pm 0,02$ g/100g à San-Pédro et $2,01 \pm 0,04$ mg/g à Daloa.

Dans la zone de Soubré, pour la variété *Mercedes*, le support F3 a montré la concentration en fructose la plus élevée avec $7,01 \pm 0,08$ g/100 g, suivi du support F2 ($6,28 \pm 0,04$ g/100 g), avec une différence significative par rapport au support témoin F1 ($5,52 \pm 0,09$ g/100 g). En revanche, les fèves fermentées sur le support F4 ont présenté la plus faible concentration, à savoir $4,73 \pm 0,03$ g/100 g.

La concentration en glucose variait entre 0,64 et 5,95 g/100g avec des différences significatives ($P < 0,05$). Les plus grandes concentrations ont été enregistrées avec les fèves de variété *Mercedes* dans la zone de Soubré. Les fèves fermentées sur le support F3 ($5,95 \pm 0,08$ g/100 g) avait présenté une concentration plus importante avec des différences significatives (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) en comparaison avec celles du support témoin F1 ($2,00 \pm 0,21$ mg/g). Les analyses réalisées avec les fèves de variété *Forastero*, ont montré que les fèves fermentées sur le support F4 ($3,16 \pm 0,11$ g/100 g) à San-Pédro avaient enregistré la concentration la plus élevée significativement différente du support témoin F1 ($2,36 \pm 0,09$ g/100g). Quant à la zone de Daloa, la concentration la plus importante a été révélée dans les fèves fermentées sur le support F3 tel qu'observé avec une concentration de $1,65 \pm 0,03$ mg/g plus proches de celles des fèves fermentées sur le support témoin (F1 ; $1,61 \pm 0,11$ mg/g) sans aucune différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$).

Pour les acides organiques, la concentration en acide lactique variait entre 0,44 g/100g et 2,86 g/100 g avec une différence significative ($P < 0,05$). Avec la variété *Forastero*, les fèves fermentées sur les supports F5 étaient plus concentrées dans les deux zones. Les résultats ont donné respectivement $1,89 \pm 0,07$ mg/g à San-Pédro et $3,00 \pm 0,25$ g/100g à Daloa sans aucune différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) en comparaison avec celle du support témoin, respectivement $1,06 \pm 0,06$ mg/g à Daloa et $1,30 \pm 0,03$ g/100 g.

Dans la zone de Soubré avec la variété *Mercedes*, les fèves fermentées sur le support F2 ($1,15 \pm 0,06$ g/100 g) avaient la concentration la plus élevée tandis que celles fermentées sur le support F3 ($0,48 \pm 0,03$ g/100 g) avait la plus petite concentration. Par ailleurs, la concentration des fèves fermentées sur le support F4 ($0,88 \pm 0,08$ g/100 g) était sensiblement égale en comparaison avec celles fermentées sur le support témoin F1 ($0,82 \pm 0,05$ g/100 g). La concentration en acide acétique variait entre 0,64 g/100 g et 4,36 g/100 g avec une différence significative ($P < 0,05$). Les fèves fermentées sur le support F4 ($4,36 \pm 0,05$ g/100 g) à San-Pédro et celles du support F6 ($2,46 \pm 0,05$ g/100 g) à Daloa étaient prédominantes avec les fèves de variété *Forastero* avec des différences significatives (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) en comparaison avec le support témoin respectivement F1 ($1,77 \pm 0,09$ g/100 g) à Daloa et F1 ($0,83 \pm 0,03$ g/100 g) à San-Pédro.

Dans la zone de Soubré les fèves fermentées sur le support F3 ($2,68 \pm 0,05$ g/100 g) avait observé la concentration la plus élevée tandis que la plus faible concentration a été enregistré avec les fèves fermentées sur le support F6 ($1,34 \pm 0,07$ g/100 g) pour la variété *Mercedes*. Les fèves fermentées sur le support F4 ($0,88 \pm 0,08$ g/100 g et F5 ($1,02 \pm 0,02$ g/100 g) avaient des concentrations sensiblement égales (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) à celles des fèves fermentées sur le support témoin F1 ($0,82 \pm 0,05$ g/100 g).

La concentration en acide citrique était comprise entre 1,72 et 4,81 g/100 g avec des différences significatives (Dunnett ; $\alpha = 0,05$). La concentration la plus élevée a été observée sur les fèves fermentées sur le support F3 ($4,64 \pm 0,08$ g/100 g) et support F4 ($4,30 \pm 0,03$ g/100g) dans la zone de San-Pédro significativement différent de celles fermentées sur le support témoin (F1 ; $2,59 \pm 0,06$ g/100g). Les fèves fermentées sur le support témoin F1 ($4,81 \pm$ g/100g) et F3 ($4,60 \pm 0,02$ g/100 g) avaient la plus grande concentration significativement différente de celle de F2 ($1,72 \pm 0,04$ g/100 g) à Daloa selon le test de Dunnett.

À Soubré avec les fèves de variété *Mercedes*, la plus grande concentration a été observée sur les fèves fermentées sur le support F3 ($3,56 \pm 0,04$ g/100 g). Les fèves fermentées sur les supports F4 et F5 avec des concentrations respectives de $2,70 \pm 0,02$ g/100 g et $2,70 \pm 0,05$ g/100 g étaient sensiblement identique à celles de fèves du support témoin F1 ($2,68 \pm 0,04$ g/100 g). La concentration en acide oxalique était comprise entre 0 et 4 g/100 g avec une différence significative ($P < 0,05$). Les résultats obtenus pour les fèves de la variété *Forastero* ont montré que celles fermentées sur les supports F5 ($4,07 \pm 0,03$ g/100 g) et F6 ($3,74 \pm 0,04$ g/100 g) à Daloa étaient les plus dominantes. En revanche, à San-Pédro, ce sont les fèves fermentées sur les supports F3 ($1,30 \pm 0,01$ g/100 g) et F4 ($1,19 \pm 0,02$ g/100 g) qui ont présenté les

concentrations les plus élevés. Les fèves fermentées sur le support F3 ($1,22 \pm 0,04$ g/100g) ont également montré une plus grande concentration dans la zone de Soubré avec les fèves de variété *Mercedes*.

La teneur en acide succinique avait une plage entre 1,36 g/100 g et 3,41 g/100 g. Les fèves fermentées sur le support F4 ($3,17 \pm 0,03$ g/100g) dans la zone de San-Pédro étaient plus concentrées. A Daloa, les fèves fermentées sur les F6 ($2,94 \pm 0,04$ g/100 g) ont donné des concentrations similaires sans différence significative (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) en comparaison avec le support F1 ($3,02 \pm 0,13$ g/100g) avec les fèves de variété *Forastero*.

A Soubré, avec les fèves de variété *Mercedes* la grande concentration a été observée avec les fèves fermentées sur le support F2 ($2,62 \pm 0,02$ g/100g) significativement différents (Dunnett ; $\alpha = 0,05$) en comparaison aux fèves fermentées sur le support témoin (F1 ; $2,37 \pm 0,03$ g/100 g) contrairement à celles fermentées sur le support F3 ($1,56 \pm 0,03$ g/100g) avec la faible concentration.

Les tracés de chargement et de score indiquent que les deux principales composantes (PC1 et PC2) expliquent plus de 60 % de la variabilité de l'ensemble des données, respectivement 92,8 % à San-Pédro, 79 % à Daloa et 84,6 % à Soubré (Figure 68).

À San-Pédro (Figure 68 a), le support F4 est positivement corrélé à PC2 (41,6 %) et se caractérise par des fèves plus concentrées en acide acétique et glucose, contrairement aux fèves fermentées sur les supports F1 et F2. Les supports F5 et F6, corrélés positivement à PC1 (51,2 %), se sont distingués par des fèves produisant plus d'acide succinique et acide lactique, en opposition avec les fèves fermentées sur le support F3.

Dans la zone de Daloa (Figure 68 b), les supports F1, F4 et F3, corrélés à PC1 (44,4 %), présentent des fèves ayant produits plus de fructose, d'acide citrique et de glucose, en opposition avec les fèves fermentées sur le support F2. En revanche, le support F6, corrélé positivement à PC2 (34,6 %), est caractérisé par des fèves ayant produits plus de concentration en acide citrique et acide acétique.

Quant à la zone de Soubré (Figure 68 c), le support F3, corrélé positivement à PC1 (66,5 %), se caractérise par des fèves avec une concentration plus élevée en glucose et acide oxalique, opposées aux fèves fermentées sur le support F6. Le support F2, corrélé positivement à PC2 (18,1 %), présente des fèves plus concentrées en acide succinique et acide lactique. En revanche, le support F1, corrélé négativement à PC1, et les supports F4 et F5, corrélés négativement à PC2, sont caractérisés par une concentration plus faible en acide citrique et acide acétique. Pour une meilleure visibilité et une meilleure classification, une analyse par

classification ascendante Hiérarchique (CHA), reprenant l'ensemble des paramètres étudié, a permis de discriminer les différents supports.

Ainsi, dans la zone de San-Pédro (Figure 68 a), à 85,96 % de similarité sur le dendrogramme, deux principaux clusters ont été identifiés. Les fèves fermentées sur les supports F2, F4, F5 et le support témoin F1 constituaient le premier groupe et caractérisés par la teneur en acide citrique, acide acétique, acide succinique, acide lactique, glucose et fructose. Les fermentées sur le support F3 constituaient à elles seuls, le deuxième groupe et étaient caractérisées par teneur en acide oxalique.

Quant à la zone de Daloa (Figure 68 b), à 80,83 % de similarité, trois principaux groupes ont été constitué ; ce sont les fèves fermentées sur les supports F3, F4 et le témoin (F1) qui ont constitués le premier groupe caractérisé par la production plus importante en acide citrique, et glucose. Les fèves fermentées sur les supports F6 et F5 ont été regroupées dans le deuxième groupe en raison de leur production d'acide oxalique, acide acétique, acide lactique et acide succinique. En revanche, les fèves fermentées sur le support F2 appartiennent au troisième groupe, distingué par des caractéristiques différentes.

En revanche, la zone de Soubré (Figure 68 C) à 98 % de similarité, trois principaux clusters ont été obtenus. Le premier était constitué des fèves fermentées sur les supports F1, F2, F4 et F5 caractérisées par leur teneur en acide succinique, et acide lactique, mais des teneurs plus réduits en acide citriques, fructose et acide oxalique. Les fèves fermentées sur les F6 et F3 ont constitué le deuxième et troisième groupe et caractérisées par la teneur en glucose.

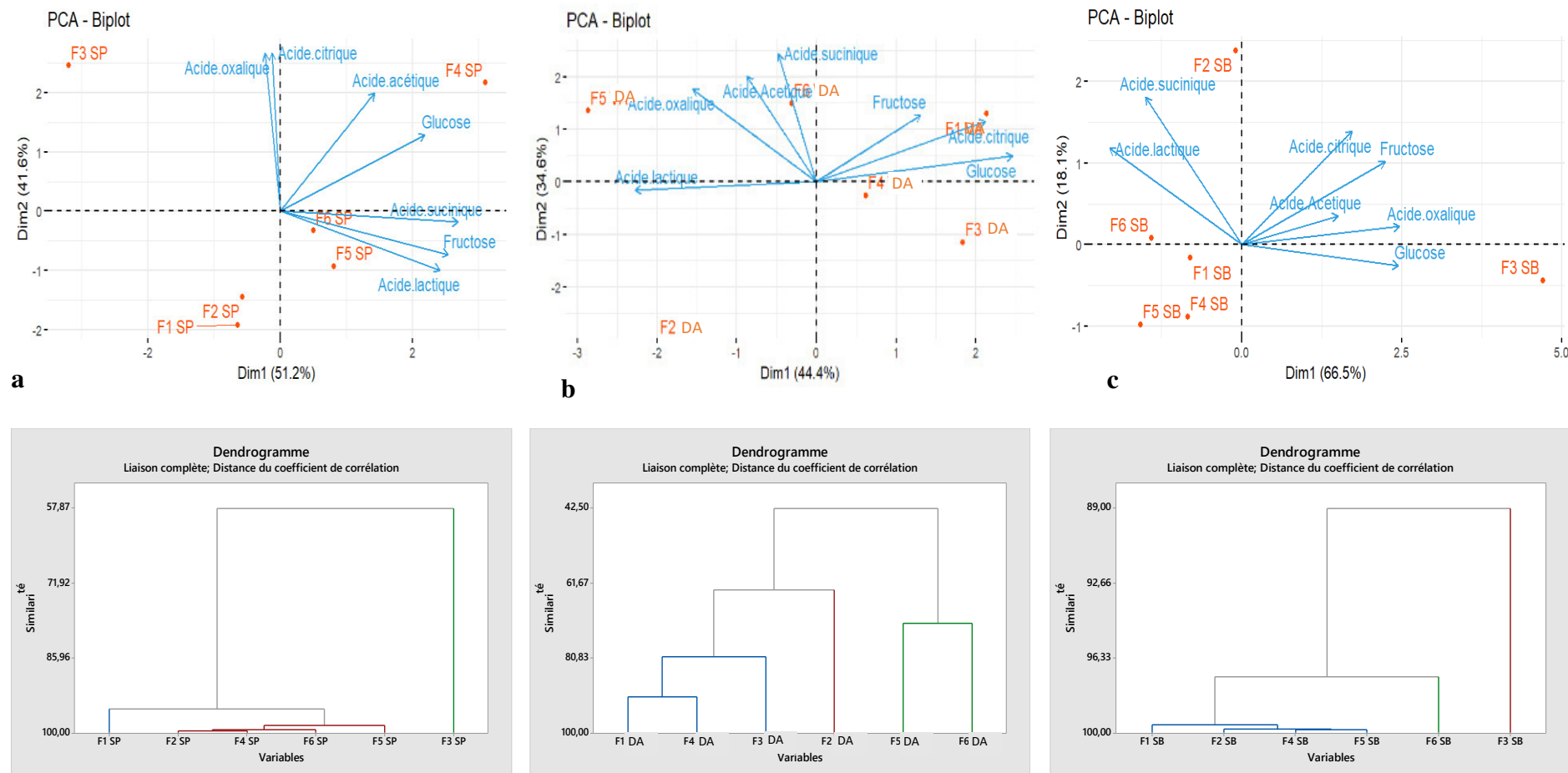


Figure 68: Interdépendance de la composition en sucre réducteur et acide organique et des sucres réducteurs avec les différents supports de fermentation.

Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » ont été significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle. F1 : feuille de bananier ; F2 : Feuille de palmier ; F3 : Cabosse de cacao ; F4 : Bâche polypropylène, F5 : Sac en polypropylène et F6 : sac en jute. SP (a) ; San-Pédro; SB(b) : Soubré ; DA(c) : Daloa. Les moyennes non étiquetées avec la lettre « a » sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle (F1

1.2.Profil en acide aminé de la liqueur de cacao

Les résultats obtenus ont révélé que 15 acides aminés identifiés dans les différentes liqueurs dans les trois zones d'étude analysées par HPLC selon le chromatogramme suivant (Figure 69). Les différents acides aminés ont été regroupés en quatre classes comme suite : les hydrophobes, les acides, les basiques et autres.

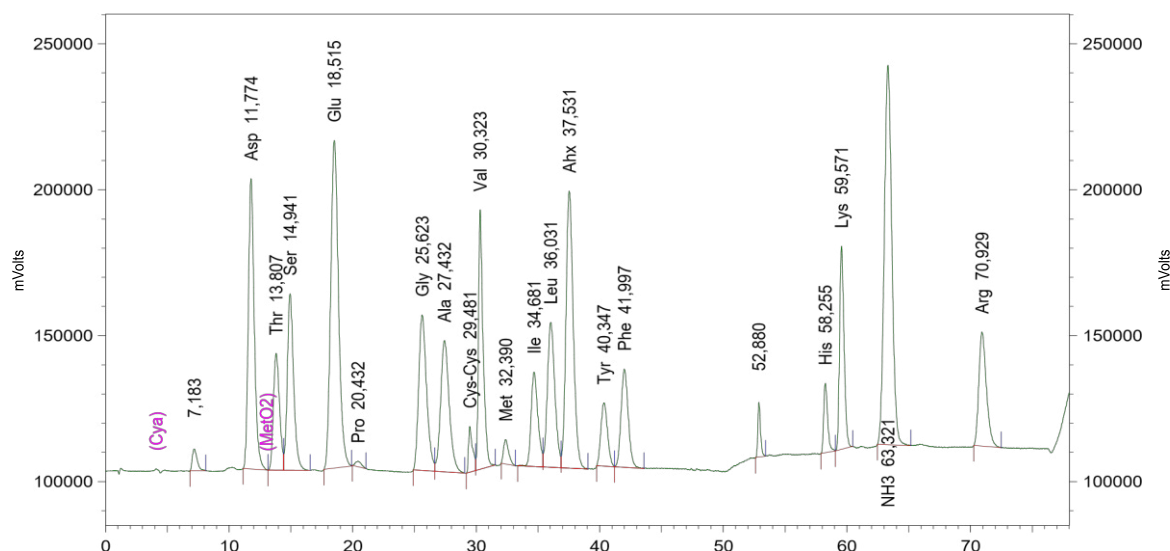


Figure 69: Chromatogrammes des acides aminés analysés sur les fèves de cacao

La liqueur des fèves fermentées sur les différents supports de fermentation avait une teneur en acides aminés libre total qui variât entre 10 et 20 g/100g (Tableau XXVI). Soit une concentration comprise entre 14 et 20 g/100 g pour les échantillons de San-Pédro, entre 10 et 16 g/100g pour les échantillons de Daloa et entre 13 et 17 g/100g pour les échantillons de Soubré avec des différences significatives ($P < 0,05$). Les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F2 ($20,48 \pm 0,37$ g/100 g) à San-Pédro, F3 ($16,33 \pm 0,22$ g/100 g) à Daloa et F3 ($17,04 \pm 0,30$ g/100 g) à Soubré ont montré des concentrations plus importantes en acide aminé libre totales avec des différences significatives en comparaison de celles issues du support témoin. Cependant, le test de similarité effectué par Dunnnett a montré que dans la zone de San-Pédro, les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F5 ($14,43 \pm 0,28$ g/100 g) ne présentait aucune différence significative en comparaison avec celles du support F1 (Témoin ; $14,34 \pm 0,16$ g/100 g). Les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F2 ($11,92 \pm 0,04$ g/100 g) à Daloa étaient proches à celles du support témoin F1 ($11,95 \pm 0,04$ g/100 g). Dans la zone de Soubré, les liqueurs des fèves sur les supports F4 ($13,90 \pm 0,19$ g/100 g) et F6 ($13,87 \pm 0,19$ g/100 g) présentaient des teneurs proches de F1 ($14,01 \pm 0,47$ g/100 g). Dans l'ensemble, la proportion en acides aminés hydrophobes variait entre 30 et 33 % avec 30-31 % à San-Pédro

et Daloa contre 33 à 34 % à Soubré sans différence significative (Tableau XXVI). Plus spécifiquement, les composés Phenylalanine, Valine et Leucine étaient plus importants. Cependant, le test de similarité de Dunnnett au seuil de 5 % a montré que les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F5 ($0,77 \pm 0,04$ %) étaient similaires à celles du support témoin F1 ($0,77 \pm 0,02$ %) en Phenylalanine à San-Pédro. Dans la zone de Daloa, à l'exception des F3 ($0,92 \pm 0,03$ %) qui a montré pourcentage plus élevé, toutes les autres liqueurs ont montré des concentrations identiques à celles du support témoin F1 ($0,61 \pm 0,02$ %) sans aucune différence significative. Quant à la zone de Soubré, ce sont les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F2 ($0,7 \pm 0,02$ %), F4 ($0,74 \pm 0,03$ %) et F6 ($0,74 \pm 0,03$ %) qui ont montré des concentrations identiques à celles du support témoin F1 ($0,74 \pm 0,04$ %).

La teneur en Valine présentait des concentrations différentes d'un support à l'autre dans l'ensemble des trois zones d'étude. Toutefois, une similarité a été observée avec les fèves fermentées sur les supports F5 ($0,9 \pm 0,03$ %) en comparaison aux liqueurs issues du support témoin F1 ($0,94 \pm 0,03$ %) dans la zone de San-Pédro. Dans la zone de Daloa et Soubré, ce sont les liqueurs issues des supports F2, F4 et F6 qui ont montré des concentrations identiques à celles du support témoin, respectivement $0,74 \pm 0,03$ % et $0,88 \pm 0,03$ %. La concentration en Leucine étaient sensiblement égale entre les liqueurs des fèves fermentées sur le support F5 ($0,71 \pm 0,02$ %) en comparaison à celles du support F1 ($0,78 \pm 0,06$ %) à San-Pédro. À Daloa, ce sont l'ensemble des échantillons, à l'exception des liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F3 ($1,08 \pm 0,07$ %) plus concentré. À Soubré les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F2 ($0,83 \pm 0,02$ %), F4 ($0,94 \pm 0,04$ %) et F6 ($0,88 \pm 0,05$ %) étaient plus proches des liqueurs fermentées sur le support témoin F1 ($0,83 \pm 0,02$ %). Les fèves fermentées sur les supports F3 ($1,17 \pm 0,02$ %) et F5 ($1,04 \pm 0,04$ %) étaient plus concentrées.

La classe des acides ((l'acide Aspartique (Asp) et l'acide Glutamique (Glu)) avait montré la plus grande concentration dans l'ensemble. Sa concentration était comprise entre 33 et 34 % pour les échantillons de liqueurs prélevés à San-Pédro et Soubré et entre 34 et 35 % pour la zone de Daloa. Le test de similarité a montré des valeurs plus proches avec les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F5 ($3,3 \pm 0,03$ %) et F3 ($3,55 \pm 0,02$ %) en comparaison de celles du support témoin F1 ($3,27 \pm 0,03$ %) à San-Pédro. À Daloa, les fèves fermentées sur les supports F2 ($2,74 \pm 0,04$ %) et F5 ($2,72 \pm 0,30$ %) ont montré des concentrations plus proches sans aucune différence significative à celles du support témoin F1 ($2,74 \pm 0,04$ %). Et enfin dans la zone de Soubré, les liqueurs des fèves fermentées sur tous les

supports à l'exception des fèves fermentées sur le support F3 ($3,72 \pm 0,02 \%$) ont présenté une similarité en Acide Glutamique en comparaison à celles du support témoin F1 ($3,31 \pm 0,07 \%$).

La proportion totale des composés basiques dans les trois zones d'étude était comprise entre 14 et 15 % avec Arginine et Lysine plus dominants. Les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F3 ($1,2 \pm 0,05 \%$) et F5 ($1,09 \pm 0,02 \%$) à San-Pédro avaient des concentrations plus proches de celles du support témoin F1 ($1,0 \pm 0,05 \%$) respectivement en Arginine. La concentration en Lysine des fèves F5 ($0,81 \pm 0,03 \%$) et F1 ($0,76 \pm 0,02 \%$) était proche. Dans la zone de Daloa, tous les échantillons à l'exception de celles des fèves fermentées sur le support F3 ($0,93 \pm 0,05 \%$) ont montré des concentrations similaires à celles du support témoin F1 ($0,71 \pm 0,03 \%$) en Arginine. Quant à la zone de Soubré, les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F4 ($1,03 \pm 0,06 \%$), F5 ($1,16 \pm 0,05 \%$) et F6 ($1,03 \pm 0,03 \%$) avaient des concentrations en Arginine semblables à celles du support témoin F1 ($1,07 \pm 0,00 \%$).

La concentration totale des autres composés a montré une proportion comprise entre 19,4 et 19,83 % à San-Pédro, entre 19,2 et 19,7 % à Daloa et entre 18,5 et 20,5 % à Soubré. Les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F2 ($20,48 \pm 0,37 \text{mg}/100 \text{ g}$) à San-Pédro ont une concentration plus importante. Toutefois, le test de similarité a montré que la concentration pour les échantillons du support F4 ($14,43 \pm 0,28 \text{mg}/100 \text{ g}$) et celle du support F1 ($14,34 \pm 0,16 \text{mg}/100 \text{ g}$) étaient plus proches. Par ailleurs, les liqueurs issues des échantillons prélevés dans la zone de Daloa étaient plus importantes pour les supports F3 ($16,33 \pm 0,22 \text{mg}/100 \text{ g}$) soit 19,53 %. Cependant, aucune différence significative n'a été observée avec les échantillons des fèves issues du support F2 ($11,92 \pm 0,04 \text{mg}/100 \text{ g}$) en comparaison avec celle du support témoin F1 ($11,95 \pm 0,04 \%$). La proportion des autres composés d'acide aminés pour les échantillons prélevés dans la zone de Soubré était comprise entre 13 et 17 %. La liqueur des fèves fermentées sur le support F3 ($17,04 \pm 0,30 \text{mg}/100 \text{ g}$) était plus concentrée avec une proportion de 19,60 %. Les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F4 ($13,90 \pm 0,19 \text{mg}/100 \text{ g}$) et F6 ($13,87 \pm 0,19 \text{mg}/100 \text{ g}$) avaient des concentrations proportionnelles à celles du support témoin F1 ($14,01 \pm 0,47 \text{mg}/100 \text{ g}$). Les plus grandes concentrations ont été retrouvées avec les composés serine, proline et Glycine dans l'ensemble des échantillons de liqueurs.

Tableau XXVI: Profil d'acides aminés libres des liqueurs issues des fèves fermées sur les différents supports de fermentation analysé par HPLC (N=3) (Moy $\pm$ SD)

	Hydrophobe (gaa/100g MF)						% T	Acide (gaa/100g MF)		%T	Basiques (g aa/100g MF)			% T	Autres (g aa/100g MF)				%T	TAAL
	Ala	Ile	Phe	Val	Tyr	Leu		Glu	Asp		His	Lys	Arg		Thr	Ser	Pro	Gly		
F1SP (T)	0,68$\pm$0,03^a	0,55$\pm$0,02	0,77$\pm$0,02^a	0,94$\pm$0,03^a	0,64$\pm$0,02^a	0,9$\pm$0,03^a	31,2 4	3,27$\pm$0,03^a	1,69$\pm$0,02^a	34,5	0,28 $\pm$ 0,03 ^a	0,76$\pm$0,02^a	1,06$\pm$0,05^a	14,64	0,6$\pm$0,04	0,75$\pm$0,04^a	0,76$\pm$0,02^a	0,69$\pm$0,00	19,5 2	14,34 $\pm$ 0,16 ^a
F2 SP	0,98 $\pm$ 0,03	0,74 $\pm$ 0,02 ^a	1,09 $\pm$ 0,01	1,29 $\pm$ 0,02	0,9 $\pm$ 0,03	1,25 $\pm$ 0,08	30,5 2	4,69 $\pm$ 0,02	2,41 $\pm$ 0,25	34,6 6	0,42 $\pm$ 0,06 ^a	1,09 $\pm$ 0,08	1,56 $\pm$ 0,12	14,98	0,86 $\pm$ 0,02	1,08 $\pm$ 0,04	1,12 $\pm$ 0,03	1 $\pm$ 0,02	19,8 3	20,48 $\pm$ 0,37
F3 SP	0,78 $\pm$ 0,02	0,66 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,02	1 $\pm$ 0,00	0,66 $\pm$ 0,04 ^a	1,13 $\pm$ 0,02	31,5 8	3,55 $\pm$ 0,02 ^a	1,97 $\pm$ 0,08 ^a	33,7 2	0,33 $\pm$ 0,02	0,96 $\pm$ 0,05	1,2 $\pm$ 0,05 ^a	15,21	0,69 $\pm$ 0,02 ^a	0,9 $\pm$ 0,10	0,8 $\pm$ 0,04 ^a	0,8 $\pm$ 0,02 ^a	19,4 8	16,37 $\pm$ 0,27
F4 SP	0,81 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,01	0,94 $\pm$ 0,03	1,09 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,05	1,07 $\pm$ 0,06	30,9 8	3,9 $\pm$ 0,05	2 $\pm$ 0,02	34,3 7	0,35 $\pm$ 0,04 ^a	0,92 $\pm$ 0,01	1,29 $\pm$ 0,02	14,91	0,71 $\pm$ 0,07	0,91 $\pm$ 0,04	0,9 $\pm$ 0,10	0,86 $\pm$ 0,10	19,7 2	17,16 $\pm$ 0,14
F5 SP	0,68 $\pm$ 0,02 ^a	0,55 $\pm$ 0,02 ^a	0,77 $\pm$ 0,04 ^a	0,9 $\pm$ 0,03 ^a	0,55 $\pm$ 0,02	0,93 $\pm$ 0,05 ^a	30,3 6	3,3 $\pm$ 0,03 ^a	1,74 $\pm$ 0,04 ^a	34,9 0	0,28 $\pm$ 0,02 ^a	0,81 $\pm$ 0,03 ^a	1,09 $\pm$ 0,02 ^a	15,1	0,62 $\pm$ 0,04 ^a	0,78 $\pm$ 0,03 ^a	0,73 $\pm$ 0,02 ^a	0,7 $\pm$ 0,05 ^a	19,6 1	14,43 $\pm$ 0,28 ^a
F6 SP	0,86 $\pm$ 0,01	0,75 $\pm$ 0,05	0,98 $\pm$ 0,03	1,11 $\pm$ 0,02	0,79 $\pm$ 0,04	1,17 $\pm$ 0,02	31,5	4,05 $\pm$ 0,04	2,13 $\pm$ 0,13	34,4 4	0,34 $\pm$ 0,03 ^a	0,95 $\pm$ 0,04	1,32 $\pm$ 0,03	14,54	0,75 $\pm$ 0,03	0,93 $\pm$ 0,07	0,94 $\pm$ 0,03	0,87 $\pm$ 0,02	19,4 5	17,94 $\pm$ 0,21
F1 DA(T)	0,57$\pm$0,02^a	0,51$\pm$0,05^a	0,61$\pm$0,02^a	0,74$\pm$0,03^a	0,46$\pm$0,03^a	0,78$\pm$0,06^a	30,7 1	2,75$\pm$0,04^a	1,4$\pm$0,08^a	34,7 2	0,23$\pm$0,02^a	0,71$\pm$0,03^a	0,88$\pm$0,09^a	15,2	0,5$\pm$0,05^a	0,63$\pm$0,02^a	0,61$\pm$0,07^a	0,57$\pm$0,05^a	19,3 3	11,95 $\pm$ 0,04 ^a
F2 DA	0,56 $\pm$ 0,04 ^a	0,44 $\pm$ 0,03 ^a	0,64 $\pm$ 0,02 ^a	0,73 $\pm$ 0,02 ^a	0,54 $\pm$ 0,02	0,74 $\pm$ 0,04 ^a	30,6 2	2,74 $\pm$ 0,04 ^a	1,4 $\pm$ 0,02 ^a	34,7 3	0,22 $\pm$ 0,04 ^a	0,67 $\pm$ 0,02 ^a	0,88 $\pm$ 0,08 ^a	14,84	0,51 $\pm$ 0,07 ^a	0,63 $\pm$ 0,02 ^a	0,65 $\pm$ 0,04 ^a	0,57 $\pm$ 0,06 ^a	19,7 9	11,92 $\pm$ 0,04 ^a
F3 DA	0,78 $\pm$ 0,03	0,62 $\pm$ 0,03	0,92 $\pm$ 0,03	1,04 $\pm$ 0,04	0,65 $\pm$ 0,02	1,08 $\pm$ 0,07	31,1 7	3,63 $\pm$ 0,05	1,95 $\pm$ 0,02	34,1 7	0,31 $\pm$ 0,06 ^a	0,93 $\pm$ 0,05	1,23 $\pm$ 0,03	15,12	0,69 $\pm$ 0,02	0,89 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,03	0,79 $\pm$ 0,02	19,5 3	16,33 $\pm$ 0,22
F4 DA	0,62 $\pm$ 0,02 ^a	0,49 $\pm$ 0,02 ^a	0,7 $\pm$ 0,03 ^a	0,81 $\pm$ 0,02 ^a	0,58 $\pm$ 0,02	0,81 $\pm$ 0,03 ^a	30,9 1	2,99 $\pm$ 0,11	1,52 $\pm$ 0,06	34,7 6	0,24 $\pm$ 0,03 ^a	0,75 $\pm$ 0,04 ^a	0,94 $\pm$ 0,02 ^a	14,88	0,55 $\pm$ 0,10 ^a	0,68 $\pm$ 0,03 ^a	0,67 $\pm$ 0,02 ^a	0,62 $\pm$ 0,03 ^a	19,4 3	12,97 $\pm$ 0,16

F5 DA	0,57± 0,02 ^a	0,44± 0,03 ^a	0,6± 0,03 ^a	0,73± 0,02 ^a	0,44± 0,03 ^a	0,72± 0,03 ^a	30,1 2	2,72 ± 0,30 ^a	1,36± 0,02 ^a	35,1 1	0,22± 0,03 ^a	0,7± 0,04 ^a	0,85 ± 0,04 ^a	15,23	0,49± 0,02 ^a	0,6± 0,04 ^a	0,62 ± 0,03 ^a	0,56 ± 0,03 ^a	19,5 3	11,62± 0,08
F6 DA	0,52± 0,02 ^a	0,46± 0,03 ^a	0,59± 0,02 ^a	0,67± 0,04 ^a	0,49± 0,02 ^a	0,71± 0,02 ^a	31,3 8	2,47 ± 0,03	1,26± 0,02	34,0 3	0,22± 0,02 ^a	0,66± 0,04 ^a	0,8± 0,03 ^a	15,32	0,46± 0,02 ^a	0,56± 0,02 ^a	0,58 ± 0,07 ^a	0,51 ± 0,08 ^a	19,2 5	10,96± 0,06
F1 SB (T)	0,68 ±0,03^a	0,59 ± 0,02^a	0,74 ± 0,04^a	0,88 ± 0,03^a	0,55 ± 0,04^a	0,92 ± 0,06^a	31,1 5	3,31 ± 0,07^a	1,34 ± 0,60^a	33,1 7	0,26 ± 0,02^a	0,78 ± 0,03^a	1,07 ± 0,00^a	15,11	0,61 ± 0,03^a	0,75± 0,05^a	0,77 ± 0,02^a	0,75 ± 0,08^a	20,5 6	14,01± 0,47 ^a
F2 SB	0,63 ±0,02 ^a	0,49 ±0,02	0,7 ±0,02 ^a	0,82 ±0,03 ^a	0,52±0 ,02 ^a	0,83 ±0,02 ^a	30,3 6	3,03 ±0,0 3 ^a	1,55 ±0,02 ^a	34,8 5	0,25 ±0,02 ^a	0,73 ±0,02 ^a	0,99 ±0,0 1	14,99	0,55 ±0,04 ^a	0,7± 0,03 ^a	0,72 ±0,0 4 ^a	0,63 ± 0,02	19,7 8	13,14± 0,02
F3 SB	0,82 ±0,00	0,68 ±0,05	0,98 ±0,03	1,05 ±0,05	0,67±0 ,02 ^a	1,17 ±0,02	31,5 0	3,72 ±0,0 2	2,07 ±0,06	33,9 8	0,34 ±0,04	0,94 ±0,03	1,26 ±0,0 2	14,91	0,72 ±0,02	0,93 ±0,02	0,86 ±0,0 4 ^a	0,83 ± 0,02 ^a	19,6 0	17,04± 0,30
F4 SB	0,65 ±0,04 ^a	0,71 ±0,04	0,74 ±0,03 ^a	0,94 ±0,04 ^a	0,62±0 ,03 ^a	0,94 ±0,04 ^a	33,0 9	3,11 ±0,0 5 ^a	1,59 ±0,05 ^a	33,8 1	0,26 ±0,03 ^a	0,73 ±0,02 ^a	1,03 ±0,0 6 ^a	14,52	0,57 ±0,06 ^a	0,71 ±0,05 ^a	0,65 ±0,0 6	0,65 ± 0,05 ^a	18,5 6	13,90± 0,19 ^a
F5 SB	0,75 ±0,02	0,63 ±0,02 ^a	0,84 ±0,03	0,97 ±0,05	0,62±0 ,11 ^a	1,04 ±0,04	31,0 8	3,54 ±0,0 4 ^a	1,85 ±0,01 ^a	34,5 5	0,31 ±0,01 ^a	0,83 ±0,02 ^a	1,16 ±0,0 5 ^a	14,74	0,67 ±0,05 ^a	0,84 ±0,02	0,8± 0,04 ^a	0,75 ± 0,04 ^a	19,6 1	15,60± 0,12
F6 SB	0,67 ±0,02 ^a	0,52 ±0,03 ^a	0,74 ±0,03 ^a	0,9 ±0,03 ^a	0,61±0 ,04 ^a	0,88 ±0,05 ^a	31,1 5	3,1 ±0,3 0 ^a	1,65 ±0,03 ^a	34,2	0,27 ±0,02 ^a	0,75 ±0,04 ^a	1,03 ±0,0 3 ^a	14,74	0,6 ±0,02 ^a	0,74 ±0,03 ^a	0,74 ±0,0 2 ^a	0,67 ± 0,02 ^a	19,8 2	13,87± 0,19 ^a

En colonne, les moyennes non étiquetées avec la lettre ont été significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle.

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; VA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro Acide Aspartique (Asp), Acide Glutamique (Glu), Serine (Ser), Histidine (His), Glycine (Gly), Thréonine (Thr), Arginine (Arg), Alanine (Ala), Tyrosine (Tyr), Tryptophane (Trp), Valine (Val), Phenylalanine (Phe), Isoleucine (Ile), Leucine (Leu), Lysine (lyse), Proline(Pro).

1.3. Ratio des composés acides aminés Hydrophobes/acides

Le ratio des composés acides aminés Hydrophobes/acides variait entre 0,87 et 0,94 à San-Pédro, entre 0,85 et 0,92 à Daloa et entre 0,87 et 0,98 à Soubré (Figure 70). Les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F2 (0,88) et F5(0,87) à San-Pédro ; F4 (0,88), F1 (0,88), F2 (0,88), et F5 (0,85) ont montré le ratio plus faible pour les échantillons de variété *Forastero*. Quant aux échantillons des fèves de variété *Mercedes*, seules les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F2 (0,87) ont montré un ratio plus faible.

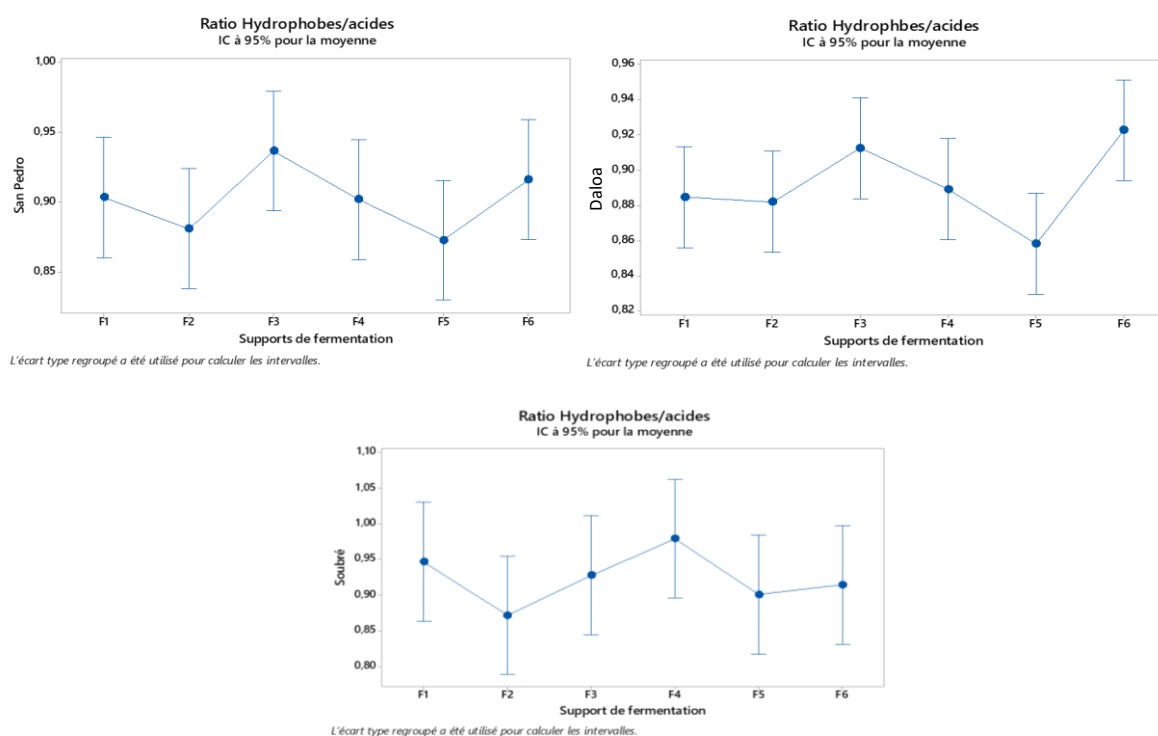


Figure 70: Ratio des composés acides aminés hydrophobes/acides

F1 : Feuille de bananier; F2 : Feuille de palmier; F3 : Cabosse de cacao; F4 : Bâche en polypropylène; F5 : Sac en polypropylène; F6 : Sac en jute

1.4. Corrélation entre la composition en acide aminé des liqueurs de cacao

L'analyse en composante principale réalisée avec le profil en acide aminé des différents échantillons a montré que les deux principales composantes (PC) représentaient plus de 80 % de la variance totale. Soit 98,2 % à San-Pédro, 98,6 % à Daloa et 97,3 % à Soubré (Figure 71). Dans la zone de San-Pédro (Figure 71 a), PC1 représentait 95,4 % de la variabilité totale et est expliqué par la majorité des composés qui sont chargé positivement. Quant à PC2 elle représentait que 2,8 % de la variance totale. La projection des charges sur les axes PC1-PC2 a révélé que la liqueur des fèves fermentées sur le support F6 état caractérisée par une

concentration plus importante en Leucine, isoleucine, lysine et phalline. La liqueur de fèves fermentées sur le support F4 était plus riche en arginine, acide glutamique, valine, tyrosine et proline. Toutefois, la liqueur des fèves fermentées sur les supports F2 est plus caractérisée en proline, en tyrosine, acide glutamique, arginine et histidine.

L'analyse à l'ACH (Figure 71 a) a montré qu'à 99,94 % de similarité, trois différents clusters ont été observés. La liqueur des fèves fermentées sur les supports F4 et F2 était plus proche de celle du support F1, formant ainsi le premier groupe. Les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F5, F4 et F6 constituaient le deuxième groupe, tandis que celles fermentées sur le support F3 formaient le dernier groupe. Dans la zone de Daloa (Figure 71 b), la dimension 1 (PC1) exprime 96,3 % de la variabilité totale et est déterminé par la plupart des composés acides aminés corrélatés positivement à l'exception de tyrosine et isoleucine. Quant à PC2, elle n'exprime que 2,3 % de la variabilité totale et caractérisé par la tyrosine corrélaté positivement contre l'isoleucine qui est corrélaté négativement. Les tracés PC1 et PC2 montrent que les fèves fermentées sur le support F3 sont plus concentrées en acides aminés, à l'exception de la tyrosine. En effet, la tyrosine est davantage concentrée dans la liqueur des fèves fermentées sur le support F4. La CAH (Figure 71 b) a montré trois différents clusters dont le premier groupe est constitué des liqueurs des fèves fermentées sur les supports F1 (Témoin) et F5. Le deuxième groupe est constitué de liqueurs des fèves fermentées sur les supports F2, F4 et F6. La liqueur des fèves fermentées sur les supports F3 constitue le troisième groupe.

Dans la zone de Soubré (Figure 71 c), les analyses en composantes principales ont montré que PC1 explique 88,5 % de la variabilité totale. Cette composante est principalement caractérisée par une corrélation positive entre les acides aminés tels que la leucine, la phénylalanine, l'histidine, l'acide glutamique, l'arginine, l'acide aspartique, l'alanine, la sérine, la lysine et la tyrosine PC2 exprimait quant à elle, 8,8 % de la variabilité totale était caractérisé par la proline, la valine, la tyrosine, et l'isoleucine. L'ensemble des tracés montre que les liqueurs des fèves fermentées sur le support F5 sont caractérisé par les acides aminés tel que leucine, phéninde, acide glutamique, arginine, serine, alanine, acide aspartique, lysine et thréosine. La liqueur des fèves fermentées sur le support F3 ont une plus grande concentration de tous les acides aminés.

Les analyses par classification hiératique ascendante (CAH) ; (Figure 71 c) montrent trois grands groupes clusters. Le premier est constitué de liqueur de fèves fermentées sur les supports F1, F2 et F5. Le deuxième par la liqueur des fèves fermentées sur le support F3 et le troisième avec les fèves fermentées sur le support F4.

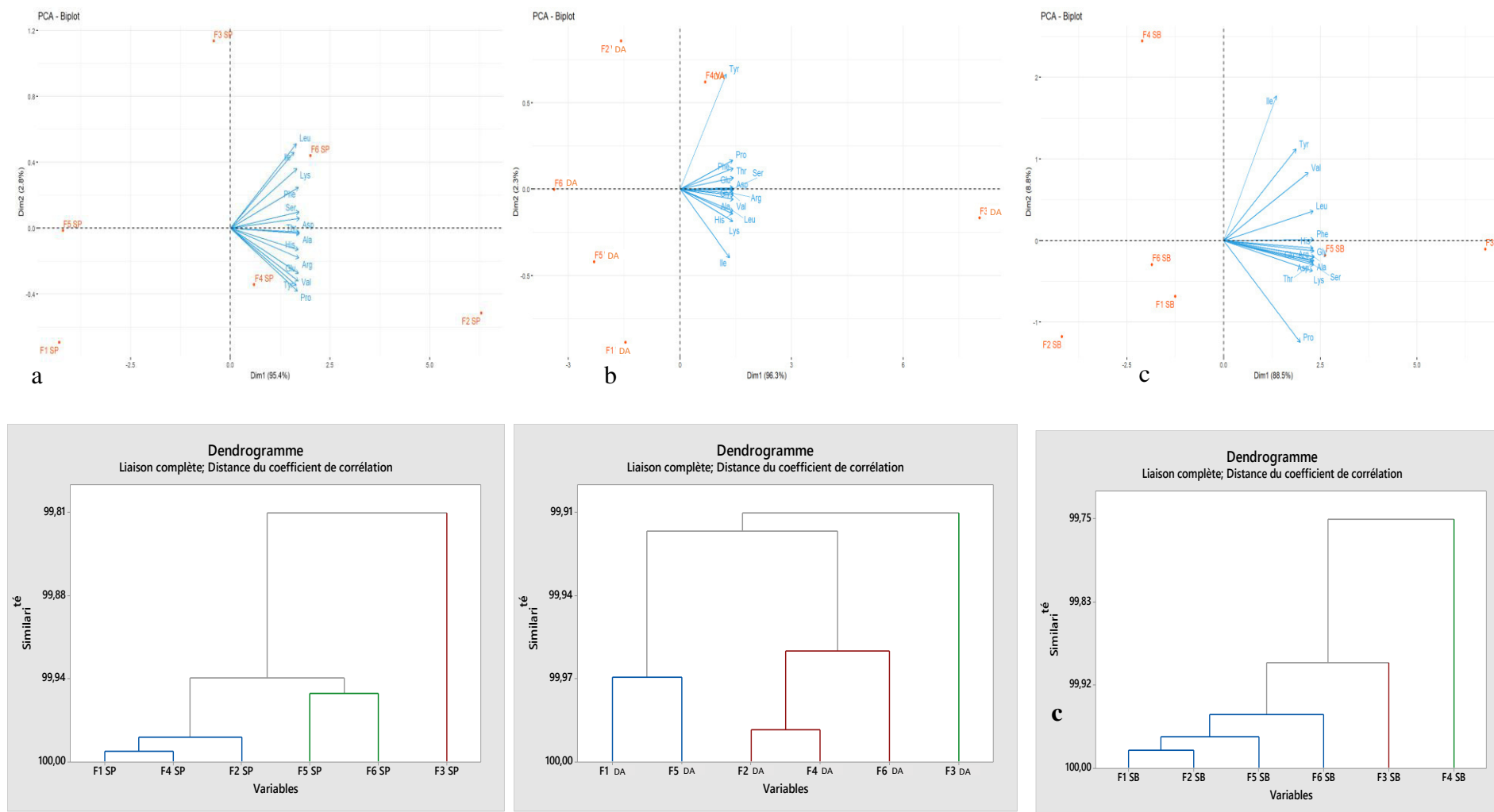


Figure 71: interdépendance du profil en acide aminé des liqueurs avec les différents supports

F1 : Feuille de bananier ; F2 : Feuille de palmier ; F3 : Cabosse de cacao ; F4 : Bâche en polypropylène ; F5 : Sac en polypropylène ; F6 : Sac en jute

1.5. Composition des composés volatiles dans la liqueur de cacao torréfiée

Les analyses par GC-MS dynamique en espace de tête sur la liqueur des fèves issues des différents supports de fermentation nous ont permis d'identifier l'ensemble des composés organiques volatils. Un exemple de chromatogramme avec les composés identifiés à des temps de rétention bien précis de la liqueur issue de la fermentation a été illustré par la Figure 72.

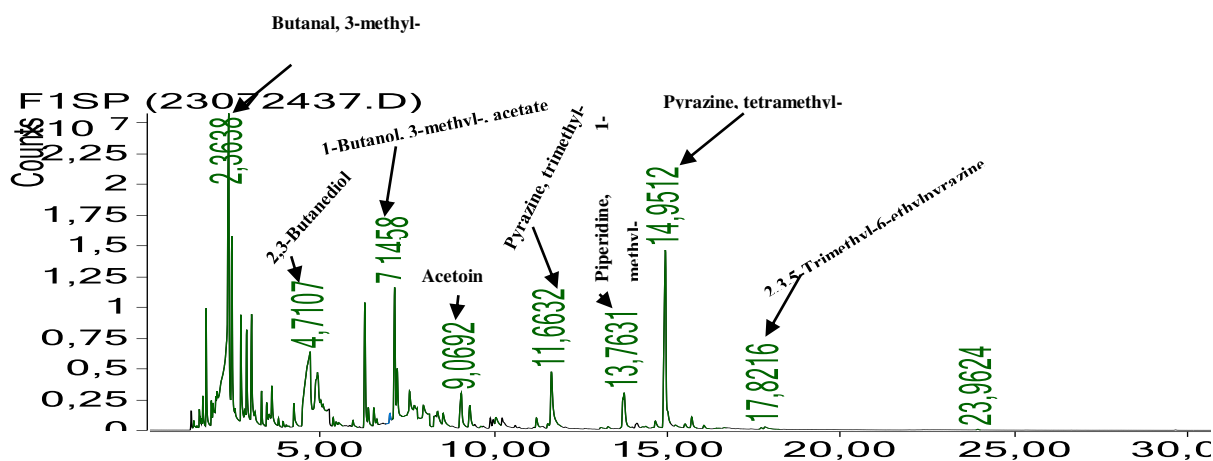


Figure 72: Exemple de chromatogramme du profil de composés organiques volatil des liqueurs de cacao

De façon générale, il ressort que les composés pyrazines étaient moins ou pas exprimée dans les liqueurs de cacao fermentées avec les supports F3 (cabosse de cacao) et F5 (sacs en polypropylènes). En effet, les composés Pyrazines, tétrametyl ; phyrazine trimethyl-, et 2,3,5-Triméthil-6-ethylpyrazine de temps de rétention respectifs de : 14,95 ; 11,66 et 17,82 n'ont été exprimés dans ces liqueurs pour une même injection (Figure 73).

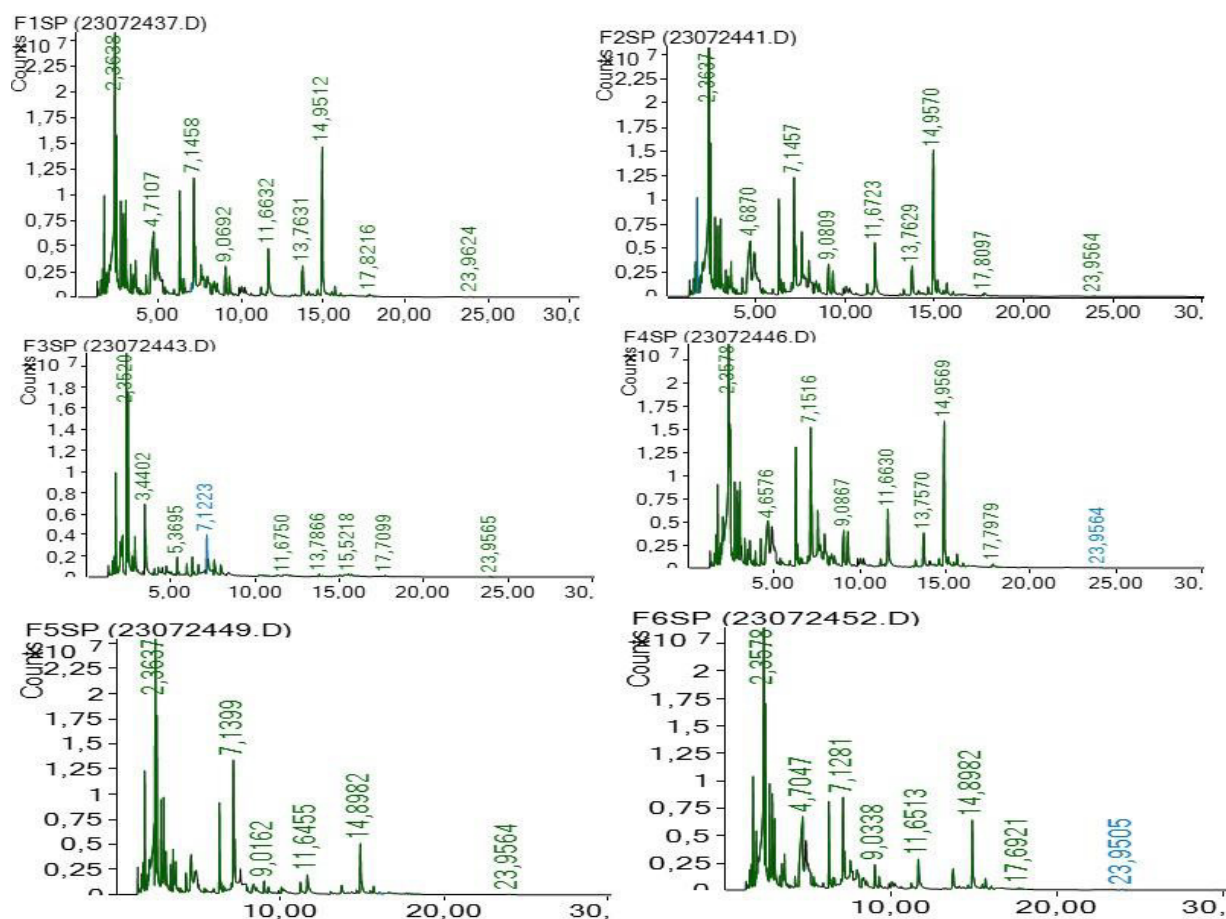


Figure 73: Chromatogramme des différents composés volatils organiques avec des temps de rétentions respectives des liqueurs issues des différents supports de fermentation.

Il ressort donc qu'au total, 120 composés volatils ont été identifiés sur l'ensemble des liqueurs des fèves fermentées sur les différents supports de fermentation avec un taux de correspondance de 80 %. Ces composés ont été regroupés en neuf principales familles dans l'ensemble des six supports de fermentation et des deux variétés cacao étudié. Ainsi, 27 esters, 19 cétones, 18 alcools, 12 terpènes, 10 pyrazines, 8 aldéhydes, 7 acides carboxyliques, 7 furanes, 3 organo-sulfures, et 09 autres composés volatils identifiés à de faibles proportions.

1.5.1. Profil en composés organiques volatils des échantillons prélevés dans la zone de San-Pédro

Dans la zone de San-Pédro, le pourcentage moyen des aires de pic issues de la GC-MS présentées dans le Tableau XXVII, 79 composés organiques volatils (COVs) ont été identifiés. Ceux-ci comprennent 10 alcools, 6 aldéhydes, 15 cétones, 4 acides carboxyliques, 13 esters, 12 terpènes, 9 pyrazines, 2 organo-sulfures, 4 furanes et 4 autres composés. La Figure 74 présente la somme totale d'aire occupé par les différentes classes de composé organique volatiles.

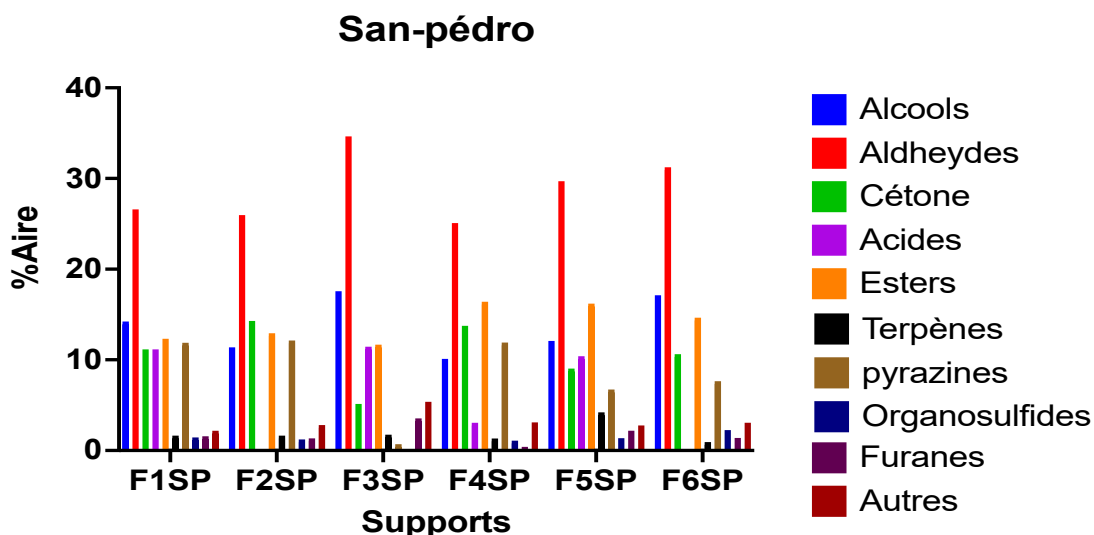


Figure 74: Proportion par classes de composés organiques volatils identifiés dans les échantillons de liqueurs à San-Pédro

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro

Les fèves fermentées sur les supports F3 et F6 ont enregistré une proportion plus importante composé alcoolique, aldéhydes et acides carboxyliques. En effet, les acides carboxyliques avaient une proportion comprise entre 0 et 11,45 %. La plus grande proportion a été enregistrée avec les fèves fermentées sur le support F3 avec 11,45 % suivi de celles de F5 soit 10,64 %. L'acide acétique était le plus dominant de tous les supports avec une proportion plus élevée, soit $10,03 \pm 0$ % (Tableau XXVII).

Les composés alcooliques tels que 2,3-Butanediol étaient majoritaires avec 7,23 % pour les échantillons issus des fèves fermentées sur le support témoin F1, 10,26 % pour les échantillons issus de F6 et 0 % pour F3.

La proportion des aldéhydes était comprise entre 25,38 % et 34,93 %. La plus grande proportion a été observée avec les liqueurs issues de la fermentation sur le support F3 (34,93 %), F5 (30,00 %) et F6 (31,26 %). La plus grande proportion avait été enregistrée par le Butanal, 3-methyl- plus particulièrement avec les échantillons de liqueurs fermentées sur les supports F1 ($18,38 \pm 0,88$ %), F5 ($18,19 \pm 1,76$ %) et F6 ($18,76 \pm 6,85$ %). Toutefois, le Butanal, 2-methyl- a montré une plus grande proportion dans la liqueur F3 ($12,00 \pm 0,52$ %) comparé à la liqueur F1 ($5,01 \pm 0,31$ %) ; (Tableau XXVII).

L'analyse de la proportion d'alcool des liqueurs issues des différents échantillons variait entre 11,08 % et 17,86 %. La plus grande proportion a été observée avec échantillons fermentés sur les supports F3 (17,86 %) et F6 (17,43 %) supérieur au support témoin F1 (14,24 %). La

plus petite proportion a été observée avec les échantillons fermentés sur le support F4 avec 10,04 %.

Les fèves fermentées sur les supports F2, F4 et le support témoin (F1) ont montré une proportion plus importante en composés cétonique variant entre 5,43 % et 14,59 % et en composés pyrazines avec une variation entre 0,70 % et 12,15 %. Le profil de ces composés organiques volatils a révélé deux composés cétoniques majoritaires. D'abord le 2-heptanone avec une proportion de 4,16 % sur avec les fèves fermentées sur les feuilles de palmier et 1,88 % pour celles des feuilles de bananier et 2-pentanone avec 2,81 % et 2,45 % respectivement.

Pour les composés en pyrazines, la plus grande proportion a été enregistrée avec les liqueurs issues des supports F2 avec 12,15 % suivie de celles de F1 (11,89 %) et F4 (11,91 %). Une très faible proportion a été enregistrée avec les liqueurs issues de la fermentation sur le support F3 (0,7 %). La pyrazine, tétraéthyle-, était majoritaire, suivi de 2,3,5-triméthylpyrazine dans tous les échantillons (Tableau XXVII). La proportion la plus élevée a été détectée dans les liqueurs issues de la fermentation sur les supports F1, F2 et F4, respectivement $6,87 \pm 0,78$ %, $7,04 \pm 0,72$ % et $7,38 \pm 0,32$ %.

Les fèves fermentées sur les supports F4 (16,41 %), F5 (16,20 %), F6 (14,66 %) ont montré une plus grande proportion en composés esters dont la proportion de l'aire totale était comprise entre 11,68 % et 16,41 %. Le composé 1-butanol, 3-méthyl-, acétate était majoritaire sur l'ensemble des supports (Tableau XXVII). La plus grande proportion a été enregistrée dans les liqueurs issues des supports F5 ($5,77 \pm 0,11$ %) suivi et F4 ($4,73 \pm 0,09$ %). La plus petite proportion provient les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F3 (11,68 %).

De toutes les fèves analysées, celles fermentées sur les cabosses de cacao ont montré une proportion plus importante en composé furane avec une proportion totale de 4,08 % contre 1,71 % observé dans les fèves fermentées sur le support témoin. Le Furane, tetrahydro-2-méthyl- était majoritaire avec une proportion de $2,39 \pm 0,73$ % dans ces fèves.

Tableau XXVII: Composés organiques volatils identifiés dans les liqueurs des échantillons prélevés dans la zone de San-Pédro (Moy $\pm$ SD)

COMPOSES	F1 SP	F2 SP	F3 SP	F4 SP	F5 SP	F6 SP	RI cal	RI Th	Cas #	Description de l'odeur
Alcools										
1-Butanol, 2-méthyl-	0,50 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,45 $\pm$ 0,12	0,00 $\pm$ 0,00	0,83 $\pm$ 0,03	0,58 $\pm$ 0,00	714 $\pm$ 0,00	733	137-32-6	Malté
1-butanol, 3-méthyl-	0,53 $\pm$ 0,03	0,49 $\pm$ 0,02	4,54 $\pm$ 0,10	0,46 $\pm$ 0,04	1,29 $\pm$ 0,05	0,66 $\pm$ 0,02	710,333 $\pm$ 0,57	733	123-51-3	Malté, rance, piquant
1-Heptanol	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,70	0,00 $\pm$ 0,00	711 $\pm$ 0,00	712	123-51-3	Boisée, huileuse, ND
2-Furanmethanol, tetrahydro-5-méthyl-	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,28 $\pm$ 0,07	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	781 $\pm$ 0,00	ND	6126-49-4	
2,3-Butanédiol	7,23 $\pm$ 1,89	5,34 $\pm$ 2,55	0,00 $\pm$ 0,00	5,54 $\pm$ 0,59	3,72 $\pm$ 1,61	10,26 $\pm$ 0,37	784,2 $\pm$ 7,12	782	513-85-9	Amer, malté

2-Heptanol	1,79±0,42	2,73±0,19	1,74±0,19	2,25±0,68	0,80±0,70	1,57±1,158	899±0,00	889	543-49-7	Doux, Citronné
2-Pentanol	2,96±1,19	1,9±0,23	3,67±0,37	2,16±0,23	3,42±0,21	2,93±0,09	706,25±56,5	700	6032-29-7	Vert, doux
3-Buten-2-ol, methyl-	0,76±0,04	0,77±0,07	3,18±0,76	0,00±0,00	0,11±0,11	0,98±0,07	629±0,00	623,7	115-18-4	Herbal, terreux
3-Pentanol, dimethyl-	0,47±0,05	0,38±0,07	0,00±0,00	0,25±0,05	0,34±0,08	0,41±0,05	850±0,00	838	600-36-2	ND
5-Nonanol	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,08±0,00	0,08±0,00	0,04±0,00	944±0,00	ND	623-93-8	citron
Aire totale	14,24	11,61	17,86	10,740	12,39	17,43				
Aldéhydes										
2-Hexenal, methyl-	0,54±0,22	0,67±0,17	0,00±0,00	0,46±0,08	0,075±0,40	0,78±0,12	866±0,00	884	28467-88-1	ND
2-Isopropyl-5-methylhex-2-enal	0,24±0,16	0,36±0,25	0,25±0,15	0,29±0,18	0,28±0,19	0,34±0,23	1109,667±5,12	1106	35158-25-9	ND
Benzaldéhyde	0,58±0,12	0,44±0,21	0,97±0,14	0,53±0,07	0,70±0,08	0,55±0,02	956±0,00	954,3	100-52-7	Noisette
Butanal, 2-methyl-	5,01±0,31	4,55±0,46	12,00±0,52	4,19±0,48	6,27±0,37	5,73±0,45	655±0,00	659	96-17-3	Malté, chocolat
Butanal, 3-methyl-	18,38±0,88	17,70±0,42	16,02±0,76	18,19±1,76	18,76±6,85	21,08±1,71	649,333±0,57	649	590-86-3	Chocolat, malté
Propanal, 2-methyl-	2,15±0,13	2,09±0,14	5,69±0,51	1,72±0,04	3,24±0,26	2,78±0,53	613±0,00	552	78-84-2	Chocolat
Aire totale	26,90	25,81	34,93	25,38	30,00	31,26				
Cétones										
2,3-Butanedione	0,6±0,06	0,46±0,04	0,00±0,00	0,46±0,02	0,52±0,03	0,45±0,13	621,667±0,57	595	431-03-8	Beurre
2,3-Pentanedione	0,50±0,01	0,47±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,62±0,02	0,55±0,03	675±0,00	696	600-14-6	ND
2-Acetoxy-3-butanone	1,15±0,52	1,23±0,06	0,00±0,00	1,12±0,90	0,00±0,00	0,00±0,00	889,667±0,57	ND	4906-24-5	ND
2-Butanone	0,93±0,06	0,86±0,02	0,00±0,00	0,88±0,01	0,96±0,127	0,00±0,00	624±0,00	622	78-93-3	piquante
2-Butanone, dimethyl-	0,00±0,00	0,36±0,00	0,36±0,18	0,37±0,00	0,37±0,00	0,00±0,00	675,5±0,70	675	75-97-8	menthe
2-Heptanone	2,81±0,35	4,16±0,22	2,42±0,33	2,91±1,23	2,39±2,00	2,37±1,64	885±0,00	893	110-43-0	poivrée
2-Hydroxy-3-pentanone	1,53±0,05	1,44±0,047	0,00±0,00	0,96±0,05	0,30±0,00	1,87±0,15	800,333±0,57	777	5704-20-1	Fruité, fleuri
2-Nonanone	0,12±0,00	0,87±0,14	0,43±0,13	0,47±0,16	0,00±0,00	0,00±0,00	1093±0,00	1093	821-55-6	ND
2-Pentanone	2,45±0,17	1,88±0,33	1,5±0,27	2,01±0,17	3,06±0,20	2,96±0,18	669±0,00	686	107-87-9	Fruité, sucré, cireux
2-Pentanone, methyl-	0,00±0,00	1,10±0,00	0,00±0,00	1,26±0,00	0,00±0,00	1,31±0	624±0,00	743	565-61-7	piquant
3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-	0,89±0,03	0,88±0,07	0,30±0,06	0,04±0,00	0,71±0,13	1,13±0,02	797±0,00	804	3188-00-9	ND
3-Hepten-2-one, (E)-	0,09±0,00	0,77±0,00	0,09±0,01	0,17±0,01	0,02±0,00	0,00±0,00	806±0,00	ND	1354935	musquée
4-Heptanone, methyl-	0,14±0,00	0,00±0,00	0,14±0,00	0,00±0,00	0,10±0,07	0,00±0,00	827±0,00	922	626-33-5	agrumes, verte
4-Heptanone, methyl-	0,19±0,00	0,00±0,00	0,19±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	827±0,00	ND	15726-15-5	Sucrée, fruitée, banane
Acétophénone	0,05±0,04	0,11±0,06	0,00±0,00	0,09±0,06	0,00±0,00	0,00±0,00	1068±0,00	1065	98-86-2	ND
Aire totale	11,45	14,59	5,430	10,74	9,05	10,61				Fleuri, doux, amande, sucré
Ac Carboxylique										
Acetic acid	8,44	0,00±0,00	8,44±1,65	3,07±0,00	10,03±0,00	0,00±0,00	637,333±0,57	646	64-19-7	Aigre, Vinaigre
Butanoic acid, methyl-	0,82±0,037	0,00±0,00	0,82±0,037	0,00±0,00	0,37±6,85	0,00±0,00	882,5±0,70	ND	116-53-0	ND
Butanoic acid, methyl-	2,12±0	0,00±0,00	2,12	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	866±0,00	875	503-74-2	fruit
Hexanoic acid	0,07	0,00±0,00	0,07	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	851±0,00	981	142-62-1	Sueur, piquante
Aire totale	11,45	0,00	11,45	3,07	10,40	0,00				
Esters										
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	2,37±0,19	2,37±0,11	3,47±0,95	2,30±0,55	2,96±1,03	1,53±1,03	873±0,00	880	624-41-9	Pomme, poire
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	3,83±0,06	4,00±0,09	3,52±0,19	4,73±0,09	5,77±0,11	2,96±0,34	870±0,00	867	123-92-2	banane
2,3-Butanediol, diacetate	0,00±0,00	0,06±0,03	0,00±0,00	0,06±0,02	0,00±0,00	1,53±0,00	1076±0,00	1054	1114-92-7	ND
2-Buten-1-ol, methyl-, acetate	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,05±0,00	0,00±0,00	2,96±0,00	921±0,00	929	1191-16-8	floral
2-Heptanol, acetate	0,07±0,01	0,3±0,06	0,04±0,00	0,33±0,00	0,12±0,05	0,06±0,00	1042,66±0,57	1054	5921-82-4	Fruité(a)
2-Pentanol, acetate	3,19±0,12	2,87±0,10	1,46±0,05	3,77±0,28	03,48±0,22	2,81±0,19	841±0,00	840	626-38-0	Fruité, orange

Acetic acid, methyl ester	0,71±0,06	0,82±0,04	1,53±0,04	0,70±0,01	0,91±0,07	0,77±0,12	608±0,00	560	79-20-9	Banane , poire
4-Methyl-2-pentyl acetate	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00	0,00±0,00	944±0,00	910	108-84-9	fruitée
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	0,53±0,09	0,52±0,11	0,26±0,11	0,74±0,10	0,52±0,14	0,39±0,06	845±0,00	847	108-64-5	fruit vert
Ethyl Acetate	1,05±0,12	1,15±0,04	0,00±0,00	2,31±0,21	1,38±0,05	1,13±0,09	631±0,00	611.7	141-78-6	Ananas
Isobutyl acetate	0,72±0,069	0,65±0,03	1,01±0,15	0,90±0,12	0,87±0,08	0,46±0,02	754±0,00	749	110-19-0	fruité
Pentanoic acid, 2-hydroxy-4-methyl-, methyl ester	0,05±0,02	0,07±0,00	0,00±0,00	0,09±0,00	0,03±0,00	0,06±0,004	944±0,00	994.9	40348-72-9	ND
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0,11±0,02	0,12±0,01	0,09±0,00	0,36±0,02	0,10±0,025	0,00±0,00	737±0,00	755	97-62-1	fruit
Aire totale	12,63	12,93	11,38	16,41	16,20	14,66				
Terpènes										
β-Myrcene	0,39±0,03	0,00±0,00	0,14±0,03	0,33±0,01	0,77±0,05	0,32±0,02	988±0,00	984	123-35-3	Epicee, menthe poivrée
β-Pinene	0,00±0,00	0,00±0,00	0,15±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	989±0,00	964	127-91-3	sapin
1,3-Pentadiene, (Z)-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,16±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	604±0,00	ND	1574-41-0	ND
1-Pentene, 2-methyl-2,3-Dimethyl-1-hexene	0,00±0,00	0,00±0,00	0,48±0,14	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	621±0,00	ND	763-29-1	Inodore
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-2,4,6-Octatriene, 3,4-dimethyl-2,4-Dimethyl-1-heptene	0,70±0,16	0,77±0,06	0,00±0,00	0,41±0,1	0,72±0,25	0,00±0,00	910±0,00	ND	16746-86-4	ND
	0,03±0,00	0,07±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,26±0,00	1130±0,00	1113	673-84-7	ND
	0,00±0,00	0,08±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1129±0,00	1113	673-84-7	ND
	0,24±0,04	0,2±0,07	0,91±0,24	0,12±0,02	0,23±0,14	0,27±0,126	830±0,00	842	19549-87-2	ND
Toluene	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,04±0,00	744±0,00	773	108-88-3	aromatique
Linalool	0,16±0,05	0,21±0,03	0,00±0,00	0,13±0,05	0,24±0,05	0,00±0,00	1100±0,00	1100	78-70-6	muguet
Trans-, beta. -Ocimene	0,06±0,01	0,12±0,04	0,00±0,00	0,09±0,01	0,28±0,03	0,05±0,00	1037±0,00	1036	3779-61-1	ND
Trans-Linalool oxide (furanoid)	0,07±0,01	0,13±0,05	0,08±0,09	0,09±0,03	0,95±0,09	0,00±0,00	1071±0,00	1076	34995-77-2	ND
Aire totale	1,65	1,58	1,76	1,33	3,19	0,94				
Pyrazines										
2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	0,18±0,04	0,24±0,04	0,00±0,00	0,25±0,03	0,07±0,01	0,07±0,01	1160,333±0,57	ND	17398-16-2	Bonbon sucré
Pyrazine, 2,3-dimethyl-	0,69±0,09	0,64±0,11	0,00±0,00	0,42±0,24	0,48±0,24	0,60±0,04	914±0,00	936	5910-89-4	Caramel, cacao, praliné
Pyrazine, 2,5-dimethyl-	0,33±0,19	0,33±0,23	0,70±0,89	0,24±0,09	0,48±0,10	0,61±0,056	907,5±0,70	926	123-32-0	Rôti, cuit
Pyrazine, 2,6-dimethyl-	0,28±0	0,00±0,00	0,00±0,00	0,14±0,01	0,17±0,00	0,00±0,00	909±0,00	920	108-50-9	Rôti, cuit
Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	0,15±0,01	0,16±0,02	0,00±0,00	0,14±0,00	0,09±0,008	0,09±0,008	997±0,00	997	13925-03-6	Cacao, torréfié
Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-	0,28±0,05	0,44±0,09	0,00±0,00	0,34±0,05	0,25±0,04	0,21±0,06	1078±0,00	1081	13360-65-1	cacao, chocolat
Pyrazine, methyl-Pyrazine, tetramethyl-	0,24±0,07	0,21±0,06	0,00±0,00	0,03±0,00	0,17±0,10	0,25±0,123	816±0,00	826	109-08-0	Noisette, vert
	6,87±0,78	7,04±0,72	0,00±0,00	7,38±0,32	2,74±0,28	3,44±0,10	1085±0,00	1096	1124-11-4	Rôti, chocolat
Pyrazine, trimethyl-	2,87±0,29	3,09±0,26	0,00±0,00	3,11±0,10	2,29±0,28	2,39±0,0	1000±0,00	1005	14667-55-1	Cacao, café au lait torréfié, chocolat
Aire totale	11,89	12,15	0,70	12,05	6,74	7,66				
Organo-sulfure										
Dimethyl sulfide	0,18±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,16 ± 0,01	0,22±0,027	1,21±0,00	606±0,00	1347	75-18-3	Soufre, chou
Disulfide, dimethyl	1,26±0,07	1,20±0,06	0,00±0,00	0,91 ± 0,07	1,42±0,10	1,32±0,06	719±0,00	747.1	624-92-0	ail pourri
Aire totale	1,44	1,20	0,00	1,07	1,64	2,53				ND
Furanes										
2,4-Dimethylfuran	0,66±0,06	0,68±0,47	0,68±0,47	0,00±0,00	0,49 ± 0,15	0,47±0,14	692±0,00	708	3710-43-8	caramel
Furan, tetrahydro-2,5-dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,48±0,31	0,00±0,00	0,71±0,11	0,00±0,00	687±0,00	698	1003-38-9	Inodore
Furan, tetrahydro-2-methyl-	0,93±0,05	0,68±0,00	2,39±0,73	0,71±0,11	1,28±0,21	1,21±0,03	659,333±0,57	663	96-47-9	éther
Furan, tetrahydro-3-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,53±0,104	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	675±0,00	705	13423-15-9	éther
Aire totale	1,59	1,36	4,08	0,71	2,48	1,68				

Autres											
Heptane, dimethyl-3-Ethyl-3-methylheptane	2,4-	0,23±0,05	0,18±0,02	1,06±0,26	0,16±0,02	0,18±0,10	0,40±0,14	810,667±0,57	824	2213-23-2	ND
Butanenitrile, methyl-	3-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,20±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,07±0,00	1010±0,00	953	17302-01-1	pétrole
Phenylethyl Alcohol		0,03±0	0,10±0,05	0,00±0,00	0,04±0,00	0,10±0,04	0,05±0,00	1124±0,00	1110	625-28-5	ND
Piperidine, methyl-	1-	1,45±0,878	1,88±0,24	0,00±0,00	2,07±0,15	0,84±0,06	1,59±0,00	1053,667±0,57	1020	626-67-5	Rose
Aire totale		1,71	2,16	1,26	2,27	1,13	2,12				ND

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâches en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute

Pour examiner les variations entre les points temporels de traitement en fonction des familles de composés volatils présents dans les échantillons de liqueur, une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée, en intégrant les pourcentages d'air de tous les COV détectés en tant que les variables. L'analyse multivariée a révélé que les deux principales composantes (PC) représentaient 78,1 % de la variance totale (Figure 75 a).

PC1 représentait 58 % de la variabilité totale et est expliqué par les composés furanes et aldéhydes chargés négativement d'une part à l'opposé des composés organosulfures, pyrazines et cétones chargées positivement. La dimension 2 (PC2) était déterminée par 20,1 % de la variance totale et était caractérisée principalement par les composés esters et autres positivement contre les composés alcools, terpènes et acides chargés négativement.

La projection des charges sur les axes PC1-PC2 a révélé que le support F3 était caractérisé par échantillons de liqueur dominés par les composés furanes, aldéhydes et alcool. Alors que celles issues des supports F4, F1, F2 et F6 sont caractérisés par des liqueurs plus concentrées en composés organo-sulfures, pyrazines, esters, cétones et autres.

L'analyse à l'ACH a montré qu'à 91,42 % de similarité, deux différents clusters ont été observés (Figure 75 b). La liqueur issue de la fermentation sur les supports F5 et F3 étaient plus proches de celle du support F1 et constituaient le premier groupe, ensuite les échantillons fermentés sur les supports F2, F4 et F6 le deuxième groupe.

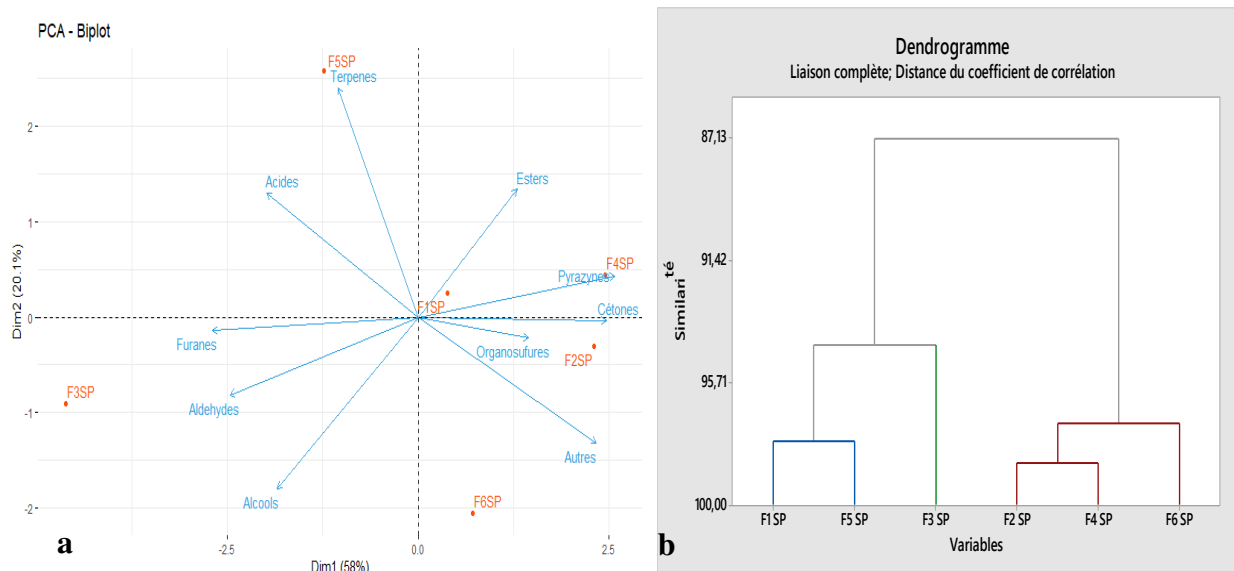


Figure 75: Interaction des composés organiques volatils en fonction des supports de fermentation dans la zone de San-Pédro

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro

1.5.2. Profil en composés organiques volatils des échantillons prélevés dans la zone de Daloa

Dans la zone de Daloa, ce sont 88 composés qui ont été identifiés avec leurs différentes proportions d'aires, dans l'espace de tête des échantillons de liqueurs sont reportées sur la figure 73. Ce sont 13 alcools, 6 aldéhydes, 14 cétones, 6 acides, 16 esters, 10 terpènes, 10 pyrazines, 3 organo-sulfures, 6 furanes et 4 autres retrouvés dans l'ensemble (Tableau XXVIII).

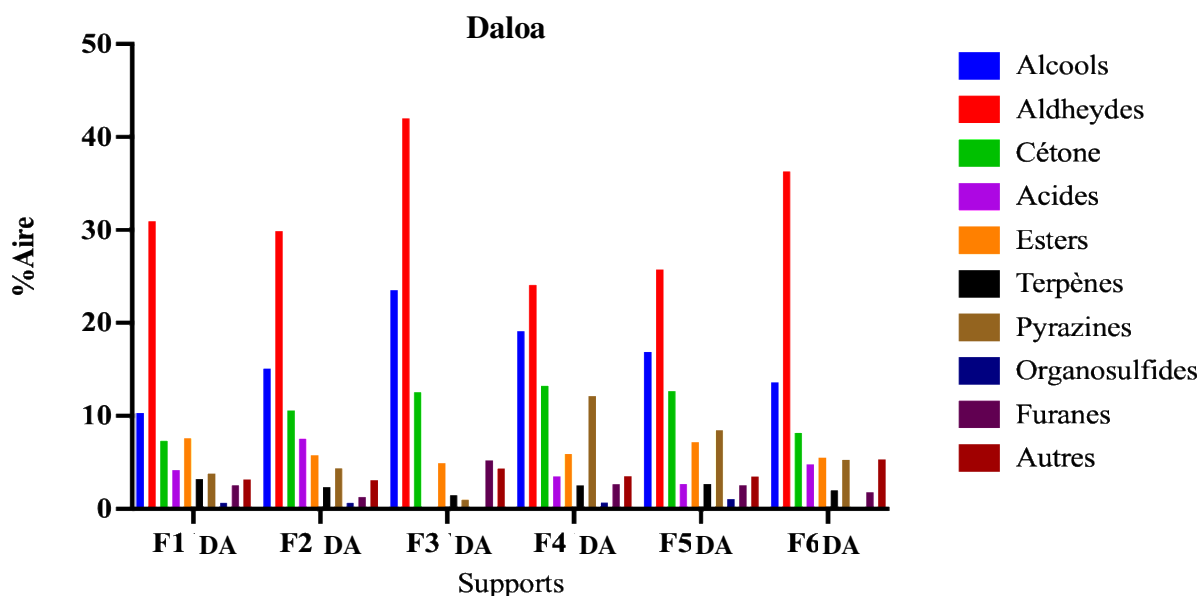


Figure 76: Proportion par classes de composés organiques volatils identifiés dans les échantillons de liqueurs à Daloa

F1 VA : Feuille de bananier Daloa ; F2 VA : Feuille de palmier Daloa ; F3 VA : Cabosse de cacao Daloa ; F4 VA : Bâches-en polypropylène; F5 VA : Sac en polypropylène Daloa ; F6 VA : Sac en jute Daloa ; VA : Daloa

Les analyses ont révélé que les fèves fermentées sur les supports F3, F4 et F5 présentaient des proportions significativement plus élevées en alcools, cétones et pyrazines. La proportion d'alcools variait de 10,32 % à 23,53 %. Plus précisément, les supports F3, F4 et F5 présentaient des proportions respectives de 23,53 %, 19,14 % et 16,88 %, tandis que le support F1 affichait la plus faible proportion à 10,32 %. Le composé 2,3-butanediol était particulièrement prédominant dans les fèves fermentées sur les supports F4 ($8,96 \pm 1,92$ %) et F5 ($7,74 \pm 0,39$ %) ; (Tableau XXVIII). Les fèves fermentées sur le support F3 montraient des concentrations plus élevées en 2-Butanol ($4,32 \pm 0,00$ %), 3-méthyl et 2-Pentanol ($4,61 \pm 0,01$ %).

Les fèves fermentées sur les supports F3, F2 et F6 ont montré des proportions significativement plus élevées en aldéhydes, cétones et furanes. La proportion totale d'aldéhydes variait de 29,47 % à 43,08 % parmi toutes les liqueurs issues des six supports. Plus spécifiquement, les fèves fermentées sur les supports F3 présentaient une proportion d'aldéhydes de 41,76 %, tandis que celle des supports F6 était de 36,31 %. Le butanol, 3-méthyl-, était le plus prédominant dans toutes les liqueurs, avec une concentration particulièrement élevée dans celles issues des supports F3 ($18,9 \pm 1,51$ %), F6 ($16,75 \pm 4,66$ %) et F2 ($13,26 \pm 3,74$ %), tandis que celles des fèves fermentées sur F1 atteignaient $13,89 \pm 4,15$ % (Tableau XXVIII).

Les composés cétoniques présentait des proportions variantes entre 7,59 % et 13,28 %. Les fèves fermentées sur les supports F4 (13,28 %), F3 (12,56 %) et F5 (12,69 %) ont révélé les plus grandes proportions. La proportion la plus faible a été observée dans les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F1 (7,36 %). Le 2-heptanone était le composé le plus dominant, avec des proportions de $4,53 \pm 2,11$ % dans les fèves fermentées sur le support F2 et de $4,32 \pm 1,647$ % sur F6 (Tableau XXVIII). En revanche, les fèves fermentées sur le support F3 présentaient une concentration plus élevée en 2-Hexanone, 5-méthyl-, avec une proportion de $5,70 \pm 0,00$ %.

Les fèves fermentées sur les supports F5 (7,07 %) étaient plus dominants en comparaison à celles du support témoin F1 (4,9 %). Les composés 1-Butanol, 2-méthyl-, acetate étaient plus concentré en F2 ($2,06 \pm 0,16$ %) et F6 ($1,60 \pm 0,07$ %) contre, F1 ($1,20 \pm 0,91$ %) tandis que le composé 1-Butanol, 3-méthyl-, acetate était les plus dominants dans les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F5 ($2,02 \pm 0,13$ %), F6 ($1,43 \pm 0,251$ %), F3 ($1,22 \pm 0,31$ %) contre F1 ($1,20 \pm 0,91$ %).

Les pyrazines présentait des proportions variant de 1,02 % à 12 %. Les supports F4 (12,15 %) et F5 (8,49 %) enregistraient les proportions les plus élevées, tandis que le support F3 montrait la plus faible proportion à 1,48 %. La pyrazine tétraméthyl était dominante dans les fèves fermentées sur le support F4 ($8,63 \pm 0,01$ %), tandis que la pyrazine méthyl était plus prédominante dans celles fermentées sur le support F5 ($7,11 \pm 0,56$ %) ; (Tableau XXVIII).

En ce qui concerne les furanes et les composés acides, les fèves fermentées sur les supports F3 et F2 étaient spécifiquement enrichies. Les composés acides avaient des proportions variantes entre 0 et 7,59 %, avec les échantillons de fèves fermentées sur F2 montrant la proportion la plus élevée à 7,59 %, suivis de F3 (4,48 %) et F1 (4,21 %). L'acide acétique dominait avec une prédominance dans les fèves fermentées sur le support F3 ($4,48 \pm 0$ %). Le Butanoic acid, 2-méthyl-, et l'acide acétique avaient des proportions similaires dans les fèves fermentées sur le support F2, avec respectivement $2,2 \pm 0,00$ % et $2,80 \pm 0,08$ % (Tableau XXVIII).

La composition en furanes variait entre 1,81 % et 5,08 %. Les fèves fermentées sur le support F3 présentaient la proportion la plus élevée, soit 5,08 %. Le composé Furan, tetrahydro-2-méthyl-, était particulièrement dominant, représentant $3,87 \pm 0,14$ % du total des composés.

Tableau XXVIII: Composés organiques volatils identifiés dans les liqueurs des échantillons prélevés dans la zone de Daloa (Moy $\pm$ SD)

Composés	F1 DA	F2 DA	F3 DA	F4 DA	F5 DA	F6 DA	RI cal	RI Thor	Cas	Description de l'odeur
Alcools										
1-Butanol, 2-methyl-1-butanol, methyl-	0,65 $\pm$ 0,14	0,76 $\pm$ 0,06	1,32 $\pm$ 0,01	0,69 $\pm$ 0,044	0,63 $\pm$ 0,08	0,83 $\pm$ 0,208	713 $\pm$ 0,00	736	137-32-6	Malté
1-Heptanol, 1-Hexanol, ethyl-	0,00 $\pm$ 0,00	0,07 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,51 $\pm$ 0,47	750 $\pm$ 0,00	757,9	71-41-0	Malté, rance, piquant
1-Pentanol, 1-Propanol, 2-methyl-2-Butanol, 2-methyl-2-Furanmethanol, tetrahydro-5-methyl-	0,07 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	747 $\pm$ 0,00	969	71-41-0	Boisée, huileuse
2-Heptanol	0,03 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1029 $\pm$ 0,00	ND	104-76-7	ND
2-Pentanol	0,09 $\pm$ 0,50	1,12 $\pm$ 0,02	1,36 $\pm$ 0,08	0,87 $\pm$ 0,11	3,52 $\pm$ 0,24	0,00 $\pm$ 0,00	635,667 $\pm$ 0,57	ND	78-83-1	ND
2,3-Butanediol	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	4,32 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	677 $\pm$ 7,09	692,1	598-75-4	ND
3-Buten-2-ol, 2-methyl-3-Pentanol, 2,4-dimethyl-	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,66 $\pm$ 0,20	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	780 $\pm$ 0,00	ND	6126-49-4	ND
Aire totale	10,32	15,09	23,29	19,41	16,88	13,62				ND
Aldéhydes										
2-Hexenal, 2-methyl-2-Isopropyl-5-methylhex-2-enal	1,01 $\pm$ 0,78	0,81 $\pm$ 0,00	0,16 $\pm$ 0,00	0,46 $\pm$ 0,39	0,30 $\pm$ 0,00	0,65 $\pm$ 0,85	865,667 $\pm$ 0,57	884	28467-88-1	ND
Benzaldéhyde	0,84 $\pm$ 0,52	0,80 $\pm$ 0,55	0,53 $\pm$ 0,44	0,60 $\pm$ 0,41		0,75 $\pm$ 0,56			35158-25-9	ND
Butanal, 2-methyl-Butanal, 3-methyl-Propanal, 2-methyl-	1,69 $\pm$ 0,39	2,14 $\pm$ 0,83	0,56 $\pm$ 0,30	1,11 $\pm$ 0,04	1,51 $\pm$ 0,12	1,28 $\pm$ 0,40	955,667 $\pm$ 0,57	954,3	100-52-7	Noisette
	8,59 $\pm$ 2,39	8,86 $\pm$ 2,74	14,39 $\pm$ 1,04	7,00 $\pm$ 0,75	7,19 $\pm$ 0,28	11,58 $\pm$ 3,73	654,667 $\pm$ 0,57	659	96-17-3	Malté, chocolat
	13,89 $\pm$ 4,15	13,26 $\pm$ 3,74	18,9 $\pm$ 1,51	11,05 $\pm$ 1,25	11,85 $\pm$ 0,32	16,75 $\pm$ 4,66	649,667 $\pm$ 0,57	649	590-86-3	Chocolat
	4,67 $\pm$ 1,57	4,03 $\pm$ 1,36	7,22 $\pm$ 1,06	3,91 $\pm$ 0,057	4,14 $\pm$ 0,25	5,19 $\pm$ 3,29	613 $\pm$ 0,00	552	78-84-2	
Aire totale	30,69	29,29	41,76	24,13	25,74	36,31				
Cétones										
2,3-Butanedione	0,33 $\pm$ 0,21	0,36 $\pm$ 0,08	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,44 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,00	621,667 $\pm$ 0,57	595	431-03-8	Beurre
2-Butanone	1,38 $\pm$ 0,30	0,00 $\pm$ 0,00	1,03 $\pm$ 0,00	1,40 $\pm$ 0,00	1,43 $\pm$ 0,05	1,35 $\pm$ 0,00	624,5 $\pm$ 0,707	622	78-93-3	Piquante
2-Heptanone	2,87 $\pm$ 1,85	4,53 $\pm$ 2,11	2,86 $\pm$ 0,23	4,42 $\pm$ 2,04	4,21 $\pm$ 0,85	4,32 $\pm$ 1,64	884,66 $\pm$ 0,57	893	110-43-0	Fruité, fleuri
2-Hexanone, 5-methyl-	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	5,70 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	885,00 $\pm$ 0,00	832	110-12-3	ND
2-Nonanone	0,48 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,94 $\pm$ 0,45	0,33 $\pm$ 0,15	2,58 $\pm$ 0,20	0,00 $\pm$ 0,00	1091,00 $\pm$ 0,00	1093	821-55-6	Fruité, sucré, cireux
2-Pentanone	1,23 $\pm$ 0,35	1,31 $\pm$ 0,25	1,52 $\pm$ 0,09	2,10 $\pm$ 0,00	2,28 $\pm$ 0,19	1,32 $\pm$ 0,769	669,00 $\pm$ 0,00	686	107-87-9	Piquante
2-Pentanone, 3-methyl-	0,00 $\pm$ 0,00	2,48 $\pm$ 0,88	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	624,00 $\pm$ 0,00	743	565-61-7	ND
2-Tridecanone	0,22 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,54 $\pm$ 0,22	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1093,00 $\pm$ 0,00	1494	593-08-8	ND
3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-3-Hepten-2-one, (E)-	0,00 $\pm$ 0,00	0,40 $\pm$ 0,27	0,31 $\pm$ 0,10	0,58 $\pm$ 0,37	0,65 $\pm$ 0,13	0,47 $\pm$ 0,25	670,00 $\pm$ 0,00	686	107-87-9	agrumes, verte
	0,08 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,10	0,07 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	807,00 $\pm$ 0,00	ND	1354935	ND
3-Nonen-2-one	0,10 $\pm$ 0,00	0,16 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,04	0,089 $\pm$ 0,01	0,00 $\pm$ 0,00	0,13 $\pm$ 0,048	986,00 $\pm$ 0,00	ND	14309-57-0	ND
4-Heptanone, 3-methyl-	0,00 $\pm$ 0,00	0,55 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,26 $\pm$ 0,19	0,20 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,00	ND	15726-15-5	0,37 $\pm$ 0	ND
Acetoin	0,67 $\pm$ 0,47	0,46 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,34 $\pm$ 0,18	0,78 $\pm$ 0,28	0,00 $\pm$ 0,00	686,50 $\pm$ 0,70	720	513-86-0	ND
Acetophenone	0,00 $\pm$ 0,00	0,25 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,08 $\pm$ 0,00	0,05 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1068,00 $\pm$ 0,00	1065	98-86-2	Fleuri, doux, amande, sucré
Aire totale	7,36	10,59	12,56	13,28	12,69	8,23				
Ac Carboxylique										

Acetic acid	1,46±0,55	2,42±0,16	4,48±0,00	1,05±0,04	2,46±0,22	0±0,00	632,67±0,57	646	64-19-7	Aigre, Vinaigre
Hexanoic acid	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,24±0,00	850,00±0,00	981	142-62-1	Sueur, piquante
Butanoic acid, 2-methyl-	0,00±0,00	2,2±0,00	0,00±0,00	1,18±0,61	0,27±0,00	0,00±0,00	894,00±0,00	ND	116-53-0	ND
Pentanoic acid, 3-methyl-	2,75±0,00	2,80±0,08	0,00±0,00	1,28±0,26	0,00±0,00	0,00±0,00	882,00±0,00	ND	105-43-1	ND
Pentanoic acid	0,00±0,00	0,17±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,07±0,01	850,00±0,00	ND	109-52-4	ND
Aire totale	4,21	7,59	4,48	3,51	2,73	0,31				
Esters										
Propanoic acid, 2-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,45±0,405	770,50±10,60	ND	79-31-2	ND
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	1,20±0,91	2,06±0,16	0,86±0,29	0,00±0,00	0,85±0,41	1,60±0,07	873,00±0,00	880	624-41-9	Pomme, poire
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	1,11±0,57	0,00±0,00	1,22±0,31	0,00±0,00	2,02±0,13	1,43±0,251	870,00±0,00	867	123-92-2	banane
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	0,07±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1598,00±0,00	ND	6846-50-0	ND
2-Heptanol, acetate	0,07±0,01	0,13±0,04	0,17±0,08	0,13±0,04	0,30±0,08	0,08±0,05	1042,67±0,57	1054	5921-82-4	Fruité(α)
2-Pentanol, acetate	0,88±0,17	1,55±0,07	1,07±0,13	1,71±0,05	2,41±0,03	1,02±0,01	841,00±0,00	840	626-38-0	Fruité, orange
Acetic acid, methyl ester	0,00±0,00	0,58±0,22	0,82±0,04	0,54±0,04	0,62±0,03	0,61±0,28	608,50±0,70	560	79-20-9	Banane, poire
Acetoxyacetic acid, 3-methylbut-2-yl ester	0,00±0,00	0,20±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1011,00±0,00	1196	1000355-69-8	ND
Butanoic acid, 1-methylpropyl ester	0,00±0,00	0,29±0,13	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	935,00±0,00	ND	819-97-6	fruit vert
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	0,26±0,089	0,31±0,13	0,00±0,00	0,27±0,13	0,00±0,00	0,27±0,08	844,67±0,57	847	108-64-5	ND
Dodecanoic acid, methyl ester	0,91±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,35±0,03	0,00±0,00	1525,00±0,00	1527	111-82-0	ND
Isobutyl acetate	0,02±0,00	0,05±0,01	0,00±0,00	0,10±0,00	0,15±0,03	0,00±0,00	755±0,00	749	110-19-0	fruité
Methyl isovalerate	0,20±0,13	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,41±0,08	757,66±0,57	ND	556-24-1	ND
Pentanoic acid, 2-hydroxy-4-methyl-, methyl ester	0,06±0,04	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,04±0,00	0,00±0,00	1012,33±2,30	ND	54791	ND
Propanoic acid, 2-methyl-, 1-methylbutyl ester	0,00±0,00	0,03±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,04±0,00	0,00±0,00	977,00±0,00	ND	54340-93-1	ND
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0,12±0,04	0,00±0,00	0,32±0,00	0,00±0,00	0,21±0,04	0,00±0,00	736,66±0,57	755	97-62-1	fruit
sec-Butyl acetate	0,00±0,00	0,50±0,08	0,23±0,01	0,39±0	0,08±0,00	0,00±0,00	736,00±0,00	738.1	105-46-4	ND
Aire totale	4,9	5,57	4,69	3,14	7,07	5,87				
Terpènes										
β-Myrcene	0,55±0,23	0,98±0,29	0,44±0,14	0,64±0,04	0,73±0,11	0,00±0,00	988,00±0,00	984	123-35-3	Epicée, menthe
β-Pinene	0,00±0,00	0,00±0,00	0,41±0	0,00±0,00	0,58±0,18	0,58±0,18	988,00±0,00	964	127-91-3	poivrée
1,3-Pentadiene, (Z)-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,83±0	0,00±0,00	0,00±0,00	604,00±0,00	ND	1574-41-0	sapin
2,3-Dimethyl-1-hexene	1,09±0	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	910,00±0,00	ND	16746-86-4	ND
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	0,00±0,00	0,05±0	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1128,00±0,00	1113	7216-56-0	ND
2,4-Dimethyl-1-heptene	0,25±0,12	0,26±0,11	0,36±0,21	0,33±0,17	0,34±0,11	0,59±0,055	829,66±0,57	842	19549-87-2	ND
Linalool	0,39±0,02	0,37±0,02	0,00±0,00	0,26±0,03	0,69±0,008	0,00±0,00	1099,66±0,57	1100	78-70-6	muguet
Toluene trans-.beta.-Ocimene	0,14±0,04	0,09±0,03	0,13±0,03	0,15±0,05	0,10±0,11	0,29±0,09	743,50±0,70	773	108-88-3	aromatique
trans-Linalool oxide (furanoid)	0,09±0,03	0,19±0,10	0,07±0,00	0,14±0,10	0,17±0,008	0,00±0,00	1037,00±10	1036	3779-61-1	ND
	0,75±0,69	0,43±0,37	0,07±0,01	0,19±0,00	0,12±0,00	0,54±0,80	1078,00±11,31	1076	34995-77-2	ND
Aire totale	2,51	2,37	1,48	2,54	2,73	2				
Pyrazines										

2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	0,00±0,00	0,04±0,00	0,00±0,00	0,06±0,01	0,04±0,00	0,00±0,00	1162,00±0,00	ND	17398-16-2	Bonbon sucré
Pyrazine, 2,3-dimethyl-	0,88±0,07	0,89±0,28	0,19±0,17	0,57±0,40	0,40±0,26	0,74±0,43	914,50±0,57	936	5910-89-4	Caramel, cacao, praliné
Pyrazine, 2,5-dimethyl-	0,45±0,22	0,63±0,38	0,69±0,00	0,68±0,29	0,22±0,02	0,32±0,216	908,33±0,57	926	123-32-0	Rôti, cuit
Pyrazine, 2,6-dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,20±0,06	0,00±0,00	908,00±0,00	920	108-50-9	ND
Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,05±0,00	0,00±0,00	0,22±0,05	0,17±0,09	1081,00±0,00	1088	13925-07-0	ND
Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	0,11±0,06	0,28±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,21±0	997,33±0,57	997	13925-03-6	Cacao, torréfié
Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-	0,20±0,06	0,19±0,06	0,09±0,02	0,17±0,13	0,30±0,11	0,27±0,12	1078,00±0,00	1081	13360-65-1	cacao, chocolat
Pyrazine, methyl-	0,13±0,12	0,38±0,45	0,00±0,00	0,00±0,00	7,11±0,56	3,56±0,197	815,50±0,70	826	109-08-0	Noisette, vert
Pyrazine, tetramethyl-	2,03±0,33	1,96±0,74	0,00±0,00	8,63±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	1084,00±0,00	1096	1124-11-4	Rôti, chocolat
Pyrazine, trimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	2,04±0,08	0,00±0,00	0,00±0,00	1000,00±0,00	1005	14667-55-1	Cacao, café au lait torréfié, chocolat
Aire totale	3,8	4,37	1,02	12,15	8,49	5,27				
Organo-sulfure										
Dimethyl sulfide	0,68±0,45	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	962,66±0,57	1347	3658-80-8	Soufre, chou
Dimethyl trisulfide	0,00±0,00	0,68±0,00	0,00±0,00	0,69±0,005	1,06±0,00	0,00±0,00	963,00±0,00	521	3658-80-8	ND
Disulfide, dimethyl	1,22±0,39	0,68±0,00	0,52±0,00	1,4±0,05	1,62±0,19	1,45±0,222	718,66±0,57	747.1	624-92-0	ail pourri
Aire totale	1,9	1,36	0,52	2,09	3,24	1,45				
Furanes										
Furan, 2-butyltetrahydro-	0,37±0,21	0,30±0,17	0,35±0,18	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	824,00±0,00	ND	1004-29-1	ND
Furan, 2-ethyl-5-methyl-	0,94±0,31	1,01±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,17±0,27	789,00±0,00	ND	1703-52-2	ND
Furan, 3-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,06±0,00	1,06±0,13	0,00±0,00	630,00±0,00	ND	930-27-8	ND
Furan, tetrahydro-2,5-dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,86±0	0,00±0,00	0,00±0,00	0,64±0,019	687,00±0,00	ND	1003-38-9	Inodore
Furan, tetrahydro-2-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	3,87±0,14	1,63±0,01	1,50±0,00	0,00±0,00	658,00±0,00	ND	96-47-9	éther
Furan, tetrahydro-3-methyl-	1,26±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	658,00±0,00	663	96-47-9	éther
Aire totale	2,57	1,31	5,08	2,63	2,56	1,81				
Autres										
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	0,00±0,00	0,04±0,00	0,00±0,00	0,74±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1017,00±0,00	1243	2785-89-9	ND
Phenylethyl Alcohol	0,63±0,230	0,64±0,00	0,29±0,08	0,68±0,14	0,74±0,23	0,00±0,00	1120,00±1,41	1110	60-12-8	Rose
1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	0,19±0,12	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	715,83±15,15	ND	3299-32-9	ND
Piperidine, 1-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,55±0,13	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	ND	ND	ND
Aire totale	0,82	0,68	0,29	2,97	0,74	0				

F1 DA : Feuille de bananier Daloa ; F2 DA : Feuille de palmier Daloa ; F3 DA : Cabosse de cacao Daloa ; F4 DA : Bâches-en polyprylène ; F5 DA : Sac en polypropylène Daloa ; F6 DA : Sac en jute Daloa ; DA : Daloa.

Les deux composantes principales (PC1 ; PC2) représentaient 73,3 % des variances totales (Figure 77a). PC1 représentait 43,7 % de la variabilité totale et était caractérisé par les composés aldéhydes corrélés négativement d'une part et des composés pyrazines, organo-sulfures et terpènes corrélés positivement. La dimension 2 (PC2) représentait 29,6 % de la variabilité totale, caractérisée principalement par les composés furanes, cétones, acides, alcools et autres corrélés positivement d'une part et des composés esters corrélés négativement. La

projection des variables sur l'ensemble PC1 et PC2 a révélé que les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F4 étaient plus caractérisés par des composés cétoniques, pyrazines et autres. Les liqueurs fermentées sur les supports F2, F6 et le témoin (F1) sont essentiellement caractérisés par les composés esters tandis que les liqueurs issues du support F5 étaient plus caractérisées par les composés organo-sulfures et terpènes. Les liqueurs issues du support F3 par les composés alcools et furanes.

Le dendrogramme réalisé avec le ACH a permis de discriminer trois principaux groupes de clusters (Figure 77 b). Les liqueurs émettent des fèves fermentées sur les supports F3, F2, F6 et le témoin F1 forment le premier groupe. En revanche, les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F5 et F4 constituent respectivement le deuxième et le troisième groupe.

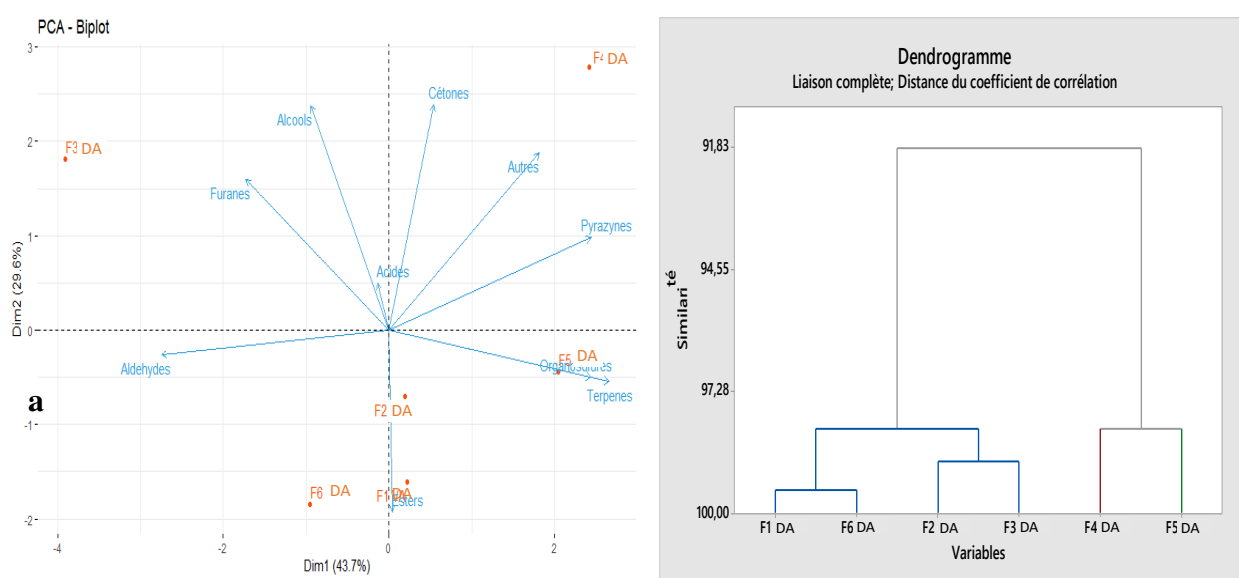


Figure 77: Interdépendance des composés organiques volatils en fonction des supports de fermentation dans la zone de Daloa

F1 DA : Feuille de bananier Daloa ; F2 DA : Feuille de palmier Daloa ; F3 DA : Cabosse de cacao Daloa ; F4 DA : Bâche en polypropylène ; F5 DA : Sac en polypropylène Daloa ; F6 DA : Sac en jute Daloa ; VA : Daloa

1.5.3. Profil en composés organiques volatils des échantillons prélevés dans la zone de Soubré

Dans la zone de Soubré, 84 composés ont été identifiés, dont 12 alcools comprenant, 7 aldéhydes, 18 cétones, 2 acides, 15 esters, 10 terpènes, 9 pyrazines, 3 organo-sulfures, 3 furanes et 5 autres. La proportion totale de chaque famille de composé est illustré par la Figure 78.

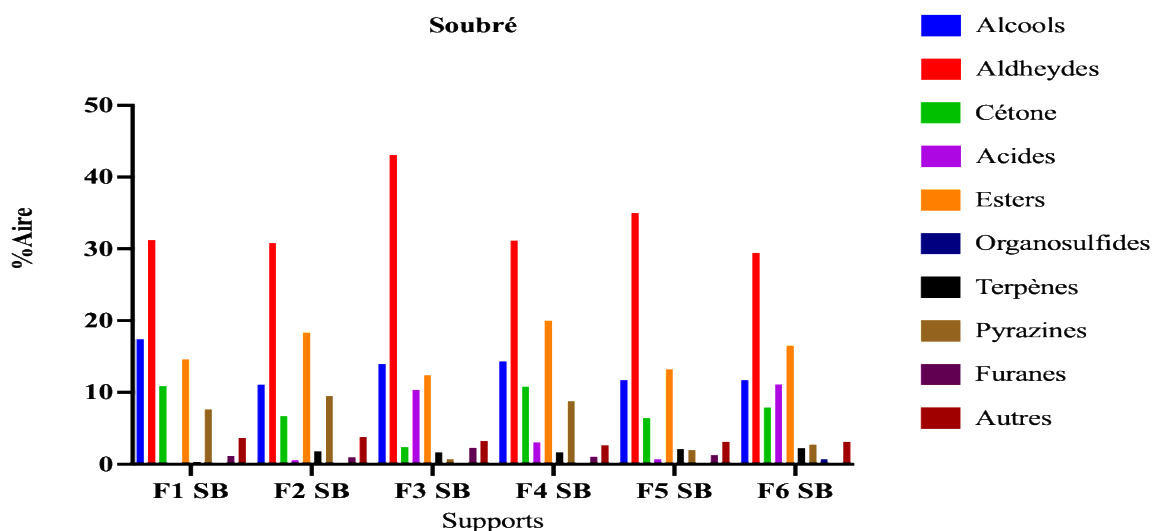


Figure 78: Proportion par classes de composés organiques volatils identifiés dans les échantillons de liqueurs à Soubré

F1 SB : Feuille de bananier Soubré ; F2 SB Feuille de palmier Soubré ; F3 SB : Cabosse de cacao Soubré ; F4 SB : Bâche en polypropylène ; F5 SB : Sac en polypropylène Daloa ; F6 VA : Sac en jute Daloa ; VA : Daloa

L'analyse des différentes proportions de ces composés et leur profil ont permis de regrouper les différents supports de fermentation (Tableau XXIX). Les fèves fermentées sur les supports F1, F3 et F4 ont montré des concentrations plus élevées en alcools, cétones et pyrazines.

La proportion des composés alcooliques variait entre 11,72 % et 17,43 %. Plus spécifiquement, les fèves fermentées sur les supports F1, F3 et F4 présentaient des concentrations respectives de 17,43 %, 14 % et 14,34 %. Le 2,3-butanediol était le composé prédominant dans l'ensemble des liqueurs analysées, avec une proportion particulièrement élevée dans les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F1, soit environ $10,26 \pm 0,37$ % (Tableau XXIX). Le 1-butanol, 3-méthyl-, était également dominé dans les fèves fermentées sur le support F3, avec une proportion de $4,33 \pm 0,26$ % (Tableau XXIX).

Les composés cétoniques présentaient des proportions variantes entre 5,43 % et 14,59 %. Les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F1 (10, 10,73 %) et F4 (10,85 %) étaient particulièrement riches en 2-pentanone et 2-heptanone, qui étaient les composés majoritaires dans tous les échantillons analysés. Les proportions observées dans les liqueurs issues du support F1 étaient de $2,96 \pm 0,18$ % pour le 2-pentanone et $2,14 \pm 0,19$ % pour le 2-heptanone. En revanche, celles provenant du support F4 présentaient des proportions de $2,37 \pm 1,64$ % pour le 2-pentanone et $2,40 \pm 0,86$ % pour le 2-heptanone (Tableau XXIX).

Les proportions des composés pyrazines variaient entre 0,72 % et 9,54 %. La plus grande proportion a été enregistrée dans les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F2 (9,54 %), suivie de F4 (8,79 %), tandis que la plus faible proportion a été observée dans celles des fèves fermentées sur le support F3 (0,72 %). La pyrazine tétraméthyl- était le composé dominant suivi de 2,3,5-triméthylpyrazine dans les liqueurs issues des six supports de fermentation. Sa plus grande proportion a été observée dans les liqueurs fermentées sur les supports F1, F2 et F4, représentant environ $3,44 \pm 0,10$ %, $4,35 \pm 0,04$ % et $4,13 \pm 0,40$ % respectivement (Tableau XXIX).

Les fèves fermentées sur les supports F3, F5 et F6 ont montré des proportions significativement plus élevées en aldéhydes, esters et acides.

La proportion totale en aldéhydes variait entre 29,47 % et 43,08 %. Les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F3 (43,08 %) et F5 (35,03 %) étaient particulièrement dominantes. Le butanal, 3-méthyl-, était le composé majoritaire, avec des proportions respectives de $24,00 \pm 1,31$ % et $19,25 \pm 1,37$ % (Tableau XXIX).

Les composés acides présentaient des proportions variantes entre 0 et 11,11 %. La plus grande proportion a été observée dans les liqueurs issues du support F6 (11,11 %), suivie de F3 (10,39 %). L'acide acétique était le plus dominant dans toutes les liqueurs issues des supports, avec sa plus grande proportion enregistrée dans celles des fèves fermentées sur le support F6 ($10,01 \pm 1,11$ %), suivie de F3 ($9,15 \pm 0,83$ %).

Les fèves fermentées sur les supports F5 (23,62 %), F2 (18,38 %) et F6 (13,24 %) présentaient des proportions plus élevées en composés esters, variant entre 10,21 % et 23,62 %. La plus petite proportion était observée dans celles issues du support F3 (12,42 %). Le 1-butanol, 3-méthyl-, acétate était dominant dans l'ensemble des échantillons, avec sa plus grande proportion trouvée sur le support F5 ($9,35 \pm 0,45$ %), suivie de F2 ($6,32 \pm 0,20$ %) ; (Tableau XXIX).

Le pourcentage total de composés furanes était moyennement plus abondant dans les liqueurs des fèves fermentées sur les supports F3 (2,69 %) contre 1,68 % observé sur le support témoin F1. Furan, tetrahydro-2-méthyl- était le composé le plus abondant dans l'ensemble avec une proportion plus élevée dans les fèves fermentées sur le support F4 ($1,28 \pm 0,11$ %) et F1 ($1,28 \pm 0,11$ %) ; (Tableau XXIX).

Tableau XXIX: Composés organiques volatils identifiés dans les liqueurs des échantillons prélevés dans la zone de Soubré (Moy $\pm$ SD)

Composés	F1 SB	F2 SB	F3 SB	F4 SB	F5 SB	F6SB	RI cal	RI Thor	Cas#	Description de l'odeur
Alcools										
1-Butanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-Octanol, 2-butyl-1-Octanol, 3,7-dimethyl-2-Butanol	0,58 $\pm$ 0,00	0,76 $\pm$ 0,04	3,25 $\pm$ 0,33	0,62 $\pm$ 0,08	1,75 $\pm$ 0,11	1,6 $\pm$ 0,02	714 $\pm$ 0,00	736	137-32-6	Malté
2-Heptanol, 2,3-Butanediol, 2H-Pyran-2-methanol, tetrahydro-2-Pentanol	0,66 $\pm$ 0,02	1,07 $\pm$ 0,06	4,33 $\pm$ 0,26	0,88 $\pm$ 0,05	2,74 $\pm$ 0,17	2,26 $\pm$ 0,10	710 $\pm$ 0,00	712	123-51-3	Malté, rance, piquant ND
3-Buten-2-ol, 2-methyl-3-Pentanol, 2,4-dimethyl-5-Nonanol	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,16 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1100 $\pm$ 0,00	ND	735273	ND
	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1077 $\pm$ 0,00	ND	106-21-8	ND
	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,88 $\pm$ 0	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	788 $\pm$ 0,00	ND	78-92-2	ND
	1,57 $\pm$ 1,15	2,32 $\pm$ 0,24	0,09 $\pm$ 0,02	1,60 $\pm$ 0,76	0,19 $\pm$ 0,08	0,23 $\pm$ 0,11	898,5 $\pm$ 0,707	889	543-49-7	Vert
	10,26 $\pm$ 0,3	3,80 $\pm$ 0,98	0,00 $\pm$ 0,00	4,87 $\pm$ 0,13	2,81 $\pm$ 1,43	3,11 $\pm$ 1,11	780 $\pm$ 0,00	782	513-85-9	Amer, malté
	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,06 $\pm$ 0,03	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	795 $\pm$ 0,00	ND	100-72-1	ND
	2,93 $\pm$ 0,09	2,06 $\pm$ 0,18	3,08 $\pm$ 0,87	2,56 $\pm$ 0,22	3,42 $\pm$ 0,19	3,21 $\pm$ 0,08	678 $\pm$ 0,00	700	6032-29-7	Vert, vert doux
	0,98 $\pm$ 0,07	0,61 $\pm$ 0,00	3,15 $\pm$ 1,25	0,74 $\pm$ 0,06	1,20 $\pm$ 0,16	1,16 $\pm$ 0,09	629 $\pm$ 0,00	623.7	115-18-4	Herbal, tereux
	0,41 $\pm$ 0,05	0,46 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,19 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,06	0,15 $\pm$ 0,11	850 $\pm$ 0,00	838	600-36-2	ND
	0,04 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	944 $\pm$ 0,00	ND	623-93-8	citron
Aire totale	17,43	11,08	14	14,34	12,4	11,72				
Aldéhydes										
2-Hexenal, 2-methyl-2-Isopropyl-5-methylhex-2-enal	0,78 $\pm$ 0,12	1,00 $\pm$ 0,11	0,19 $\pm$ 0,03	0,41 $\pm$ 0,09	0,68 $\pm$ 0,28	0,72 $\pm$ 0,61	866 $\pm$ 0,00	884	28467-88-1	ND
	0,34 $\pm$ 0,23	0,36 $\pm$ 0,27	0,21 $\pm$ 0,14	0,31 $\pm$ 0,20	0,18 $\pm$ 0,14	0,34 $\pm$ 0,26	1109,5 $\pm$ 5,19	1106	35158-25-9	ND
Benzaldehyde	0,55 $\pm$ 0,02	0,69 $\pm$ 0,15	0,89 $\pm$ 0,49	0,46 $\pm$ 0,10	0,51 $\pm$ 0,06	0,57 $\pm$ 0,25	956 $\pm$ 0,00	954.3	100-52-7	Noisette
Butanal, 2-methyl-Butanal, 3-methyl-	5,73 $\pm$ 0,45	5,45 $\pm$ 0,113	14,23 $\pm$ 0,45	5,99 $\pm$ 0,41	6,75 $\pm$ 0,36	8,74 $\pm$ 0,33	655 $\pm$ 0,00	659	96-17-3	Malté, chocolat
	21,08 $\pm$ 1,71	21,44 $\pm$ 1,23	19,25 $\pm$ 1,37	21,53 $\pm$ 1,42	24,00 $\pm$ 1,31	14,43 $\pm$ 0,52	649,5 $\pm$ 0,70	649	590-86-3	ND
Hexanal	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,40 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	788 $\pm$ 0,00	780	66-25-1	ND
Propanal, 2-methyl-	2,78 $\pm$ 0,53	1,90 $\pm$ 0,01	7,91 $\pm$ 0,96	2,47 $\pm$ 0,32	2,91 $\pm$ 0,26	4,67 $\pm$ 0,29	613 $\pm$ 0,00	552	78-84-2	Chocolat
Aire totale	31,26	30,84	43,08	31,17	35,03	29,47				
Cétones										
2,3-Butanedione	0,45 $\pm$ 0,13	0,39 $\pm$ 0,07	0,00 $\pm$ 0,00	0,45 $\pm$ 0,05	0,39 $\pm$ 0,04	0,47 $\pm$ 0,12	622 $\pm$ 0,00	595	431-03-8	Beurre
2,3-Pentanedione	0,55 $\pm$ 0,03	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,63 $\pm$ 0,05	0,71 $\pm$ 0,00	675 $\pm$ 0,00	696	600-14-6	ND
2-Acetoxy-3-butanone	0,00 $\pm$ 0,00	1,31 $\pm$ 0,14	0,00 $\pm$ 0,00	0,87 $\pm$ 0,40	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	890 $\pm$ 0,00	ND	4906-24-5	ND
2-Butanone	0,00 $\pm$ 0,00	0,71 $\pm$ 0,16	0,00 $\pm$ 0,00	1,19 $\pm$ 0,08	0,62 $\pm$ 0,09	1,25 $\pm$ 0,04	625 $\pm$ 0,00	622	78-93-3	Piquante
2-Butanone, 3,3-dimethyl-	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,59 $\pm$ 0,35	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,74 $\pm$ 0,01	675 $\pm$ 0,00	675	75-97-8	Menthe, poivrée
2-Heptanone	2,37 $\pm$ 1,64	0,00 $\pm$ 0,00	0,23 $\pm$ 0,00	2,40 $\pm$ 0,86	0,00 $\pm$ 0,00	0,26 $\pm$ 0,01	885 $\pm$ 0,00	893	110-43-0	Fruité, fleuri
2-Hexanone, 5-methyl-2-Hydroxy-3-pentanone	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,49 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	886 $\pm$ 0,00	832	110-12-3	ND
	1,87 $\pm$ 0,15	0,73 $\pm$ 0,12	0,00 $\pm$ 0,00	0,63 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,05	0,00 $\pm$ 0,00	800 $\pm$ 0,00	777	5704-20-1	ND
2-Nonanone	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,23 $\pm$ 0,10	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1092,66 $\pm$ 0,57	1093	821-55-6	Fruité, sucré, cireux
2-Pentanone	2,96 $\pm$ 0,18	1,26 $\pm$ 0,052	1,22 $\pm$ 0,75	2,14 $\pm$ 0,19	1,85 $\pm$ 0,14	2,31 $\pm$ 0,05	669 $\pm$ 0,00	686	107-87-9	Piquante
2-Pentanone, 3-methyl-3-Pentanone, 2-methyl-3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl-3-Hepten-2-one, (E)-	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,04 $\pm$ 0,00	0,52 $\pm$ 0,03	624 $\pm$ 0,00	743	565-61-7	ND
	0,00 $\pm$ 0,00	0,47 $\pm$ 0,04	0,00 $\pm$ 0,00	0,53 $\pm$ 0,05	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	676 $\pm$ 0,00	726	565-69-5	ND
										Musquée
	1,13 $\pm$ 0,02	0,74 $\pm$ 0,21	0,27 $\pm$ 0,05	1,17 $\pm$ 0,32	0,34 $\pm$ 0,03	0,00 $\pm$ 0,00	797 $\pm$ 0,00	804	3188-00-9	
	0,00 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	806 $\pm$ 0,00	ND	1119-44-4	Agrumes, verte

3-Nonen-2-one	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,05±0,00	986±0,00	ND	14309-57-0	ND
4-Heptanone, 2-methyl-	0,00±0,00	0,06±0,03	0,10±0,02	0,04±0,02	0,07±0,02	0,13±0,10	827±0,00	922	626-33-5	Sucrée, fruitée, banane
4-Heptanone, 3-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,05±0,00	0,09±0,00	827±0,00	ND	15726-15-5	ND
Acetoin	1,40±0,65	1,00±0,57	0,00±0,00	1,20±0,43	0,81±0,52	1,36±0,78	849,66±126,8	720	513-86-0	Beurré, crème
Aire totale	10,73	6,69	2,41	10,85	6,46	7,89				
Ac Carboxylique										
Acetic acid	0,00±0,00	0,00±0,00	9,15±0,83	0,00±0,00	0,00±0,00	10,01±1,11	642,66±0,00	646	64-19-7	Aigre, Vinaigre
Butanoic acid, 2-methyl-	0,00±0,00	0,58±0	1,24±0	3,04±0,70	0,70±0	1,10±0,74	890±0,00	ND	116-53-0	ND
Aire totale	0,00	0,58	10,24	3,04	0,70	11,11				
Esters										
Acetic acid, methyl ester	0,77±0,12	0,59±0,03	2,30±0,15	0,84±0,10	0,83±0,04	1,14±0,08	608±0,00	560	79-20-9	ND
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	1,53±1,03	4,39±0,25	2,61±0,99	0,00±0,00	5,54±0,74	3,35±1,14	872,5±0,70	880	624-41-9	Pomme, poire
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	2,96±0,34	6,32±0,20	3,47±0,31	0,00±0,00	9,35±0,45	4,68±0,16	870±0,00	867	123-92-2	Banane
2,3-Butanediol, diacetate	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,04±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	1075±0,00	1054	1114-92-7	ND
2-Heptanol, acetate	0,06±0,00	0,09±0,01	0,00±0,00	0,14±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1042±0,00	1054	5921-82-4	Floral
2-Pentanol, acetate	2,81±0,19	2,96±0,12	1,29±0,16	3,79±0,39	3,33±0,16	2,10±0,14	841±0,00	840	626-38-0	ND
4-Methyl-2-pentyl acetate	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,07±0,03	0,00±0,00	0,00±0,00	944±0,00	910	108-84-9	Fruitée
Butanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	0,00±0,00	0,00±0,00	0,58±0,02	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	758±0,00	780	868-57-5	ND
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	0,39±0,06	0,94±0,08	0,27±0,10	0,78±0,15	0,78±0,06	0,75±0,11	844,5±0,70	847	108-64-5	fruit vert
Butanoic acid, ethyl ester	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	2,14±0,09	0,00±0,00	0,00±0,00	790±0,00	803	105-54-4	ND
Ethyl Acetate	1,13±0,09	1,56±0,00	0,00±0,00	1,59±0,14	1,39±0,16	0,00±0,00	631±0,00	611.7	141-78-6	Ananas
Isobutyl acetate	0,46±0,02	1,27±0,018	0,65±0,01	1,43±0,06	2,15±0,18	0,99±0,03	754±0,00	749	110-19-0	Fruité
n-Butyric acid 2-ethylhexyl ester	0,00±0,00	0,00±0,00	1,01±0,73	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	910,5±0,70	1317	25415-84-3	ND
Pentanoic acid, 2-hydroxy-4-methyl-, methyl ester	0,04±0,00	0,04±0,05	0,12±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	944±0,00	994.9	40348-72-9	ND
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0,06±0,00	0,22±0,09	0,12±0,00	0,32±0,02	0,25±0,04	0,23±0,00	737±0,00	755	97-62-1	Fruit
Aire totale	10,21	18,38	12,42	11,14	23,62	13,24				
Terpènes										
β Myrcene	0,00±0,00	0,30±0,02	0,13±0,04	0,46±0,04	0,22±0,01	0,37±0,09	989±0,00	984	123-35-3	Epicée, menthe poivrée
1-Pentene, 2-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,64±0,25	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	621±0,00	ND	763-29-1	ND
2,3-Dimethyl-1-hexene	0,00±0,00	1,16±0,04	0,00±0,00	0,45±0,38	0,98±0,07	0,76±0	910±0,00	ND	16746-86-4	ND
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,10±0	0,00±0,00	0,00±0,00	1129±0,00	1113	673-84-7	ND
2,4,6-Octatriene, 3,4-dimethyl-	0,00±0,00			0,07±0	0,00±0,00	0,00±0,00	1129±0,00	1110	57396-75-5	ND
2,4-Dimethyl-1-heptene	0,27±0,126	0,34±0,04	0,60±0,10	0,34±0,12	0,21±0,05	0,24±0,15	829,5±0,707	842	19549-87-2	ND
Linalool	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,13±0	0,00±0,00	0,00±0,00	1100±0,00	1100	78-70-6	Rose, fleurie, Lavande
Toluene	0,04±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,07±0	744±0,00	773	108-88-3	Aromatique

trans-.beta.- Ocimene	0,05±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,11±0,00	0,00±0,00	0,08±0	1038±0,00	1036	3779-61-1	Agrume, épicé, camphré
trans-Linalool oxide (furanoid)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,29±0,23	0,00±0,00	0,73±0,08	0,73±0,14	1162±0,00	ND	17398-16-2	ND
Aire totale	0,36	1,8	1,06	1,66	2,14	2,25				
Pyrazines										
2,3,5- Trimethyl-6- ethylpyrazine	0,07±0,01	0,17±0,02	0,00±0,00	0,13±0,02	0,03±0,00 6	0,03±0	1161±0,00	ND	17398-16-2	Bonbon sucré
Pyrazine, 2,3- dimethyl-	0,60±0,04	0,63±0,14	0,00±0,00	0,26±0,18	0,28±0,08 6	0,58±0,42	914±0,00	936	5910-89-4	Caramel, cacao, praliné
Pyrazine, 2,5- dimethyl-	0,61±0,056	0,54±0,57	0,44±0,01	0,48±0	0,44±0,05 5	0,77±0,12	908±0,00	926	123-32-0	Rôti, cuit
Pyrazine, 2,6- dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,20±0,00	0,13±0,11	0,00±0,00	0,14±0,06	908±0,00	920	108-50-9	Rôti, cuit
Pyrazine, 2- ethyl-6- methyl-	0,09±0,008	0,18±0,03	0,00±0,00	0,16±0,01	0,11±0,02	0,48±0,15	997±0,00	997	13925-03-6	Cacao, torréfié
Pyrazine, 3- ethyl-2,5- dimethyl-	0,21±0,06	0,57±0,07	0,00±0,00	0,46±0,02	0,37±0,11	0,27±0,12	1078±0,00	1081	13360-65-1	cacao, chocolat
Pyrazine, methyl-	0,25±0,12	0,110±0,12	0,08±0,01	0,19±0,07	0,10±0,02	0,48±0,17	815,5±0,70	826	109-08-0	Noisette, vert
Pyrazine, tetramethyl-	3,44±0,10	4,35±0,04	0,00±0,00	4,13±0,40	0,67±0,15	0,00±0,00	1084±0,00	1096	1124-11-4	Rôti, chocolat
Pyrazine, trimethyl-	2,39±0,0	2,99±0,21	0,00±0,00	2,85±0,25	0,00±0,00	0,00±0,00	1000±0,00	1005	14667-55-1	Cacao, café au lait torréfié, chocolat
Aire totale	7,66	9,54	0,72	8,79	2	2,75				
Organo-sulfures										
Dimethyl sulfide	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,18±0,00	0,18±0,00	0,33±0,00	607±0,00	521	75-18-3	Soufre, chou
Dimethyl trisulfide	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,30	719±0,00	747.1	624-92-0	ND
Disulfide, dimethyl	1,32±0,06	1,25±0,02	0,75±0,01	1,39±0,19	1,37±0,07	2,02±0,04	718,5±0,70	747.1	624-92-0	ail pourri
Aire totale	1,32	1,25	0,75	1,57	1,55	2,75				
Furanes										
2,4- Dimethylfuran	0,47±0,14	0,45±0,11	0,16±0,16	0,65±0,22	0,41±0,05	0,00±0,00	692±0,00	708	3710-43-8	ND
Furan, tetrahydro-2,5-dimethyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,24±0,23	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	687±0,00	698	1003-38-9	ND
Furan, tetrahydro-2-methyl-	1,21±0,03	0,97±0,01	2,29±1,36	1,07±0,20	1,29±0,14	0,00±0,00	659±0,00	663	96-47-9	ND
Aire totale	1,68	1,42	2,69	1,72	1,7	0,00				
Autres										
Phenylethyl Alcohol	0,05±0,00	0,38±0,02	0,23±0,15	0,16±0,00	0,67±0,44	0,61±0,39	1123±0,00	1110	60-12-8	ND
Butane	0,00±0,00	0,49±0,061	0,00±0,00	0,00±0,00	0,70±0,08	0,75±0,00	602,5±0,57	ND	106-97-8	ND
Butanenitrile, 2-methyl-	0,00±0,00	0,00±0,00	0,02±0,00	0,10±0,02	0,00±0,00	0,00±0,00	700±0,00	ND	18936-17-9	ND
Butanenitrile, 3-methyl-	0,01±0,00	0,03±0,01	0,15±0,02	0,00±0,00	0,06±0,01	0,06±0,02	706±0,00	ND	625-28-5	ND
Piperidine, 1-methyl-	1,59±0,00	0,97±0,090	0,00±0,00	1,28±0,11	0,00±0,00	0,73±0,00	1054±0,00	1020	626-67-5	ND
Aire totale	1,65	1,87	0,4	1,54	1,43	2,15				

F1 SB : Feuille de bananier Soubré ; F2 SB : Feuille de palmier Soubré ; F3 SB : Cabosse de cacao Soubré ; F4 SB : Bâche en polyprylène Soubré ; F5 SB : Sac en polypropylène Soubré ; F6 SB : Sac en jute Soubré ; SB : Soubré ; ND : Non défini

Le tracé de la qualité des différents supports dans la zone de Soubré a révélé que les deux composantes principales (PC1 ; PC2) expliquent 75,7 % de la variabilité de l'ensemble des données (Figure 79 a). PC1 (Dim1) représente 44,2 % de la variance totale et était principalement expliqué par les composés organosulfure, terpènes et autres corrélés

positivement, à l'opposé des composés furanes et aldéhydes. Quant à PC2 (Dim2), qui représentait plus de 31,5 % de la variance totale expliquée, il était caractérisé par les esters, les acides et terpènes corrélés négativement à l'opposé des composés pyrazines, cétoniques et alcooliques. La projection de charge sur les axes PC1-PC2 a montré la répartition des supports de fermentation en fonction des variables observées. Les liqueurs des fèves fermentées sur les F2, F6 et F5 était caractérisé par des liqueurs prédominantes en des composés organosulfures, acides, esters, terpènes et autres. En revanche, les liqueurs issues des supports témoins (F1) et F4 étaient caractérisés par les cétones, pyrazines et alcools. Quant échantillon de liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F3, il était caractérisé par les furanes et aldéhydes.

Le dendrogramme réalisé a montré, avec 95,82 % de similarité, trois groupes principaux de clusters ont été enregistrés (Figure 79 b). Les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F4 et du support témoins (F1) formaient le premier groupe. Les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F2 et F5, le deuxième groupe et enfin les supports, celles issues des supports F3 et F6 le troisième groupe

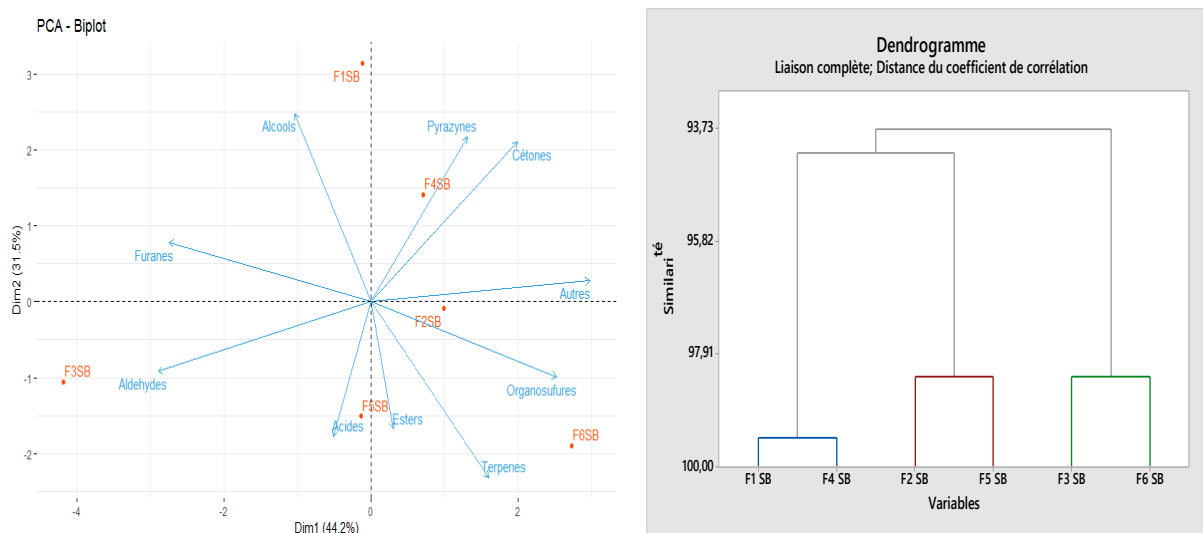


Figure 79: Corrélation des composés organiques volatils en fonction des supports de fermentation dans la zone de Soubré

F1 SB : Feuille de bananier Soubré ; F2 SB : Feuille de palmier Soubré ; F3 SB : Cabosse de cacao Soubré ; F4 SB : Bâche en polypropylène Soubré ; F5 SB : Sac en polypropylène Soubré ; F6 SB : Sac en jute Soubré ; SB : Soubré

1.6. Coloration des liqueurs de cacao

Visiblement, la couleur des liqueurs des fèves de cacao fermentées dans des différents supports de fermentation était marronne d'intensité différente. La variété du cacao analysée n'a présenté aucune influence. Cependant, dans l'ensemble, trois groupes, en fonction des

caractéristiques principales de couleur, ont été identifiés sur les six supports appliqués (Tableau XXX). Le groupe 1 comprenait les fèves fermentées sur les supports F1 et F2, qui ont montré une coloration brun chocolat similaire, avec des valeurs de luminosité (L^*) et de rougeur (a^*) proches de 16. En revanche, la valeur de jaunissement (b^*) était de 18 pour les fèves fermentées sur le support F1 et de 17 pour celles provenant du support F2. Le groupe 2 était constitué exclusivement des fèves fermentées sur le support F3, qui ont montré une coloration brune sépia avec une teinte plus foncée que les autres échantillons. Les valeurs de luminosité (L^*) et de rougeur (a^*) étaient d'environ 12, tandis que la valeur de jaunissement (b^*) était d'environ 13, plus faible que celle des autres supports. Le troisième groupe était constitué des fèves fermentées sur les supports de F4, F5 et F6, présentant une coloration maronne caractérisée les valeurs de la légèreté (L^*) et de la rougeur (a^*) et du jaunissement (b^*) moyenne.

Tableau XXX: Coloration des liqueurs de fèves de cacao (Moy $\pm$ SD)

SUP	a^*	b^*	L^*	Liqueur	Couleur
F1 SB	$16,64 \pm 0,01^a$	$18,41 \pm 0,07^a$	$16,41 \pm 0,02^d$		Coloration brune
F1 SP	$16,64 \pm 0,01^a$	$18,41 \pm 0,06^a$	$16,41 \pm 0,02^d$		
F1 DA	$16,64 \pm 0,01^a$	$18,41 \pm 0,06^a$	$16,41 \pm 0,02^d$		
F2 SB	$16,05 \pm 0,02^b$	$17,71 \pm 0,03^b$	$16,76 \pm 0,01^c$		
F2 SP	$16,05 \pm 0,02^b$	$17,71 \pm 0,03^b$	$16,76 \pm 0,01^c$		
F2 DA	$16,05 \pm 0,02^b$	$17,71 \pm 0,03^b$	$16,76 \pm 0,01^c$		Coloratio brune sépia
F3 SB	$12,17 \pm 0,04^f$	$13,13 \pm 0,02^d$	$12,57 \pm 0,05^f$		
F3 SP	$12,17 \pm 0,04^f$	$13,13 \pm 0,02^d$	$12,57 \pm 0,05^f$		
F3 DA	$12,17 \pm 0,04^f$	$13,13 \pm 0,02^d$	$12,57 \pm 0,05^f$		Coloration Maronne
F4 SB	$15,02 \pm 0,01^d$	$16,19 \pm 0,05^c$	$17,34 \pm 0,03^a$		
F4 SP	$15,02 \pm 0,01^d$	$16,19 \pm 0,05^c$	$17,34 \pm 0,03^a$		
F4 DA	$15,02 \pm 0,01^d$	$16,19 \pm 0,05^c$	$17,34 \pm 0,03^a$		
F5 SB	$14,93 \pm 0,03^c$	$16,22 \pm 0,03^c$	$16,34 \pm 0,02^c$		
F5 SP	$14,93 \pm 0,02^c$	$16,22 \pm 0,03^c$	$16,34 \pm 0,02^c$		
F5 DA	$14,93 \pm 0,02^c$	$16,22 \pm 0,03^c$	$16,34 \pm 0,02^c$		
F6 SB	$15,67 \pm 0,01^c$	$17,68 \pm 0,03^b$	$17,07 \pm 0,01^b$		
F6 SP	$15,67 \pm 0,01^c$	$17,68 \pm 0,03^b$	$17,07 \pm 0,01^b$		
F6 DA	$15,67 \pm 0,01^c$	$17,68 \pm 0,03^b$	$17,07 \pm 0,01^b$		

F1 SP : Feuille de bananier San-Pédro ; F2 SP : Feuille de palmier Sa Pedro ; F3 SP : Cabosse de cacao San-Pédro ; F4 SP : Bâche en polypropylène San-Pédro ; F5 SP : Sac en polypropylène San-Pédro ; F6 SP : Sac en jute San-Pédro ; DA : Daloa ; SB : Soubré ; SP : San-Pédro

1.7. Caractéristiques sensorielles des liqueurs de cacao

1.7.1. Score des différents descripteurs jugés

Afin donc de corrélérer les résultats de l'analyse aromatique avec la qualité perçue des échantillons de liqueurs analysés, une analyse sensorielle a été réalisée à l'aide d'un jury spécialisé. Les résultats présentés sur la Figure 80 montre dix descripteurs jugés par le panel sensoriel comme étant significativement différents parmi les dix-huit types de liqueur analysé sur une échelle de 0 à 6. Pour chaque descripteur, une note absolue par consensus a été adoptée sur les différentes notes attribuées par chacun des panélistes. Dans l'ensemble, toutes liqueurs analysées dans des trois zones d'étude étaient décrits des notes gustatives de cacao et de fèves torréfiées avec des une moyenne supérieur ou égale à 4.

Cependant, les liqueurs issues de la fermentation sur les feuilles de bananier (F1 ; Témoin) étaient discriminées comme des liqueurs moyennement amères avec une note de 4 dans les trois zone d'étude. Néanmoins, la liqueur des fèves fermentées sur les feuilles de bananier dans la zone de Daloa avait été décrit comme étant végétal avec un score de 5 (Figure 80 b).

Quant aux liqueurs des fèves fermentées sur les feuilles de palmier, elles ont été décrites comme étant moyennement acides, amer, et fruité avec un score de 4 dans la zone de San-Pédro. Dans la zone de Daloa, ces liqueurs ont été jugées comme étant amère et végétale avec un score moyen de 4 de même que dans la zone de Soubré où elles ont été décrites comme étant élégamment amère avec un score moyen de 4. Par ailleurs, les liqueurs des fèves fermentées dans la cabosse de cacao ont été jugées comme étant des liqueurs amères avec des scores respectifs de 5 à San-Pédro, Soubré et un score de 6 à Daloa.

Les liqueurs de fèves fermentées sur bâche en polypropylène ont été caractérisées comme étant acide, avec les échantillons prélevés dans les zones de San-Pédro et Soubré avec des scores respectifs de 5 et 4. Cependant, les échantillons prélevés dans la zone de Daloa se sont plutôt distinguées comme étant moyennement amères avec un score de 4.

Les liqueurs des fèves de cacao fermentées dans sur les sacs en polypropylène ont été tout comme celles des cabosses de cacao distinguées comme étant des liqueurs amères avec des scores respectifs de 5 à San-Pédro et Daloa (Figure 80 a ; b). Toutefois, les échantillons prélevés à Soubré avec la variété *Mercedes* ont été discriminés comme étant moyennement et amer avec un score de 4.

Enfin, les liqueurs issues des fèves fermentées sur les sacs en jute ont été décrites comme amères dans la zone de San-Pédro, avec un score de 5. À Soubré, en plus d'être jugées amères avec un score de 5, elles ont également été perçues comme astringentes.

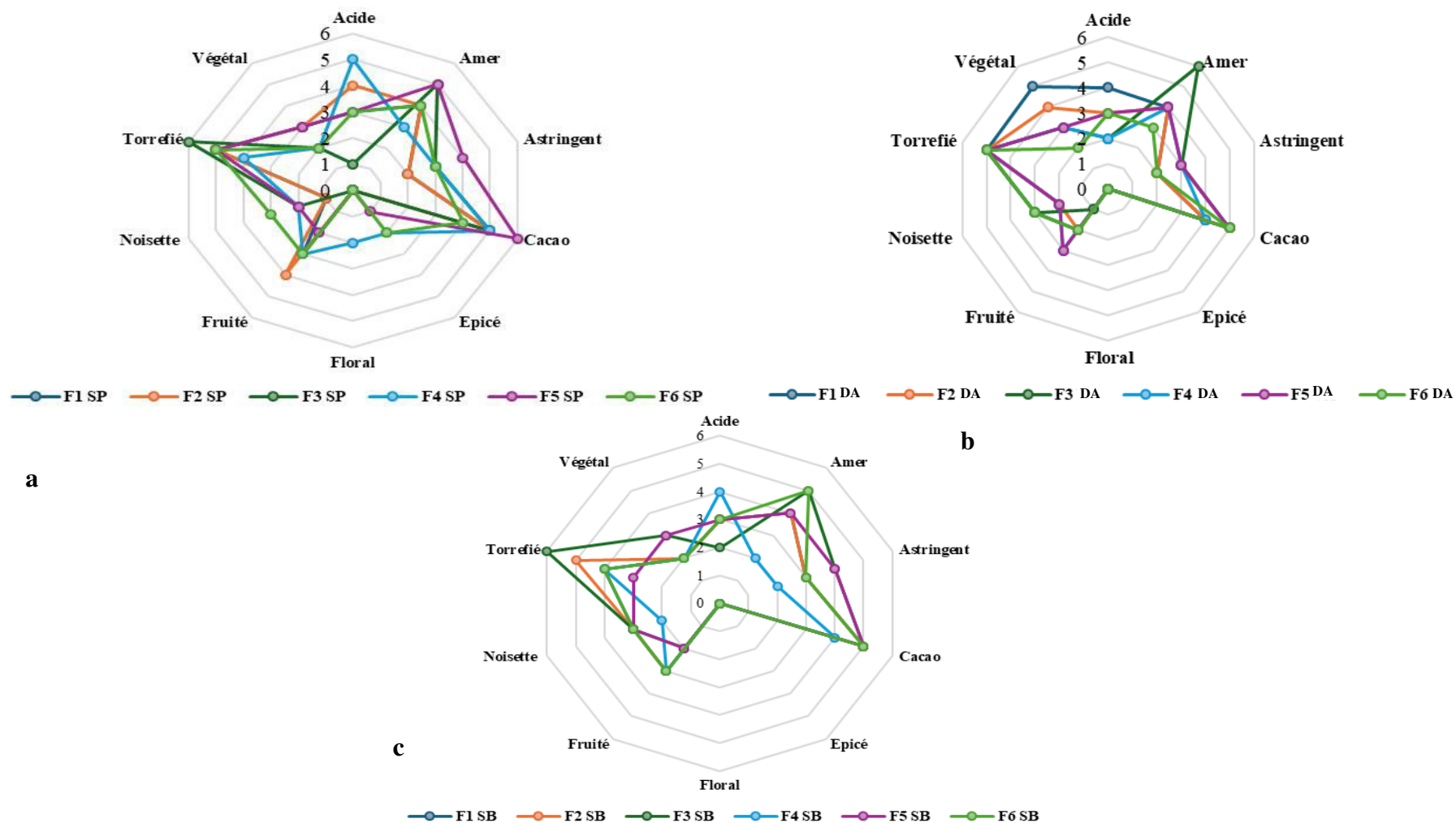


Figure 80: Caractéristiques et perceptions sensorielles des liqueurs de cacao

F1 : feuille de bananier ; F2 : Feuille de palmier ; F3 : Cabosse de cacao ; F4 : Bâche polypropylène, F5 : Sac en polypropylène et F6 : sac en jute. SP ; San-Pédro ; SB : Soubré ; DA : Daloa

1.7.2. Acceptabilité des liqueurs issues des différents supports de fermentation

L'évaluation de l'acceptabilité des différentes liqueurs issues des supports de fermentation a été réalisée sur la base des scores attribués à chaque descripteur, et corrélée aux appréciations gustatives des panélistes (Tableau XXXI). Ainsi, les liqueurs obtenues à partir des supports F4 et F2 dans la région de San-Pédro ont été perçues comme caractérisées par un cacao à dominante acide. La liqueur du support F2 se distingue par des notes claires de bois, d'agrumes, de noisette, de cacao très acide et de poivre. En revanche, celle du support F4 était principalement caractérisée par des arômes prononcés de foie, de bois, d'agrumes et de noisette.

En revanche, la liqueur issue du support F6 a été décrite comme présentant des notes de cacao fortement torréfié, de café, de noisette, de végétal et de poivre dans la région de San-Pédro. Dans la région de Daloa, cette même liqueur a été associée à des arômes de noix claires, d'humus, de pamplemousse et de café. Par ailleurs, les liqueurs des fèves fermentées sur le support F3 ont révélé des notes gustatives très amères, associées à l'humus et au pamplemousse dans les échantillons de San-Pédro. Enfin, les liqueurs issues du support F5 ont été perçues comme ayant un profil gustatif astringent, très amer, avec une forte dominante de café.

Pour les échantillons issus de la variété *Mercedes* dans la région de Soubré, l'évaluation gustative a révélé des profils distincts selon les supports de fermentation. La liqueur des fèves fermentées sur le support F1 était caractérisée par des arômes de cacao intense, de café, de cacao torréfié, d'agrumes, de fruits sucrés, de noisette et de bois. Celle du support F2 présentait des notes similaires, notamment de cacao intense, de cacao torréfié, de café, d'agrumes, de fruits bruns et de noisette.

La liqueur des fèves fermentées sur le support F4 montre des caractéristiques de cacao modérée, avec des nuances d'acidité légère, de café, d'agrumes, de noisette et de bois. Par ailleurs, les liqueurs issues du support F3 étaient associées à des arômes de cacao intense, très amer, de cacao torréfié, de malt prononcé, d'agrumes, de fruits bruns, d'humus et de poivre. Les liqueurs des fèves fermentées sur le support F5 partageaient également un profil très amer, tout comme celles fermentées dans les cabosses (F3). De plus, elles présentaient aussi des notes de cacao intenses, très astringentes, avec des nuances acidulées, de café, de noisette, de bois et d'agrumes. Enfin, la liqueur des fèves fermentées sur le support F6 était décrite avec des arômes de cacao intense, de café, de torréfaction légère, de pamplemousse, de noisette et de végétal.

Ces analyses sensorielles ont permis de déterminer l'acceptabilité finale des liqueurs par les panélistes. Il en ressort que les liqueurs issues des fèves fermentées sur le support F4 dans la région de San-Pédro, F1 à Soubré, et F6 à Daloa ont été unanimement préférées par les

consommateurs. À l'inverse, les liqueurs issues du support F3 dans les trois zones étudiées ont été les moins appréciées.

Tableau XXXI: Récapitulatif des différents score pour chaque liqueur analysée

	Supports	Note gustative	MOST PREF	LEAST PREF
SAN-PEDRO	F1	Café claire, fruit rouge, agrume, végétal, noisette	F4 SP	F3 SP
	F2	Cacao torréfier claire, café, agrume et fruit sucré, végétal vert, herbe/foin		
	F3	Très amer, cacao, noisette ; torréfaction intense de pate cuite, cacao malté, humus et pamplemousse		
	F4	Cacao acide, agrumes, fruits sucré (passion/pêche/pruneau), fruit rouge, feuille verte, fleur séchée, poivre, noisette		
	F5	Cacao intense, fort amer, café fort, agrumes, fruits sucrés (passion/pêche/pruneau), noisette, vert végétal, astringent, noisette		
	F6	Cacao a fort torréfaction, café, noisette, végétal, poivre		
SOUBRE	F1	Cacao fort, café, cacao torréfie, agrumes, tropicale, fruits sucrés (passion/pêche/pruneau), noisette, boisé	F1 SB	F3 SB
	F2	Cacao fort, cacao torréfie, café, agrumes, fruit brun, noisette, herbasse		
	F3	Cacao fort, très amer, cacao torréfié, malte intense, agrumes, fruit bruns, humus, poivre		
	F4	Cacao moyen, acide clair, café, agrume, noisette et bois		
	F5	Cacao fort, très astringent, claire acide, café, noisette, bois, agrume, fort amer		
	F6	Cacao fort, café, torréfie claire, pamplemousse, noisette, et végétale, café		
DALOA	F1	Forte note végétale, arachide ; noisette	F6 DA	F3 DA
	F2	Foin fort et boisé, agrumes, noisette		
	F3	Noix claire, humus et pamplemousse, café		
	F4	Boisé claire, agrumes claires, noisette, cacao très acide, poivre		
	F5	Note équilibrée d'agrume et végétales, noisette		
	F6	Noisette, humus et pamplemousse		

F1 : Feuille de bananier; F2 : Feuille de palmier; F3 : Cabosse de cacao; F4: Bâche en polypropylène; F5 : Sac en polypropylène; F6: Sac en jute ; SP : San-Pédro ; DA :Daloa ; SB : Soubré.

2. DISCUSSION

Le but de ce chapitre est d'évaluer la qualité organoleptique et le profil sensoriel afin de surmonter la moindre qualité d'éventuels produits à partir des fèves fermentées sur les différents supports de fermentation. Pour y arriver, des analyses de la teneur en sucres réducteurs, acides organiques, acides aminés, de la couleur des liqueurs et en composés organiques volatils ont été effectués. Une analyse sensorielle sur les liqueurs fabriquées à partir les fèves issues des fèves fermentées sur chaque support de fermentation dans les trois zones d'étude a été réalisée pour discriminer le niveau et degré d'acceptabilité des consommateurs.

La recherche actuelle sur la qualité du cacao se concentre principalement sur les processus post-récolte et la formation des arômes, en particulier sous l'angle chimique. Cela inclut l'étude des métabolites précurseurs dans les fèves de cacao et des composés volatils présents dans le chocolat (Megias-Perez *et al.*, 2020). Le profil des sucres réducteurs et des acides organiques dans les fèves de cacao fermentées et séchées, illustré par la Figure 68, a montré que la concentration en fructose, variante de 2,01 à 9,22 g/100 g, était supérieure à celle du glucose, qui allaitait de 0,64 à 5,95 g/100 g.

Les échantillons de la variété *Forastero* avaient des concentrations plus importantes que celles de la variété *Mercedes*. Toutefois, les résultats de cette étude sont supérieurs aux valeurs enregistrées au cours de la fermentation en accord avec les études réalisées par Ho *et al.*, (2014c) et serait lié à l'origine de prélèvement des échantillons et traitement culturels.

L'analyse de la variation du profil des sucres réducteurs a révélé que, dans l'ensemble, les échantillons fermentés sur les supports F4 ($9,22 \pm 0,05$ g/100 g) à San-Pédro et F3 ($7,01 \pm 0,08$ g/100 g) à Soubré présentaient des concentrations plus élevées en fructose que celles enregistrées sur le support témoin (F1). Cependant, à Daloa, le support F1 ($6,88 \pm 0,06$ g/100 g) a montré une concentration plus élevée en fructose que les autres supports. Ces résultats sont comparables aux résultats obtenus par Velásquez-Reyes *et al.* (2023), qui ont obtenu dans leurs travaux des concentrations de fructose et glucose respectivement égales à 8,9 g/kg et 5,2 g/kg.

Quant à la teneur en glucose, les échantillons fermentés dans la cabosse de cacao ont dans l'ensemble enregistré les concentrations les plus importantes. En effet, les résultats obtenus révèlent qu'à l'exception de la zone de San-Pédro où la plus grande concentration a été enregistré dans les échantillons de liqueur fermentées sur le support F4 ($3,15 \pm 0,11$ g/100g), les zones de Daloa et Soubré ont plutôt montré des concentrations plus importantes avec les les liquers des échantillons de fèves fermentées dans la cabosse (F3) soit $7,01 \pm 0,08$ g/100 g et $1,65 \pm 0,03$ g/100 g respectivement. Ce constat explique que la faible dégradation en acide

citrique de la pulpe des fèves dans la cabosse de cacao pendant la fermentation réduirait les réactions de dégradation du glucose dans l'amande. Cela aurait un impact sur la conservation de la qualité des fèves pendant les processus de séchage et d'entreposage. Par ailleurs, ces résultats traduiraient une plus grande qualité organoleptique des fèves fermentées dans la cabosse. En effet, selon les travaux de Barisic *et al.* (2019) et Rojas *et al.* (2022), les glucides agissent comme sources de carbone pour la formation des précurseurs d'arômes. Ils participent à la réaction de Maillard, entraînant la formation de composés aromatiques tels que les pyrazines, aldéhydes, esters et cétones, responsables des arômes. Cependant, le test de similarité de Dunnett effectué a montré une plus grande variation de la concentration en sucre réducteur des supports de fermentation en comparaison au support témoin. Il ressort que seuls les échantillons fermentés sur le support F5 ($6,87 \pm 0,09$ g/100 g) à San-Pédro ont donné des teneurs en fructose plus proche de celle du support témoin (F1 ; $7,00 \pm 0,1$ g/100 g). Ces résultats s'expliquent par la variation significative des activités microbiologiques, plus spécifiquement les levures et bactéries lactiques en fonction du support de fermentation durant les premiers jours de la fermentation.

Par ailleurs, les acides organiques ont montré des variations de concentration selon le support de fermentation. Les résultats montrent que la concentration d'acide oxalique variait entre 0,56 et 4,07 g/100 g, celle d'acide citrique entre 1 et 4 g/100 g, et celle d'acide acétique entre 0,4 et 4 g/100 g. Les concentrations d'acide succinique étaient légèrement plus faibles, variant entre 1 et 3 g/100 g, tandis que celles d'acide lactique allaient de 0,55 à 3 g/100 g. De façon générale, les fèves fermentées sur les supports F5, F4, F2 et F6 dans les trois zones ont montré une concentration plus importante en acide lactique et acide acétique. Ces résultats démontrent que ces supports sont susceptibles de produire plus de métabolites pouvant avoir des influences sur la qualité finale du produit dérivé. En effet, selon Barišić *et al.* (2019) et Barrientos *et al.* (2019) les fèves caractérisées par une concentration significative d'acide lactique et acétique générée au cours du processus de fermentation persistent dans le chocolat après sa transformation, engendrant un profil sensoriel indésirable marqué par une odeur rance prédominante et un goût fortement acide. Le test de similarité de Dunnett a également montré une variabilité significative entre les différents échantillons analysés, montrant une différence de réaction métabolites spécifique aux supports de fermentation utilisés. En effet, les résultats révèlent que tous les échantillons analysés ne présentent aucune similarité en acide citrique, acide acétique et acide succinique en comparaison des valeurs observées sur les échantillons fermentés sur le support témoin F1.

Les acides aminés et les sucres réducteurs sont connus comme des précurseurs d'arômes impliqués dans la réaction de Maillard lors de la torréfaction (Barrientos *et al.*, 2019 ; Spizzirri *et al.* 2019). Les peptides peuvent servir de précurseurs pour l'arôme et le goût des fèves de cacao torréfiées ainsi que du chocolat. Après la fermentation et le séchage, les liqueurs issues des fèves fermentées sur les différents supports de fermentation ont été soumises à une analyse pour l'évaluation du profil en acide aminé libre.

Les résultats ont révélé que la concentration totale d'acides aminés libres variait entre 14 et 20 g/100 g pour les échantillons de San-Pédro, entre 10 et 16 g/100 g pour ceux de Daloa, et entre 13 et 17 g/ 100 g pour ceux de Soubré avec des différences significatives ($P < 0,05$). La différence de valeur pourrait s'expliquer par la différence de l'origine et la variété de cacao. Cependant, il ressort que tous les supports ont enregistré de meilleurs concentrations en acides aminés total. En effet, les valeurs obtenues sont en adéquation avec celles retrouvées par Rohsius *et al* (2006) qui ont également obtenu des teneurs totales en acides aminés libres allant de 5 à 25 mg/g de matière sèche dans les fèves de cacao fermentées de 21 origines différentes. Toutefois, selon Rohsius *et al.* (2006), après fermentation, les fèves de cacao de haute qualité devraient avoir une teneur en acides aminés de 8 à 14 mg/g de matière sèche totale.

Selon De Wever *et al.* (2019) et Voigt & Biehl (1995), les acides aminés hydrophobes jouent un rôle crucial en tant que précurseurs dans la formation des arômes, soit par dégradation, soit par biosynthèse, et sont indispensables à la synthèse des composés aromatiques typiques du cacao après torréfaction en présence de sucres réducteurs. Les acides aminés hydrophobes tels que l'Isoleucine (0,44 à 0,75 g/100 g), l'Alanine (0,52 à 0,98 g/100 g), la Valine (0,67 à 1,29 g/100 g), la Phénylalanine (0,54 à 1,09 g/100 g), la Leucine (0,71 à 1,25 g/100 g) et la Tyrosine (0,44 à 0,90 g/100 g) ont constitué entre 30 et 31 % du total des acides aminés dans les échantillons de cacao *Forastero* prélevés à San-Pédro et Daloa. En revanche, les échantillons de cacao *Mercedes* prélevés à Soubré ont montré des proportions variantes entre 30 et 33 %, avec des différences significatives. Cette différence s'expliquerait par l'activité microbiologique au cours de la fermentation. En effet, selon, Camu *et al.* (2007a), la diminution des acides aminés libres dans l'amande serait liée à l'utilisation de micro-organismes, car pour eux, le LAB et AAB utilisent des acides aminés acides comme sources de carbone/azote et d'azote.

Les liqueurs issues des échantillons fermentées sur les supports F3 (31,58 %) et F6 (31,50 %) avaient des valeurs plus élevées et plus proches de celles du support témoin F1 (31,24 %) dans la zone de San-Pédro. Dans la zone de Daloa, ce sont les échantillons F3 (31,17 %) et

F6 (31,38 %) qui ont montré les plus grandes proportions contre 30,71 % enregistré avec les liqueurs des fèves fermentées sur le support F1 (Témoin). Quant à la zone de Soubré, la grande proportion a été enregistrée dans les échantillons issus de F4 soit 33,09 %. Le teste de similarité a montré que les échantillons issus des fèves fermentées sur les supports F6 (31,15 %) et F3 (31,50 %) ont encore une fois de plus enregistrés des concentrations plus proches de celles du support témoin F1(31,15 %). La fermentation des fèves dans ces support (F6, F3 et F1) sont donc susceptibles de produire les meilleurs arômes de cacao. Selon D'Souza *et al.* (2018), l'arôme du cacao est principalement influencé par des acides aminés tels que la méthionine, la leucine, la valine, l'isoleucine, la phénylalanine et l'alanine, qui se trouvent en position N-terminale. Cela est dû à leur réactivité avec les sucres réducteurs lors des premières étapes de la réaction de Maillard. Ces proportions obtenues sont inférieures à celles obtenues par Hashim *et al.* (1999) qui ont rapporté un pourcentage d'acides aminés hydrophobes compris entre 46 % et 58 % après fermentation. Toutefois, cette distinction pourrait s'expliquer par la disparité des supports de fermentation reversant des réactions différentes dans le cotylédon au cours de la fermentation (Niemenak *et al.*, 2006b).

Dans l'ensemble, les valeurs enregistrées dans les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F3 et F6 étaient plus proches de celles enregistrées sur le support témoin F1. Cette distinction pourrait être liée au système d'aération plus élevé dans les supports F3 et F6 au cours de la fermentation et aux activités microbiennes dans les supports témoin F1 tel que rapporté par Beckett (2017). Les composés de valine, phénine et leucine avaient des concentrations plus importantes dans ces échantillons, témoignent d'un bon développement plus d'arôme dans les liqueurs issues des fèves fermentées sur les supports F2, F4, et F6 à San-Pédro et Daloa, F5 à Soubré ainsi que tout le support F3 dans les trois zones d'étude. Selon Castro-Alayo *et al.* (2019), cette observation serait liée à l'activité plus dominante de la protéinase aspartique des fèves de cacao, mais aussi au métabolisme microbien AAB et levure plus réduite au cours de la fermentation dans la cabosse de cacao.

En effet, selon Mebarki & Sebti (2019), l'activité de ces enzymes peut diviser les protéines, préférentiellement proches des peptides hydrophobes, permettant une action limitée de carboxypeptidase de libérer des acides aminés libre principalement hydrophobes (phénylalanine, leucine et alanine) et des peptides hydrophytes avant arrêt de la protéolyse. De plus, Hashim *et al.* (1999) ont rapporté que la dégradation des acides aminés valine et leucine est responsable des notes sucrées du chocolat. Cela est dû à la formation de composés

aromatiques comme le 2-méthylpropanal, le 3-méthylbutanal et le 2-méthylbutanal, produits par la réaction de Maillard lors de la torréfaction.

En outre, Phenylalanine est un précurseur important de composés aromatique tels que le 2-Phénylacétaldehyde (note florale et miellées) le benzaldéhyde (note douce et d'amande amère) et l'acanthophore (note florale) (Afoakwa *et al.*, 2008). Mais, la teneur considérable obtenue dans les fèves fermentées support F3 dans toutes les zones d'étude serait rattachée à l'acidité des fèves de cacao qui en résulte dont le pH était supérieur à 5 et à l'activité des bactéries genre *Bacillus* observé dans la poudre des fèves fermentées dans la cabosse. Les expériences menées par Biehl *et al.* (1993) ont montré que l'acidification des graines de cacao est la condition préalable à la digestion protéolytique de la protéine de stockage globulaire. Pour ces auteurs, l'action des carboxypeptidases qui transforme les peptides hydrophobes résultant en acide aminé libre hydrophobe sont réalisés à des pH supérieur à 5.

Parmi tous les acides aminés analysés, l'acide glutamique (2,47 à 4,69 g/100 g) et l'acide aspartique (1,26 à 2,41 g/100 g) étaient les plus dominants, une tendance également observée par Kirchoff *et al.* (1989). Les plus grandes concentrations ont été observées sur les supports F2 et F6 dans la zone de San-Pédro, par rapport au support témoin (F1). En revanche, la concentration des fèves fermentées sur le support F3 était presque identique dans les trois zones étudiées. Cette différence s'expliquerait par la variation des supports de fermentation, qui induisent des réactions différentes dans le cotylédon pendant la fermentation, ainsi que la zone de récolte et la variété de cacao. Niemenak *et al.* (2006) ont montré que les variations des acides aminés seraient liées à l'origine, la maturité, la saison de récolte et le traitement post-récolte.

Quant aux composés basiques, leurs proportions variaient entre 14 et 15 % pour tous les échantillons. Les acides aminés basiques Lysine (0,66 à 1,09 g/100 g), Histidine (0,22 à 0,42 g/100 g) et Arginine (0,80 à 1,56 g/100g) ont été identifiés dans les différents échantillons analysés avec une faible concentration. Les supports F2 à San-Pédro et les supports F3 dans les trois zones d'étude ont également observé les plus grandes concentrations. La plus faible concentration dans l'ensemble des supports analysés est justifié par les observations données par la littérature. En effet, selon Adeyeye *et al.* (2010), les acides aminés basique et polaire sont libérés plus lentement. Il ressort donc que les supports F2 et F3 dans leurs ensembles libèrent plus vite ces acides que le support témoin.

Selon De Wever *et al.* (2019), le ratio acide aminés hydrophobes/acide renseigne sur le degré de fermentation. Ce ratio a donné des valeurs toutes inférieures à 1 soit entre 0,87 et 0,94 à San-Pédro, entre 0,85 et 0,92 à Daloa et entre 0,87 et 0,98 à Soubré sans aucune différences

significatives ($P < 0,01$). Ces valeurs de ratio montrent que les fèves ont subi une fermentation moins importante. Dans l'ensemble, le ratio obtenu dans cette étude est inférieur aux valeurs trouvées par De Wever *et al.* (2019) qui ont enregistré des ratios compris entre 1,8 et 3 pour les échantillons de fèves de cacao équatoriens. Ce faible ratio dans les fèves séchées indique que le développement des acides aminés est fonction des conditions de fermentation. En effet, selon Ziegler (2017), la variation du ratio des acides aminés sont les résultats de différences d'activités protéolytiques, qui dépendent principalement de la méthode et des conditions de fermentation comme la durée de fermentation, l'intensité d'acidification, la température, l'aération et les espèces de micro-organismes.

L'hypothèse relative à la quantité de précurseurs de saveur a été formulée par Musci *et al.* (2020), qui ont observé qu'une somme totale accumulée de composés volatils était associée à des niveaux supérieurs de précurseurs de saveur, tels que les peptides et les acides aminés libres. Cependant, la fermentation des fèves de cacao constitue un processus propice à la création de précurseurs aromatiques essentiels pour le chocolat, une synthèse atteignant son apogée au cours de la torréfaction.

Au total, ce sont 120 composés volatils constitué principalement de Neuf familles ont été identifiés sur l'ensemble des deux variétés cacao étudiées. Ce sont en tous, 27 esters, 19 cétones, 18 alcools, 12 terpènes, 10 pyrazines, 8 aldéhydes, 7 acides carboxyliques, 7 furanes, 3 organo-sulfures, et 09 autres identifiés à des proportions différentes. Ces résultats sont comparables à ceux Torres-Moreno *et al.* (2014), qui ont également identifié 121 composés volatils au cours de leurs travaux lors de l'analyse d'échantillons de fèves de cacao provenant du Ghana et de l'Équateur.

Toutefois, des divergences ont été constatées tant au niveau des zones d'étude que des supports de fermentation et de la variété. Ces variations sont dues aux particularités du métabolisme microbien propre à chaque support de fermentation. En effet, conformément aux travaux d'Afoakwa *et al.* (2008), les composés responsables de la saveur du cacao torréfié et des produits dérivés tels que le chocolat sont associés à diverses sources, pouvant être intrinsèques à la graine (origine génétique, lieu de croissance, conditions climatiques), au traitement post-récolte (notamment la fermentation et le séchage), ainsi qu'à la phase de torréfaction.

Dans leur totalité, huit composés de la famille des aldéhydes ont été identifiés dans les six supports. Les proportions varient de 26,27 % à 34,93 % à San-Pédro, de 29,47 % à 43,08 % à Soubré, et de 24,13 % à 42 % à Daloa. Les proportions les plus élevées ont été observées dans

les fèves fermentées sur les supports F3 des trois zones d'étude, soit 34,93 % à San-Pédro, 43,08 % à Soubré et 42 % à Daloa. Cette prédominance dans ce support indique que, dans les phases subséquentes de la production de chocolat, les fèves issues des cabosses de cacao sont susceptibles de conférer des saveurs plus nuancées. En effet, selon Voigt *et al.* (2016), une concentration élevée en aldéhyde pourrait contribuer positivement à la qualité finale du produit et jouer un rôle significatif dans d'autres réactions, notamment la formation de pyrazines. Parmi les composés identifiés, les composés butanal, 3-méthyl-, et butanal, 2-méthyl-, ont été prédominants dans les fèves fermentées sur les supports F3 et F6 à San-Pédro ; F3, F5 et F1 à Soubré ; ainsi que F6, F3, F4 à Daloa. Selon Velásquez-Reyes *et al.* (2023) ces composés sont la source des saveurs maltées et chocolat dans les produits à base de cacao.

En ce qui concerne les composés cétoniques, dix-neuf (19) ont été identifiés, présentant des différences significatives ($P < 0,05$). Les proportions variaient entre 5,43 % et 16,16 % à San-Pédro, entre 2,41 % et 12,04 % à Soubré, et entre 7,59 % et 13,28 % à Daloa. Les proportions les plus élevées ont été observées dans les fèves fermentées sur les supports F2 et F4 à San-Pédro, ainsi que sur les supports F1 et F4 à Soubré et Daloa. Ces supports sont donc qualifiés comme étant particulièrement propices à la création d'une saveur de chocolat optimale. La 2-heptanone, ainsi que le 2-pentanone conférants une saveur fruitée et fleurie et parfois piquante selon Rodriguez-Campos *et al.* (2012a) ont été les plus dominants dans l'ensemble parmi les composés identifiés. Leurs proportions étaient plus remarquables dans les supports F1, F4 et F2., ces composés sont réputés pour leur saveur piquante. Par ailleurs, cette distinction sur les supports F2, F1 et F4 pourrait être liée à la température de fermentation observée dans ces supports au cours de la fermentation, mais plus spécifiquement à la quantité de fèves regroupée pour la fermentation. En effet, pour la fermentation, les 250 kg de fèves ont été entassés dans le même support et couverts avant fermentation contrairement aux autres supports où les fèves ont été mis séparément dans de petits supports et regroupés ensemble dans un seul endroit pour être couvert. Selon Hashim *et al.* (1999), des températures élevées pendant la fermentation et le séchage (30-50 °C) et une baisse du taux d'humidité peuvent déjà initier la formation des composés aromatiques via des réactions de Maillard.

Les esters et les cétones revêtent un intérêt particulier en raison de leur association avec des arômes fruités et floraux. Vingt-sept composés esters ont été identifiés dans la totalité des supports. Leurs proportions varient entre 11,68 % et 16,41 % à San-Pédro, entre 12,42 % et 20,01 % à Soubré, et entre 4,93 % et 7,61 % à Daloa. Les fèves fermentées sur le support F4 ont enregistré la plus grande proportion dans les zones de San-Pédro et Soubré. En revanche,

dans la zone de Daloa, ce sont les fèves fermentées sur le support témoin F1 qui ont présenté la plus grande proportion. Ces supports pourraient contribuer à la production de chocolats caractérisés par un arôme plus fruité et plus intense. Les composés les plus dominants dans l'ensemble sont le 1-butanol, 3-méthyl-, acétate ; le 1-butanol, 2-méthyl-, acétate et le 2-pentanol, acétate, plus précisément dans les supports F5, F3, F4 et F6. Selon Nielsen *et al.* (2005), ces esters influencent de manière significative la qualité aromatique du chocolat en générant des notes aromatiques recherchées, telles que des arômes fruités, vineux, floraux et de rose. Ces résultats sont différents de ceux de Ho *et al.* (2014c), qui ont plutôt obtenu les composés tels que l'acétate d'isoamyle (35 %), l'acétate de phénéthyle (27,5 %) et l'acétate de 2-méthylbutyle (23%) au cours de leurs travaux. Cette disparité peut être attribuée à l'utilisation des caisses en plastiques comme supports de fermentation dans le cadre de leurs expérimentations en Australie.

Les pyrazines constituent le principal type de composés volatils hétérocycliques azotés et représentent des composants essentiels de l'arôme fondamental du cacao. Selon Tuentler *et al.* (2020), ces composés se caractérisent par des notes aromatiques de cacao, de terre, de noix et de torréfaction, rendant ces volatils particulièrement prisés dans la composition du chocolat. Les analyses réalisées ont permis d'identifier dix composés de la famille des pyrazines dans leur ensemble en accord avec les résultats obtenus par Damodaran *et al.* (2007). Les proportions variaient entre 0,7 % et 12,15 % dans la zone de San-Pédro, de 1,02 % à 12 % à Daloa avec les fèves de variété *Forastero* contre une proportion entre 0,72 % et 9,54 % pour les fèves de variété *Mercedes* collectées à Soubré.

Les fèves fermentées sur le support F2 se sont avérées plus prédominantes à San-Pédro et de Soubré, tandis que le support F4 dominait dans à Daloa. Il ressort que ces supports présentent la potentialité des arômes de qualité supérieure et d'offrir une saveur optimale au chocolat. Barišić *et al.* (2019) ont démontré que les pyrazines sont des intermédiaires hétérocycliques azotés de la réaction de Maillard et sont dans leurs ensembles cruciaux pour le développement de saveurs de noisette et herbacées. Rodriguez-Campos *et al.* (2012) soutiennent que les pyrazines, telles que le tétraméthylpyrazine, sont responsables des odeurs caractéristiques du cacao, du chocolat et du café. Les résultats obtenus différents de celui de Moreira *et al.* (2018) qui ont obtenu que 2 composés pyrazine (2,3,5,6-tetraméthylpyrazine et 2,3,5-tri-méthylpyrazine) dans leur chocolat produit au Brésil. Cette différence s'expliquerait par la différence de variété de cacao cultivée. Les composées 2,3,5,6-tetraméthylpyrazine et 2,3,5-tri-méthylpyrazine (aromatiquement active avec OAV > 1) associés aux saveurs café au

lait, torréfié, Chocolat, ont été identifiés comme prédominant dans les trois zones d'étude. Il était plus dominant dans les supports F2 et F4 représentant environ 7 % à San-Pédro, F2 et F4, environ 4 % à Soubré et F4, soit 8,63 % à Daloa. Ces résultats seraient liés à la température de fermentation. En effet, ces fèves ont connu une température plus élevée au cours de la fermentation, excédant 45 °C. selon Barišić *et al.* (2019), ces composés sont généralement produits lors de la fermentation, en raison des températures atteintes au cours de ces étapes. Les résultats obtenus ont également montré que de toutes les fèves analysées, celles fermentées dans les supports F5 et F3 dans l'ensemble ont montré une très faible, voire même une absence des composées pyrazines. Il ressort donc que la fermentation sur ces supports limiterait l'expression de ces composés aromatiques.

Selon Rodriguez-Campos *et al.* (2012), des concentrations élevées de certains alcools favorisent le développement d'arômes floraux, fruités et sucrés dans les produits de cacao. Les analyses des échantillons ont révélé la présence de 18 composés de la famille des alcools, conférant une saveur souhaitable. Les proportions d'alcools varient de 10,4 % à 17,86 % à San-Pédro, de 11,72 % à 17,43 % à Soubré, et de 10,32 % à 23,53 % à Daloa, avec une prédominance des supports F3 et F6 à San-Pédro, F1 à Soubré, et F3 à Daloa. Parmi ces composés, le 2,3-butanediol, associé également aux saveurs maltées et amères, a été identifié avec la plus grande proportion dans l'ensemble, en particulier dans les fèves fermentées sur les supports F6 et F1, soit 10 % à San-Pédro et Soubré, et dans les supports F4 et F5 dans la zone de Daloa. La présence de ce composé pourrait être liée à l'activité des microorganismes, en occurrence l'activité des levures pendant la fermentation. En effet, selon Müller (2001), le 2,3-butanediol est généré par divers micro-organismes lors du processus de fermentation, communément appelé "fermentation du butanediol".

Des composés volatils acides ont été également identifiés à des proportions variables. Au total, sept (7) acides carboxyliques ont été détectés dans les trois zones. Les proportions des acides varient de 0 à 11,45 % à San-Pédro, de 0 à 11,11 % à Soubré, et de 0 à 7,59 % à Daloa. Selon Rodriguez-Campos *et al.* (2012), les composés acides sont généralement considérés comme indésirables, conférant une saveur piquante, grasse et rance. En effet, l'acide acétique, responsable de la saveur vinaigrée et amère, était prédominant dans les trois zones d'étude. Sa concentration était particulièrement élevée dans les supports F5 et F6, atteignant 10 % à San-Pédro et Soubré, et à Daloa, où la plus grande proportion a été enregistrée dans le support F3, soit 4,48 %. Alors que Ascrizzi *et al.* (2017) et Liu *et al.* (2015), ont montré que ces composés sont piégés à l'intérieur de la fève, ce qui est indésirable étant donné que les acides sont perçus

comme des composés indésirables, engendrant des odeurs désagréables et conférant des saveurs piquantes, grasses et rances. Conformément à la norme NF ISO 5492, l'analyse sensorielle est définie comme l'évaluation des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens. Dans le cadre de cette étude, une analyse sensorielle descriptive a été réalisée pour établir précisément le profil sensoriel de la liqueur de cacao.

Les résultats obtenus ont montré que les consommateurs ont manifesté une préférence très limitée pour les liqueurs obtenues à partir des fèves fermentées sur les supports F3 et F5, correspondant à deux des variétés examinées. Cette faible préférence pourrait être attribuée à une concentration élevée en acides organiques, notamment acétique et lactique, ainsi qu'à une coloration particulière (brun sépia) observée dans les liqueurs issues du support F3, qui pourrait influencer la perception sensorielle des consommateurs. De plus, ces caractéristiques pourraient être corrélées à une teneur élevée en composés phénoliques, incluant les polyphénols totaux, les tannins, la caféine et la théobromine, comme décrit dans le chapitre 3. Les panélistes ont unanimement qualifié ces liqueurs de très amère, avec des notes gustatives de cacao extrêmement amer, de cacao malté, d'humus et de pamplemousse. Ces caractéristiques sont attribuées aux composés acides, notamment l'acide acétique, qui confère des arômes de vinaigre. Rodriguez-Campos *et al.* (2012) ont également démontré dans leurs travaux que les acides acétiques et acides lactiques sont responsables du goût amer et astringent des liqueurs à une concentration élevée. Cette constatation est corroborée par sa concentration accrue en acide acétique dans les trois zones d'étude, atteignant 8,4 % à San-Pédro, 2,3 % à Soubré et 2,4 % à Daloa, surpassant largement celle des autres supports. De plus, sa teneur en acide acétique analysé à l'HPLC a montré une concentration plus élevée fluctuant entre 0,64 et 2,86 g/100g, présentant une teinte brune par coloration au colorimètre de l'amande qui pourrait être responsable du goût très amer. En effet, Selon Barrientos *et al.* (2019) les liqueurs présentant de couleur brune avec un pourcentage élevé des composés volatils tel qu'acide acétique, sont responsables du goût amer déprécié par les consommateurs.

En revanche, les liqueurs provenant des fèves fermentées sur le support F4 à San-Pédro, F6 à Daloa pour la variété Forastero, et F1 à Soubré pour la variété *Mercedes* ont été unanimement préférées par tous les panélistes. Cette préférence s'explique par les caractéristiques aromatiques attribuées à ces liqueurs lors de l'analyse sensorielle. L'analyse de variance révèle que les liqueurs issues des supports F4 à San-Pédro et F1 à Soubré se distinguent par des arômes subtils d'épices et de fleurs. Ces liqueurs offrent également des saveurs agréables d'agrumes et de fruits sucrés, tels que la passion, la pêche ou le pruneau.

En ce qui concerne les liqueurs des fèves fermentées dans les sacs en jute (F6) sélectionnées dans la zone de Daloa, les consommateurs les ont décrites comme des liqueurs aux arômes fruités et torréfiés, présentant une faible astringence. Ces observations indiquent que la préférence pour ces liqueurs est étroitement liée à leur richesse en cétones et alcools, notamment le 2-heptanone et le 2-pentanol. Elles sont également influencées par la présence de la pyrazine tétraméthyl-, responsable d'arômes fruités, torréfiés, floraux, doux et d'agrumes (Bonvehí, 2005; Afoakwa *et al.* 2008).

3. CONCLUSION PARTIELLE

Les préférences des consommateurs pour les produits à base de chocolat se concentrent principalement sur leurs qualités organoleptiques. Cette étude s'est attachée à analyser les profils sensoriels des liqueurs issues de fèves de cacao fermentées sur différents supports, en examinant particulièrement les précurseurs d'arômes, tels que les sucres, les acides aminés, les acides organiques et les composés volatils, ainsi que leur rôle dans les caractéristiques sensorielles finales.

Les résultats montrent que le choix du support de fermentation influence significativement la couleur des liqueurs, la composition en précurseurs d'arômes et leur perception sensorielle. Les fèves fermentées dans des cabosses et des sacs en polypropylène ont produit des liqueurs respectivement de couleur brun sépia et marron. Ces liqueurs présentaient une limitation d'expression des composés volatils de la famille des pyrazines, cétones et esters pour les cabosses de cacao et une concentration accrue en composés indésirables, notamment l'acide acétique et l'acide lactique pour les sacs en polypropylènes. Ces caractéristiques ont engendré des saveurs amères et astringentes, limitant ainsi leur acceptabilité auprès des consommateurs. À l'inverse, les liqueurs issues des fèves fermentées sur des feuilles de palmier, des bâches en polypropylène, des sacs en jute et sur le support témoin (feuilles de bananier) ont présenté des propriétés organoleptiques globalement supérieures, avec des arômes et des saveurs plus appréciés. En particulier, les liqueurs obtenues à partir des fèves fermentées sur des bâches en polypropylène, des sacs en jute et des feuilles de bananier ont été les plus plébiscitées par l'ensemble des consommateurs.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPCETIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

▪ Conclusion générale

La fermentation des fèves de cacao est une étape cruciale des pratiques post-récolte pour garantir la qualité finale des fèves. Cette étude se concentre sur cette thématique essentielle. Cette recherche a été intitulée : « Contribution à l'amélioration de la qualité finale des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L. 1753) fermentées sur différents supports en Côte d'Ivoire ». L'objectif principal de cette étude était d'identifier les supports de fermentation susceptibles de produire des fèves de cacao d'une qualité comparable à celles fermentées sur des feuilles de bananier, lesquelles sont considérées comme un support de référence en Côte d'Ivoire, bien que leur disponibilité soit de plus en plus limitée.

Une enquête donc a été réalisée pour connaître les différents supports de fermentation utilisés par les producteurs et leur impact sur la qualité du cacao. Il en ressort que cinq nouveaux supports (feuilles de palmier, bâches en polypropylène, sacs en jute, sacs en polypropylène et cabosses de cacao) sont employés en plus des feuilles de bananier (support de référence). Ces supports sont utilisés à des proportions variées selon les zones de production pour des raisons spécifiques selon les producteurs. Des essais de fermentation spontanée ont été réalisés dans des conditions paysannes sur ces supports pendant une durée de six jours, en utilisant les deux principales variétés de cacao en Côte d'Ivoire, à savoir *Mercedes* et *Forastero*. Les paramètres physico-chimiques au cours de la fermentation ont révélé que qu'à l'exception des cabosses de cacao, les feuilles de palmier, les bâches en polypropylène, les sacs en polypropylène et les sacs en jute ont donné des températures élevées (au-delà de 45 °C) et un pH acide (2 à 6) se rapprochant de celles obtenues avec les feuilles de bananier. De plus, ces supports ont favorisé une croissance accumulée des levures et des bactéries lactiques pendant les trois premiers jours de fermentation. En revanche, la prolifération des bactéries acétiques et *Bacillus* s'est intensifiée vers la fin du processus. Cette croissance microbienne était accompagnée d'une production accrue de sucres réducteurs (fructose et glucose) et d'acides organiques (acide citrique, acide lactique, acide acétique).

A la fin du séchage, les fèves de variété *Mercedes* étaient plus riches en flavonoïdes avec des fèves plus consistantes. En revanche, *Forastero*, bien que plus riche en fibres, a présenté une prolifération microbienne plus importante et une production accrue de métabolites, tels que les sucres réducteurs et les acides organiques, ce qui pourrait influencer certaines applications industrielles. Cependant, chaque support de fermentation semble répondre à des objectifs

spécifiques, adaptés aux besoins particuliers, tout en présentant des caractéristiques distinctes et bien définies. Ces spécificités permettent d'orienter leur utilisation en fonction des exigences de qualité ou des propriétés recherchées dans le produit final. Toutefois, les cabosses de cacao et les sacs en polypropylène, bien que moins appétissant, préservent au mieux les composés bioactifs certains composés bioactifs tout en présentant des limites importantes. Ces supports ont entraîné une fermentation moins homogène, réduisant l'attractivité chimique et organoleptique des fèves. De plus, ils ont favorisé des défauts tels que la prolifération de moisissures comme *Aspergillus ochraceus*, de bactéries nuisibles telles que *Bacillus* sporulé, une astringence et une amertume marquées des liqueurs, ainsi qu'une limitation de l'expression des précurseurs d'arôme recherchés.

Les feuilles de palmier et bâches en polypropylène se révèlent être des solutions viables et durables avec des qualités des fèves finales sans reproche se rapprochant plus de celles des feuilles de banaier pour répondre aux défis de la fermentation et assurer une qualité optimale des fèves de cacao en Côte d'Ivoire. Ces supports permettent de maintenir la qualité des fèves, tout en s'adaptant aux besoins des producteurs et des industriels. En adoptant ces alternatives, les producteurs pourront préserver la compétitivité de leurs fèves sur le marché mondial tout en répondant aux attentes des consommateurs en matière de durabilité et de qualité.

Ces résultats indiquent que, face à la diminution progressive des bananiers, les producteurs de cacao continueront de bénéficier d'un soutien adéquat pour le processus de fermentation, assurant ainsi la qualité des fèves. Cela leur permettra d'obtenir un prix compétitif sur le marché, tout en offrant aux entrepreneurs l'opportunité d'acquérir des produits de qualité supérieure pour accroître leur chiffre d'affaires.

▪ Perspectives

En guise de perspectives, il conviendrait de dire que :

- Approfondir les connaissances sur les bâches en polypropylène et les feuilles de palmier afin d'en optimiser la valorisation.
- Poursuivre cette étude en sélectionnant des ferments, ou « starters », pour une fermentation industrielle contrôlée.
- Évaluer les effets toxicologiques de ces nouveaux supports de fermentation sur la santé des consommateurs.

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES

- Abbas A.A., Planchon S., Jobin M. & Schmitt P. (2014). Absence of oxygen affects the capacity to sporulate and the spore properties of *Bacillus cereus*. *Food microbiology*, 42:122-131.
- Abouo V.N., Sadat A.W., Akmel C.D., Assidjo E.N. & Amani G.N. (2016). Impact of Solar and Microwave Oven Drying on A Few Chemical Parameters of Market Value Quality of Fermented *Forastero* (*Theobroma Cacao* L.). *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, 12(4): 402-406.
- Adeyeye E.I., Akinyeye R.O., Ogunlade O., Olaofe. & Boluwade. J.O. (2010). « Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans ». *Food Chemistry*, 118(2): 357-363.
- Afoakwa E.O., Alistair P., Mark F. & Angela R. (2008). « Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate: A Critical Review ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9): 840-857.
- Afoakwa E.O., Jennifer Q., Agnes S.B., Jemmy T. & Firibu K.S. (2011). Effect of pulp preconditioning on acidification, proteolysis, sugars and free fatty acids concentration during fermentation of cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(7): 755-764.
- Afoakwa E.O., Jennifer Q., Jemmy T., Agnes S.B. & Firibu K.S. (2013). Chemical Composition and Physical Quality Characteristics of Ghanaian Cocoa Beans as Affected by Pulp Pre-Conditioning and Fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 50(6): 1097-1105.
- Afoakwa E.O., Mensah-Brown H. & Jemmy. F. (2014). Changes in biochemical and physico-chemical qualities during drying of pulp preconditioned and fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Journal of Nutritional Health and Food Science*, 2(1): 1-8.
- Aini D. N., Hanifa H., Mulfa D.S. & Linda T.M. (2021). Pengaruh bioaktivator selulolitik untuk mempercepat pengomposan tandan kosong kelapa sawit (*elaeis guineensis* Jacq.). *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 6(1): 1-7.
- Ait Boudrar D., & Abdi, A. (2024). *Recherche de bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes à partir de prélèvements cliniques du CHU Nedir Mohammed Tizi-Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

- Akkerman R., Farahani P. & Grunow M. (2010). Qualité, sécurité et durabilité dans la distribution alimentaire : un examen des approches et des défis de la gestion quantitative des opérations. *OR spectrum*, 32(4): 863-904.
- Alauzet C., Teyssier C., Jumas-Bilak E., Gouby A., Chiron R., Rabaud C. & Marchandin H. (2010). *Gluconobacter* ainsi que les espèces d'Asaia, nouveaux pathogènes opportunistes humains émergents parmi les bactéries acétiques. *Journal of clinical microbiology*, 48 (11): 3935-3942.
- Amani Y. F. C., M'bo K. A. A., Cherif M., Koné D. & Kouamé C. (2023). Diversité des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules Associés aux Cacaoyers (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal, ESJ*, 19, 179-202.
- Andújar I., Recio M.C., Giner R.M. & Ríos J.L. (2012). Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012: e906252. Epub 2012 Oct 24. PMID: 23150750; PMCID: PMC3488419
- Aneani F. & Takrama JF. (2006). Les pratiques qui influencent la qualité du cacao au Ghana : la perception des cacaoculteurs. 15ème conférence internationale sur la recherche cacaoyère, San-José, Costa Rica, 9-14 octobre 2006.
- AOAC. (1995). Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. Vol. 2. Trends in Food Science & Technology 6, AOAC, Rockville M.D, USA, 78(3): 382–382.
- AOCS O. S. (1998). Official methods and recommended practices of the AOCS. *American Oil Chemists' Society, Champaign*.
- Arana-Sánchez A., Segura-García L.E., Kirchmayr M., Orozco-Ávila I., Lugo-Cervantes E. & Gschaedler-Mathis A. (2015). Identification of predominant yeasts associated with artisan Mexican cocoa fermentations using culture-dependent and culture-independent approaches. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(2): 359-369.
- Ardhana M.M. & Graham H.F. (2003). The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology* 86(1): 87-99.
- Are L. A. and Gwynne-Jones D. R. G. (1974). Cacao in West Africa. Harvesting and processing of Cocoa. Ibadan. Oxford, England, Oxford University Press: 101-114.
- Argenta J., Jefferson G.A., Bianca O.M., Ariel R. & Noryam B.B. (2020). Analysis of the genetic diversity in maize landrace cultivars from northern rio grande do sul, brazil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 19(12): 12-12.

- Ascrizzi R., Flamini G., Tessieri C. & Pistelli L. (2017). From the raw seed to chocolate: Volatile profile of Blanco de Criollo in different phases of the processing chain. *Microchem. J*/ 133, 474–479.
- Asiedu P., Amoah K.O., Rhule S., Bumbie G.Z. & Hagan B.A. (2022). Réponse à l'alimentation à long terme de régimes à base de sous-produits de cacao sur les performances de reproduction des truies reproductrices primipares blanches de grande taille. *Recherche sur l'élevage pour le développement rural*, 34 (7) article n° 60.
- Assiri A.A., Gballou R.Y., Olivier D., Boubacar I. K., Zagbahi J.K., Amoncho A. & Ayémou A. (2009). Les caractéristiques agronomiques des vergers de cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2 (1): 55-66.
- Badrie N., Bekele F. & Sikora M. (2015). Agronomie, qualité, aspects nutritionnels et sanitaires du cacao. *Revue critiques en sciences alimentaires et nutrition*, 55 (5): 620-659.
- Bainbridge Z., Tomlins K., Wellings K. & Westby A. (1996). Analysis of condensed tanins using acidified vanillin. *J. Food Sci. Agric*, 2 33 (2): 77- 79.
- Baker D., Keith M. & Clifton G. (1994). Survey of Ghanaian cocoa farmer fermentation practices and their influence on cocoa flavour. *Food Chemistry*, 51(4): 425-431.
- Bankoff L., Ouattara G.H., Karou T.G., Guehi T.S., Nemlin J.G., & Diopoh J.K. (2013b). Impacts de La Fermentation Du Cacao Sur La Croissance de La Flore Microbienne et La Qualite Des Feves Marchandes. *Agronomie Africaine*, 25(2): 159-170.
- Barel M. (2013). Qualité du cacao: L'impact du traitement post-récolte. *Qualité du cacao*, 1(1): 1-104.
- Barišić V., Mirela K., Antun J., Ivana F., Đurđica A., Borislav M., Drago., Stela J. & Jurislav B. (2019). The Chemistry behind Chocolate Production. *Molecules*, 24(17): 31-63.
- Barrau J. (1979). Sur l'origine du cacaoyer, *Theobroma cacao* Linné, Sterculiacées. *J Agric Tradit Bot Appliquée*, 26(3):171-80.
- Barrientos L.D.P., Juan D.T. O., Maritza A. G. & Olga L.M.Á. (2019). Effect of the Solar Drying Process on the Sensory and Chemical Quality of Cocoa (*Theobroma Cacao* L.) Cultivated in Antioquia, Colombia. *Food Research International*, 115: 259-267.
- Barrile J. C., Osrovar K. & Keeney P. G. (1971). Microflore des fèves de cacao avant et après la torréfaction à 150 C. *Journal of Food Protection*, 34(7), 369-371.
- Bartley & Basil G.D. (2005). *The Genetic Diversity of Cacao and Its Utilization*. CABI publishing is a division of CAB international, Cambridge, MA 02139, USA, p 337.

- Bauer F. F. & Pretorius I.S. (2000). Yeast Stress Response and Fermentation Efficiency: How to Survive the Making of Wine - A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1): 27-51.
- Bauer S.R., Eric L. Ding., Liesbeth A. & Smit. (2011). Cocoa consumption, cocoa flavonoids, and effects on cardiovascular risk factors: an evidence-based review. *Current Cardiovascular Risk Reports*, 5(2): 120-127.
- Beckett, S. T., Fowler, M. S., & Ziegler, G. R. (Eds.). (2017). *Beckett's industrial chocolate manufacture and use*. John Wiley & Sons.
- Beg M.S., Sameer A., Kulsum J. & Khalid B. (2017). Status, supply chain and processing of cocoa - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66: 108-116.
- Belitz H-D., Werner G. & Peter S., éd. (2009). Coffee, Tea, Cocoa. In *Food Chemistry*, Berlin, Heidelberg: Springer, 1114 p: 938-70.
- Benfield L. D., & Randall C. W. (1976). Design procedure for a contact stabilization activated sludge process. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 147-152.
- Benveniste, C. & Benveniste, C. (1974). *La boucle du cacao, Côte d'Ivoire: étude régionale des circuits de transport* (Vol. 31). IRD Editions.
- Berbert P. R. F. (1979). Contribuicao para o conhecimento dos acucars componentes da amendoa e do mel de cacao. *Revista Theobroma (Brasil)* 9: 55–61.
- Bernardini., Georg. (2015). *Le chocolat : la référence*, 920 p
- Bertazzo A., Comai, S., Mangiarini, F., Chen, S., 2013. Composition of Cacao Beans. R.R. Watson et al. (Eds.), *Chocolate in Health and Nutrition, Nutrition and Health*. 7, 105-117.
- Bhattacharjee R. & Lava Kumar P. (2007). Cacao. In *Technical crops* (pp. 127-142). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Biehl B. & Voigt J. (1996). Biochemistry of chocolate flavour precursors International Cocoa Conference. *Conf. Série : Earth Environ. Sci.* 575 012009, *Salvador de Bahia, Brazil, November 1996*
- Biehl B., Voigt J. & Wazir S. K. S. (1993). The major seed proteins of Theobroma cacao L. *Food Chemistry*, 47(2), 145-151.
- Boiron P. (1996). *Organisation et biologie des champignons*. Nathan, 126 p
- Bonvehí J., Serra. (2005). Investigation of Aromatic Compounds in Roasted Cocoa Powder. *European Food Research and Technology*, 221(1): 19-29.

- Bornert G. (2000). Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. *Revue Méd. Vét*, 151(11), 1003-1010.
- Botton B., Breton A. & Fèvre M. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle*. Paris: Masson, *Progrès en biosciences et biotechnologies*, 7(3): 41-220.
- Bouaziz M.A., Souhail B., Christophe B., Bernard W., Deroanne C. & Hamadi A. (2008). Protein and amino acid profiles of Tunisian Deglet Nour and Allig date palm fruit seeds. *Fruits*, 63(1): 37-343.
- Boudjema K., Fazouane-Naimi F., Hellal A. & Mechakra A. (2009). Optimisation et modele de production d'acide lactique par streptococcus thermophilus sur lactoserum. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*: 0(29): 80-90.
- Boussenou M. (2023). *Production d'un substitut de chocolat a base de poudre de caroube* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Bracco U. (1994). Effect of triglyceride structure on fat absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60(6): 1002S-1009S.
- Bressanello D., Erica L., Chiara C., Barbara S., Patrizia R., Gloria P., Manuela R., Ruosi, & Carlo B. (2018). Chemometric Modeling of Coffee Sensory Notes through Their Chemical Signatures: Potential and Limits in Defining an Analytical Tool for Quality Control. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(27): 7096-7109.
- Brito E. S., Pezoa-García N. H., Gallão M. I., Fevereiro P. S., & Braga M. R. (2000). Structural and chemical changes in cocoa (Theobroma cacao L) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 281–288
- Brou K. J., Irie B. Z., Dick E., Nemlin, G. & Bomisso L. E. (2013). Caractérisation des techniques de séchage du cacao dans les principales zones de production en Côte d'Ivoire et détermination de leur influence sur la qualité des fèves commercialisées. *Journal of Applied Biosciences*, 64, 4797-4812.
- Camu N., Tom D.W., Solomon K A., Jemmy S.T., Herwig B. & Vuyst L.D. (2008). Fermentation of Cocoa Beans: Influence of Microbial Activities and Polyphenol Concentrations on the Flavour of Chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13): 2288-2297.
- CAOBISCO/ECA/FCC (2015). Fèves de cacao : Exigences de qualité de l'industrie du chocolat et du cacao. Carly F. and Fickers P. (2018). "Erythritol production by yeasts : A snapshot of current knowledge." *Yeast*, 35: 455-463.

- Castro-Alayo E.M., Idrogo-Vásquez., G., Raúl S. & Fiorella P. Cardenas-Toro. (2019). « Formation of Aromatic Compounds Precursors during Fermentation of Criollo and Forastero Cocoa ». *Heliyon*, 5(1): e01157.
- Catherine C. (2018). Passeport Santé/Aliments, Le cacao
- Chacha T. (2017). Contribution à l'étude des maladies fongiques du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. : cas de la cuvette de Ouargla. Thesis. Université KASDI MERBAH, Ouargla, 52p. <http://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/15050> (consulté le 2 juillet 2024).
- Chapeland-Leclerc F., Papon N., Noël T. & Villard J. (2005). Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicooses). *Revue francophone des laboratoires*, 2005(373), 61-66.
- Chen H., Jawad U. & Jinru J. (2017). Progress in *Bacillus subtilis* Spore Surface Display Technology towards Environment, Vaccine Development, and Biocatalysis. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 27(3): 159-167.
- Chen-Yen-Su A. (2020). Analyse du potentiel qualitatif des cacaos de Madagascar. Thesis. Université de la Réunion, 222p. <https://agritrop.cirad.fr/600712/> (consulté le 24 octobre 2023).
- Cissé I. (2012). *Caractérisation des propriétés biochimiques et nutritionnelles de la pulpe de baobab des espèces endémiques de Madagascar et d'Afrique continentale en vue de leur valorisation* (Doctoral dissertation, Montpellier SupAgro).
- Colombo M.L., Maria T. P-G & Ario C. (2012). Botany and pharmacognosy of the cacao tree. *Chocolate and health*: 41-62.
- Compaore H., Sawadogo-Lingani H., Aly S., Dayéri D. & Traore A.S. (2016). Isolement et Caractérisation Morphologique de Moisissures Productrices de Substances Antibactériennes à Partir d'aliments Locaux Au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10 (1): 198-210.
- Coulibaly I., Amenan A., Lognay G., Fauconnier M.L., Thonart, P. (2009). Survival of Freeze-dried *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* Related to Their Cellular Fatty Acids Composition during Storage. *Biochimie appliquée et biotechnologie*. 157, 70–84.
- Crafack M., Morten B. Mikkelsen., Sofie S., Morten K., Andreas B., Samuel L., Jemmy T., Swiegers J.H., Gert B. Petersen. & Hanne H. (2013). « Influencing cocoa flavour using *Pichia kluyveri* and *Kluyveromyces marxianus* in a defined mixed starter culture for cocoa fermentation ». *International journal of food microbiology*, 167(1): 103-116.

- Cros E., Mermet G., Jeanjean N. & Georges G. (1994). Relation précurseurs-développement de l'arôme cacao. Cocoa Producers' Alliance.
- Damodaran S., Kirk L.P. & Owen R.F. (2007). *Fennema's Food Chemistry*. CRC Press, International standard Boock Number -13: 978-1-4200-2052-6.
- Danhelova H., Jaromir H., Sarka P., Tomas C., Katerina R., Lukas V. & Jana H. (2012). Rapid Analysis of Caffeine in Various Coffee Samples Employing Direct Analysis in Real-Time Ionization–High-Resolution Mass Spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403 (10): 2883-2889.
- David L. Katz Kim D & Ather A. (2011). Cocoa and Chocolate in Human Health and Disease, *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 15, n° 10, , p. 2779-2811
- Davinelli S., Corbi G., Zarrelli A., Arisi M., Calzavara-Pinton P., Grassi D., De Vivo I. & Scapagnini G. (2018) Short-term supplementation with flavanol-rich cocoa improves lipid profile, antioxidant status and positively influences the AA/EPA ratio in healthy subjects. *J. Nutr. Biochem.* 2018, 61, 33–39.
- Daymond A. & Bekele F. (2022). Cacao. *Cultures commerciales : diversité génétique, érosion, conservation et utilisation*, 23-53.
- De Melo Pereira G. V., Magalhães K. T., de Almeida E. G., da Silva Coelho I., & Schwan R. F. (2013). Fermentation spontanée de fèves de cacao dans une cuve en acier inoxydable de conception novatrice : influence sur la dynamique des populations microbiennes et les propriétés physico-chimiques. *Revue internationale de microbiologie alimentaire*, 161 (2), 121-133.
- De Melo Pereira G. V., Soccol, V. T. & Soccol, C. R. (2016). Current state of research on cocoa and coffee fermentations. *Current Opinion in Food Science*, 7, 50-57.
- De Vuyst L. & Weckx S. (2015). Le rôle fonctionnel des bactéries lactiques dans la fermentation des fèves de cacao. *Biotechnologie des bactéries lactiques : nouvelles applications*, 248-278.
- De Vuyst L. & Weckx S. (2016). Le processus de fermentation de la fève de cacao : de l'analyse de l'écosystème au développement de la culture de démarrage. *Journal de microbiologie appliquée*, 121(1), 5-17.
- De Vuyst L. et Leroy F. (2020). Rôle fonctionnel des levures, des bactéries lactiques et des bactéries acétiques dans les processus de fermentation du cacao. *Revue de microbiologie FEMS*, 44(4), 432-453.

- De Wever., Jocelyn., Helena E., Frauke C., Hayley R., Koen D., Steve L. & Kathy M. (2019). The Development of a Novel SNP Genotyping Assay to Differentiate Cacao Clones. *Scientific Reports*, 9(1): 9512.
- De M.P., Gilberto V., Vanete T.S. & Carlos R.S. (2016). Current state of research on cocoa and coffee fermentations. *Current Opinion in Food Science*, 7: 50-57.
- De Vuyst L. & Frédéric L. (2020). Functional Role of Yeasts, Lactic Acid Bacteria and Acetic Acid Bacteria in Cocoa Fermentation Processes. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4): 432-453.
- Dembélé A. (2009). Détermination du niveau de contamination de l'ochratoxine A (OTA) dans les fèves de cacao à l'exportation. *Tropicultura*, 27(1), 26-30.
- Di Mattia C., Maria M., Giampiero S., Bram B., Dino M. & Paola P. (2014). Effect of different conching processes on procyanidin content and antioxidant properties of chocolate. *Food Research International*, 63: 367-372.
- Diomande G. G. D. (2014). *Contribution des méthodes spectroscopiques et isotopiques à la caractérisation géographique et phénotypique du cacao* | Theses. fr (Doctoral dissertation, Nantes).
- Djali M., Setiasih I.S. & Rindiantika T.S (2018). Caractéristiques chimiques, composés phytochimiques et toxicité de la coque de cacao : évolution pendant la transformation des fèves de cacao.
- Djedjro C.A., Assidjo N.E. & Yao B. (2008). Effets des dispositifs de séchage à l'air libre sur la qualité des fèves de cacao bord champ. *Révolution Ivoire Sciences Technologie*, 11, 133p :45-58.
- Djocgoue P.F., Boudjeko T., Mbouobda H.D., Nankeu D. J., El Hadrami I. & Omokolo N.D. (2007). « Heritability of Phenols in the Resistance of Theobroma Cacao against Phytophthora Megakarya, the Causal Agent of Black Pod Disease ». *Journal of Phytopathology*, 155(9): 519-525.
- Dong H., Li, H., Liang M., Luo D., Liu, G., Zeng X. & Xian Y. (2020). Dosage rapide de neuf N-nitrosamines dans le maquereau séché à sec (*Scomberomorus niphonius*) par salage par extraction en phase homogène à l'acétonitrile suivie d'une GC-MS/MS. *Lwt*, 130, 109716.
- Drapron R., Potus J., Laplume F. & Potus P. (1999). Notre pain quotidien. Edition AGP, Paris. 171 p.

- DSDI. *Recensement des Exploitants et Exploitations Agricoles REEA 2015–2016 : Synthèse des Résultats du REEA* ; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural : Abidjan, Côte d'Ivoire, 2016.
- Dufumier M. (2016). L'agriculture française de demain. *Pour* 232(4): 261-67.
- Duran J.A., Malvar A., Pereiro M. & Pereiro J.M. (1989). Fusarium moniliforme keratitis, *Acta ophthalmol., Scand*, 67: 710-713.
- Dwijatmoko M. I., Nurtama, B. & Misnawi, M. (2018). Caractérisation des polyphénols de divers clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) pendant la fermentation. *Pelita Perkebunan (une revue de recherche sur le café et le cacao)*, 34(2), 104-112.
- Efraim P., Pezoa-García N.H., Denise C.P.J., Amanda N., Renato H. & Marcos N.E. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial . *Food Science and Technology*, 30(1): 142-150.
- EFSA (2013). European Food Safety Authority. Scientific Opinion Dietary Reference Values for Iron, Copper, Manganese, Zinc. Parma EFSA journal pp. 44
- Ehling-Schulz M., Fricker M., & Scherer S. (2004). Identification of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains by a novel molecular assay. *FEMS microbiology letters*, 232(2), 189-195.
- Eldin M. (1971). Le climat. *Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire*, 73-108.
- Eleazu C. O., Okafor P. N., Amajor J., Awa E. & Eleazu K. C. (2011). Chemical composition, antioxidant activity, functional properties and inhibitory action of unripe plantain (M. Paradisiacae) flour. *African Journal of Biotechnology*, 10(74), 16937-16947.
- End M. J., & Dand R. (2015). Feves de cacao: Exigences de qualité de l'industrie du chocolat et du cacao. *ECA-Caobisco-FCC Cocoa Research Fund*.
- Eruvbetine D (2003). Canine Nutrition and Health. A paper presented at the seminar organized by Kensington Pharmaceuticals Nig. Ltd., Lagos on August 21, 2003.
- Febrianto N.A., Sunan W. & Fan Z. (2022). Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(30): 8403-8434.
- Feng X., Li Y., Jing R. & Tian M. (2014). Détection de pesticides organophosphorés dans des échantillons de sol avec des nanotubes de carbone à parois multiples recouvrant la fibre SPME. *Bulletin de contamination environnementale et de toxicologie*, 93, 769-774.

- Ferrazzano G.F., Ivana A., Aniello I., Antonino D.N. & Antonino P. (2009). Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia*, 80(5): 255-262.
- Fidelis M.; do Carmo, M.A.V.; da Cruz, T.M.; Azevedo, L.; Myoda, T.; Miranda Furtado, M.; Marques, M.B.; Sant'Ana, A.S.; Genovese, M.I.; Oh, W.Y. (2020). Camu-camu seed (*Myrciaria dubia*)—From side stream to an antioxidant, antihyperglycemic, antiproliferative, antimicrobial, antihemolytic, anti-inflammatory, and antihypertensive ingredient. *Food Chem.* 2020, 310, 125909.
- Figueroa-Hernández C., Mota-Gutierrez J., Ilario F., Hernández-Estrada Z. J., González-Ríos O., Luca C. & Suárez-Quiroz M.L. (2019). The challenges and perspectives of the selection of starter cultures for fermented cocoa beans. *International Journal of Food Microbiology*, 301: 41-50.
- Fine F., Vian M.A., Tixier A.S.F., Carre P. & Chemat F. (2013). Les agro-solvants pour l'extraction des huiles végétales issues de graines oléagineuses. *OCL*, 20(5), A502.
- Fowler MS (1999). Fèves de cacao : de l'arbre à l'usine. *Fabrication et utilisation industrielles du chocolat*, 8-35.
- Frauendorfer F. & Peter S. (2008). Changes in Key Aroma Compounds of Criollo Cocoa Beans During Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21): 1024-1051.
- Gacem M.A., Aminata O.E.H. & Bouabdallah G. (2011). Étude de la qualite physico-chimique et mycologique du ble tendre local et importe stocke au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (oaic) de la localite de saida (algerie). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 1(2): 67-76.
- Gálvez S. L., Loiseau G., Paredes J. L., Barel M., & Guiraud J. P. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International journal of food microbiology*, 114 (1), 124-130.
- Gautier F. (2015). *Fonctionnement des réseaux trophiques des herbiers à Thalassia testudinum en Guadeloupe (Petites Antilles): apports des isotopes stables et des acides gras* (Doctoral dissertation, Doctoral dissertation, Antilles).
- Grassi D., Necozone S., Lippi C., Croce G., Valeri L., Pasqualetti P. & Ferri C. (2005). Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension*, 46 (2), 398-405.

- Grassia M., Salvatori G., Roberti M., Planeta D., & Cinquanta L. (2019). Polyphenols, methylxanthines, fatty acids and minerals in cocoa beans and cocoa products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1721-1728.
- Guehi T.S., Dingkuhn M., Cros E., Fourny G., Ratomahenina R., Moulin G. & Vidal A.C. (2007a). Identification et capacités de production de lipases de moisissures isolées à partir de fèves de cacao crues ivoiriennes. *Revue de recherche en agriculture et sciences biologiques*, 3 (6): 838-843.
- Guehi T.S., Soumaila D., Ban-Koffi L., Kra D. K. & Zahouli G.I.B. (2010a). Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2(3): 163-171.
- Guehi T.S., Zahouli I.B., Ban-Koffi L., Monké A.F. & Jean G.N. (2010b). Performance of Different Drying Methods and Their Effects on the Chemical Quality Attributes of Raw Cocoa Material. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(8):
- Guinebretière M.H., Thompson F. L., Sorokin A., Normand P., Dawyndt P., Ehling-Schulz M. & De Vos P. (2008). Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. *Environmental Microbiology*, 10(4): 851-865.
- Guiraud J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p
- Hamdouche Y. (2015). Discrimination des procédés de transformation post-récolte du Cacao et du Café par analyse globale de l'écologie microbienne. PhD Thesis. Montpellier SupAgro, Sciences agricoles. Montpellier SupAgro, p319.
- Hammond E.W. (2001). Lipid analysis –a 20th century success?. *J. Science & Food Agriculture*, 82(1): 5–11.
- Harahap S.N., Nazaruddin R., Nazanin V. & Mamot S. (2012). Physicochemical and Nutritional Composition of Rambutan Anak Sekolah (*Nephelium Lappaceum* L.) Seed and Seed Oil. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(11): 1073-1077.
- Hashim P., Jinap S., Kharidah M. & Asbi Ali. (1999). Effect of Drying Time, Bean Depth and Temperature on Free Amino Acid, Peptide-N, Sugar and Pyrazine Concentrations of Malaysian Cocoa Beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(7): 987-994.
- Hernández-Hernández C., Procopio A., López-Andrade., Miguel A. Ramírez-Guillermo., Diana G.R. & Juan F., Pérez C. (2016). Evaluation of Different Fermentation Processes for Use by Small Cocoa Growers in Mexico. *Food Science & Nutrition*, 4(5): 690-695.

- Hii, C. L., Law, C. L., & Cloke, M. (2009). Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. *Journal of food engineering*, 90(2), 191-198.
- Hii, CL, Law, CL, Cloke, M., & Sharif, S. (2011). Amélioration de la qualité du cacao malaisien grâce à l'utilisation d'air déshumidifié dans des conditions de séchage douces. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (2), 239-246.
- Hirko B., Haimanot M. & Abukiya G. (2023). Role of Fermentation and Microbes in Cacao Fermentation and Their Impact on Cacao Quality. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 3(4): 509-520.
- Ho., Van T.T., Jian Z. & Graham F. (2014). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174: 72-87.
- Ho., Van T.T., Jian Z. & Graham F. (2015). The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 205: 54-67.
- Hurst Jeffrey. W., 2015. Chocolate and Health: Chemistry, Nutrition and Therapy: Cacao Chemistry. Edited by Philip K. Wilson and W. Jeffrey Hurst. Rsc : 1-260.
- ICCO (2011). Producción Mundial de Cacao. Disponible en: <http://www.icco.org/about/press2.aspx?Id=uv016830> 1 p. Consulté : le 13 Décembre 2024.
- ICCO (2013). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, XXXIX, 4, Cocoa year 2012/13. Publicado: 02-12-2013.
- ICCO (2014) Organisation internationale du cacao. La situation du marché du cacao. Disponible chez <<http://www.icco.org/about-us/international-cacao-agreements/>>. Achievé en novembre 2015
- ICCO (2015). What are the effects of intensive commercial production of cocoa on the environment? Westgate House W5 1YY, United Kingdom. Rapport Annuel ICCO. 25p.
- ICCO (2016). ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLII, No. 3, Cocoa year 2015/16, 1p
- ICCO (2023). Bulletin trimestriel de statistiques sur le cacao de l'ICCO, vol. XLIX, n° 2, année cacaoyère 2022/23 (Consulté en juin 2023).
- ICCO (2024). Revue du marché du cacao juin 2024 (numéro de juin). <https://www.icco.org/cocoa-market-report-for-june-2024/>

- Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E. & Karam N. E. (2009). Lactic acid bacteria from " Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*, 60(2): 177-183.
- Jaganath I. B. & Crozier A. (2010). Dietary flavonoids and phenolic compounds. *Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition, and pharmacology*, 1, 1-50.
- Jaquet M., Vincent J-C., Hahn J., Lotode R., 1980. Le séchage artificiel des fèves de cacao In : Café Cacao Thé, vol. XXIV, n°1, pp43-56.
- Jespersen L., Dennis S. N., Susanne H. & Mogens J. (2005). Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans . *FEMS yeast research*, 5(4-5): 441-453.
- Jiang M., & Zhang J. (2002). Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *Journal of experimental botany*, 53(379), 2401-2410.
- Jinap S., Dimick P. S., & Hollender R. (1995). Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control*, 6, 105–110
- Jinap S., Rosli W. W., Russly A. R. & Nordin L. M. (1998). Effet du temps et de la température de torréfaction sur les profils de composants volatils lors de la torréfaction de la grué de cacao (*Theobroma cacao*). *Journal de la science de l'alimentation et de l'agriculture*, 77(4), 441-448.
- Kagambèga B., Hama C., François T., Adama S., Cheikna Z., Yves T. & Aly S. (2019). Bouillies Fermentées Traditionnelles à Base de Céréales Au Burkina Faso : Diversité, Technologies de Production et Microorganismes à Potentiel Probiotique Associés. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 25(2): 12-24.
- Kanmogne A., Jannot Y. & Nganhon J. (2012). Description concise et analyse des systèmes utilisés dans la région Sud du Cameroun pour le séchage du cacao. *Tropicultura*, 30 (2), 94-102.
- Karim C., Saki J., Yoboue L., Sea B. & Kouame P. (2020). Potentialites physicochimiques des feves de cacao des varietes *Mercedes* et *theobroma cacao* des regions du loh-djiboua et de lindenie-djuablin (Cote d'Ivoire). *International Journal of Advanced Research*, 8(5): 1178-1186.
- Katz D. L., Doughty K., & Ali A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants & redox signaling*, 15(10), 2779-2811.

- Kealey K. S.(2004). Mars Incorporated. Procédé de production de matières grasses et/ou de solides à partir de haricots et compositions contenant des polyphénols Demande de
- Kelebek, H., & Selli, S. (2014). Identification of phenolic compositions and the antioxidant capacity of mandarin juices and wines. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 1094-1101.
- Khan N., Khymenets O., Urpí-Sardà M., Tulipani S., Garcia-Aloy M., Monagas M. & Andres-Lacueva C. (2014). Cocoa polyphenols and inflammatory markers of cardiovascular disease. *Nutrients*, 6(2): 844-880.
- Koné M., Guéhi K.S.T., Durand N., Ban-Koffi.L., Laurent B., Tachon A. F., Kouakou B., Boulanger R. & Montet D. (2016). Contribution of predominant yeasts to the occurrence of aroma compounds during cocoa bean fermentation. *Food Research International*, 89(2): 910-917.
- Kongor J.E., Michael H., Davy V.D.W., Afoakwa E.O., Pascal B. & Koen D. (2016). Facteurs influençant la variation de la qualité du profil aromatique des fèves de cacao (*Theobroma cacao*). *Food Research International*, 82: 44-52.
- Kouadio K. P., Yoboué K. E., Touré, N., Beugré C. M., Aka K. F., Kouakou K. J. & Yao-Kouamé, A. (2018). Effet des téguments de fèves de cacao sur la fertilité chimique d'un ferralsol et quelques paramètres de croissance du manioc, à Ahoué, Sud-Est Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 121, 12144-12156.
- Kouakou B.J., Irie B.Z., Dick E., Kouadio E.N. & Brou K. (2018). Caractérisation des techniques de fermentation du cacao (*Theobroma cacao* L.) dans les principales zones de production en Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 24(2): 728-735.
- Kouakou, B.J., Irie, B.Z., Dick, E., Nemlin, G., Bomisso, L.E (2013). Caractérisation des techniques de séchage du cacao dans les principales zones de production en Côte d'Ivoire et détermination de leur influence sur la qualité des fèves commercialisées. *Journal of Applied Biosciences*. 64, 4797–4812.
- Kouassi G.N. (2017). Exigences liées aux mesures SPS à l'export : cas des filières du cacao, de l'anacarde et du coton en Côte d'Ivoire, 57p.
- Kra K. D., Diallo H.A., Kobenan K., Kone D. & Kouadio Y.J. (2011). Diagnostic de La Fusariose Du Bananier Sur Les Cultivars Grande Naine (Musa AAA) et Corne 1 (Musa AAB) à La Périphérie Du District d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(4): 1501-1514.

- Kris-Etherton P. M., Pearson T. A., Wan Y., Hargrove R. L., Moriarty K., Fishell V. & Etherton T. D. (1999). Les régimes riches en acides gras monoinsaturés réduisent les concentrations plasmatiques de cholestérol et de triacylglycérol. *Le journal américain de nutrition clinique*, 70(6), 1009-1015.
- Krysiak W. (2011). Effects of convective and microwave roasting on the physicochemical properties of cocoa beans and cocoa butter extracted from this material. *Grasas y Aceites*, 62(4): 467-478.
- Kyi T. M., Daud W. R. W., Mohammad A. B., Samsudin M. W., Kadhum A. A. H. & Talib M. Z. M. (2005). The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *International Journal of Food Science & Technology*, 40, 323–331
- Lachenaud P., Oliver G. & Paulin D. (2006). Le remplissage des cabosses des cacaoyers spontanés de Guyane (*Theobroma cacao* L.). *Acta botanica gallica*, 153(1), 105-114.
- Lahachami L., Kawther B., Iman B. & Ahmed / promoteur Boulal. (2023). Etude de la qualité fongique du blé tendre stocké traditionnellement dans la région de Tidikelt Aoulef. Thesis. UNIVERSITE AHMED DRAIA- ADRAR. <https://dspace.univ-adrar.edu.dz/jspui/handle/123456789/8850> (consulté le 2 juillet 2024).
- Lainé, G. (1980). Utilisation d'un bloc minéralisateur pour la détermination de l'azote total dans les végétaux riches en nitrates (Méthodes au fer réduit).
- Langer S., Lisa J.M., Andrea J. Day. & Michael R.A.M. (2011). Flavanols and Methylxanthines in Commercially Available Dark Chocolate: A Study of the Correlation with Nonfat Cocoa Solids. *Journal of Agricultural and Food Chemistr*, 59 (15): 8435-8441.
- Langraf F. (2002). Produits et procédés de panification. *Techniques de l'ingénieur*: 6-180
- Lanteaume M. T., ramel P., & Dumain J. (1972). Contribution a l'étude de la valeur nutritionnelle des protides du cacao. In *Annales de la nutrition et de l'alimentation* (pp. 197-208).
- Lasano N.F.; Hamid A.H.; Karim R.; Dek M.S.P.; Shukri R.; Ramli N.S. (2019). Nutritional Composition, Anti-Diabetic Properties and Identification of Active Compounds Using UHPLC-ESI-Orbitrap-MS/MS in *Mangifera odorata* L. Peel and seed kernel. *Molecules*, 24, 320.
- Latif R. (2013). Chocolat/cacao et santé humaine: une revue. *Neth J Med*, 71(2), 63-8.
- Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. & Lee C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7292–7295.

- Lefeber T., Janssens M., Camu N. & De Vuyst L. (2010). Analyse cinétique de souches de bactéries lactiques et de bactéries acétiques dans des milieux de simulation de pulpe de cacao en vue du développement d'une culture de démarrage pour la fermentation des fèves de cacao. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 76(23), 7708-7716.
- Lehrian D.W & Patterson G.R. (1983). Fermentation du cacao. Dans : Biotechnologie (Vol 5), édés HJ Rehm & G Reed. Verlag Chemie, Weinheim, Allemagne, p. 529 à 574.
- Lerceteau E., Rogers J., Pétiard V., & Crouzillat D. (1999). Evolution of cacao bean proteins during fermentation: a study by two-dimensional electrophoresis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(4), 619-625.
- Lima L. J. R., Almeida M. H., Rob N. M. J. Marcel H & Zwietering. (2011). *Theobroma cacao* L., "The Food of the Gods": Quality Determinants of Commercial Cocoa Beans, with Particular Reference to the Impact of Fermentation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(8): 731-761.
- Lipp M., Simoneau C., Ulberth F., Anklam E., Crews C., Brereton P., W., De Greyt W., Schwack. & Wiedmaier C. (2001). Composition of Genuine Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(4): 399-408.
- Liu J., Mengya L., Congcong H., Huanlu S., Jia G., Ye W., Haiying Y. & Xiaoxia Su. (2015). A Comparative Study of Aroma-Active Compounds between Dark and Milk Chocolate: Relationship to Sensory Perception. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6): 1362-1372.
- Livesey G. (2001). A perspective on food energy standards for nutrition labelling. *British Journal of Nutrition*, 85(3): 271-287.
- Logan N. A. & De Vos P. (2009). Espèces de *Bacillus* : approches biochimiques et moléculaires de l'identification. *Microbiologie systématique et appliquée*, 32(7), 409-427.
- Lucien A. D., & Combo, M. K. (2014). Problèmes de cohabitation entre populations rurales dans Une zone a économie de plantation en Côte d'Ivoire : cas Des départements de Daloa et Vavoua. *Revue de Géographie Tropicale et d'Environnement*, 1, 7-18.
- Magan N. & Aldred D. (2005). Conditions of formation of ochratoxin A in drying, transport and in different commodities. *Food Additives and Contaminants*, 22(1): 10-16.
- Magrone T., Russo M. A. & Jirillo E. (2017). Polyphénols du cacao et du chocolat noir : de la biologie aux applications cliniques. *Frontières en immunologie*, 8, 271757.
- Markey A. (2021). Boar Taint Detection through Volatile Organic Compounds Sampling - A Study on Its Optimisation through the Use of SPME-GC-MS.

- <https://matheo.uliege.be/handle/2268.2/13259> Université de Liège > Gembloux Agro-Bio Tech. (consulté le 26 décembre 2023).
- Márquez-Sillero I., Cárdenas S., & Valcárcel M. (2013). Determination of water-soluble vitamins in infant milk and dietary supplement using a liquid chromatography on-line coupled to a corona-charged aerosol detector. *Journal of Chromatography A*, 1313, 253-258.
- McKinney C. (2016). Accounting Practices of Cacao Farmers in Southern Belize. PhD Thesis. Appalachian State University. p 49
- Mebarki S. & Sara S. (2019). Évaluation du comportement dépressif et les effets bénéfiques de fluoxétine chez les rats soumis au régime cafeteria. <http://archives.univ-biskra.dz:80/handle/123456789/13461> (consulté le 2 juillet 2024).
- Meer R.R., Baker J., Bodyfelt F.W. & Griffiths M.W. (1991). Psychrotrophic *Bacillus* spp. in fluid milk products: a review. *Journal of food protection*, 54(12): 969-979.
- Meersman E., Steensels J., Mathawan M., Wittocx P.J., Saels V., Struyf N. & Verstrepen K.J (2013). Une analyse détaillée de la population microbienne dans les fermentations spontanées de pulpe de cacao en Malaisie révèle un microbiote central et variable. *PLoS One*, 8 (12): e81559.
- Megias-Perez R., Moreno-Zambrano M., Behrends B., Corno M. & Kuhnert N. (2020). Monitoring the changes in low molecular weight carbohydrates in cocoa beans during spontaneous fermentation: a chemometric and kinetic approach. *Food Research International*, 128, 108865.
- Mensah J. K., Okoli R. I., Ohaju-Obodo J. O. & Eifediyi K. (2008). Propriétés phytochimiques, nutritionnelles et médicales de certains légumes-feuilles consommés par le peuple Edo du Nigeria. *Revue africaine de biotechnologie*, 7(14).
- Meriem R. & Khinouche L. (2022). Les mycotoxines de *Fusarium* dans les céréales et les aliments dérivées : synthèse bibliographique. Thèse de doctorat, <https://dspace.univ-bba.dz:443/xmlui/handle/123456789/3556> (Incomplet) (consulté le 2 juillet 2024).
- Merzougui S., Lkhider M. & Cohen N. (2013) *Bacillus cereus*, un réel problème pour l'industrie agro alimentaire? *ScienceLib Editions Mersenne*, 5: 130-915.
- Mgbakor, A. C. & Adou B. E. (2012). Plea for greater use of spinal anaesthesia in developing countries. *Tropical doctor*, 42(1), 49-51.

- Middleton E., Kandaswami C. & Theoharides T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- Mills N., Frank P. & Carol H. (2006). A Reevaluation of the Role of Anxiety: Self-Efficacy, Anxiety, and Their Relation to Reading and Listening Proficiency. *Foreign Language Annals*, 39(2): 276-295.
- Misnawi S., Jinap B., Jamilah. & Nazamid S. (2003). Effects of Incubation and Polyphenol Oxidase Enrichment on Colour, Fermentation Index, Procyanidins and Astringency of Unfermented and Partly Fermented Cocoa Beans. *International Journal of Food Science & Technology*, 38(3): 285-295.
- Moreira I. M. D., Leonardo D.F.V., Cledir S., Nelson L. & Schwan R.F. (2018). Volatile compounds and protein profiles analyses of fermented cocoa beans and chocolates from different hybrids cultivated in Brazil. *Food Research International*, 109: 196-203.
- Mossu G. (1990). *Le cacaoyer*. Maisonneuve et Larose. Paris, Maisonneuve et Larose, 159 p.
- Mounjouenpou P., Sophie N. N. E., Estelle J., Kamsu K. P. B, Eugene E. & Robert N. (2018). Effet de l'enrichissement avec de la farine de pulpe de baobab (*Adansonia digitata L.*) sur l'acceptabilité sensorielle et la composition nutritionnelle des biscuits de riz. *Scientific African*, 1: e00002.
- Moussoyi M.S., Petit, J., Ndangui, C. B., Scher, J., & Nzikou, J. M. (2024). Impact of cocoa variety on merchant quality and physicochemical characteristics of raw cocoa beans and roasted cocoa mass. *Discover Food*, 4(1), 115.
- Mpondo E. & Dibong D. (2011). Medicinal plant knowledge of ethnic groups in Douala town, Cameroon. *American Journal of Food and Nutrition*, 1(4): 178-184.
- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A & Rodwell V.W (2000). Harper's Biochemistry, 25 th Edition, McGraw-Hill, Health Profession Division, USA.
- N'guessan K. G. (2020). Exigences liées aux mesures SPS à l'export: cas des filières du cacao
- N'Dri K. M., Agnissan A. J. P., Ouattara D., & Ibo G. J. (2023). Commercialisation et niveau de consommation des poissons pêchés au lac de Songori (Région du Gontougo, Nord-Est de la Côte d'Ivoire). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 40(4), 1501-1508.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. & Killington R. (2000). L'essentiel en microbiologie. Edition Berti, Mémoire de master, pp.210-216.

- Nielsen D. S., Hønholt S., Tano-Debrah K., & Jespersen L. (2005). Yeast populations associated with Ghanaian cocoa fermentations analysed using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Yeast*, 22(4), 271-284.
- Nielsen D. S., Teniola O. D., Ban-Koffi L., Owusu M., Andersson T. S., & Holzapfel W. H. (2007). The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture dependent and culture independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 168–186.
- Niemenak N., Christina R., Silke E., Denis O.N. & Reinhard L. (2006). « Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents ». *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6): 612-619.
- Niikoi K.R., Daniel A.O., Patrick K., Joseph O.A., Esther F.D., Emmanuel K.Q. & Ebenezer K. S. (2022). « Effects of Fermentation Periods and Drying Methods on Postharvest Quality of Cocoa (*Theobroma Cacao*) Beans in Ghana » éd. Flora V. Romeo. *Journal of Food Quality*, 1-14.
- Nodet C., Biotraçabilité M. I., & Biodétection B. (2009). *Effet de l'introggression sur les caractères aromatiques et organoleptiques de cultivars de Coffea arabica* (Doctoral dissertation, UM2).
- Nogbou A. L., Akmel D. C., Brou K., & Assidjo E. N. (2015). Étude du séchage microonde par intermittence sur la qualité physicochimique des fèves de cacao. *Revue Ivoirienne des. Sci Technol*, 26, 18-35.
- Oddoye O.K. E. & Agyente-Badu Gyedu-Akoto C.K. E., 2013. Cocoa and Its By Products: Identification and Utilization. In *Chocolate: in Health and Nutrition, Nutrition and Health*. Adrianne Bendich. Chapter 3, 23-37.
- Okiyama D.C.G., Navarro, S.L.B. & Rodrigues, C.E.C. (2017). Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.* 63, 103–112.
- Olas B., Białecki J., Urbańska K. & Bryś M. (2021). Les effets des colorants bleus naturels et synthétiques sur la santé humaine : un examen des connaissances actuelles et des perspectives thérapeutiques. *Progrès en nutrition*, 12(6), 2301-2311.
- Oliveira L. B., Joelem C., De Melo., Elane S. Raildo M., De Jesus L.S.G. Teixeira. & Maria G.A.K. (2021). Multi-Element Determination in Chocolate Bars by Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry. *Food Chemistry*, 351: 129-285.
- Oracz J. & Żyżelewicz D. (2020). Antioxidants in cocoa. In *Antioxidants* (Vol. 9, Issue 12

- Othman L., Ahmad S., Roula M. & Abdel-Massih. (2019). Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Frontiers in Microbiology* 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00911> (consulté le 6 octobre 2023).
- Ouattara H.G., Ban Koffi L., Germain T.K., Abdourahamane S., Sebastien L.N. & Diopoh J. K. (2008). Implication of *Bacillus* sp. in the production of pectinolytic enzymes during cocoa fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9): 1753-1760.
- Ouattara-Sourabié P.B., Nikiema P.A. & Traore.A.S. (2011). Caractérisation de Souches d'*Aspergillus* Spp Isolées Des Graines d'arachides Cultivées Au Burkina Faso, Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 5(3): 1232-1249
- Ozturk G., Glenn M. & Young. (2017). « Food Evolution: The Impact of Society and Science on the Fermentation of Cocoa Beans ». *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3): 431-455.
- Palmquist DL & Jenkins TC (2003). Défis liés aux méthodes d'analyse des graisses et des acides gras. *Journal of animal science*, 81 (12), 3250-3254.
- Paul S., Dimick. & Hoskin J.M. (1981). Chemico-physical aspects of chocolate processing—a review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 14(4): 269-282.
- Pawliszyn J. (2002). Solid phase microextraction. In *Comprehensive analytical chemistry*, 37(1): 89-477).
- Pelicaen R., Gonze D., Teusink B., De Vuyst L., & Weckx S. (2019). Genome-scale metabolic reconstruction of *Acetobacter pasteurianus* 386B, a candidate functional starter culture for cocoa bean fermentation. *Frontiers in microbiology*, 10, 2801.
- Penchev P. I. (2010). *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT; Académie bulgare des sciences. Institut de génie chimique (Sofia, Bulgarie)).
- Pereira G.V., Maria G.D.C., Cíntia L.R. & Schwan R.F. (2012). « Microbiological and physicochemical characterization of small-scale cocoa fermentations and screening of yeast and bacterial strains to develop a defined starter culture ». *Applied and environmental microbiology*, 78(15): 5395-5405.

- Pérez. C.M., Equihua M., Armando., Nápoles R. J., Sánchez S. S., García L. E., & Bravo Mojica H. (2009). Escolítidos (Coleóptera Scolytidae) asociados al agroecosistema cacao en tabasco Mexico.
- Perraud A. (1971). Les sols. *Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. Mémoire ORSTOM*, 50: 157-263.
- Pirozzi A.V.A., Imbimbo P., D'agostino A., Tirino V., Finamore R., Monti D.M.; Piccoli R. & Schiraldi C. (2021). Antioxidant and hypolipidemic activity of açai fruit makes it a valuable functional food. *Antioxidants*, 10, 40.
- Pittet A. & Royer D. (2002). Rapid, low cost thin-layer chromatographic screening method for the detection of ochratoxin a in green coffee at a control level of 10 µg/kg. *J. Agric. Food Chem.* 50, 243-247.
- Portillo E., Graziani D.F.L. & Cros E. (2006). Effect of some factors post-harvest on the sensory quality of the Criollo cocoa porcelana (*Theobroma cacao* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía* 23(1): 51-59.
- Prasad K.N. & Stephen C., Bondy. (2019). Dietary fibers and their fermented short-chain fatty acids in prevention of human diseases. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 17: 100-170.
- Rahman M.T., Herron L.L., Kapur V., Meijer W.G., Byrne B.A., Ren J. & Prescott J.F (2003). Séquençage partiel du génome de *Rhodococcus equi* ATCC 33701. *Microbiologie vétérinaire*, 94 (2): 143-158.
- Ramli N., Yatim A. M., Said M., & Hok H. C. (2001). HPLC determination of methylxanthines and polyphenols levels in cocoa and chocolate products. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 7(2), 377-386.
- Reddy L.H., Nagesh M. & Murthy.R.S. (2005). Rapid and Sensitive HPLC Method for the Estimation of Doxorubicin in Dog Blood - The Silver Nitrate Artifact. *Acta Pharmaceutica*, 55(1): 81-91.
- Reineccius G.A., Philip G., Keeney. & Wendy W. (2002). « Factors Affecting the Concentration of Pyrazines in Cocoa Beans ». *Journal de chimie agricole et alimentaire* 20(2), p202.
- Renard C. M. (2018). Extraction of bioactives from fruit and vegetables: State of the art and perspectives. *Lwt*, 93, 390-395.
- Rezac S., Kok C.R., Heermann M. & Hutkins R. (2018). Les aliments fermentés comme source alimentaire d'organismes vivants. *Frontiers in microbiology*, 18 (9), 1785 p.

- Rodriguez-Campos J., Escalona-Buendía H.B., Contreras-Ramos S. M., Orozco-Avila I., Jaramillo-Flores E. & Lugo-Cervantes E. (2012). Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food chemistry*, 132(1): 277-288.
- Roelofsen P.A. (1958). Fermentation, séchage et stockage des fèves de cacao. Academic Press. Dans *Advances in food research*, 8: 225-296.
- Rohsius C., Matissek R & Lieberei R (2006). Free amino acid amounts in raw cocoas from different origins. *Eur Food Res Technol* 222: 432–438.
- Roini C., Limatahu N., Hartati T. & Sundari S. (2019). Characterization of Cocoa Pulp (*Theobroma cacao* L) from South Halmahera as an Alternative Feedstock for Bioethanol Production. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 276, 012038.
- Romanens E., Susette F.L., Andrea V., Marc J.A S., Ursina K., Désirée I., Birgit F., Leo M & Susanne M.S. (2019). Screening of lactic acid bacteria and yeast strains to select adapted anti-fungal co-cultures for cocoa bean fermentation. *International journal of food microbiology*, 290: 262-272.
- Romero-Cortes T., Robles-Olvera V., Rodriguez-Jimenes G. & Ramírez-Lepe M. (2012). Isolation and characterization of acetic acid bacteria in cocoa fermentation. *African*
- Ross M. L. (2012). *The oil curse: How petroleum wealth shapes the development of nations*. Princeton University Press.
- Saltini R. & Akkerman R. (2012). Testing improvements in the chocolate traceability system : *Impact on product recalls and production efficiency. Food Control*, 23(1), 221-226.
- Saltini R., Renzo A. & Stina F. (2013a). Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control*, 29(1): 167-187.
- Samson R.A., Houbraken J.A.M., Kuijpers A.F., Frank J.M. & Frisvad J.C. (2004). Nouvelles espèces productrices d'ochratoxine A ou de sclérote dans *Aspergillus* section *Nigri*. *Stud Mycol*, 50 (1), 45-56.
- Sanchez J., Dagenet G., Guiraud J, Vincent J.C & Galzy P. (1985). Etude de la flore levurienne et de l'effet de l'ensemencement en culture pure au cours du processus de fermentation des fèves de cacao. *Lebensmittel-Wissenschaft+ Technologie*, 18 (2), 69-75.
- Sandhya M. V. S., Yallappa B. S., Varadaraj M. C., Puranaik J., Rao L. J., Janardhan P. & Murthy P. S. (2016). Inoculum of the starter consortia and interactive metabolic process in enhancing quality of cocoa bean (*Theobroma cacao*) fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 731-738.

- Santander M., Rodríguez J., Vaillant F. E. & Escobar S. (2019). An overview of the physical and biochemical transformation of cocoa seeds to beans and to chocolate: Flavor formation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–21.
- Sauvegarde C., Paul D., Bridoux L., Jouneau A., Degrelle S., Hue, I. & Donnay, I. (2016). Dynamic pattern of HOXB9 protein localization during oocyte maturation and early embryonic development in mammals. *PLoS One*, 11(10), e0165898.
- Schwan R.F. & Alan E. W. (2004). The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4): 205-2021.
- Sengun I.Y. & Seniz K. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22(5): 647-656.
- Shahkhalili Y., Duruz E. & Acheson .K. (2000). Digestibility of Cocoa Butter from Chocolate in Humans: A Comparison with Corn-Oil. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54(2): 120-125.
- Smit G., Bart A. & Wim J.M. E. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3): 591-610.
- Soetan K. O., Olaiya, C. O. & Oyewole O. E. (2010). L'importance des éléments minéraux pour les humains, les animaux domestiques et les plantes : une revue. *Revue africaine des sciences de l'alimentation*, 4(5), 200-222.
- Soto-Vaca A., Gutierrez A., Losso J. N., Xu Z. & Finley J. W. (2012). Évolution des composés phénoliques des problèmes de couleur et de saveur aux bienfaits pour la santé. *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 60(27), 6658-6677.
- Souissi N., Nasri M., Boughriba S. & Abdelhadi O. (2018). Caractérisation de la chair de *Solen marginatus*, extraction de polysaccharides antioxydants et étude de leur effet sur la conservation de filet de daurade, *Institut National des Sciences et Technologies de la Mer*, 45: pp.71-74.
- Soumaya B. & Bensalah A. (2018). « Analyse physico-chimiques et mycologiques de deux types du sol (cultivé et non cultivé) de la région de Sidi Okba, wilaya de Biskra ». <http://archives.univ-biskra.dz:80/handle/123456789/11627> (consulté le 2 juillet 2024).
- Spizzirri U.G., Ieri F., Campo M., Paolino D., Restuccia D. & Romani A. (2019). Amines biogènes, composés phénoliques et aromatiques de fèves de cacao non torréfiées et torréfiées d'origines différentes. *Foods*, 8(8): 306p.

- Stark T., Bareuther S; Hofmann T. (2005). Sensory-guided decomposition of roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*) and structure determination of taste active polyphenols. *J Agric Food Chem* 53:5407–18.
- Steinberg F.M., Monica M.B. & Carl L.K. (2003). Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(2): 215-223.
- Stenfors A., Lotte P., Annette F. & Per E.G. (2008). From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(4): 579-606.
- Tarasevičienė., Živilė., Miglė V., Aurelija P. & Judita Č. (2023). Wild Stinging Nettle (*Urtica Dioica* L.) Leaves and Roots Chemical Composition and Phenols Extraction. *Plants*, 12(2): 309p.
- Tarko T., Duda-Chodak A. & Zajac N. (2013). Digestion et absorption de composés phénoliques évaluées par des méthodes de simulation in vitro. Une revue. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 64(2).
- Thompson S., Miller K., Lopez A., Camu N (2013). Cocoa and coffee. In: Doyle M.P., Buchanan R.L. (Eds.) *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 4th ed. ASM Press, Washington, DC, pp. 881–889.
- Thompson S.S., Miller K.B., Lopez A.S (2001). Cocoa and coffee In: Doyle, MP, Beuchat, LR and Montville, TJ. *Food Microbiol. Fundam. Front.* ASM Press Wash. DC.
- Thompson S.S., Miller K.B., Lopez A.S. & Camu N. (2012). Cacao et café. *Microbiologie alimentaire : fondamentaux et frontières*, p. 881-899.
- Timbie D.J., Sechrist L. & Keeney P.G. (1978). Application of High-Pressure Liquid Chromatography to the Study of Variables Affecting Theobromine and Caffeine Concentrations in Cocoa Beans. *Journal of Food Science*, 43(2): 560-565.
- Tixier C. (2013). De l’arbre à cacao au chocolat: voyage à la source des arômes et des saveurs. *Phytothérapie*, 11(2): 79-84.
- Tofalo R., Vincenzina F., Christina B., Jan K., Antonio F.L., Diana H. & Gyu-Sung C. (2020). The life and times of yeasts in traditional food fermentations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18): 3103-3132.
- Torres-Moreno M., Tarrega A. & Blanch C. (2014). Caractérisation des composés volatils dans les chocolats noirs par HS-SPME et GC-MS : influence de l'origine du cacao et des conditions de torréfaction. Dans *Flavour science*, pp. 283-287.

- Tuenter E., Delbaere C., De Winne, A., Bijttebier S., Custers D., Foubert, K. & Pieters, L. (2020). Non-volatile and volatile composition of West African bulk and Ecuadorian fine-flavor cocoa liquor and chocolate. *Food Research International*, 130, 108943.
- Urbańska B., Kowalska H., Szulc K., Ziarno M., Pochitskaya I., Kowalska J. (2021) Comparison of the effects of douching parameters on the contents of three dominant flavan3-ols, rheological properties and sensory quality in chocolate milk mass based on liquor from unroasted cocoa beans. *Molecules* 2021, 26, 2502
- Usda N. (2015). La base de données des plantes (<http://plants.usda.gov>, mai 2011). Équipe nationale de données sur les plantes, Greensboro.
- Valadez-Carmona L., Ortiz-Moreno A., Ceballos-Reyes G., Mendiola J. A. & Ibáñez E. (2018). Valorisation de l'enveloppe des cabosses de cacao par extraction en fluide supercritique de composés phénoliques. *Le Journal des fluides supercritiques*, 131, 99-105.
- Van Der V.H., Engels R.C., Meeus W. & Deković M. (2006). L'impact des règles spécifiques à l'alcool, des normes parentales concernant la consommation précoce d'alcool et de la consommation d'alcool des parents sur le comportement des adolescents en matière de consommation d'alcool. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 47 (12): 1299-1306.
- Van Soest P.J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds.I.Preparation of fiber residues of low nitrogen content. *Journal of Association Office Agriculture Chemistry*. 46: 825-829.
- Vanderschueren R., Vincent D.M., Sandra M., Marie-Pierre I., Emmanuel D., Daniela M., Jan A.D., Eduardo C. & Erik S. (2020). The impact of fermentation on the distribution of cadmium in cacao beans. *Food Research International*, 127: 108-743.
- Varlet F. (2013). La production de cacao en zone riveraine du Parc national de Taï.
- Velásquez-Reyes D., Rodríguez-Campos J., Avendaño-Arrazate C, Gschaedler A., Alcázar-Valle M. & Lugo-Cervantes E. (2023). *Forastero* and Criollo Cocoa Beans, Differences on the Profile of Volatile and Non-Volatile Compounds in the Process from Fermentation to Liquor. *Heliyon*, 9(4): e15129.
- Vidal Rojas. (2002). Fragmentation de la ville : et nouveaux modes de composition urbaine. Budapest : Paris : Turin, l'Harmattan: p208: 1-208.
- Villeneuve F., Cros E., Jean-Claude V., Jean-Jacques M. (1989). Recherche d'un indice de fermentation du cacao. III. Evolution des flavan-3-ols de la fève. *Café, Cacao, Thé*, 33 (3) : 165-170.

- Voigt J Biehl B (1995) Precursors of the cocoa-specific aroma components are derived from the vicilin-class (7s) globulin of the cocoa seeds by proteolytic processing. *Botanica Acta* 108: 283– 289.
- Voigt J., & Lieberei, R. (2014). Biochemistry of cocoa fermentation. In R. F. Schwan, & G. H. Fleet (Eds.). *Cocoa and coffee fermentation* (pp. 193–227). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Voigt J., Katharina J., Textoris-Taube K., Agathe N. & Johannes W. (2016). Partial Purification and Characterisation of the Peptide Precursors of the Cocoa-Specific Aroma Components. *Food Chemistry*, 192: 706-713.
- Von Wright A. et Axelsson, L. (2019). Bactéries lactiques : une introduction. Dans *Bactéries lactiques* (pp. 1-16). CRC Press.
- Vos, J. G., Ritchie, B. J., & Flood, J. (2003). A la découverte du cacao. *Un guide stimulant pour la formation des facilitateurs*, 11-58.
- Wollgast J. & Anklam E. (2000). Revue des polyphénols dans *Theobroma cacao* : évolution de la composition au cours de la fabrication du chocolat et méthodologie d'identification et de quantification. *Food Research International*, 33 (6): 423-447.
- Wood G. A. R. and Lass R. A. (1985). *Cocoa*. Londres, Longman.
- Wood G. A. R. & Lass R. (2008). *Cocoa*. John Wiley & Sons, echnology & Engineering, 656 p.
- Yang X. & Peppard T. (1994). Solid-phase microextraction for flavor analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9), 1925-1930.
- Yao W., Ouattara H.G., Goualie B., Soumahoro S. & Niamke.S. (2014). « Analysis of Some Functional Properties of Acetic Acid Bacteria Involved in Ivorian Cocoa Fermentation ». *Journal of Applied Biosciences*, 75: 6282-6290.
- YES INTERNATIONAL [Internet]. [cité 24 sept 2024]. | Le cacao « Mercedes », fève en or des planteurs ivoiriens. Disponible sur: <https://www.yesinternational-ci.com/video/detail/le-cacao-mercedes-feve-en-or-des-planteurs-ivoiriens-pid5>
- Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A. et Alberto Rojano, B. (2015). Effet du pain sur les métabolites secondaires et l'activité antioxydante des clones de cacao colombien. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* , 68 (1), 7497-7507.
- Zhao Y., Pengfei L., Lu C., Yuhong Z., Xuliang W., Qiao K. & Xi C. (2024). « Characterization of the key aroma compounds in a novel Qingke baijiu of Tibet by GC-MS, GC×GC-MS and GC-O-MS ». *Food Chemistry Advances*, 4: 100-589.

- Ziegenhals K., Speer K. & Jira, W. (2009). Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans le chocolat sur le marché allemand. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 4, 128-135.
- Ziegleder G. (2017). Flavour development in cocoa and chocolate. *Beckett's industrial chocolate manufacture and use*, 185-215.
- Zinedine A., Brera C., Faid M., Benlemlih M. & Miraglia M. (2007). Ochratoxine A et toxines de Fusarium dans les céréales au Maroc. *Cahiers Agricultures*, 16(1): 11-15

ANNEXES

ANNEXE 1 : Lettres de recommandation émanant des différentes autorités.

KT/aas
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République de Côte d'Ivoire
Union-Discipline-Travail
Dakou, le 07 JUIL 2021

UNIVERSITÉ
JEAN LOROUGNON GUÉDÉ
LE VICE-PRESIDENT

N°253/MESRS/ULOG/VP-PPRE

Objet : Demande d'autorisation de collecte de données

Monsieur le Chef du village,

Nous sollicitons par la présente, votre appui pour la réalisation des travaux de recherche de Monsieur KONAN Kouakou Ahossi, étudiant régulièrement inscrit en thèse de Doctorat à l'Université Jean Lorougnon Guédé.

En effet, le doctorant travaille sur : « l'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

Dans ce cadre nous souhaiterions obtenir un entretien avec les producteurs portant sur leurs exploitations et pratiques agricoles. Par ailleurs, nous souhaiterions pouvoir collecter des échantillons de fèves à l'effet de déterminer les meilleures conditions de la fermentation pour optimiser la qualité organoleptique du cacao.

Nous vous remercions très sincèrement par avance pour tout ce que vous ferez pour faciliter l'acquisition des données.

Veuillez agréer, Monsieur le Chef du village, l'expression de notre haute considération.

Le Vice-président chargé de la Pédagogie,
de la Vie Universitaire, de la Recherche,
et de l'Innovation Technologique

Prof. KONE Tidiani

MINISTRE DE L'INTERIEUR
REGION DE LA NAWA
Sous-Prefecture d'Oupoyo
Chefferie Centrale d'Oupoyo
BP : 1560 Soubré
Tél : 70427870/78508503
Email : chefferieoupyo@gmail.com

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Compte rendu de visite à la Chefferie Centrale

Date et heure : 10-09-2021	Objet (Visite) Plainte/ Information
Noms : <u>KONAN Kouakou Ahossi</u> Contact : <u>0779 22 45 18</u>	Noms : <u>Neant</u> Contact : <u>Neant</u>
Noms : <u>Neant</u> Contact : <u>Neant</u>	Noms : <u>Neant</u> Contact : <u>Neant</u>
Exposé plaignant/ Visiteur En visite d'études, l'étudiant KONAN Kouakou Ahossi est venu échanger avec les producteurs de cacao sur la fermentation des fèves de cacao de la cadre de thèse de Doctorat. Il a détaillé sa méthode de travail auprès des producteurs, pour la présentation d'un formulaire à remplir avec eux.	Exposé Accusé <u>Neant</u>
Déclaration Chefferie Très bonne nouvelle pour Oupoyo les portes du village lui sont ouvertes	Décision finale On lui forme son travail et lui a été donné à la chefferie, en cas de situation. Il a notre bénédiction.

Fait à Oupoyo, le 10/09/2021

Le Plaignant / Le visiteur : [Signature] L'Accusé / Le Témoin : [Signature] Le Chef : [Signature]

CHEFFERIE CENTRALE D'OUPYO
Le Chef du Village
Tél 78 50 86 03 / 43 02 73 81

KT/aas
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République de Côte d'Ivoire
Union-Discipline-Travail
Dakou, le 07 JUIL 2021

UNIVERSITÉ
JEAN LOROUGNON GUÉDÉ
LE VICE-PRESIDENT

N°250/MESRS/ULOG/VP-PPRE

Objet : Demande d'autorisation de collecte de données

Monsieur le Chef du village,

Nous sollicitons par la présente, votre appui pour la réalisation des travaux de recherche de Monsieur KONAN Kouakou Ahossi, étudiant régulièrement inscrit en thèse de Doctorat à l'Université Jean Lorougnon Guédé.

En effet, le doctorant travaille sur : « l'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

Dans ce cadre nous souhaiterions obtenir un entretien avec les producteurs portant sur leurs exploitations et pratiques agricoles. Par ailleurs, nous souhaiterions pouvoir collecter des échantillons de fèves à l'effet de déterminer les meilleures conditions de la fermentation pour optimiser la qualité organoleptique du cacao.

Nous vous remercions très sincèrement par avance pour tout ce que vous ferez pour faciliter l'acquisition des données.

Veuillez agréer, Monsieur le Chef du village, l'expression de notre haute considération.

Le Vice-président chargé de la Pédagogie,
de la Vie Universitaire, de la Recherche,
et de l'Innovation Technologique

Prof. KONE Tidiani

KT/aas
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République de Côte d'Ivoire
Union-Discipline-Travail
Dakou, le 07 JUIL 2021

UNIVERSITÉ
JEAN LOROUGNON GUÉDÉ
LE VICE-PRESIDENT

N°251/MESRS/ULOG/VP-PPRE

Objet : Demande d'autorisation de collecte de données

Monsieur le Chef du village,

Nous sollicitons par la présente, votre appui pour la réalisation des travaux de recherche de Monsieur KONAN Kouakou Ahossi, étudiant régulièrement inscrit en thèse de Doctorat à l'Université Jean Lorougnon Guédé.

En effet, le doctorant travaille sur : « l'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

Dans ce cadre nous souhaiterions obtenir un entretien avec les producteurs portant sur leurs exploitations et pratiques agricoles. Par ailleurs, nous souhaiterions pouvoir collecter des échantillons de fèves à l'effet de déterminer les meilleures conditions de la fermentation pour optimiser la qualité organoleptique du cacao.

Nous vous remercions très sincèrement par avance pour tout ce que vous ferez pour faciliter l'acquisition des données.

Veuillez agréer, Monsieur le Chef du village, l'expression de notre haute considération.

Le Vice-président chargé de la Pédagogie,
de la Vie Universitaire, de la Recherche,
et de l'Innovation Technologique

Prof. KONE Tidiani

KT/aas
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République de Côte d'Ivoire
Union-Discipline-Travail
Daloa, le 07 JUIL 2021

UNIVERSITÉ
JEAN LOROUIGNON GUÉDE

LE VICE-PRÉSIDENT

N°246/MESRS/UJLoG/VP-PPRE

Objet : Demande d'autorisation de collecte de données

Monsieur le Préfet de Région,

Nous sollicitons par la présente, votre appui pour la réalisation des travaux de recherche de Monsieur KONAN Kouakou Ahoissi, étudiant régulièrement inscrit en thèse de Doctorat à l'Université Jean Lorougnon Guédé.

En effet, le doctorant travaille sur : « l'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

Dans ce cadre nous souhaiterions obtenir un entretien avec les producteurs portant sur leurs exploitations et pratiques agricoles. Par ailleurs, nous souhaiterions pouvoir collecter des échantillons de fèves à l'effet de déterminer les meilleures conditions de la fermentation pour optimiser la qualité organoleptique du cacao.

Nous vous remercions très sincèrement par avance pour tout ce que vous ferez pour faciliter l'acquisition des données.

Veuillez agréer, Monsieur le Préfet de Région, l'expression de notre haute considération.

Le Vice-président chargé de la Pédagogie,
de la Vie Universitaire, de la Recherche,
et de l'Innovation Technologique

La Vice
Président
Prof. KONE Tidiani

Tél.: (225) 32 78 75 83 / 32 78 70 59-www.ujlog.ci-info@ujlg.edu.ci

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Union-Discipline-Travail
Daloa, le 07 JUIL 2021

UNIVERSITÉ
JEAN LOROUIGNON GUÉDE

LE VICE-PRÉSIDENT

N°257/MESRS/UJLoG/VP-PPRE

Objet : Demande d'autorisation de collecte de données

Monsieur le Chef du village,

Nous sollicitons par la présente, votre appui pour la réalisation des travaux de recherche de Monsieur KONAN Kouakou Ahoissi, étudiant régulièrement inscrit en thèse de Doctorat à l'Université Jean Lorougnon Guédé.

En effet, le doctorant travaille sur : « l'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

Dans ce cadre nous souhaiterions obtenir un entretien avec les producteurs portant sur leurs exploitations et pratiques agricoles. Par ailleurs, nous souhaiterions pouvoir collecter des échantillons de fèves à l'effet de déterminer les meilleures conditions de la fermentation pour optimiser la qualité organoleptique du cacao.

Nous vous remercions très sincèrement par avance pour tout ce que vous ferez pour faciliter l'acquisition des données.

Veuillez agréer, Monsieur le Chef du village, l'expression de notre haute considération.

Le Vice-président chargé de la Pédagogie,
de la Vie Universitaire, de la Recherche,
et de l'Innovation Technologique

La Vice
Président
Prof. KONE Tidiani

Tél.: (225) 32 78 75 83 / 32 78 70 59-www.ujlog.ci-info@ujlg.edu.ci

REGION DE LA NAWA
DEPARTEMENT DE SOUBRE
PREFECTURE DE SOUBRE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
Union - Discipline - Travail

LETTRE CIRCULAIRE N° 081/PS-CAB du 09 septembre 2021

Le Préfet de la Région de la Nawa,
Préfet du Département de Soubre

A

Messieurs les :

- Sous-Préfet de Soubre,
- Représentant du Conseil Café Cacao de Soubre
- Chefs des villages de Soubre

Objet : Informations pour des recherches.

Dans le cadre des recherches portant sur le thème : « L'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

J'ai l'honneur de vous faire connaître que Monsieur KONAN Kouakou Ahoissi, Etudiant inscrit en Thèse de doctorat à l'université Jean Lorougnon GUÉDE, effectuera des travaux de recherche en rapport avec le thème susmentionné, du 09 au 15 septembre 2021 dans des villages de votre circonscription.

En vue de lui permettre d'avoir les informations nécessaires à la production de son document de thèse, vous voudrez bien faciliter ses travaux, en lui apportant le précieux appui auprès des producteurs de cacao de vos localités.

Messamba KONE
Préfet Hors Grade

KT/aas
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République de Côte d'Ivoire
Union-Discipline-Travail
Daloa, le 07 JUIL 2021

UNIVERSITÉ
JEAN LOROUIGNON GUÉDE

LE VICE-PRÉSIDENT

N°253/MESRS/UJLoG/VP-PPRE

Objet : Demande d'autorisation de collecte de données

Monsieur le Chef du village,

Nous sollicitons par la présente, votre appui pour la réalisation des travaux de recherche de Monsieur KONAN Kouakou Ahoissi, étudiant régulièrement inscrit en thèse de Doctorat à l'Université Jean Lorougnon Guédé.

En effet, le doctorant travaille sur : « l'amélioration du support de fermentation des fèves de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Côte d'Ivoire par l'utilisation de sacs et de bâches en propylène dans les régions du Bas-Sassandra et du Haut-Sassandra ».

Dans ce cadre nous souhaiterions obtenir un entretien avec les producteurs portant sur leurs exploitations et pratiques agricoles. Par ailleurs, nous souhaiterions pouvoir collecter des échantillons de fèves à l'effet de déterminer les meilleures conditions de la fermentation pour optimiser la qualité organoleptique du cacao.

Nous vous remercions très sincèrement par avance pour tout ce que vous ferez pour faciliter l'acquisition des données.

Veuillez agréer, Monsieur le Chef du village, l'expression de notre haute considération.

Le Vice-président chargé de la Pédagogie,
de la Vie Universitaire, de la Recherche,
et de l'Innovation Technologique

La Vice
Président
Prof. KONE Tidiani

ANNEXE 2 : Fiche d'enquête

ENQUETE SUR LA FERMENTATION DES FEVES DE CACAO EN COTE D'IVOIRE
POUR LA THESE DE DOCTORAT*Agrovalorisation et Production Agricole**Cette étude vise à améliorer le processus de fermentation des fèves de cacao en utilisant d'autres supports de fermentation en Côte d'Ivoire. Les données collectées seront traitées de façon anonyme. Merci d'avance pour votre collaboration.***IDENTIFICATION DU LIEU D'ENQUETE****1. NOM DE LA COOPERATIVE SUIVANT LES PRODUCTEURS DANS LA ZONE D'ENQUETE**

2. PERIODE D'ENQUETE

IDENTIFICATION DES PRODUCTEURS**3. SEXE**☐ 1. Masculin ☐ 2. féminin**4. Age**☐ 1. Moins de 18 ans ☐ 2. De 18 à 23 ans ☐ 3. De 24 à 29 ans ☐ 4. de 30 à 34
☐ 5. De 35 à 40 ans ☐ 6. Plus de 40 ans**5. Situation Matrimoniale**☐ 1. Marié(e) ☐ 2. Célibataire ☐ 3. Divorcé(e) ☐ 4. Veuf(ve)**6. Niveau d'étude**☐ 1. Aucun ☐ 2. Primaire ☐ 3. Secondaire ☐ 4. Universitaire**7. Region**

8. Departement

9. Village

10. Campement

EXPLOITATION AGRICOLE**11. Superficie total du champ**

12. Superficie Cultivée

13. Superficie occupée par les cacaoyés

14. Variété de cacao cultivée

☐ 1. Tous venant ☐ 2. Foresteron ☐ 3. Trinitario ☐ 4. Criollo ☐ 5. Mercedes

Vous pouvez cocher plusieurs cases (2 au maximum).

15. Date de la mise en place de plantation de cacao

16. Support de fermentation utiliser

☐ 1. Feuille de bananier ☐ 2. bache plastique ☐ 3. caisse en bois ☐ 4. Sacs ☐ 5. Cabose de cacao

Vous pouvez cocher plusieurs cases (2 au maximum).

17. Temps de fermentation

☐ 1. 1 jour ☐ 2. 2 jours ☐ 3. 3 jours ☐ 4. 4 jours ☐ 5. 5 jours ☐ 6. 6 jours ☐ 7. 7 jours

18. Faites vous des brassages lors de la fermentation?

☐ 1. Oui ☐ 2. Non

19. En cas de sacs

☐ 1. sacs en Jute ☐ 2. sacs d'emballage des produits alimentaires ☐ 3. sacs d'engrais

Vous pouvez cocher plusieurs cases (2 au maximum).

20. si autre preciser

21. Motivation d'utilisation du support de fermentation.

22. En cas d'ouverture des cabosses lors la recolte que constatez vous lors de l'ecabossage

☐ 1. Fèves non fermentées ☐ 2. Feves fermentées

23. Avez vous déjà effectué la fermentation dans les cabosses de cacao

☐ 1. Non ☐ 2. OUI

24. Si oui, a quelle occasion

25. Année d'utilisation du support de fermentation

26. Suport de séchage

☐ 1. Clai ☐ 2. Bâche plastion ☐ 3. Bâche tissée ☐ 4. Air cimenté

Vous pouvez cocher plusieurs cases (2 au maximum).

27. Temps de sechage

☐ 1. 1 jour ☐ 2. 2 jours ☐ 3. 3 jours ☐ 4. 4 jours ☐ 5. 5 jours ☐ 6. 6 jours

28. Parcelle certifiée

☐ 1. Oui ☐ 2. Non

ANNEXE 3 : Rencontre avec les chefs de village, présidents de coopératives et producteurs

a : rencontre avec les chefs de village, b: rencontre avec les responsables de coopérative, c ;d: rencontre avec les producteurs

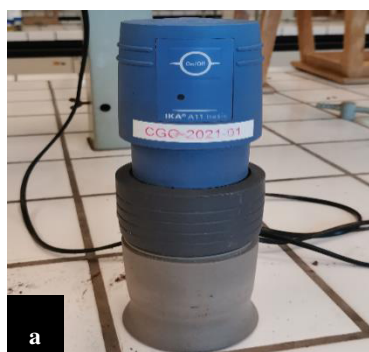


ANNEXE 4 : Travaux avec les producteurs de cacao

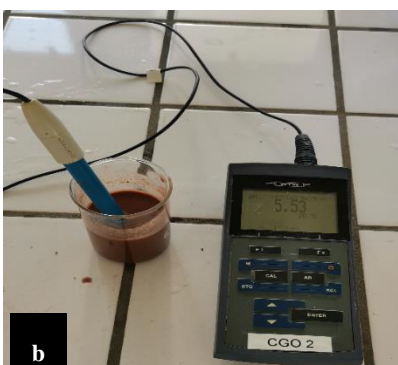


a : moment d'écabossage, b : prise de vue après écabossage, c : prise de poids des fèves fraîches après écabossage, d : sortie des fèves fermentées de la cabosse après fermentation, e : échantillonnage des fèves fraîches au tour d'un bec

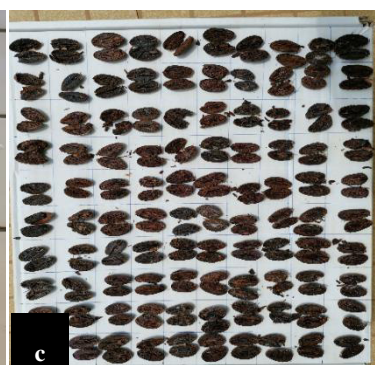
ANNEXE 5: Équipements de laboratoire



a



b



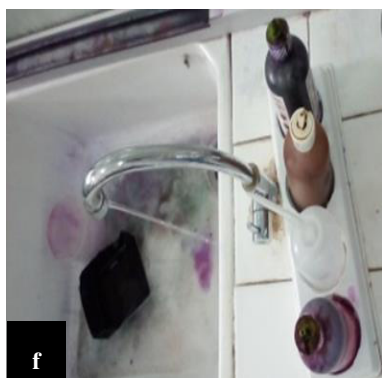
c



d



e



f



a : broyeur IKA ; b : Ph-mètre ; c : support cut-test, d: bec bunzen gaz; e: Portoir réduit de LeMinor, f: Réactif du test de GRAM ; g : Thermometre ; h : Dickey djon mini GAC



i: soxhlet; j: rota vapeur; k: rota vapeur, k: Spectrométrie d'absorption atomique par four graphique (pinAACIDE 900T) ; l: un P-E FIMS-400 équipé d'un échantillonneur S10 ; m: filtre plissé ; n: Spectromètre d'absorption atomique à flamme (AAAnalyst 200), o: lampes



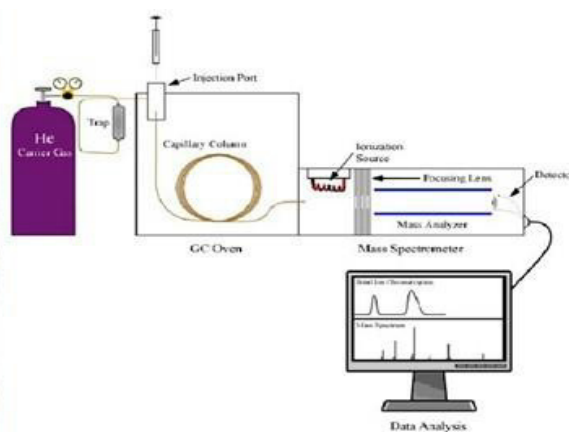
p



q



r



s



t



u



v

p : GC-FID ; q : HPCL ; r : GC-SM ; s, t : odistillation des échantillons pour le dosage des proteines ; u : Kjedadhl ; v : dosage des proteines

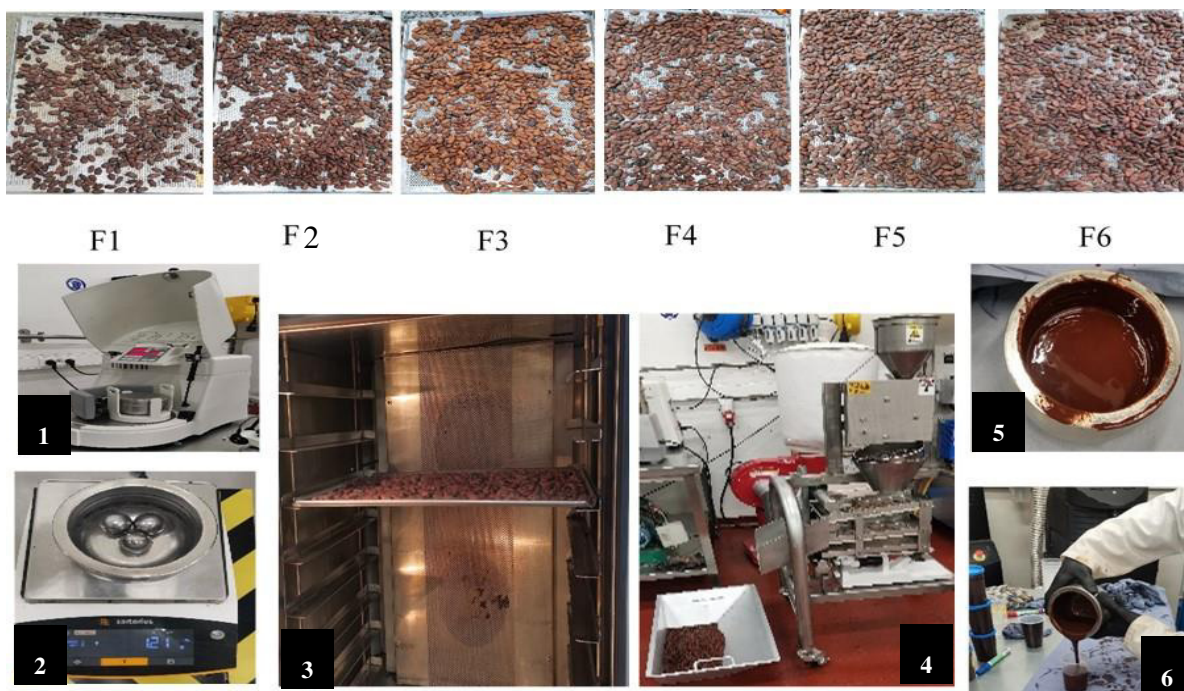


w : Distillateur fibrotech ; w : Filtre fibrotech



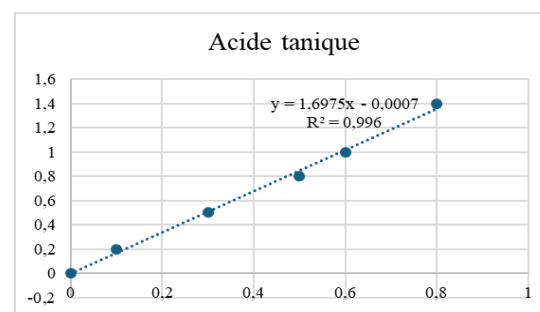
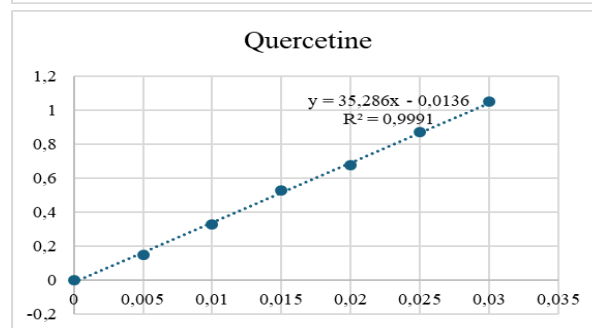
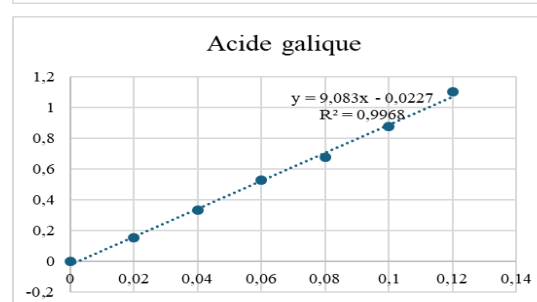
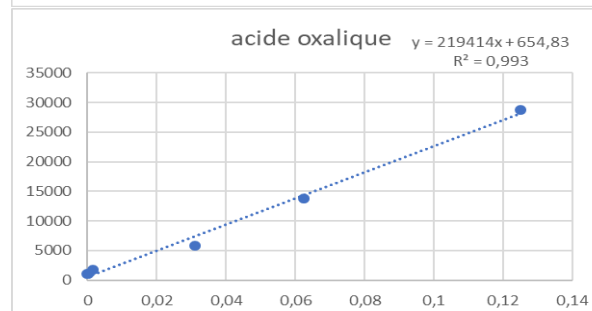
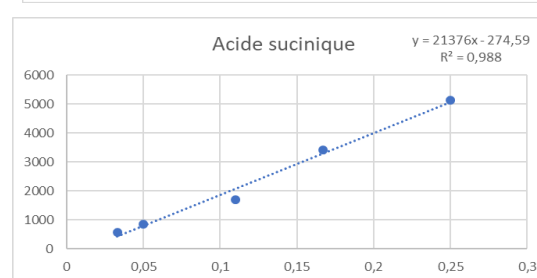
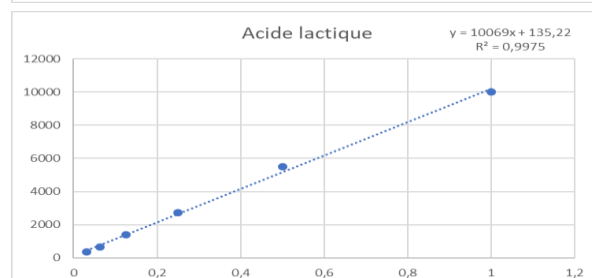
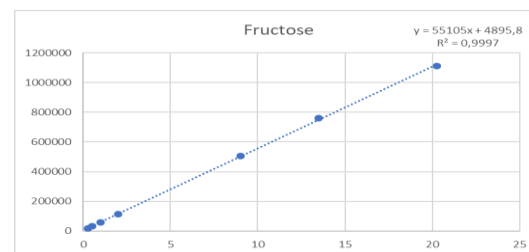
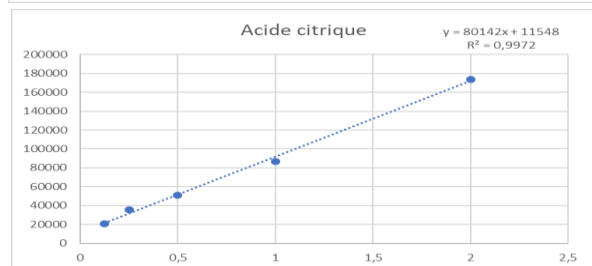
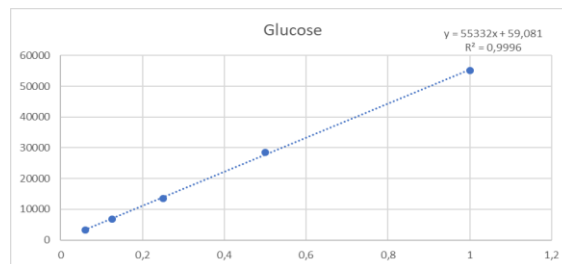
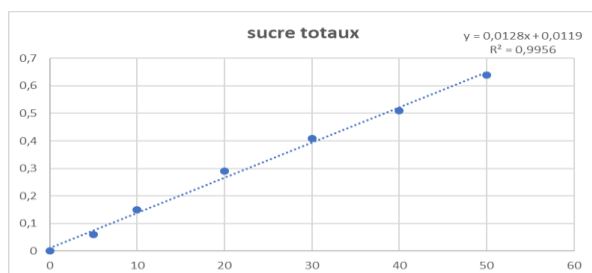
X et Y: Colorimètre modèle Colorflex EZ 45/0 LAV et Décicateur

ANNEXE 6 : Processus de fabrication de liqueur

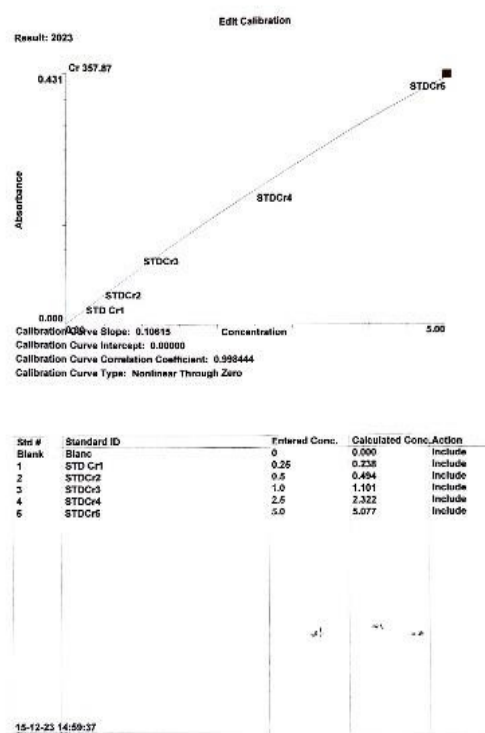
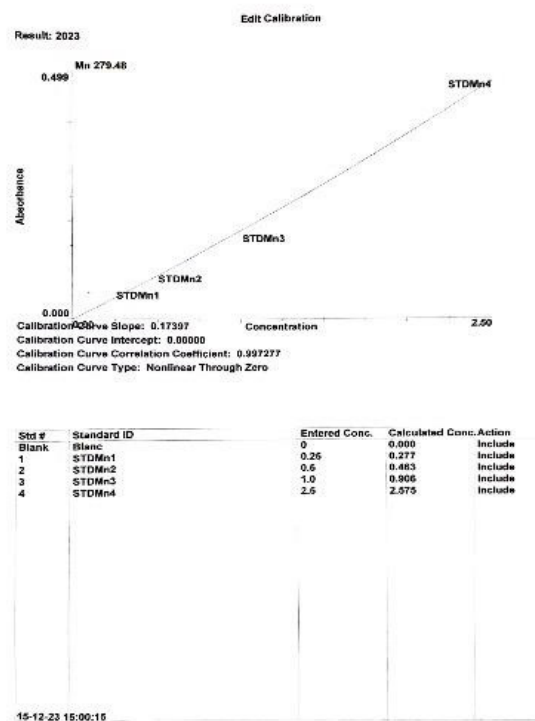
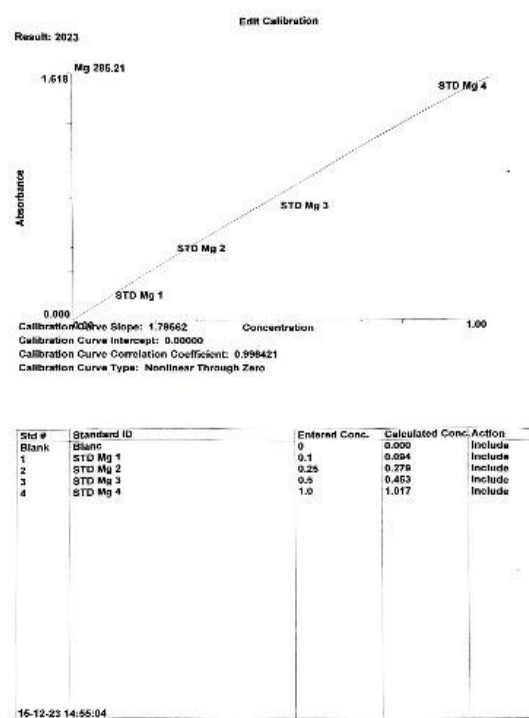
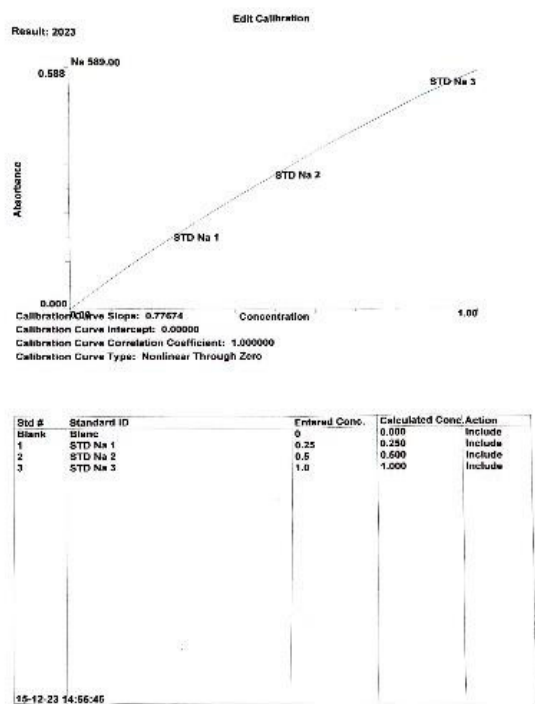


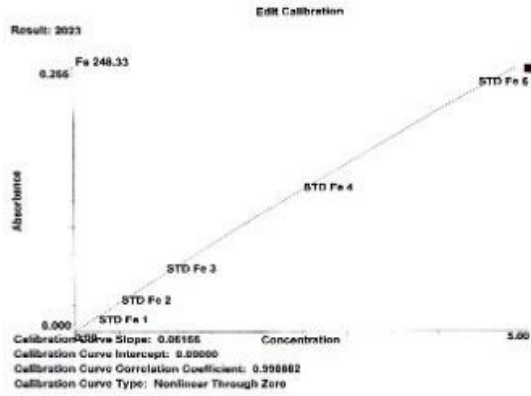
F1-F6 : fèves séchées sur les six différents supports de fermentations ; 1,2 : Broyeur à bille ; 3 : four ; 4 : décortiquer ; 5 : liqueur de cacao ; 6 : Mise en verre de la liqueur pour la conservation.

ANNEXE 7: Droites d'étalonnage des sucres et acide organiques



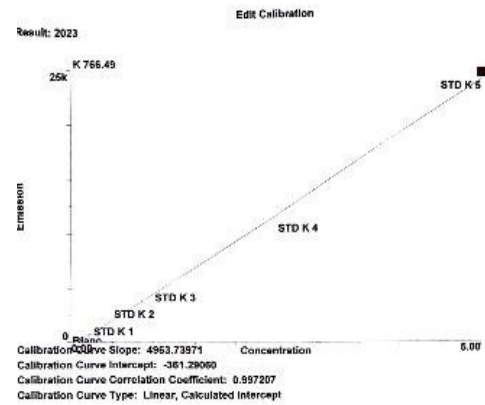
ANNEXE 8 : Exemple de droites d'étalonnage des minéraux





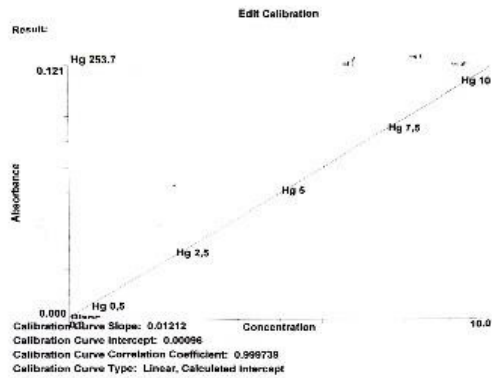
Std #	Standard ID	Entered Conc.	Calculated Conc.	Action
Blank	Blank	0	0.000	Include
1	STD Fe 1	0.25	0.204	Include
2	STD Fe 2	0.5	0.534	Include
3	STD Fe 3	1.0	1.085	Include
4	STD Fe 4	2.5	2.549	Include
5	STD Fe 5	5.0	4.823	Include

15-12-23 15:00:56



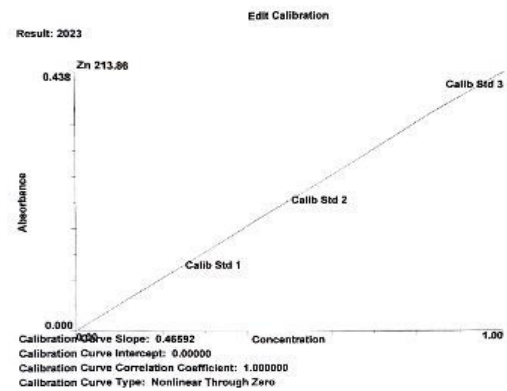
Std #	Standard ID	Entered Conc.	Calculated Conc.	Action
Blank	Blank	0	0.073	Include
1	STD K 1	0.25	0.271	Include
2	STD K 2	0.5	0.506	Include
3	STD K 3	1.0	0.922	Include
4	STD K 4	2.5	2.249	Include
5	STD K 5	5.0	5.129	Include

15-12-23 14:54:06



Std #	Standard ID	Entered Conc.	Calculated Conc.	Action
Blank	Blank	0	0.080	Include
1	Hg 0.5	0.5	0.440	Include
2	Hg 2.5	2.5	2.505	Include
3	Hg 5	5.0	5.100	Include
4	Hg 7.5	7.5	7.632	Include
5	Hg 10	10.0	9.903	Include

15-12-23 14:52:13



Std #	Standard ID	Entered Conc.	Calculated Conc.	Action
Blank	Blank	0	0.000	Include
1	Calib Std 1	0.25	0.250	Include
2	Calib Std 2	0.5	0.500	Include
3	Calib Std 3	1.0	1.000	Include

15-12-23 14:57:18

ANNEXE

9 :

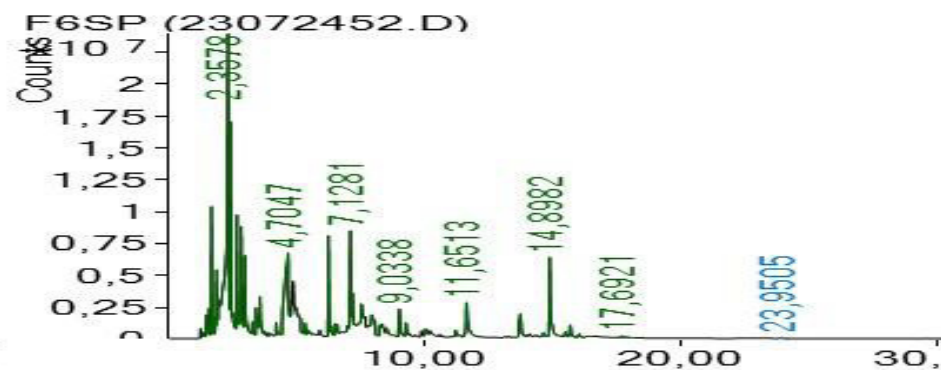
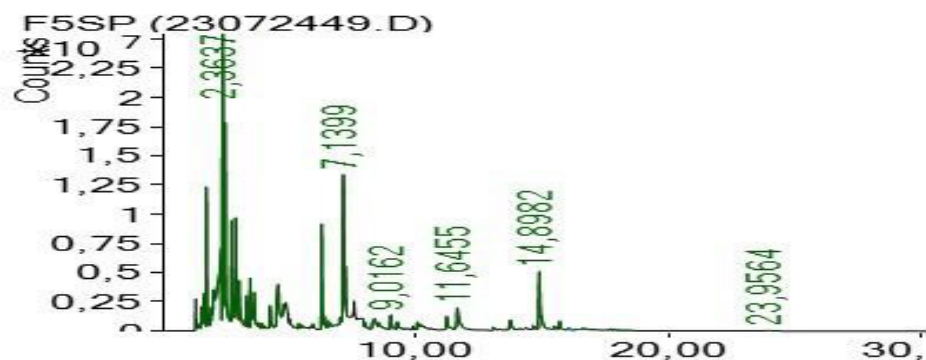
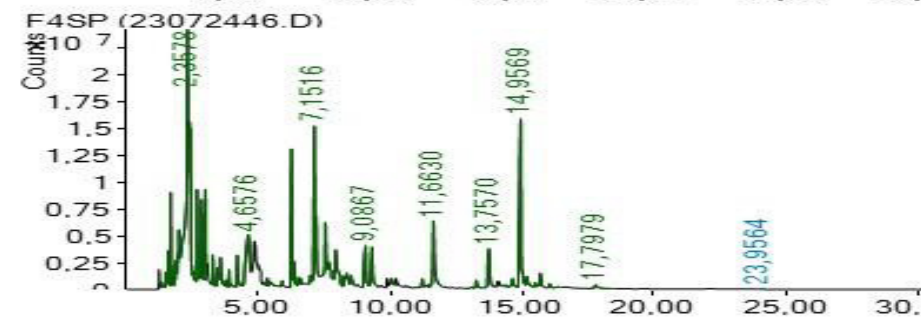
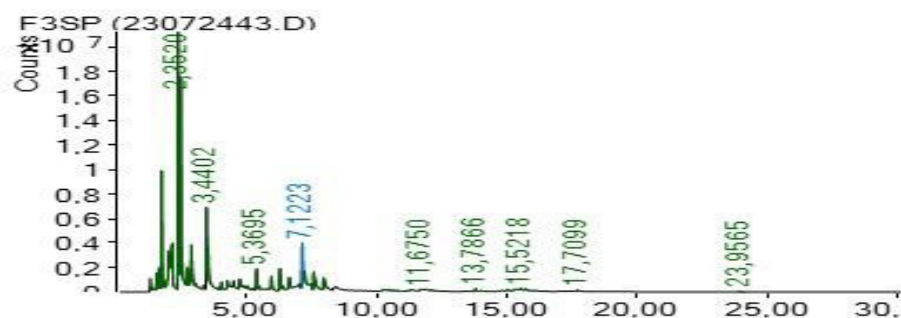
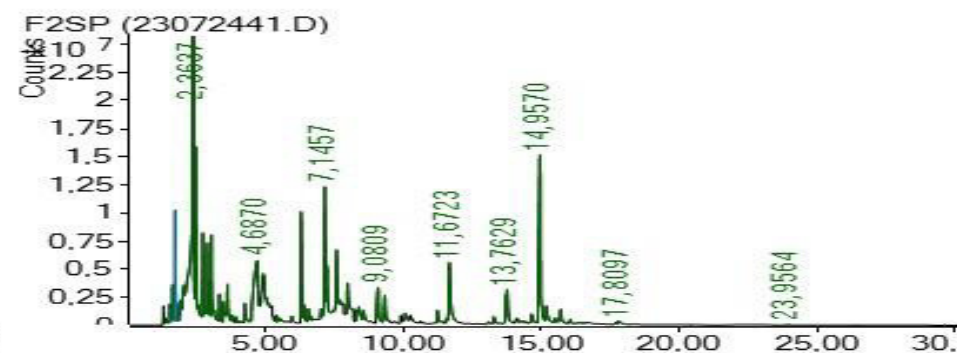
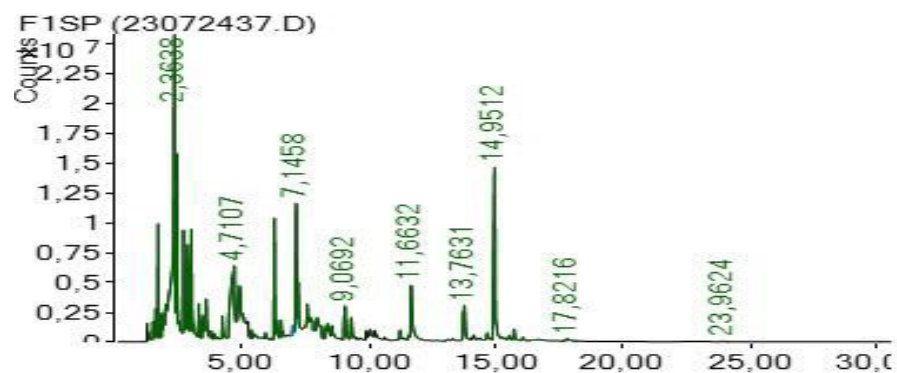
Chromatogrammes

des

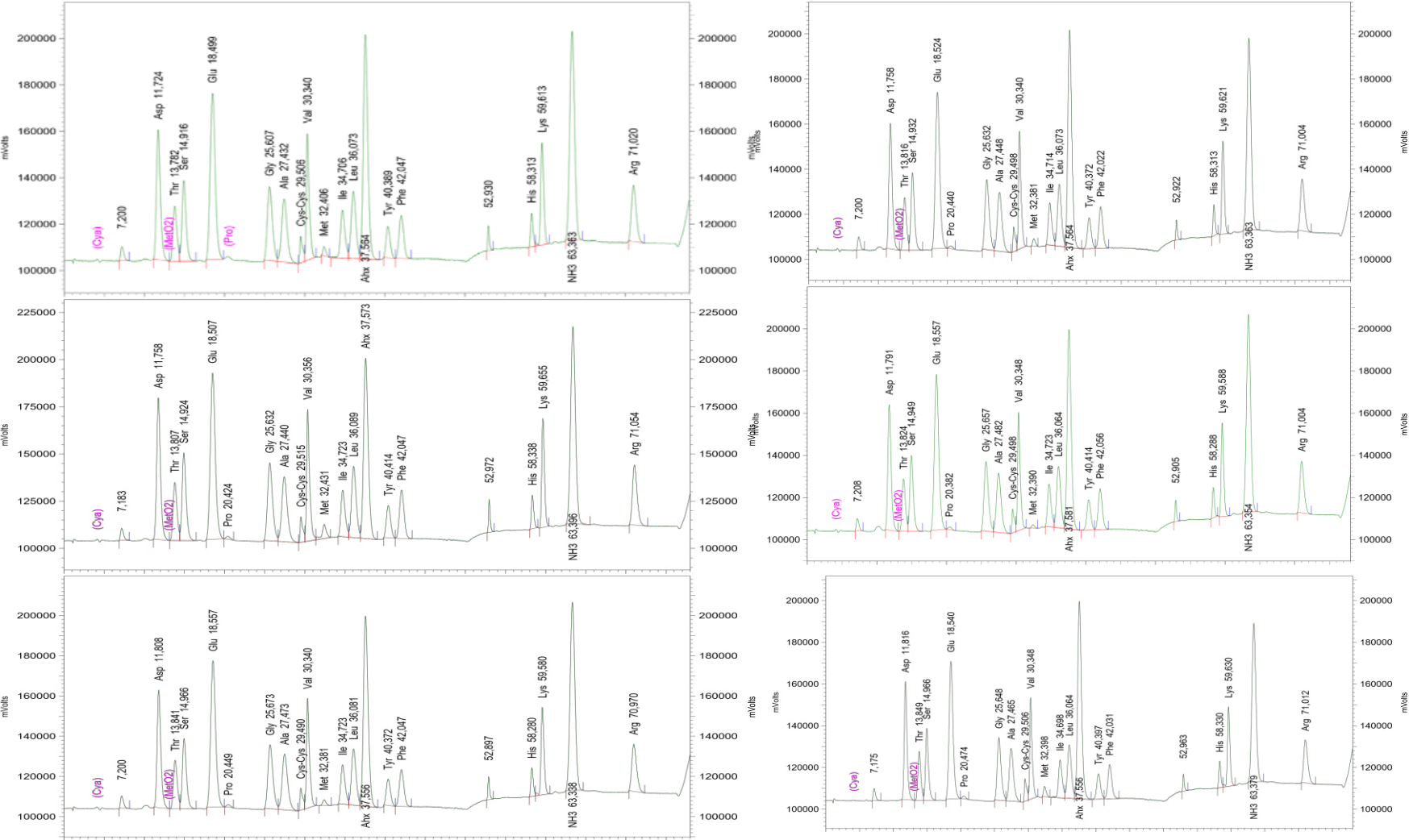
composés

volatils

organiques



ANNEXE10 : Chromatogrammes des acides Aminés



PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

PUBLICATION 1

Investigation des nouveaux supports de fermentation des fèves de cacao dans les principales régions de production de cacao (Haut-Sassandra, Nawa et Bas-Sassandra) en Côte d'Ivoire

[Investigation of new cocoa bean fermentation media in the main cocoa production regions (Haut-Sassandra, Nawa and Bas-Sassandra) in Côte d'Ivoire]

Konan Kouakou Ahossi, Coulibaly Ibourahema, Kouassi Kra Athanase, Foba Foba Stéphane, Coulibaly Mendjara, and Konate Ibrahim

Jean Lorougnon GUEDE University, Biochemistry-Microbiology Department, Agrovalorisation Laboratory, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

Copyright © 2023 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Fermentation is a crucial post-harvest step for obtaining the aromatic and sensory characteristics of quality cocoa that meets international requirements. This work has made it possible to list the fermentation media for cocoa beans currently used in the major cocoa production areas in Côte d'Ivoire. To do this, a questionnaire was established and allowed by interviews and direct observations in order to collect information on the new fermentation media in use. In total, nine hundred and nineteen (919) producers were surveyed. This research work has made it possible, through a survey, to show that the main cocoa production areas in Côte d'Ivoire today use new supports for the fermentation of cocoa beans for various reasons. These are five (5) currently used fermentation media in addition to those known but has different proportions depending on the area surveyed and those for several difficulties they face. Our results also made it possible to obtain the fermentation time according to the medium used and whether stirring was allowed during the fermentation. A principal component analysis revealed three groups of producers according to the supports used and their motivation with a strong correlation between the supports and the motivation.

KEYWORDS: Cocoa, fermentation, technology, support, survey.

RESUME: La fermentation est une étape post-récolte cruciale pour l'obtention des caractéristiques aromatiques et sensorielles d'un cacao de qualité obéissant aux exigences internationales. Ce travail a permis de répertorier les supports de fermentation des fèves de cacao actuellement utilisés dans les grandes zones de production de cacao en Côte d'Ivoire. Pour se faire, un questionnaire a été établi et a permis par des entretiens et observations directes afin de recueillir des informations sur les nouveaux supports de fermentation en cours d'utilisation. Au total, neuf cent-dix-neuf (919) producteurs ont été enquêtés. Ce travail de recherche a permis à travers une enquête de montrer que les principales zones de production de cacao en Côte d'Ivoire utilisent aujourd'hui, de nouveaux supports pour la fermentation des fèves de cacao pour diverses raisons. Ce sont cinq (5) supports de fermentation actuellement utilisés en plus de ceux connus mais a des proportions différentes en fonction de la zone enquêtée et ceux pour plusieurs difficultés auxquelles ils sont confrontés. Les résultats également permis d'obtenir le temps de fermentation en fonction du support utilisé et si un brassage était admis au cours de la fermentation. Une analyse en composante principale a révélé trois groupes de producteur en fonction des supports utilisés et de leur motivation avec une forte corrélation entre les supports et la motivation.

MOTS-CLEFS: cacao, fermentation, technologie, support, enquête.

1 INTRODUCTION

Le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) a été introduit en Côte d'Ivoire vers la fin du 19^{ème} siècle, dans la région Est du pays [1]. Avec une récolte annuelle de 1 964 000 tonnes soit 42,22 % de la production mondiale au cours de la campagne 2018-2019, la Côte d'Ivoire reste au niveau mondial le premier pays producteur de cacao [2]. Cependant, le défaut de qualité associé aux fèves de cacao ivoirien occasionne des pertes économiques substantielles pour l'Etat de Côte d'Ivoire. Dans le milieu paysan, les agriculteurs; après avoir récolté les cabosses de cacao, soumettent les graines à un processus de fermentation naturelle, ([3]; [4]) et sans ce procédé de fermentation, les fèves de cacao crues et séchées ne développent pas la saveur typique du cacao lors de la torréfaction [5]. C'est donc l'une des

principales étapes de la technologie post-récolte du cacao [6]. Le bananier plantain dont les feuilles sont le support offrant les meilleures qualités marchandes, microbiologiques et organoleptiques de fèves de cacao [7] est presque toujours cultivé en association avec le cacao. Le constat actuel est que, depuis plus de dix ans, les variations climatiques, le vieillissement des sols et l'ombrage des cacaoyers après cinq ans de culture entraîne la disparition progressive des bananiers. Comme alternative, les producteurs utilisent les bâches en plastiques et très souvent les caisses en bois. Alors que des chercheurs ont prouvé que les fèves issues de la fermentation dans les bâches plastiques et les caisses en bois étaient classées comme des méthodes à faible uniformité car on observe la présence de fèves défectueuses et une dégradation de la qualité marchande, microbiologique, et organoleptique [8]. Ainsi de nouveaux supports de nos jours utilisés pour la fermentation des fèves sans que la qualité de ces fèves ne soit évaluée. Cette étude a donc pour objectif d'investiguer par une enquête et de mettre la lumière sur les nouvelles méthodologies de traitement post-récolte (la fermentation) afin de les valoriser quelque soit leur proportion d'utilisation. De façon spécifique, il s'agit d'interroger les producteurs des principales zones de production sur les nouvelles pratiques de la fermentation sur la base d'un support d'enquête.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 ZONE D'ÉTUDE

Trois principales régions de production de cacao en Côte d'Ivoire caractérisées par une diversité de condition climatique, leurs rendements annuels dans la production de cacao ont été choisies pour cette étude. Ce sont la région du Bas Sassandra (San Pedro) caractérisée par une basse altitude, en-dessous de 500 m, avec 70 à 80 mm de précipitation par mois. San Pedro compte 277 140 ha de plantation de cacao et 171 164 tonnes de cacao. La région de la Nawa (Soubré) zone centre ouest, région pluvieuse tempérée avec une moyenne de 26-27°C et 29-65 mm / mois de précipitations, une altitude modérée en dessous de 600 m, grande région de production de cacao, le cœur de la nouvelle boucle du cacao (59 % de la production de cacao du District pour 80 % des exploitants) (figure 1).

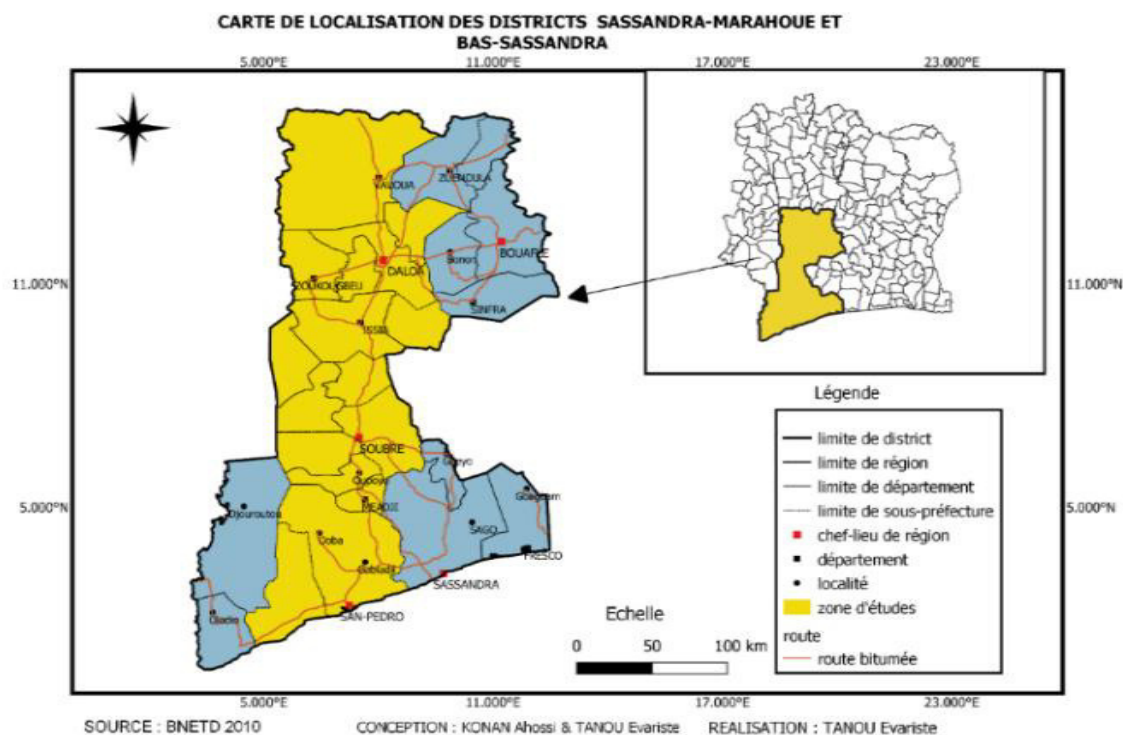


Fig. 1. Carte géographique des zones enquêtées

2.2 COLLECTE DES DONNÉES

La démarche méthodologique mise en place dans le cadre de cette étude, est une démarche participative. L'enquête randomisée par entretien et par observation participante a été conduite dans les trois régions ciblées de production de cacao en Côte d'Ivoire. L'enquête a été faite avec l'accord des différents préfets, sous-préfets chefs centraux et chefs de village différentes localités ciblées. L'autorisation d'enquête à travers des circulaires a permis de rencontrer les différents responsables du conseil café cacao, les responsables de coopérative de cacao et les différents chefs de village pour des entretiens d'informations sur les recherches, des

informations générales sur les supports utilisés actuellement pour la fermentation des fèves de cacao dans leurs localités respectives ont été connues. Ainsi l'enquête s'est déroulée de Mai à Novembre 2021.

2.3 CRITÈRES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION

Toutes personnes sans distinction de sexe qui détient une plantation de cacao et qui réalisent des travaux ou des personnes qui ne sont pas propriétaires, mais qui s'occupent du champ sous l'ordre du producteur ont été interrogés. Les enfants ne sont pas concernés lors de cette enquête. Au total, l'enquête a porté sur 919 personnes dans les 3 régions choisies.

3 ANALYSE DES DONNÉES

Les données brutes de l'enquête ont été dépouillées avec le logiciel Sphinx Plus^{SV5}. Les données ont été ensuite exportées dans le logiciel Excel (pack Microsoft office 2019) puis soumises à l'analyse statistique à l'aide du logiciel R 4.1.0. Des recordages ont été apportés pour leurs interprétations. Les différents résultats obtenus sont présentés sous forme de graphe et de tableau. Une analyse en composantes principale grâce aux packages FactomineR ont-elle été effectuées.

4 RÉSULTATS

La figure 2 indique que la cacaoculture est plus pratiquée par les hommes à 91,73 % contre un taux de 8,27 % pour les femmes. L'analyse des proportions des trois zones de production a donné une probabilité $P > 0,05$ chez les hommes comme chez les femmes. Il y a aucune différence significative. Dans les trois (3) régions étudiées, deux supports de fermentation sont actuellement utilisés. Il s'agit entre autres des sacs (en polypropylène et en jute) et les bâches en polypropylène qui sont utilisés en plus des feuilles de bananier et des bâches en plastique. Les caisses en bois ne sont pas du tout utilisés quel que soit la région enquêtée. Les feuilles de palmier et les cabosses de cacao utiliser comme supports de fermentation ont été enregistrées par des constats sur terrain et au cours des entretiens. En tenant compte de l'analyse sur l'utilisation des proportions à l'aide du logiciel R, une probabilité de $P = 2,2 \cdot 10^{-16}$ a été donnée. Cette probabilité révèle une différence significative entre les différentes utilisations des supports de fermentation.

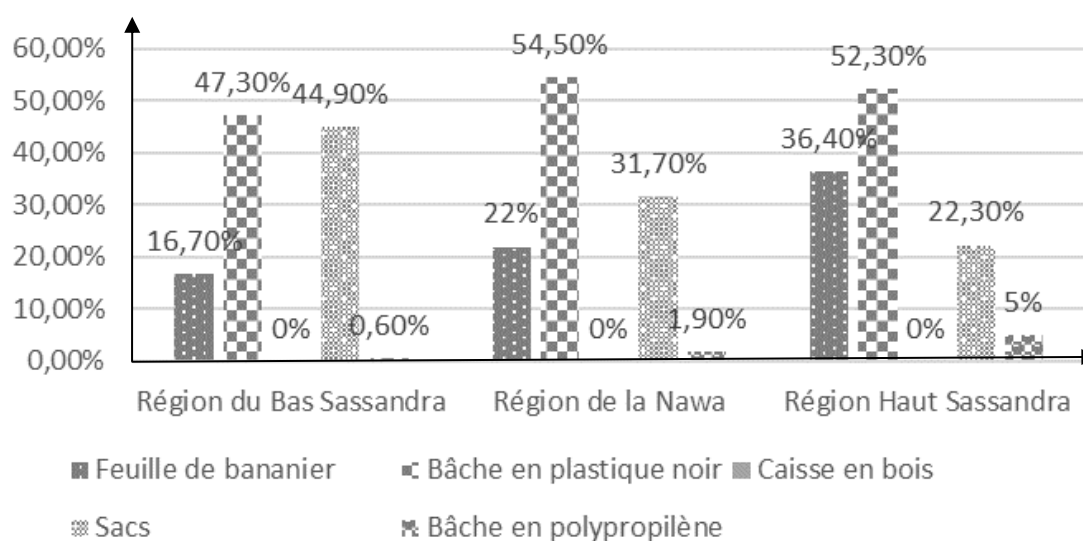


Fig. 2. Répartition des zones d'études en fonction des supports de fermentation utilisés

4.1 LA FERMENTATION DANS LES SACS EN POLYPROPYLÈNE ET SACS EN JUTE

La fermentation en sac en polypropylène et sac en jute est réalisée (70 kg environ). Lors de l'écabossage, les producteurs mettent directement les fèves dans sacs. A la fin de l'écabossage, les sacs contenant les fèves de cacao sont ficelés pour la fermeture et ranger en bordure de la voie pour le transport au village (Figure 3). Cela permet de garantir le transport dans les camions de ramassage. Pendant la nuit, les différents lots de cacao sont stockés dans des sacs en polypropylène et entreposés dans un endroit couvert.



Fermentation dans des sacs en jute



Fermentation dans des sacs en
propylène

Fig. 3. Fermentation dans des sacs en jute et des sacs en propylène

4.2 FERMENTATION DANS LES FEUILLES DE PALMIERS

Une quantité d'au moins 200 kg est stocké après écabossage dans les feuilles de palmier et recouvert par les mêmes feuilles de palmier. Le brassage est fait tous les 2 jours jusqu'au 6eme jour de la fermentation pour procéder au séchage (Figure 4).



Fig. 4. Fermentation des fèves de cacao dans les feuilles de palmier

4.3 FERMENTATION DANS LES BÂCHES EN POLYPROPYLÈNE

Une quantité d'au moins 200 kg est stocké après écabossage sur des bâches en propylène et recouvert par les mêmes types de bâches. Le brassage est fait tous les 2 jours jusqu'au 6eme jour de la fermentation pour procéder au séchage (Figure 5).



Fig. 5. Fermentation des fèves de cacao dans les bâches en polypropylène

4.4 FERMENTATION DANS LES CABOSSES DE CACAO

Après la récolte, un endroit est nettoyé dans la plantation. 500 cabosses de cacao en moyenne sont entassées. Une bâche plastique est placée sous les cacaoyers et sur une pente permettant l'écoulement dans un seul sens du jus. Ensuite, l'écabossage est réalisé avec des gourdins. Les fèves sont laissées à l'intérieur des cabosses pour la fermentation sur 6 jours. Après six jours de fermentation les fèves de cacao sont séparées du placenta dans les cabosses pour le séchage (figure 6).



Fig. 6. Fermentations des fèves de cacao dans les cabosses de cacao

4.5 TEMPS DE FERMENTATION

L'ensemble des producteurs respectent le temps de fermentation réglementaire dans les différentes régions enquêtées. En effet 45,5 % des producteurs ont un temps de fermentation inférieur ou égal à quatre (4) jours contre 55,5 % compris entre 5 et 7 jours dans la région de San Pedro, 14,9 % contre 85,1% dans la région de la Nawa et 40 % contre 60 % dans la région du Haut Sassandra.

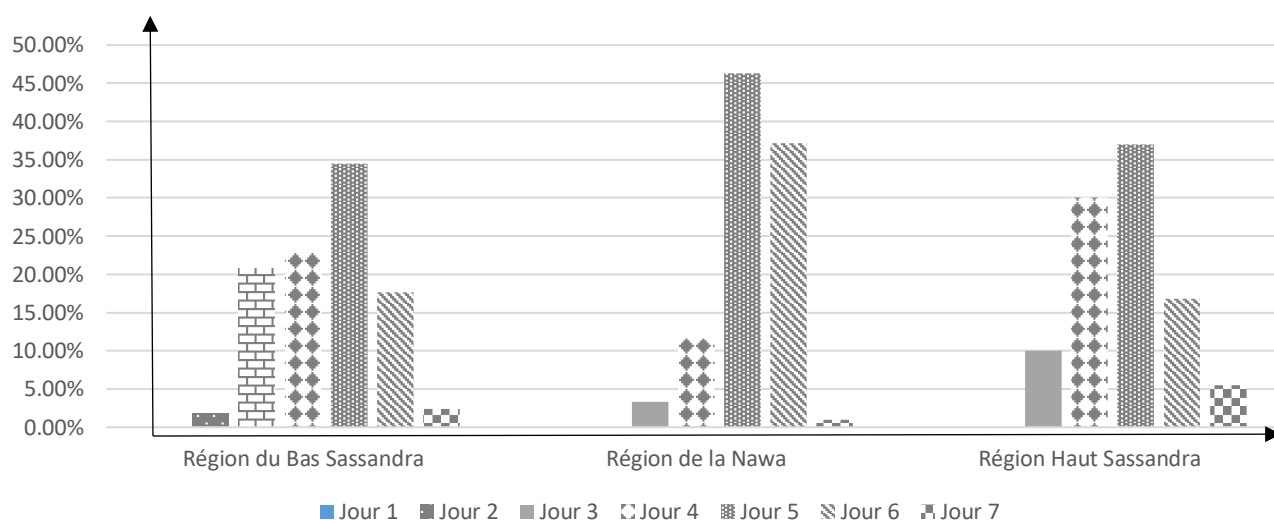


Fig. 7. Durée de fermentation des fèves en fonction des régions enquêtées

4.6 TAUX DE BRASSAGE DANS LES RÉGIONS ENQUÊTÉES

Le taux de brassage est en générale faible dans toutes les régions enquêtées. Ces taux sont respectivement de 6,3 % dans la Nawa, 5,1 % à San Pedro et 4,5 % dans le Haut Sassandra (Tableau I).

Tableau 1. Proportion des brassages des fèves en fonction des régions enquêtées

	Soubré (363)		San pedro (336)		Haut Sassandra (220)	
	Nb.ci	Freq	Nb.ci	Freq	Nb.ci	Freq
Non	340	93,7%	319	94,9%	210	95,5%
Oui	23	6,3%	17	5,1%	10	4,5%

4.7 JUSTIFICATION DE L'UTILISATION DES SUPPORTS DE FERMENTATION

L'utilisation de nouvelles technologiques se justifie par plusieurs raisons dont le vol avec une moyenne générale de $(21,97 \pm 12,38)$, le manque de feuilles de bananier $(31,87 \pm 12,95)$ bonne fermentation $(7,63 \pm 6,64)$, insuffisance de feuille de bananier $(13,60 \pm 8,68)$, transport vers le village $(12 \pm 1,70)$, recommandé $(7,60 \pm 3,56)$, jus de cacao $(1,13 \pm 1,96)$, Grande quantité des fèves de cacao $(44,43 \pm 4,06)$. L'analyse des données a une différence significative entre les différences régions enquêtées ($P=0,00 < 0,05$). Cependant il est nécessaire de signifier que les raisons valables de l'utilisation de nouvelles pratiques de fermentation sont fonction des localités enquêtées. Les résultats reportés dans chaque ville sont présentés dans le **tableau II**

Tableau 2. Justification de l'utilisation des nouvelles technologies en fonction des régions enquêtées

	Haut Sassandra	Nawa	San pedro
Vol	35,8%	18,2%	11,9%
Manque de feuilles de bananier	27,6%	52,4%	33,4%
Bonne fermentation	14,7%	1,5%	6,7%
Insuffisance de feuilles de bananiers	16%	4%	20,8%
Transport vers le village	10,6%	11,5%	13,9%
Recommandé	6,8%	11,5%	4,5%
Jus	3,4%	0%	0%
Grande quantité des fèves	3,1%	1,2%	9%

L'analyse de variance multidimensionnelles a été effectuée sur l'ensembles des paramètres étudiés et ont donnés des résultats représentés dans la figure 8. L'analyse a dévoilé qu'il existe une différence significative ($P < 0,05$) entre les différentes motivations sur l'usage de nouvelles pratiques de fermentations. Une analyse à (ACP) a été effectuée. La représentation des différentes motivations d'utilisation des nouveaux supports de fermentation dans un espace bidimensionnel est montrée sur la Figure 8. Celle-ci permet de visualiser les différences entre leurs avis sur ces nouvelles pratiques poste récoltes. Dans un plan factoriel (F1-F2). Il ressort de cette analyse que 84,4% des motivations sont expliqués par les deux premières composantes, dont 47,50% par l'axe 1 et 36,90% par l'axe 2. Ces résultats donnent trois grands groupes de producteurs en fonction de leurs motivations de pratique poste récolte (la fermentation). Un premier groupe de producteurs utilisant les bâches plastiques et les bâches en polypropylène qui se justifie par le transport des fèves au village et le manque de feuilles de bananier; un deuxième groupe qui utilise les sacs et qui justifient par les cas de vol, absence de feuilles de bananier et de la quantité des fèves de cacao et le troisième groupe qui utilisent les feuilles de bananier et qui justifie la un bon rendement après séchage et surtout par sa recommandation par l'Etat.

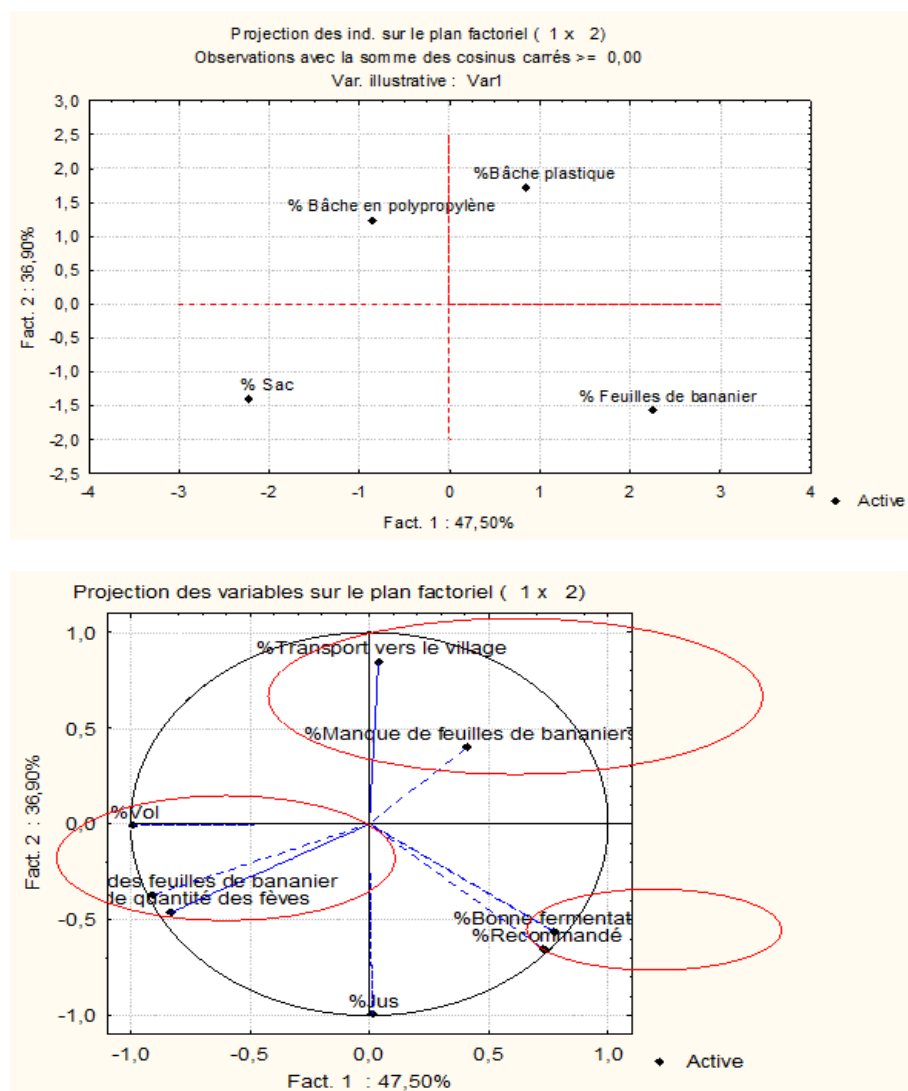


Fig. 8. Analyse à (ACP) de l'utilisation des nouvelles techniques de fermentation des fèves de cacao

5 DISCUSSION

Les résultats de l'enquête ont montré que la cacao culture est en majorité dévoué aux hommes avec une proportion de 91,73% quel que soit la zone de production enquêtée. Pour chacun des zones enquêtée la proportion des hommes tous comme chez les femmes n'est pas significative. La proportion des hommes par rapport à celles des femmes pourrais s'expliquer par le fait que ce travail difficile a réalisé donc demande plus d'effort physique et de courage. En effet les femmes dans les campagnes ont pour la plupart le rôle de ménagère et constituent une aide indispensable aux côté de leurs maris dans la réalisation du champ de cacao. Ces résultats confirment celle de Yao qui stipule que, les femmes courageuses, capables de défricher une forêt dense jusqu'à la mettre en valeur sont rares [9].

Dans les trois régions investiguées, les nouvelles technologies de fermentation recueillis auprès des producteurs se résument aux sacs (les sacs en polypropylènes et sacs jutes), les bâches en polypropylènes les cabosses de cacao et aux feuilles de palmier en plus des feuilles de bananiers de et des bâches en polypropylène. Dans toutes les localités enquêtées, la proportion d'utilisation des bâches plastiques étaient supérieurs aux autres supports avec $51,36 \pm 3,68\%$, $32,96 \pm 11,35\%$ sacs (sacs en polypropylène, sacs en jute), $2,5 \pm 2,2\%$ pour les bâches en polypropylène) en plus des feuilles de bananier ($25,03 \pm 10,9\%$), et $0 \pm 0\%$ pour les caisses en bois. La faible utilisation des caisses en bois pourrait s'expliquer par la difficulté de la confection et qui sont parfois endommagées par les termites lorsque les conditions de conservation ne sont pas appropriées [9]. Aussi, la fermentation en caisse, technique actuelle proposée par les structures de recherche, semble ne pas être adoptée par les producteurs qui ont eu pour habitude de pratiquer la fermentation traditionnelle [10].

Le temps de fermentation des fèves dans les trois régions enquêtées est variable et est fonction de la période de récolte. De façon général le temps de fermentation ($T \leq 4 = 33,46 \pm 16,31\%$ et une moyenne de temps de fermentation $T [5 \text{ à } 7]$ jours est de $66,87 \pm 15,95\%$.

Le temps de fermentation pendant la saison sèche est plus long que les saisons pluvieuses dans les trois zones enquêtées. Ce qui pourrait s'expliquer d'une part par le processus de la fermentation qui est sous l'influence des microorganismes. En effet l'humidité favorise la croissance rapide microorganismes fermentaires qui accélère la fermentation. D'autre part, pendant la saison des pluies, le temps de séchage devient long et les fèves ont la possibilité de poursuivre la fermentation. Cependant, pendant la saison sèche les temps de séchage sont courts d'où les fèves n'ont plus le temps de poursuivre efficacement la fermentation.

Le brassage du cacao en fermentation est nécessaire dans le processus de fermentation. En effet, cette opération permet d'homogénéiser la fermentation afin d'éviter les fèves ardoisées ou les fèves sur fermentées comme le soutiennent [11]. Cependant le brassage des fèves lors de la fermentation est très peu pratiqué sur l'ensemble des trois régions enquêtées. Dans toutes les régions enquêtées la proportion de brassage était très faible. Soit 6,3% (Nawa), 5,1% (San Pedro) et 4,5% (Haut Sassandra). Cette faible proportion se justifie par le manque d'information sur la nécessité de faire le brassage lors de la fermentation. Ce qui traduit le peu d'importance qu'ils accordent à cette activité. Soit par ignorance des avantages que représente le brassage dans l'homogénéité des fèves et de leur qualité à la fin de l'opération [12]. Les études de [13] Kouakou et collaborateurs ont montré également dans leurs enquêtes en 2018 que 70% des producteurs ne brassent pas les fèves au cours de la fermentation.

Plusieurs raisons qui traduisent l'utilisation de ces nouvelles technologies ont été énumérées par les producteurs lors de l'entretien. En effet les différentes rencontres avec les chefs de village et les producteurs ont permis de recueillir des raisons qui ont motivées à l'utilisation de nouvelles méthodes de fermentation. Durant tous nos entretiens avec les producteurs enquêtés, ils ont tous reconnu l'intérêt de l'utilisation des feuilles de bananier comme étant le meilleur support de fermentation. Cependant l'utilisation d'autres supports de fermentation est dû aux limites que celles-ci ont atteintes même si l'on reconnaissait les biens faits de la fermentation dans les feuilles bananières. Le cacaoyer est cultivé en association avec les bananiers pour qu'ils bénéficient de leur ombrage pour les et trois (3) premières années de cultures. Par conséquent, les feuilles de bananier sont facilement disponibles et sont utilisées pour la fermentation [14]. Cependant, les résultats obtenus par les enquêtes ont révélé que les terres étaient vieillissantes donc ne permettent plus le bon développement des bananiers dans les plantations de cacaoyer, l'ombrage des cacaoyers après plus de 5 ans en association avec les cacaoyers causent la disparition des bananiers dans le champ. Dans la région de San Pedro en particulier, certains producteurs ont plutôt évoqué l'état d'acidité du sol provoqué par l'influence de l'océan Atlantique qui impacte la sous-région. Des cas de vol sur les sites de fermentation qui sont de plus en plus fréquents dans leurs zones de production les ont obligés à utiliser d'autres moyens pour la fermentation des fèves. De plus la concurrence entre les coopératives à avoir à leurs porter plusieurs producteurs a permis la mise à disposition de leur véhicule pour le transport des fèves vers le village dans des sacs qui sont gardés durant six (6) jours le temps que les fèves soient fermentées avant le séchage. L'utilisation des bâches en propylène est très souvent liée à la grande quantité des fèves de cacao à fermenter.

Pour le producteur, l'utilisation des cabosses de cacao comme support de fermentation est circonstancielle car cette technique de fermentation dans les cabosses est réalisée lorsque au cours du ramassage, ils oublient des tas. Ces cabosses sont donc fractionnées par des gourdins et les fèves sont conservées à l'intérieur pendant 3 à 4 jours et sont séchées à part. A la fin du séchage ces fèves sont mélangées et vendues au même titre que les autres.

6 CONCLUSION

Il ressort de cette étude menée auprès des producteurs dans les principales zones de production de cacao en Côte d'Ivoire (la région de San Pedro, de la Nawa et du Haut Sassandra), que de nouvelles pratiques sont de plus appliquées pour la fermentation des fèves de cacao. Des pratiques se justifient par plusieurs raisons qui varient en fonction de la région enquêtée. Cependant aucune étude d'évaluation de la qualité des fèves n'a fait l'objet d'un travail scientifique. La fermentation ayant une influence significative sur la qualité marchande et les produits finis qui dérivent de ces fèves de cacao. Il sera donc indispensable d'étudier l'influence de ces nouvelles technologies de fermentation pour s'assurer de la qualité marchande, microbiologique, biochimique et organoleptique.

REFERENCES

- [1] Assiri A. A., Yoro G. R., Deheuvels O., Kebe B. I., Keli Z. J., Adiko A. et Assa A. (2009). Les caractéristiques agronomiques des vergers de cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2 (1): 55- 66.
- [2] ICCO. (2019). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics Vol. XLV, No.3, Cocoa year 2018/19. 1p.
- [3] Schwan R. F. and Wheals A. (2004). «The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality.» *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44 (4): 205-221.
- [4] Lima L. J. R., Almeida M. H., Nout M. J. R. and Zwietering M. H. (2011). «*Theobroma cacao* L., »the food of the gods«: quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of the fermentation.» *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51 (8): 731-761.
- [5] Afoakwa E. O., Paterson A., Fowler M. and Ryan A. (2008). «Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review.» *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48 (9): 840-857.

- [6] Beckett, S. T. (2000). The Science of Chocolate. Royal Society of Chemistry Paperbacks.
- [7] Barel M. 2013. Qualité du cacao: l'impact du traitement post-récolte. Editions Quae, pp. 22-54.
- [8] Guehi T. S., Dabonne S., Ban-Koffi L., Kedjebo K. D. and Irié B. Z. G. (2010a). «Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans.» *Journal of Food Science and Technology* 2 (3): 163-171.
- [9] YAO K M. 2014 contribution a la prevention des risques de contamination fongique du cacao marchand: cas du polyhexamethylene guanidine hydrochloride, THESE UNIQUE DE DOCTORAT en Sciences et Technologies des Aliments P 79.
- [10] Ardhana M. M. and Fleet G. H. (2003). «The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia.» *International Journal of Food Microbiology* 86: 87-99.
- [11] Guehi T.S., Kouadio P.B.K. et Dabonne S. (2010c). Spontaneous Cocoa Bean Heap Fermentation: Influence of the Duration and Turning on the Quality of Raw Cocoa. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 70: 118-123.
- [12] Sadoux FL. (1961). Etude de la fermentation et du sechage du cacao au Cameroun. *Cafe Cacao The*, 5 (4): 252-262.
- [13] Kouakou B.J., Irie B.Z., Dick E., Nemlin G. et Bomisso L.E. (2013). Caractérisation des techniques de séchage du cacao et influence sur la qualité de fèves commercialisées. *Journal of Applied Biosciences*, 64: 4797- 4812.
- [14] Anonyme (2009). Culture du cacaoyer. Informations du marché dans le secteur des produits de base, www.info.com

PUBLICATION 2



Impact of New Fermentation Systems on the Health Quality of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L. 1753) in the Main Cocoa-Growing Regions of Côte D'ivoire: Nawa, Bas-Sassandra and Haut-Sassandra

Kouakou Ahossi Konan ^{a*}, Ibourahema Coulibaly ^a,
Kra Athanase Kouassi ^a, Foba Foba Sthéphane ^a,
Adja Coulibaly ^a and Ibrahim Konaté ^a

^a Biochemistry-Microbiology Department, Agro valorisation Laboratory, Jean Lorougnon GUEDE University, BP 150 Daloa, Côte D'ivoire.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: <https://doi.org/10.9734/jamb/2024/v24i8845>

Open Peer Review History:

This journal follows the Advanced Open Peer Review policy. Identity of the Reviewers, Editor(s) and additional Reviewers, peer review comments, different versions of the manuscript, comments of the editors, etc are available here: <https://www.sdiarticle5.com/review-history/122292>

Original Research Article

Received: 21/06/2024
Accepted: 23/08/2024
Published: 28/08/2024

*Corresponding author: E-mail: konankouakouahossi@gmail.com;

Cite as: Konan, Kouakou Ahossi, Ibourahema Coulibaly, Kra Athanase Kouassi, Foba Foba Sthéphane, Adja Coulibaly, and Ibrahim Konaté. 2024. "Impact of New Fermentation Systems on the Health Quality of Cocoa Beans (*Theobroma Cacao* L. 1753) in the Main Cocoa-Growing Regions of Côte D'ivoire: Nawa, Bas-Sassandra and Haut-Sassandra". *Journal of Advances in Microbiology* 24 (8):35-51. <https://doi.org/10.9734/jamb/2024/v24i8845>.

ABSTRACT

Aims: Cocoa cultivation plays a crucial role in the Ivorian economy, requiring rigorous post-harvest processes to ensure the quality of the chocolate produced. Fermentation is a fundamental step in these processes, directly influencing the development of the flavor and aromatic characteristics of cocoa beans. This study focuses on evaluating the impact of various fermentation supports on the microbiological quality of cocoa beans after drying.

Study Design: The beans were fermented on six types of supports: palm leaves, cocoa pods, polypropylene tarps, polypropylene bags, jute bags, and banana leaves (control), using two varieties of cocoa, *Forasteros* and *Mercedes* in the San Pedro, Soubré and Daloa regions.

Methodology: At the end of the drying process, 2 kg of dried beans from each fermentation support were collected. The analyses focused on moisture, pH, and the level of microbiological contamination, including fungal flora and *Bacillus* (spore-forming bacteria). The analyses were performed in triplicate. The fungal flora was identified through macroscopic and microscopic observations, while biochemical tests were used to identify presumptive *Bacillus cereus*.

Results: The results indicate that beans fermented in pods showed a pH above 5.5, and those fermented on polypropylene bags had moisture exceeding 8%. *Bacillus* bacteria were more frequent in the beans fermented in cacao pods. Molds, primarily *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus niger*, were more prevalent on jute bags and in the pods compared to the control. The presence of *Bacillus* spores and ochratoxigenic molds in the fermented beans, in the pods, and on jute bags poses a risk to the quality and safety of the cocoa beans.

Conclusion: In contrast, polypropylene bags, polypropylene tarps, and palm leaves are identified as suitable supports for maintaining the sanitary quality of the beans, similar to banana leaves (control support). These results show that, despite the gradual decline in banana plantations, cocoa producers will benefit from adequate support for the fermentation process, thereby guaranteeing the quality of cocoa beans and enabling them to obtain a competitive purchase price in the field, while offering entrepreneurs the opportunity to acquire higher quality products to increase their turnover.

Keywords: Cocoa; fermentation; quality; aspergillus; ochratoxin; bacillus.

1. INTRODUCTION

The transformation chain of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) for cocoa powder production begins in tropical countries, where farmers, after harvesting the cocoa pods, subject the seeds to a natural fermentation process [1]. Without this process, the raw and dried cocoa beans do not develop the characteristic cocoa flavor during [2]. This operation is dominated by various microbial activities, including fungal flora and bacteria of the genus *Bacillus*, which sometimes remain active after the fermentation process. The ability of members of this group to form endospores resistant to extreme heat implies that they can survive industrial processes and pose spoilage and safety issues [3,4]. Indeed, bacteria of the genus *Bacillus cereus* are the third leading cause of foodborne illness outbreaks, capable of forming spores under unfavorable environmental conditions. These spores can remain dormant for many years, even millennia, awaiting the return of favorable conditions [5].

Moreover, fungal activity can lead to contamination by mycotoxins, posing a health

risk to consumers [6]. According to [7], poorly conducted post-harvest treatments in cocoa can result in the spread of molds such as *Aspergillus* and *Penicillium*, which are responsible for the production of ochratoxin A (OTA), for example. Fungal contamination is possible at many critical points, including temperature, humidity, endogenous fungal species, as well as the conditions and duration of storage in the cocoa production chain [6]. Additionally, fungal proliferation compromises the commercial quality of food products, leading to significant economic losses [8]. Several previous studies have reported the presence of ochratoxin A in cocoa and various by-products [9]. In Côte d'Ivoire, the world's leading producer and exporter, this mycotoxin (OTA) has been found in cocoa from two production areas and Ivorian ports [10].

The objective of the present study is to evaluate the impact of new fermentation supports on the physicochemical parameters and microbiological quality (OTA-producing fungal flora and bacteria of the genus *Bacillus*) of the final cocoa beans.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Biological Material and Study Area

The biological material consists of fermented and dried cocoa beans from *Forastero* cocoa varieties in the San Pedro and Daloa regions, and the hybrid variety "Mercedes," proposed by CNRA/Divo, for the Soubré region (Fig. 1).

2.2 Shucking and Fermentation

Pod breaking was carried out three days after harvest, primarily under traditional conditions using knives. Six fermentation techniques (Fig. 2) were spontaneously performed by the same farmer, sheltered from weather and drafts. These include: fermentation on banana leaves (F1; control); on palm leaves (F2); inside cocoa pods (F3); on a polypropylene sheet (F4); in polypropylene bags (F5); and in jute bags (F6) without separating the beans from the placenta. The industrial protocol was applied to all experiments, involving a fermentation duration of

144 hours (6 days) with turning intervals at 48, 96, and 120 hours. For each fermentation method, a minimum of 250 kg of beans and at least 1,000 pods, equivalent to 250 kg of fresh beans, were stored for fermentation.

2.3 Drying

Drying was carried out in thin layers on polypropylene sheets, which are commonly used for storing dried beans before transporting them to the factory. The daily drying duration was 7 hours, taking place from 9:00 AM to 4:00 PM.

2.4 Sampling

At the end of the fermentation process, 2 kg of dried beans from each of the fermentation supports were collected during the months of September, October, and November 2022 and transported to the laboratory. These beans were then shelled, finely ground (using an IKA A11 basic grinder; Germany), placed in 100 g containers, and stored at a temperature of minus 80°C for further analyses.

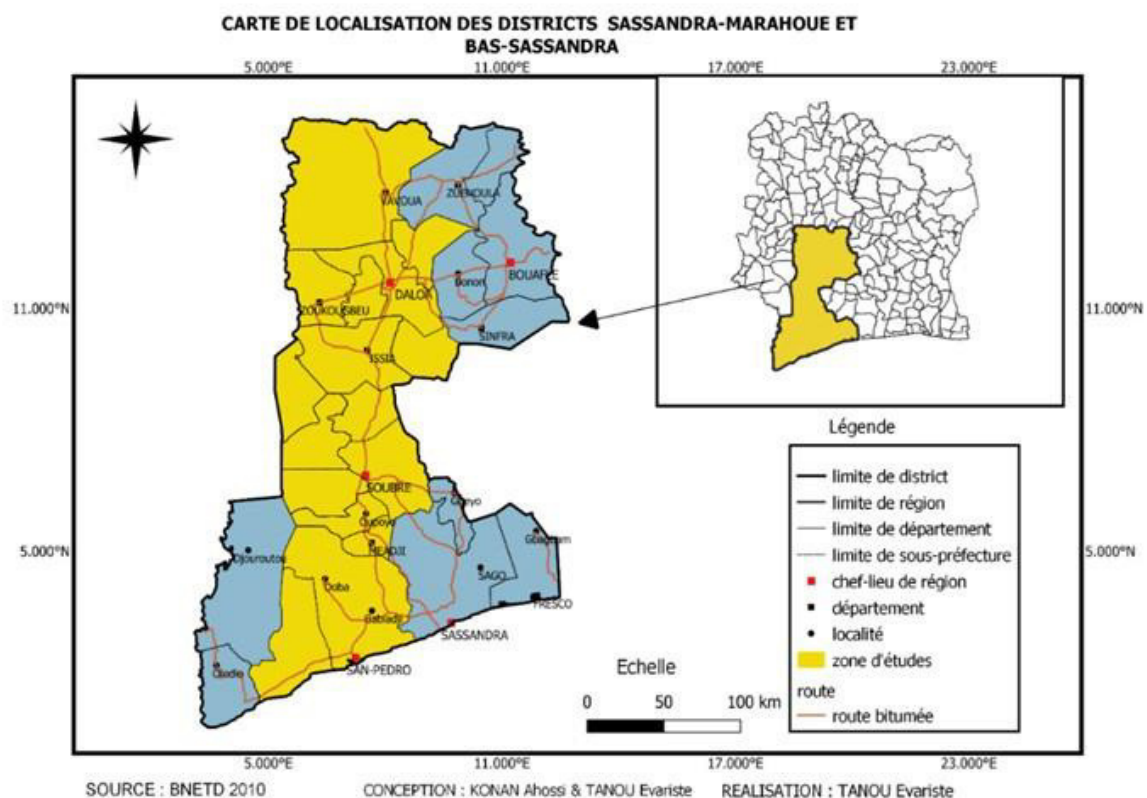


Fig. 1. Map of the study area



Fig. 2. Different fermentation supports

a: Banana leaves (control; F1); b: Palm leaves (F2); c: Cocoa pods (F3); d: Polypropylene sheeting (F4); e : Polypropylene bags (F5); f : Jute bags (F6).

2.5 Physico-chemical Characteristics

Moisture content was determined by measuring 500 grams of beans from each fermentation medium in a mini GAC (Dickey John multigrain) using the method of [11]. The pH was determined using the AOAC method [10].

2.6 Testing for Spore-Forming *Bacillus* bacteria and Fungal Flora in Cocoa Powder Samples

2.6.1 Preparation of the stock solution and decimal dilutions

Sample preparation began with the preparation of the stock solution. Thus, 10 g of cocoa powder from each sample were added to 90 mL of Buffered Peptone Water (BPW) in flasks and left at room temperature for 30 minutes. About 1 mL of the flask's content was added to 9 mL of sterile distilled water to carry out decimal dilutions. The 10^1 and 10^2 dilutions were selected for inoculation.

2.6.2 Sporulation test

The treatment of spores is carried out in test tubes using the previously prepared stock suspension. A quantity of 10 mL is taken and introduced into the test tube. The tubes are then

placed in a water bath at 80°C for 10 minutes and immediately cooled in an ice-water bath to select sporulated forms. 0.1 mL of the different dilutions were inoculated onto Mosel agar medium supplemented with emulsified egg yolk for the detection of lecithinase.

2.6.3 Incubation and enumeration

All the plates were incubated at 30°C for seven days. Daily observations were made until mycelium appeared to check for fungal flora. For *Bacillus* bacteria, the inoculated plates were placed in an incubator for 24 hours at 37°C.

2.6.4 Enumeration

Counting, followed by isolation and macroscopic and microscopic identification of the fungal flora, was carried out according to ISO 21527-1 (2018), and the number of colonies was expressed using the following equation:

$$N \text{ (UFC/g)} = \frac{\sum Ci}{(n_1 + 0,1n_2)d.V}$$

N (CFU/g): number of germs. $\sum Ci$: colony sums; *V*: inoculum volume; *n*₁: number of Petri dishes counted at 1st dilution; *n*₂: number of Petri dishes counted at 2nd dilution; *d*: dilution rate at the first dilution retained.

2.6.5 Isolation and purification

After counting, the plates showing isolated colonies were selected. Only the reddish and yellowish isolates were retained for purification. The isolates were then subcultured on Lysogeny Broth (LB) medium using the quadrant streaking technique. For the fungal flora, daily observations were made until mycelium appeared. Each developed mycelium underwent several successive inoculations until pure strains were obtained. The colonies were subcultured three times until identical colonies were achieved.

2.7 Identification of Bacteria of the Genus *Bacillus* Spore Form

2.7.1 Gram staining

The morphology, cellular organisation and parietal type of the isolates were assessed on juvenile cultures grown using the Gram staining technique (1884). The smears were examined under a light microscope equipped with an immersion objective (x100 objective).

2.7.2 Identification of enzyme tests

The detection of catalase was performed according to the method of Wysocki et al.[12] while the detection of lecithinase was performed according to the method of Guiraud et al. [13].

2.7.3 Identification of fungal flora

The identification of the fungal flora was carried out according to the method of Verscheure et al. [14] with some modifications. Briefly, a portion of the colony to be identified was taken with forceps and placed in a drop of methylene blue on a microscope slide. The preparation was then covered with a coverslip and observed under an optical microscope at different magnifications (x10, x40, and x100). The frequency of isolation (Fr) of fungal species was calculated according to Yapou-Kouadio et al. [15].

$$Fr(\%) = \frac{\text{Number of samples per species}}{\text{Total number of samples}} \times 100$$

3. RESULTS

3.1 Physico-Chemical Composition of Fermented and Dried Beans

The pH of the dried beans, across all fermentation supports, ranged from 4 to 6, while

the moisture content varied between 6.5% and 8.85%, with significant differences ($P < 0.05$) (Fig. 3). The variety of cocoa had no significant influence on the pH and moisture content. However, in the three study areas, beans fermented on support F3 recorded pH values significantly higher than the recommended threshold (pH 5.5), with averages of 6.26 ± 0.04 in San Pedro, 6.36 ± 0.0 in Vavoua, and 6.23 ± 0.04 in Soubré. The homogeneity test performed with Dunnett ($\alpha = 0.5$) showed that beans fermented on F2 (5.16 ± 0.00 ; 5.09 ± 0.01) in San Pedro and Soubré, as well as those on support F4 (5.42 ± 0.02) in Vavoua, were closer to the beans fermented on the control support. Regarding moisture content, beans fermented on support F5 in all three areas (San Pedro, Vavoua, and Soubré) with $8.76 \pm 0.20\%$, $9.03 \pm 0.15\%$, and $9.1 \pm 0.26\%$, respectively, were above the 8% standard, along with those fermented on supports F4 ($8.85 \pm 0.13\%$) in San Pedro and F6 ($8.23 \pm 0.3\%$) in Vavoua. Additionally, Dunnett's similarity test indicated that the values recorded in beans fermented on support F6 ($7.6 \pm 0.17\%$) in San Pedro; F2 ($7.83 \pm 0.3\%$), F3 ($6.8 \pm 0.26\%$), and F4 ($7.86 \pm 0.11\%$) in Vavoua, as well as F6 ($7.9 \pm 0.4\%$) and F4 ($7.83 \pm 0.66\%$) in Soubré, were closer to those of beans fermented on the control support F1.

3.2 *Bacillus Cereus* Species of Fermented and Dried Beans

After 24 hours of incubation at 30°C on MYP medium, the majority of observed colonies are pink, indicating mannitol-negative fermentation, and are frequently surrounded by a precipitation halo, suggesting lecithinase activity. Gram staining followed by microscopic observation reveals that most isolates are Gram-positive bacilli (Fig. 4). Biochemical tests were conducted on 51 isolates from all fermentation media, with 18 from San Pedro, Soubré, and 15 from Vavoua. Based on this, 37 out of the 51 isolates were positive for lecithinase, representing a proportion of 69.81%. Specifically, 22.64% of the samples from San Pedro were positive, 24.52% from Vavoua, and 22.64% from Soubré.

The bacterial load of the genus *Bacillus* (Table 1) in commercial beans of the Forastero variety ranged from 33 to 69×10^2 CFU/g in San Pedro and from 0 to 60×10^2 CFU/g in Vavoua. Among all the samples analyzed, the contamination of fermented beans in the cacao pod (F3) was more

pronounced in these two regions, with $69.7 \pm 5.259 \times 10^2$ CFU/g in San Pedro and $66.67 \pm 13.89 \times 10^2$ CFU/g in Vavoua, showing significant differences (Dunnett; $\alpha = 0.05$) compared to the control medium F1 ($33.3 \pm 18.9 \times 10^2$ CFU/g) in San Pedro and $42.42 \pm 10.50 \times 10^2$ CFU/g in Vavoua. Similarly, samples of the Mercedes variety taken in Soubré showed that fermented beans on F3 media ($106.06 \pm 10.50 \times 10^2$ CFU/g) were more contaminated with a significant difference ($P < 0.05$) compared to those on the control medium (F1, $42.42 \pm 10.50 \times 10^2$ CFU/g), with a higher bacterial population than that of the Forastero variety.

3.3 Fungal Contamination

3.3.1 Enumeration of fungal flora

Table 1 presents the level of fungal contamination in fermented and dried cacao beans. The total fungal colony count observed on

the cacao beans indicates a high level of contamination ($\times 10^2$ CFU/g). There is no significant difference in contamination levels from one area to another. The highest contamination was observed in beans fermented on F3 and F6 media across all three study areas, with significant differences compared to beans fermented on the control medium F1 (Dunnett; $\alpha = 0.05$). Specifically, in the San Pedro area, the fungal population was $30.3 \pm 3.19 \times 10^2$ CFU/g on F3, followed by F6 ($23.03 \pm 0.52 \times 10^2$ CFU/g) compared to $12.12 \pm 1.38 \times 10^2$ CFU/g on F1. A similar trend was observed in Vavoua, with a population of $22.42 \pm 1.38 \times 10^2$ CFU/g on F3 and $14.85 \pm 2.29 \times 10^2$ CFU/g on F6, compared to $6.97 \pm 1.05 \times 10^2$ CFU/g on F1. Beans of the Mercedes variety in Soubré also showed a higher degree of contamination on beans fermented on F3 ($26.06 \pm 1.38 \times 10^2$ CFU/g) and F6 ($11.21 \pm 1.89 \times 10^2$ CFU/g) compared to $5.76 \pm 1.38 \times 10^2$ CFU/g on F1.

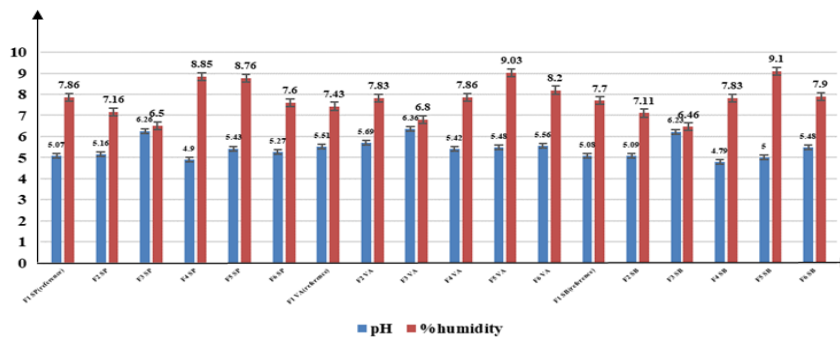


Fig. 3. Variation in pH and water content on different fermentation support
Banana leaves (control; F1); Palm leaves (F2); Cocoa pods (F3); Polypropylene sheeting (F4); Polypropylene bags (F5); Jute bags (F6); SP: San Pedro; VA: Vavoua and SB: Soubré

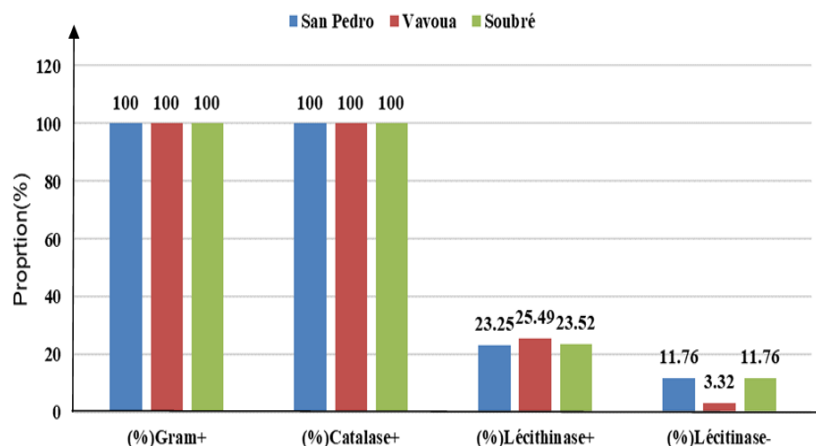


Fig. 4. Biochemical tests carried out on 51 isolates

Table 1. Contamination of fungal flora and *Bacillus bacteria* in spore form on dried cocoa beans

Supports	FF.(UFC/g)10 ²	<i>Bacillus</i> N(UFC/g)10 ²
F1 SP (Reference)	12,12 ± 1,38^a	33,30 ± 18,9^a
F2 SP	10,00 ± 2,73 ^a	48,48 ± 5,25
F3 SP	30,30 ± 3,19	69,70 ± 5,25
F4 SP	13,64 ± 0,00 ^a	63,64 ± 9,09
F5 SP	07,88 ± 1,38 ^a	63,60 ± 18,2
F6 SP	23,03 ± 0,52	60,61 ± 5,25
F1 VA (Reference)	07,88 ± 1,38^a	45,45 ± 9,09^a
F2 VA	06,97 ± 1,05 ^a	00, 00 ± 0,00
F3 VA	22,42 ± 1,38	66,67 ± 13,89 ^a
F4 VA	07,58 ± 1,38 ^a	63,64 ± 9,09 ^a
F5 VA	04,55 ± 0,90 ^a	60,61 ± 5,25 ^a
F6 VA	14,85 ± 2,29	48,48 ± 13,89 ^a
F1 SB (Reference)	05,76 ± 1,38^a	42,42 ± 10,50^a
F2 SB	04,85 ± 1,38 ^a	75,76 ± 13,89
F3 SB	26,06 ± 1,38	106,06 ± 10,50
F4 SB	06,36 ± 0,90 ^a	84,85 ± 5,25
F5 SB	05,15 ± 1,05 ^a	97,00 ± 22,9
F6 SB	11,21 ± 1,89	81,80 ± 39,6

Mean ± S.E.M = Mean values ± Standard error of means; FF: fungal flora

Banana leaves (control; F1); Palm leaves (F2); Cocoa pods (F3); Polypropylene sheeting (F4); Polypropylene bags (F5); Jute bags (F6); SP: San Pedro; VA: Vavoua and SB: Soubré

In the columns, the averages not labelled with the letter 'a' are significantly different from the control level average.

3.3.2 Mould species isolated and identified in cocoa powder

The study of macroscopic characteristics, such as color, colony appearance, and the underside of the plates, as well as microscopic characteristics, including the shape of the thallus and spores of the isolated fungal strains, allowed for the identification of the genera *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, and *Rhizomucor*. Using the identification key, strains of *Mucor* sp., *Rhizopus*, and *Rhizomucor pusillus* were identified. For the genus *Aspergillus*, the species *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, and *Aspergillus ochraceus* were detected. Table 2 presents some of the mold strains isolated from the different samples, observed under a microscope at a magnification of ×100.

3.3.3 Frequency of isolation of fungal species in market beans

In terms of diversity of isolated strains, no significant difference was observed between the cocoa bean samples analyzed in the three areas. In the San Pedro area, a total of 13 strains were isolated, of which nine were identified. In Vavoua, 11 strains were isolated, with seven identified. In contrast, the Soubré area recorded

a lower isolation frequency with the *Mercedes* variety, where a total of eight strains were isolated, all identified.

Fig. 5 presents a graphical representation of the contamination of commercial beans from different fermentation sources in the three study areas. In all study areas, the genus *Mucor* showed a higher dominance in the various analyzed samples, with a percentage ranging between 24% and 30% in San Pedro, between 29% and 41% in Vavoua, and between 19% and 54% in Soubré, where the *Mercedes* variety was slightly more dominant compared to the *Forasteros* variety beans.

For the genus *Aspergillus*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* had the highest contamination percentages in the three study areas. In the San Pedro area, *Aspergillus flavus* was more abundant on the control support F1 and support F5, at 21.95% and 20.51% respectively, while *Aspergillus niger* was observed in beans fermented on supports F4 (19.14%) and F2 (19.64%). In the Vavoua area, the population of *Aspergillus niger* was dominant in beans fermented on supports F1 (18.18%) and F4 (18.18%), while *Aspergillus fumigatus* was more abundant in beans fermented on supports F3

(21.56%) and F5 (20%). *Aspergillus flavus* was not identified in samples from the Vavoua area. However, in the Soubré area with *Mercedes* variety beans, *Aspergillus flavus* was identified with a higher population in beans fermented on supports F6 (16.88%) and F1 (15.25%). Conversely, *Aspergillus niger* was more prevalent in beans fermented on supports F1 (16.94%) and F3 (24.17%).

The species *Aspergillus ochraceus* was identified only in *Forastero* variety beans, specifically in beans fermented on supports F3 and F6, at 5.71% and 4.13% in San Pedro, and at 7.84% and 15.78% in Vavoua. Beans fermented on support F4 in Vavoua also showed the presence of *Aspergillus ochraceus*, but in a lower proportion, at 3.63%. No trace of *Aspergillus ochraceus* was observed in the Soubré area.

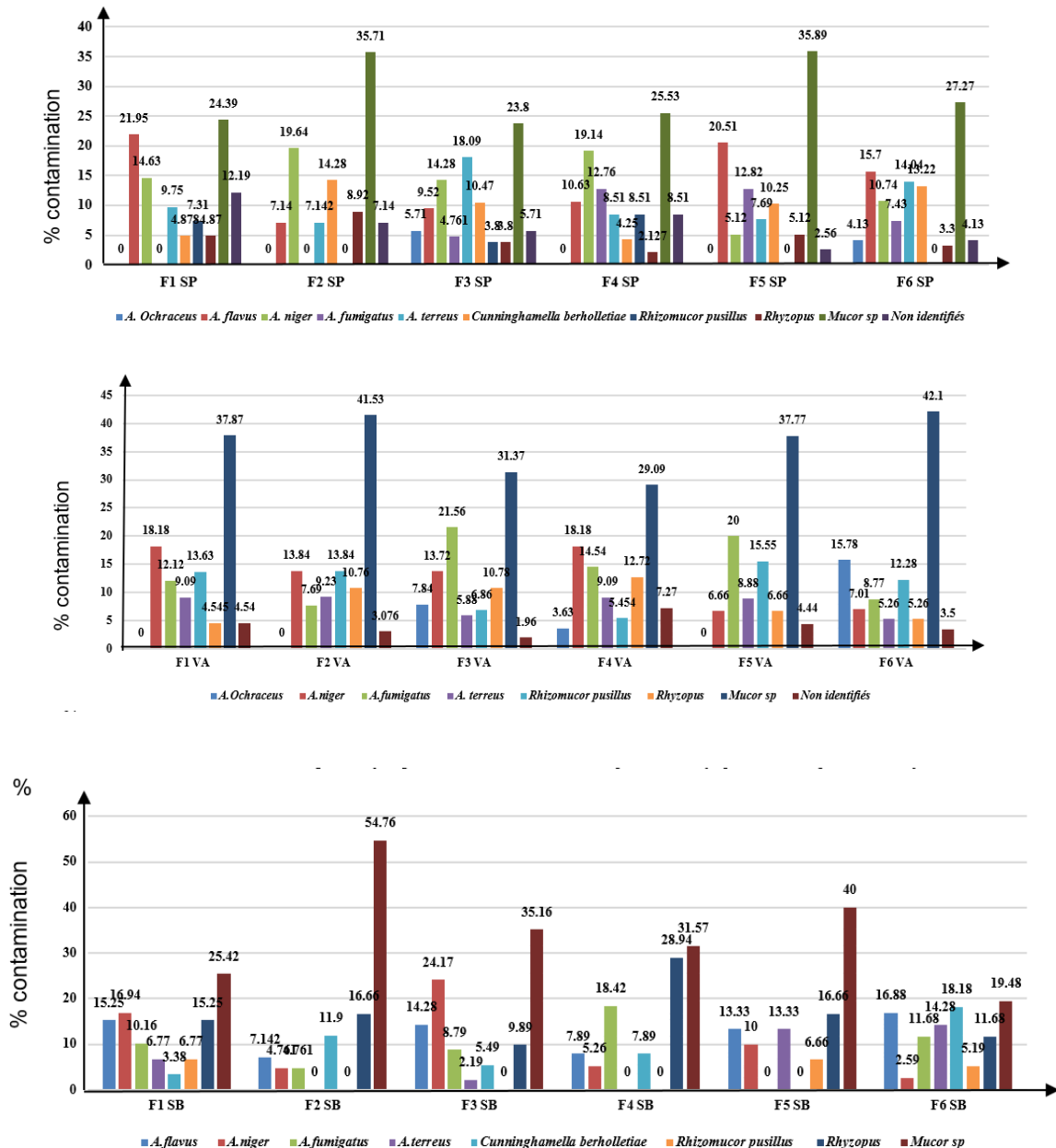
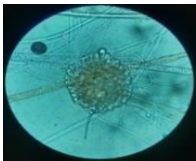
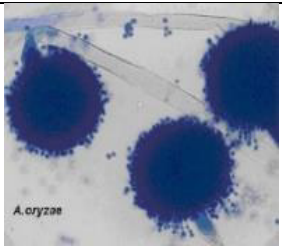
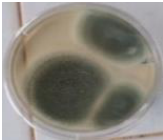
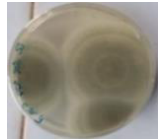
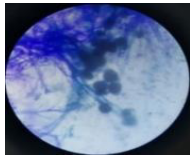
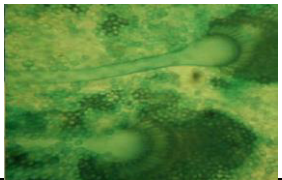
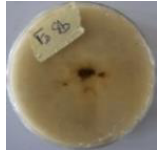
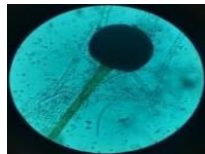
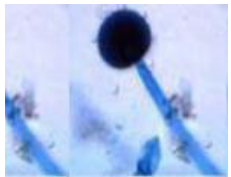
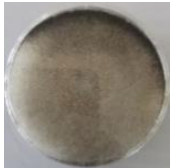
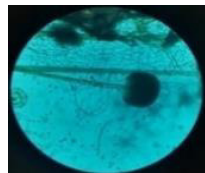
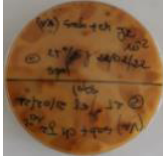
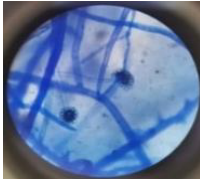
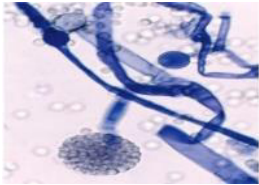
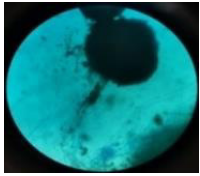
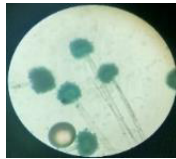
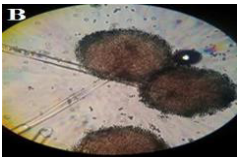
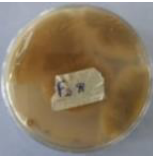
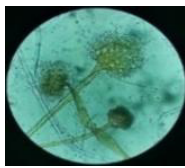
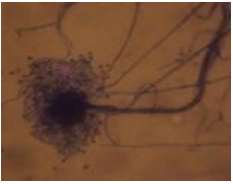


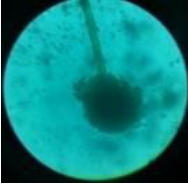
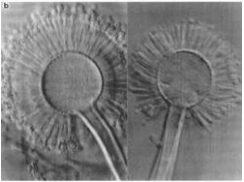
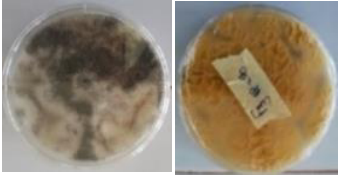
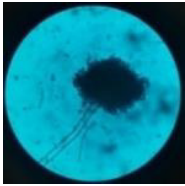
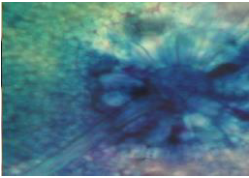
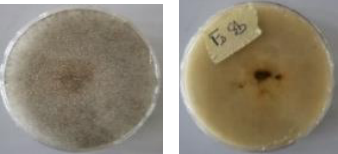
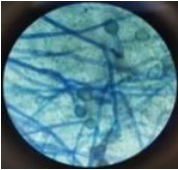
Fig. 5. Fungal flora isolated from fermented and dried cocoa beans

Banana leaves (control; F1); Palm leaves (F2); Cocoa pods (F3); Polypropylene sheeting (F4); Polypropylene bags (F5); Jute bags (F6); SP: San Pedro; VA: Vavoua and SB: Soubré

Table 2. Mould species isolated in cocoa powders

Species	Macroscopic aspects	Recto(R) & Verso(V)	Microscopic appearance x40	Description	Reference image
<i>Aspergillus flavus</i>	Colour: small green spot Appearance: powdery Reverse: no pigment	 		Hyphae septate; Conidiophore long, not septate, hyaline; Phiales directly inserted on the vesicle; Conidia globular, pale green, echinulate; Head aspergillate; uniseriate, radiate	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Rapid growth on Sabouraud chloramphenicol; downy appearance; green to blackish mycelium	 		Rapid growth on Sabouraud chloramphenicol; downy appearance; green to blackish mycelium	
<i>Mucor</i> sp	Blackish colour with a velvety, powdery appearance and water droplets on the surface. No pigment on reverse side	 		Conidia produced by phiales inserted at the dilated end of a wide, non-partitioned conidiophore.	
<i>Rhizopus</i> sp	Rapid growth on Sabouraud chloramphenicol; cottony colony; extensive, aerial mycelium of a whitish to greyish colour; white colour with a bulging cottony appearance. no pigment on the underside.	 		Presence of chlamydospores; sporocysts strangulated under the columella; smooth conidiophore ending in spores densely grouped at the tip.	

Species	Macroscopic aspects	Recto(R) & Verso(V)		Microscopic appearance x40	Description	Reference image
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	Rapid growth on Sabouraud chloramphenicol; cottony colony; extensive, aerial mycelium of a whitish to greyish colour; white colour with a bulging cottony appearance. no pigment on the underside.				Rhizoids and short sporocystophore with subterminal branching; after rupture of the sporocyst, a well-developed columella without apophysis is visible.	
<i>Aspergillus clavus</i>	Downy to powdery colonies, white at first then yellow and yellow-green. The underside is colourless..				Conidial head uniseriate, radiate, then divided into several columns of poorly individualised spores. The conidiophores are hyaline and verrucose. The vesicles are subglobose and the phiales are inserted directly onto the vesicle	
<i>Aspergillus-nigerr</i>	Colonies are black on the front, cottony white on the back and pale yellow. The growth is rapid and the shape is rode				Unpartitioned mycelium, the head bears numerous conidiophores, phiales formed on the vesicle..	
<i>Aspergillus terreus</i>	Black colony on front with white halo. The reverse side is grey. Rapid growth and round shape				Thallus with cloisonné mycelium, bearing numerous conidiophores not branched into vesicles; phiales formed directly on the vesicle or on millstones.	

Species	Macroscopic aspects	Recto(R) & Verso(V)	Microscopic appearance x40	Description	Reference image
<i>Aspergillus flavus</i>	Powdery colonies, white at first, then yellow or ochre-yellow to buff. The reverse of the colonies is colourless to pale yellow, growing rapidly.			Conidia produced by phiales inserted at the dilated end of a wide, unpartitioned conidiophore (aspergillate head arrangement).	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Colour: darker black Appearance: woolly Reverse: no pigment			Unpartitioned hyaline mycelium; short, erect, unbranched conidiophore; radiating aspergillate heads; conidia in diverging chains.	
<i>Rhizomucor pusillus</i>	Rapid growth on Sabouraud chloramphenicol; cottony colony; extensive, aerial, whitish to greyish mycelium.;			Branching sporocystophore ending in a columella projecting into the globular sporocyst	

4. DISCUSSION

Data on the hydrogen potential (pH) of cocoa beans after fermentation and drying revealed variations among the different samples analyzed, depending on the fermentation support. This variation may be attributed to a change in the biochemical heterogeneity of the cocoa beans during the fermentation process. Beans fermented on supports F1 (pH: 5.506 ± 0.02), F2 (pH: 5.69 ± 0.01), and F6 (pH: 5.56 ± 0.02) in the Vavoua region showed higher pH values after drying. However, these values are comparable to those reported by Romanens et al. [16]. However, all beans fermented on support F3 in the three areas, namely 6.26 ± 0.04 in San Pedro, 6.23 ± 0.04 in Soubré, and 6.36 ± 0.01 in Vavoua, were significantly different from those on the control support and were higher than 5.5, in accordance with the international Codex standard for cocoa (86-1981, Rev.1-2001). These results indicate that the cocoa variety does not impact the final pH of the dried beans. However, the high pH values observed in all beans from support F3 could also be explained by a relatively low fermentation temperature ($T < 40^\circ\text{C}$). According to Lashermes et al. [17], at temperatures below 40°C , dried beans are likely to develop more mold, as most molds prefer high moisture levels. Additionally, more or less acidic solutions could inhibit microorganism proliferation in the final product [18]. However, the values recorded on supports F2 and F6, as well as on control support F1 in Vavoua, might be explained by poor mixing, leading to heterogeneity in the beans.

The moisture content of commercial cocoa beans is crucial as an indicator of their preservation state and degree of contamination. It is essential to reduce this moisture to less than 8% during the drying process to prevent any spontaneous growth of molds and bacteria during transport and storage, as noted in the study by Niikoi et al. [19]. Overall, the moisture content of fermented and dried beans was below 8%, except for those fermented on supports F4 ($8.85 \pm 0.13\%$) and F5 ($8.76 \pm 0.20\%$) in San Pedro, F5 ($9.1 \pm 0.26\%$) in Soubré, and F5 ($9.03 \pm 0.15\%$) in Vavoua, which had values significantly higher than 8% compared to beans fermented on the control support (Fig. 3). These differences could be attributed to the design of these fermentation supports. Indeed, supports F4 and F5 are primarily made of polypropylene, an impermeable material that hinders juice drainage during fermentation while slowing down the

fermentation process. Our results are consistent with those obtained by Bankoff, et al. [20], who also reported moisture levels ranging from 7.53% to 8.10%. According to Calvo et al. [21] cocoa beans lose their moisture during fermentation due to the diffusion of moisture outward from the bean, and then during the turning process, facilitated by the low relative humidity of the atmosphere.

The evaluation of the fungal flora and *Bacillus* genus bacteria in crushed commercial cocoa beans showed results that varied from one fermentation support to another.

The load of *Bacillus* genus bacteria (Fig. 5) in commercial cocoa beans from the Forastero variety ranged between 33 and 69.10^2 CFU/g in San Pedro and between 0 and 60×10^2 CFU/g in Vavoua, which was lower than the contamination rate observed with Mercedes variety beans in the Soubré area, ranging between 42 and 106.10^2 CFU/g, with significant differences ($P < 0.05$). These observations of *Bacillus* contamination are generally related to the fact that these microorganisms are known to be abundant in soil. Furthermore, these microorganisms showed higher contamination in the later days of fermentation and could easily infiltrate the beans if they are broken. Their ability to be thermotolerant by forming spores indicates their presence in these beans.

Considering the contamination rate based on fermentation supports, among all fermentation supports, beans fermented in cacao pods (F3) were more contaminated than those from the control support and others, with a significant difference according to the Dunnett test. The results revealed a population of $69.7 \pm 5.259.10^2$ CFU/g in San Pedro, $66.67 \pm 13.89.10^2$ CFU/g in Vavoua, and $106.06 \pm 10.50.10^2$ CFU/g in Soubré. The higher contamination observed in beans fermented in cacao pods is likely related to the higher rates of damaged beans caused by elevated germination rates during fermentation, as well as the acidity of the final beans obtained after fermentation and drying.

Indeed, after the drying process, beans fermented inside the cacao pods generally reached a pH approaching 7 overall. According to the work of Merzougui et al. [22], pH has a significant influence on the thermal resistance of microorganisms. An acidic environment with a pH of 4 during treatment can lead to lower thermal resistance of spores compared to a

neutral environment. Experiments have shown that *B. cereus* spores were less resistant when the pH of sporulation was 5.5 compared to a pH of 7.

For the identification and characterization of *Bacillus cereus* colonies isolated from cocoa powder, a total of 51 colonies were isolated from all samples. Initially, we confirmed the genus *Bacillus* of our strains [23] by studying certain morphological and biochemical characteristics, including examining colony features (shape, appearance, and size) on 48-hour nutrient agar cultures. The results of the morphological characterization showed that the isolated strains were either short or long rods, either singly or in chains, with rounded ends. Gram staining revealed that all isolated colonies were Gram-positive bacilli. The biochemical study of the strains was based on catalase and lecithinase tests. Based on this, 37 out of the 51 isolates were positive for lecithinase, representing a proportion of 69.81%, with 23.52% from samples collected in San Pedro and Soubré.

In the Vavoua area, 25.49% of the isolates were positive for lecithinase. According to the Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, the previously described characteristics represent the typical traits of species belonging to the genus *Bacillus*, specifically *Bacillus cereus*. It has been observed that in the case of UHT (Ultra High Temperature) milk, the spores present can be activated by thermal shock, leading to their germination and the production of extracellular enzymes [24]. Indeed, according to Stenfors Arnesen et al. [25], spore-forming bacteria such as *Bacillus cereus* have been identified as responsible for food poisoning. Additionally, these bacteria can withstand high temperatures, including the major thermal treatments used in the food industry. However, the obtained load is significant. According to Stenfors Arnesen et al. [25], in the case of diarrheal foodborne illnesses, the quantity of pathogenic *B. cereus* cells or spores found in the implicated foods is generally equal to or greater than 10^5 CFU per gram or milliliter, and in very rare cases equal to or greater than 10^3 per gram or milliliter.

According to Schwan et al. [26], molds play a significant role in the ecology of cocoa beans during fermentation and have the ability to produce mycotoxins, compounds responsible for the unpleasant odor of cocoa. The evaluation of fungal contamination levels in commercial cocoa beans in this study revealed a real influence of

the fermentation support on fungal population growth. However, the differences in contamination rates from one area to another are not statistically significant. Nevertheless, among all supports analyzed in the three study areas, it appears that beans fermented on jute sack supports (F6) and inside cacao pods (F3) had higher contamination rates. In San Pedro, the levels were $23.03 \pm 0.52 \cdot 10^2$ CFU/g for F6 and $23.03 \pm 0.52 \cdot 10^2$ CFU/g for F3, in Vavoua with F3 ($22.42 \pm 1.38 \cdot 10^2$ CFU/g) and F6 ($14.85 \pm 2.29 \cdot 10^2$ CFU/g), and in Soubré where contamination was more pronounced in beans fermented on support F3 ($26.06 \pm 1.38 \cdot 10^2$ CFU/g).

The higher mold population observed on support F6 in all study areas could be explained by the nature of the support itself. Indeed, these supports (jute sacks) are primarily containers that have been used to store dried cocoa beans and transported over long distances, sometimes on dusty roads during the dry season or muddy roads during the rainy season. All these conditions could favor pre-existing contamination of these sacks even before the fermentation process begins. According to Benyagoub et al. [27], some fungi with a sexual reproduction mode can easily colonize food products when storage conditions are not optimal. Additionally, during fermentation, white mold spots were observed as early as the 4th day on beans that were fermented with all the jute sacks.

Regarding the beans fermented inside cacao pods, the observed level of contamination seems to be directly related to the percentage of sprouted and moldy beans exceeding 3%, as observed during the cutting test in previous studies. Our results are similar to those of Yao et al. [28], who recorded fungal contamination of cocoa beans at $5.8 \cdot 10^3$ CFU/g in Alépé, $2.7 \cdot 10^3$ CFU/g in Duékoué, and $1.7 \cdot 10^3$ CFU/g in Soubré. However, our results are significantly lower than those of Mounjouenpou et al. [29], who, in studies conducted during the 2007 cocoa season in Cameroon, observed a maximum mold population ranging from $2.02 \pm 1.3 \cdot 10^4$ to $1.72 \pm 0.10 \cdot 10^8$ CFU/g. This disparity may be influenced by various factors such as climatic conditions, storage (humidity, temperature, and ventilation system), and the presence of a significant fungal load, which can lead to qualitative and quantitative changes in the microflora (Le Bars, 1987). Nevertheless, despite this contamination, our results suggest that the commercial beans analyzed in this study meet quality criteria and do

not pose a health risk. Indeed, according to Gourama et al.[30], the mold load in commercial bean samples should be below 10^6 CFU/g.

The main molds isolated and identified in this study are *Mucor* species (the majority), *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus*, and the *Aspergillus* genus, which includes *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, and *Aspergillus ochraceus*. These identified molds are consistent with those already reported in the literature regarding cocoa beans [29], [31]. The presence of *Aspergillus flavus*, black *Aspergillus* species (*A. carbonarius* and *A. niger*), and especially *A. ochraceus*, indicates a risk of mycotoxin production. Furthermore, among the assessed fungal flora, *Aspergillus niger* was observed in beans fermented on supports F4 (19.14%) and F2 (19.64%) in San Pedro, on support F1 (18.18%) and F4 (18.18%) in Vavoua, and on support F1 (16.94%) and F3 (24.17%) in Soubré. *Aspergillus flavus* was identified in beans fermented on supports F1 (21.95%) and F5 (20.51%) in San Pedro, and in beans fermented on supports F1 (15.25%), F3 (14.28%), F6 (16.88%), and F5 (13.33%) in Soubré. Conversely, *Aspergillus ochraceus* was identified only in *Forasteros* variety beans, specifically in beans fermented on supports F3 (5.71%) and F6 (4.13%) in San Pedro, and in Vavoua with F6 (15.78%) and F3 (7.84%).

This disparity may be attributed to climatic conditions, storage factors (humidity, temperature, and ventilation system), soil organic matter composition, soil texture, and pH [32]. According to Gwladys and Tap (2004), *A. ochraceus* and *A. niger* are potentially capable of producing ochratoxin A (OTA). The high contamination observed in beans fermented inside cacao pods (F3) could result from the fact that when pods are partially open, cocoa beans come into direct contact with the air and soil, which are potential sources of *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus*. Additionally, the final pH of commercial beans, ranging from 5 to 6, promotes mold proliferation, along with a high germination rate in the beans during fermentation, which exceeds 3%. According to Duron (1999), fungi can proliferate in environments with a pH ranging from 3 to 8, with optimal growth observed between 5 and 6. The contamination rate observed in beans fermented on support F6 after fermentation and drying is likely related to visible white mold contamination observed on the bean shells before drying. Withlow et al. (2001) also demonstrated that

Aspergillus, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Absidia*, and *Rhizopus* are indigenous strains typically isolated from most field and soil environments.

Our results show differences compared to those of de [15], who observed higher contamination rates in cocoa bean samples from Soubré and Yamoussoukro. They reported that 78.91% of the contaminations were due to *Mucor* species, 54.05% to *Aspergillus*, 30.4% to *Penicillium*, and 21.81% to the *Fusarium* genus.

5. CONCLUSION

At the end of the drying process, the influence of cocoa variety on the physico-chemical characteristics of the final beans was not observed. However, in the three study areas, beans fermented in the cocoa pods exhibited pH and moisture content values that were higher than those defined by standards. Additionally, beans fermented on polypropylene sacks also showed elevated pH and moisture content values. The assessment of the microbiological quality of cocoa beans fermented on different substrates revealed significant diversity in contamination by populations of spore-forming *Bacillus* bacteria and fungal flora. Spore-forming *Bacillus* bacteria were more frequently detected in beans of the Mercedes variety compared to the *Forasteros* variety. This trend was more pronounced in beans fermented inside cocoa pods for both varieties. Furthermore, although there was no significant difference in fungal contamination levels between the two varieties, contamination was higher in beans fermented on jute sacks and in cocoa pods. Identification of the fungal flora revealed a significant predominance of *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus niger* species in beans fermented on jute sacks and in cocoa pods compared to the other group. Thus, the detection of spore-forming *Bacillus* bacteria and molds such as *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus niger*, which produce ochratoxin A (OTA), in cocoa beans fermented inside cocoa pods and on jute sacks presents a risk to their quality and safety.

DISCLAIMER (ARTIFICIAL INTELLIGENCE)

Author(s) hereby declare that NO generative AI technologies such as Large Language Models (ChatGPT, COPILOT, etc) and text-to-image generators have been used during writing or editing of manuscripts.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was made possible through the close collaboration between the authors, cocoa producers, and the ECOOPAS cooperatives. The authors particularly thank Mr. N'GUESSAN Daniel, head of the ECOOPAS cooperative, as well as the cocoa producers in the Bas-Sassandra, Nawa, and Haut-Sassandra regions. We also express our sincere gratitude to all the members of the agro-valorization laboratory at Jean Lorougnon Guédé University for their technical and scientific support.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

- Schwan RF et Wheals AE. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2004;44(4):205-221. DOI: 10.1080/10408690490464104.
- Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, et Vieira J. Comparison of rheological models for determining dark chocolate viscosity. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2009;44(1): 162-167. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2008.01710.x.
- Hidaka H, Adachi T, et Hirayama M. Development and beneficial effects of fructo-oligosaccharides (Neosugar®) », in *Advanced Dietary Fibre Technology*, John Wiley & Sons, Ltd. 2000;471-479. DOI: 10.1002/9780470999615.ch40
- Oomes SJCM, van Zuijlen ACM, Hehenkamp JO, Witsenboer H, van der Vossen JMBM, et Brul S. Caractérisation des spores de *Bacillus* présentes dans la fabrication de produits en conserve (à faible acidité) », *Int. J. Food Microbiol.* 2007;120(1):85-94. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.013.
- Abbas AA, Planchon S, Jobin M, et Schmitt P. L'absence d'oxygène affecte la capacité de sporulation et les propriétés des spores de *Bacillus cereus*. *Food Microbiol.* sept. 2014; 42:122-131, DOI: 10.1016/j.fm.2014.03.004.
- Magan N. et D. Aldred. Conditions of formation of ochratoxin A in drying, transport and in different commodities », *Food Addit. Contam.* 2005;22(sup1): 10-16. DOI: 10.1080/02652030500412154.
- P. Bastide et al. Identification of ochratoxin a sources during cocoa post-harvest processing: Influence of harvest quality and climatic factors », 15th International Cocoa Research Conference: Cocoa productivity, quality, profitability, human health and the environment. Consulté le: 4 juillet. [En ligne]. Disponible sur; 2004 Available:https://agritrop.cirad.fr/553834/
- Bhat RV, et Vasanthi S. Mycotoxin food safety risk in developing countries .
- Brera C, Caputi R, Miraglia M, Iavicoli I, Salerno A, et Carelli G. Exposure assessment to mycotoxins in workplaces: Aflatoxins and ochratoxin A occurrence in airborne dusts and human sera, *Microchem. J.* 2002;73(1): 167-173. DOI: 10.1016/S0026-265X(02)00061-9.
- Manda P. Impact of industrial treatments on ochratoxin A content in artificially contaminated cocoa beans », *Food Addit. Contam. Part A.*, juill. 2009;26(7): 1081-1088. DOI: 10.1080/02652030902894397.
- Akmel DC. Comparison of post-harvest practices of the individual farmers and the farmers in cooperative of Côte d'Ivoire and Statistical Identification of Modalities Responsible of Non-quality », *J. Food Res.* 2016;5(6):102. DOI: 10.5539/jfr.v5n6p102.
- Wysocki J. ACE2 deficiency increases NADPH-mediated oxidative stress in the kidney », *Physiol. Rep.* 2014;2(3):e00264. DOI: 10.1002/phy2.264.
- Guiraud P, Villemain D, Kadri M, Bordjiba O, Steiman R. Capacité de biodégradation d' *Absidia fusca* Linnemann vis-à-vis des polluants environnementaux », *Chemosphere.* juill. 2003;52(4):663-671. DOI: 10.1016/S0045-6535(03)00229-7.
- Verscheure M, Lognay G, Marlier M. Revue bibliographique: les methodes chimiques d'identification et de classification des champignons. », *Biotechnol. Agron. Société Environ.*, , Consulté le: 5 juillet 2024. [En ligne]. Disponible sur: 2024;6(3):2002 Available:https://orbi.uliege.be/handle/2268 /87446

15. Yapo-Kouadio CG, Hasseine L, Goubaux B, et Gari-Toussaint M. Infection fongique disséminée à *Magnusiomyces capitatus* chez un patient transplanté hépatique », J. Mycol. Médicale. 2016;26(n° 3):261-264. DOI: 10.1016/j.mycmed.2016.05.002.
16. Romanens E. Screening of lactic acid bacteria and yeast strains to select adapted anti-fungal co-cultures for cocoa bean fermentation », Int. J. Food Microbiol. 2019;290:262-272.
17. Lashermes P, Couturon E, Moreau N, Paillard M, et Louarn J. Inheritance and genetic mapping of self-incompatibility in *Coffea canephora* Pierre. Theor. Appl. Genet., août. 1996 ;93(n° 3) :458-462 DOI: 10.1007/BF00223190.
18. Gning Cisse N. Ecologie trophique des juvéniles de quatre espèces de poissons dans l'estuaire inverse du Sine-Saloum (Sénégal): influence des conditions de salinité contrastées », 2008, Consulté le: 4 juillet 2024. [En ligne]. Disponible sur: Available :<https://agris.fao.org/search/en/providers/122415/records/6473689553aa8c89630d4cd9>
19. Niikoi Kotey R. Effects of fermentation periods and drying methods on postharvest quality of cocoa (*Theobroma Cacao*) Beans in Ghana », J. Food Qual. 2022;1-14. DOI: 10.1155/2022/7871543
20. Bankoff L, Ouattara GH, Karou TG, Guehi ST, Nemlin JG, et Diopoh JK. Impacts de la fermentation du cacao sur la croissance de la flore microbienne et la qualité des fèves marchandes », Agron. Afr. 2013;25(n° 2):159-170.
21. Calvo AM, Botina BL, García MC, Cardona WA, Montenegro AC, et Criollo J. Dynamics of cocoa fermentation and its effect on quality », Sci. Rep. 2021;11(n° 1):16746, août. DOI: 10.1038/s41598-021-95703-2.
22. Merzougui B, Hachimi A, Akinpelu A, Bukola S, et Shao M. A Pt-free catalyst for oxygen reduction reaction based on Fe–N multiwalled carbon nanotube composites », Electrochimica Acta. 2013;107:126-132. DOI: 10.1016/j.electacta.2013.06.016.
23. Watanabe K, et Hayano K. Distribution and identification of proteolytic *Bacillus* spp. in paddy field soil under rice cultivation », Can. J. Microbiol. juill. 1993;39(n° 7):674-680. DOI: 10.1139/m93-097.
24. Chen H, Ullah J, et Jia J. Progress in *Bacillus subtilis* spore surface display technology towards environment, vaccine development, and biocatalysis. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. Juin. 2017;27(n° 3):159-167 DOI: 10.1159/000475177.
25. Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, et Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins », FEMS Microbiol. Rev., juill. 2008;32(n° 4):579-606. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x.
26. Schwan RF, et Wheals AE. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality », Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2004 ;44(n° 4):205-221, 2004.
27. Benyagoub E, Nahalbouderba N, Abdallah M, Amrouche AI, Hamadi Abderrahmane L, et Snoussi M. Effets des paramètres physicochimiques sur la contamination fongique et mycotoxique dans le blé tendre français commercialisé en Algérie Physicochemical factors' effect on fungal and mycotoxical contamination of french soft wheat marketed in Algeria. janv. 2012 ;4(N° 120802),
28. Yao W, Ouattara HG, Goualie B, Soumahoro S, et Niamke S. Analysis of some functional properties of acetic acid bacteria involved in Ivorian cocoa fermentation », J. Appl. Biosci. Avr. 2014;75:6282-6290. DOI: 10.4314/jab.v75i1.13.
29. Mounjouenpou P, Ngono Eyenga SNN, Kamsu EJ, Bongseh Kari P, Ehabe EE, et R Ndjouenkeu. Effet de l'enrichissement avec de la farine de pulpe de baobab (*Adansonia digitata* L.) sur l'acceptabilité sensorielle et la composition nutritionnelle des biscuits de riz », Sci. Afr. 2018;1:e00002. DOI: 10.1016/j.sciaf.2018.e00002.
30. Gourama H. Bullerman LB. *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*: Champignons aflatoxigènes préoccupants dans les aliments et les aliments pour animaux†: Une critique », J. Food Prot., vol. 58, n° 12, p. 1395-1404, déc. 1995, DOI: 10.4315/0362-028X-58.12.1395.

31. Guehi TS, Konan YM, Koffi-Nevry R, Yao ND, et Manizan NP. Enumeration and Identification of Main Fungal Isolates and Evaluation of Fermentation's Degree of Ivorian Raw Cocoa Beans », Appl Sci Res; 2007.
32. Subler S, et Kirsch AS. Spring dynamics of soil carbon, nitrogen, and microbial activity in earthworm middens in a no-till cornfield », Biol. Fertil. Soils. févr. 1998;26(n° 3):243-249.
DOI: 10.1007/s003740050374.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of the publisher and/or the editor(s). This publisher and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

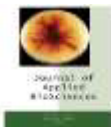
© Copyright (2024): Author(s). The licensee is the journal publisher. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:

The peer review history for this paper can be accessed here:

<https://www.sdiarticle5.com/review-history/122292>

PUBLICATION 3



Impact of new fermentation supports on the physico-chemical quality of Mercedes cocoa beans (*Theobroma cacao* L.1753) grown at Soubré in the NAWA region.

Kouakou Ahossi KONAN^{*1}, Ibourahema COULIBALY¹, Anauma Casimir KOKO¹, Kra Athanase KOUASSI¹, Ibrahim KONANTE¹

Biochemistry-Microbiology Department, Agro valorisation Laboratory, Jean Lorougnon GUEDE University, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

E-mail addresses: konankouakouahossi@gmail.com

Submission 11th July 2024. Published online at <https://www.m.elewa.org/Journals/> on 30th September 2024.
<https://doi.org/10.35759/JABs.200.2>

ABSTRACT

Objective: The cocoa bean fermentation process is a crucial step for obtaining quality beans. This study aims to evaluate the impact of six fermentation supports: banana leaves (control), palm leaves, cocoa pods, tarpaulins, polypropylene bags, and jute bags on the quality of Mercedes variety cocoa beans in Côte d'Ivoire.

Methodology and Results: Fermentation lasted six days on six different supports at the same producer's site. The analyses monitored temperature and pH variations. The results show that, except for beans fermented in cocoa pods, those on banana leaves, palm leaves, tarpaulins, polypropylene bags, and jute bags maintained a fermentation temperature above 45°C and an acidic pH between 2 and 6. After drying, beans fermented in cocoa pods exhibited higher proportions of mouldy and germinated beans, exceeding 3%, with a high pH of 6.23±0.04.

Conclusion and Application of Results: Monitoring the fermentation allowed the evaluation of temperature and pH conditions for each support. After drying, principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering analysis (HCA) performed with R and Minitab 18 software, integrating all physicochemical parameters, reveal that beans fermented on palm leaves and jute bags have similar compositions to those fermented on banana leaves. Additionally, these supports are available, accessible, economical, and less labour-intensive. It follows that palm leaves and jute bags could be the best alternatives to banana leaves for maintaining cocoa bean quality in Côte d'Ivoire.

Keywords: Cocoa, Fermentation, Temperature, Support, pH, Quality.

INTRODUCTION

The cocoa tree (*Theobroma cacao* L.) was introduced to Côte d'Ivoire in the late 19th century, specifically in its Eastern region (Bastide, 2007; Kouakou *et al.*, 2013). Despite challenging beginnings, cocoa cultivation, which has become emblematic of

Côte d'Ivoire, quickly thrived, benefiting from the availability of fertile land in the forested area as well as a significant influx of labour from both within and outside the country (UN-REDD, 2016; Koua *et al.*, 2018). With an annual production of 2,230

million tonnes, representing 42.22% of global production during the 2022-2023 campaign, Côte d'Ivoire remains the world's leading cocoa producer (ICCO, 2023). Three main varieties, namely Criollo, Forastero, and Trinitario, are traditionally cultivated globally (Bartley, 2005). Recently, scientific advancements have allowed for the creation of new clones and hybrids through genetic crosses, including hybrids such as Catongo, SNK.10, UPA 134, LCS95, as well as a recently developed variety named "Mercedes." This latter variety was introduced in response to the observed aging phenomenon in older cocoa varieties in Côte d'Ivoire (Djocgoue *et al.*, 2007; Karim *et al.*, 2020). However, the technological transformation of cocoa into commercial beans is lengthy and requires a primary post-harvest handling process (Thompson *et al.*, 2001); with fermentation being, the most critical stage (Beckett, 2009). One of the problems often faced by Ivorian producers is the significant presence of slaty beans and mouldy beans, attributable to improper fermentation and drying processes (Kouakou *et al.*, 2013). Banana trees, known for their leaves offering the best commercial,

microbiological, and organoleptic qualities of cocoa beans, are commonly grown in association with cocoa trees (Barel, 2013). However, in recent decades, banana trees have encountered limitations. Climate variations, soil degradation, and the shading progression of cocoa trees after about five years of cultivation have led to a gradual decline in banana trees (*Musa* sp). As an alternative, producers are turning to the use of plastic tarps and wooden boxes. Unfortunately, research has shown that beans from these fermentation substrates were categorized as utilizing methods with low uniformity, with the presence of defective beans and a deterioration in commercial, microbiological, and organoleptic quality (Guehi *et al.*, 2010). Thus, producers, always seeking substrates capable of ensuring better cocoa bean quality, are now turning to fermentation substrates without evaluating the resulting bean quality. This research work was designed to evaluate the commercial quality of Mercedes variety cocoa beans in the Soubré region for each fermentation substrate, in order to select the best ones in comparison to banana leaves.

MATERIAL AND METHODS

Material: The biological material consists of cocoa beans during fermentation (Figure 1a) and fermented and dried beans (Figure 1b)

from different fermentation processes of cocoa beans of the hybrid variety proposed by CNRA/Divo "Mercedes" for the Soubré area.



Figure 1: Types of samples collected from each fermentation substrate
a: beans in fermentation b: fermented and dried beans

Post-harvest procedures: The post-harvest handling process leading to the production of fermented and dried cocoa beans was carried out according to the sequential steps: pod breaking-fermentation-drying.

Husking and Fermentation: Pod breaking was carried out using knives three days after harvest with 4000 pods, mainly under rural conditions using knives and clubs. Fermentation trials of 250 kg of fresh beans

or 1000 cocoa pods without separating the beans from the placenta were conducted at the same producer's site using six substrates: banana leaves (Control); palm leaves; cocoa pods; polypropylene tarpaulin; polypropylene bags; and jute bags. The industrial protocol was followed (144 hours or 6 days of fermentation with stirring intervals of 48 hours, 96 hours, and 120 hours), except for cocoa pods.

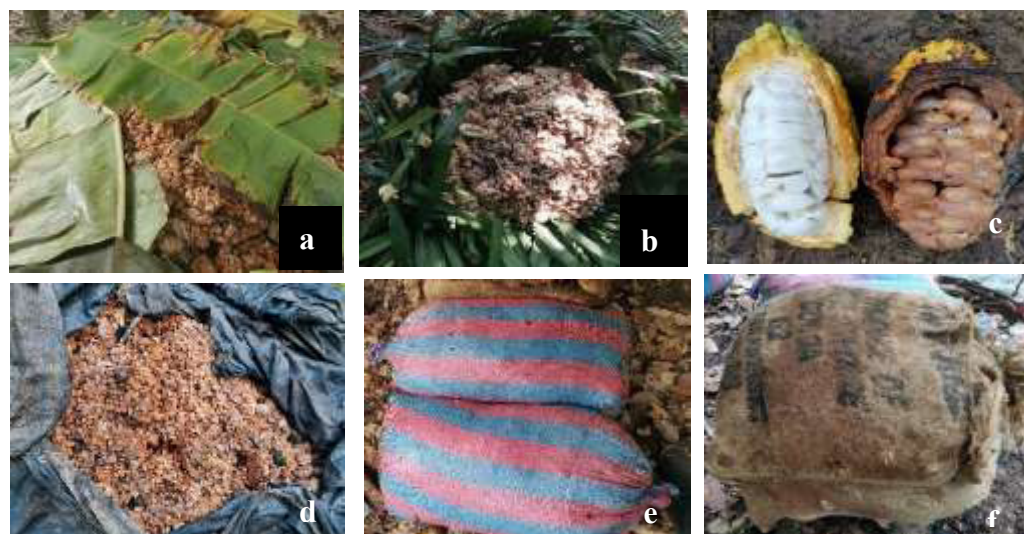


Figure 2: Different fermentation supports

a: Banana leaves (control); b: Palm leaves; c: Cocoa pods; d: Polypropylene tarp; e: Polypropylene bags; f: Jute bags.

Drying: The drying of all beans from various fermentation substrates was carried out in a thin layer on polypropylene tarps, commonly used by buyers or cooperative agents to store dried beans before transporting them to the factory. The daily drying duration was 7 hours, taking place from 9:00 a.m. to 4:00 p.m.

Sampling: After drying, a quantity of 2 kg of dried beans was collected from each fermentation substrate for the various analyses. The samples were then transported to the agro-valorization laboratory at Jean Lorougnon Guédé University (Côte d'Ivoire) for further analysis. These dried beans were shelled, finely ground (using an IKA A11 basic mill; Germany), and placed in 100 g

containers, then stored at a temperature of -80°C for further analysis.

Determination of fermentation pH and temperature: Temperature and pH were monitored during the six days of fermentation using a thermometer and a pH meter, early in the morning (between 6 a.m. and 8 a.m.). The thermometer was powered on for 15 minutes beforehand. Then, the probe was immersed into the mass to a depth of 20 cm, and the value was recorded after a 2-minute stabilization period. pH was measured according to ICCO Method No. 9 (1963) using a pH meter equipped with a combined glass electrode (Hanna Instrument, Romania) (Hii *et al.*, 2009).

Physical and Chemical Characteristics of the Final Product: The moisture content was assessed by measuring 500 grams of beans from each fermentation substrate using a mini GAC (Dickey John multigrain), following the method of Lainé (2001). The water activity of the samples was measured using an aw-meter (AQUA LAB). The pH was determined according to the AOAC method (2005). The ash content (total mineral salts) was evaluated according to the AOAC method (1995). The grading of cocoa beans after drying was determined by counting the number of healthy and normal beans per 100 grams weighed, following ISO 1114 (1977) standard. The percentage of husk was determined according to AOAC methods 968.10 and 970.23 (AOAC, 1972). The level and degree of fermentation (cut test) were assessed according to the method of Efraim *et al.* (2010). Additionally, the cut test score was calculated using the equation by Hii *et al.*

(2011): Cut test score = (10 x % brown) + (5 x % purple/brown) + (0 x % purple and slaty). The yield obtained from 250 kg of raw beans put into fermentation was determined after drying using the following equation: yield = [(fermented beans - dried beans) / 250] x 100. Three trials were conducted per sample. The evaluation of the fermentation index was carried out according to the method of Gourieva K.B & Tserevitinov OB (1979), revised by Misnawi (2008).

Statistical Analysis: The MINITAB.18 software was used for variance analysis (DUNNETT) and Hierarchical Ascending Classification (HAC) to compare the data of fermented beans on different supports with those of the control support. Principal component analyses (PCA) were performed in addition to hierarchical cluster analysis (HCA) using the R software (version 4.0.2, R Development Core Team, Boston, USA).

RESULTS

Influence of different substrates on fermentation temperature and pH: The fermentation temperature and pH had the same profile across all fermentation substrates with a variation from 26 to 46 °C and from 2 to 6 during the six days of fermentation. However, before mixing, the temperature gradually increased and reached the highest values in palm leaves (38.60 ± 0.69 °C) and polypropylene sheets (37.40 ± 1.51 °C), while it was, lower in cocoa pods (31.83 ± 0.76 °C). The pH remained acidic

with values below 3 across all substrates. After mixing, a more pronounced increase in temperature and pH was also observed, reaching its maximum with fermenting beans on banana leaves (control) at 46.73 ± 0.25 °C and 6.38 ± 0.03, followed by those on palm leaves (46.67 ± 1.52 °C; 6.21 ± 0.01) and polypropylene sheets (46.50 ± 0.50 °C; 4.81 ± 0.15) on day 4 of fermentation. The temperature remained below 38°C with a pH between 3 and 4 during fermentation.

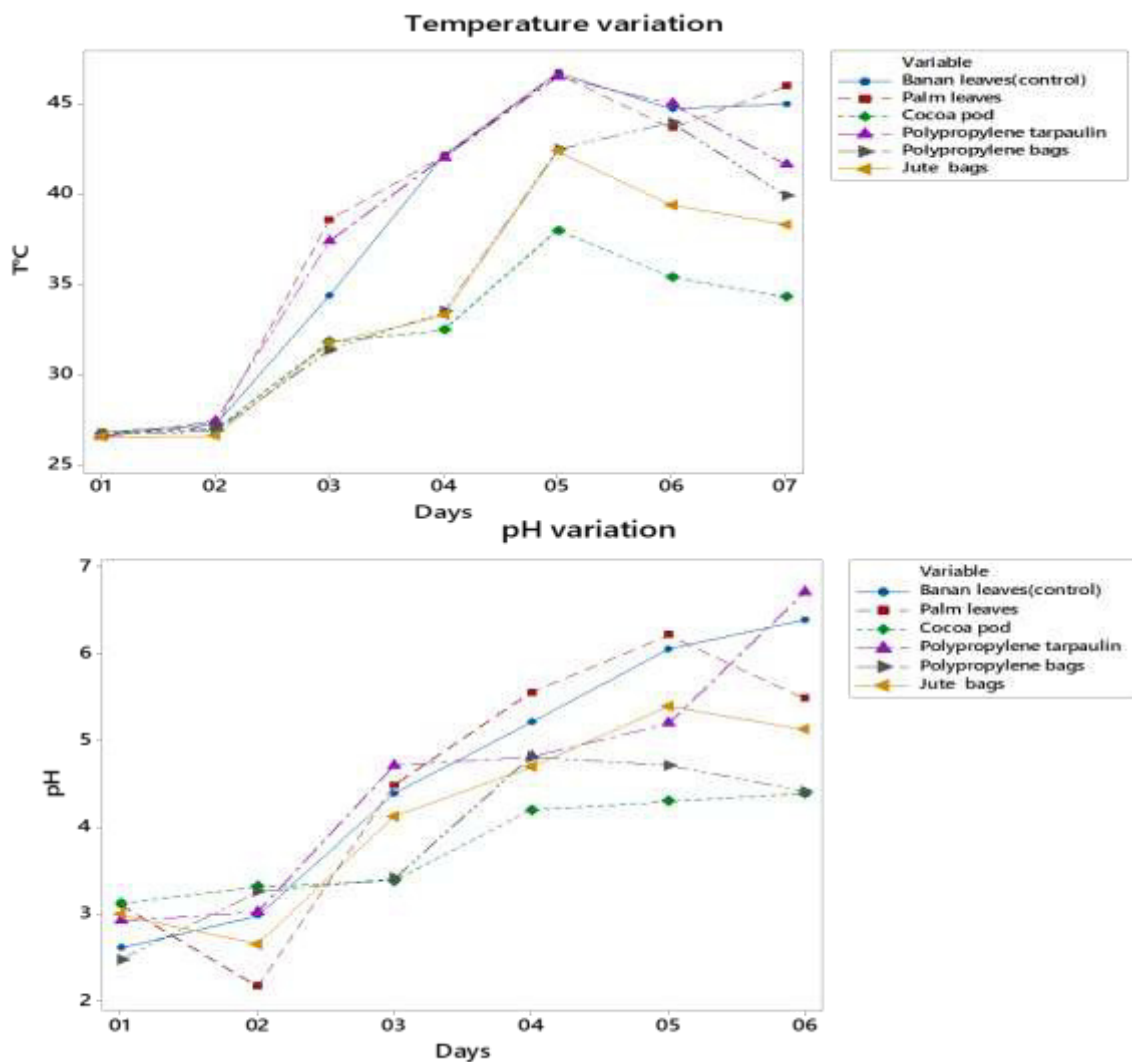


Figure 3: Variation of temperature and pH during fermentation

Physico-chemical composition of fermented and dried beans: The observed variations in temperature and pH parameters caused significant changes, both external and internal, in the final cocoa beans. Table 1 reveals that among all the fermentation substrates studied, the pH of the dried beans varied from 4 to 6, with significant differences ($P < 0.05$). Overall, all beans recorded a pH below the threshold value of 5.5, except for those fermented in cocoa pods (6.23 ± 0.04). However, variance analyses (Dunnett, $\alpha=0.05$) showed that the beans fermented on palm leaves (5.09 ± 0.01) had a pH closer to that of the control (5.08 ± 0.01),

with no significant difference ($P = 0.0001$). Regarding moisture content, it showed variable values from one substrate to another, ranging from 6.5 to 8.85% with significant differences ($P < 0.05$). The beans fermented on polypropylene bags had a higher moisture content in the final beans, 9.1 ± 0.26 , significantly higher than those on the control substrate (7.7 ± 0.36). Furthermore, the variation in fermentation substrates did not cause a significant difference in the final beans' water activity (0.43 ± 0.00 and 0.59 ± 0.13), ash content (2.46 to 2.84), or the bean count (75 to 80 beans per 100 grams) compared to the beans fermented on banana

leaves (control) according to Dunnett's test at $\alpha=0.05$. The shell percentage ranged from 9 to 12% with a significant difference (Dunnett's test; $\alpha = 0.05$). The beans fermented on polypropylene sheets recorded a higher shell percentage, $12.17 \pm 4.79\%$, compared to those in cocoa pods, which were

lower ($9.76 \pm 6.36\%$). However, the highest values were recorded with the beans fermented on polypropylene sheets ($12.17 \pm 4.79\%$). Finally, the yield of the final product ranged between 52% and 60%. The beans fermented on banana leaves showed the highest yield, at 60%.

Table 1: Physico-chemical composition of fermented and dried beans

Supports	pH	% water content	water activity	% Ash	seed	% hull	yield
Banana leaves (control)	5.08 ± 0.01^a	7.7 ± 0.36^a	0.52 ± 0.07^a	2.84 ± 0.03^a	75.33 ± 1.15^a	11.22 ± 5.08^a	60
palm leaves	5.09 ± 0.01^a	7.11 ± 0.81^a	0.56 ± 0.10^a	2.67 ± 0.2^a	76.00 ± 0.00^a	11.09 ± 5.09^a	52
cocoa pod	6.23 ± 0.04	6.46 ± 0.23	0.49 ± 0.09^a	2.56 ± 0.26^a	77.00 ± 2.64^a	9.76 ± 6.36	52
polyp tarpaulin	4.79 ± 0.06	7.83 ± 0.66^a	0.59 ± 0.13^a	2.76 ± 0.14^a	79.00 ± 20.00^a	12.17 ± 4.79^a	56
Polyp bags	5 ± 0.01	9.1 ± 0.26	0.49 ± 0.05^a	2.51 ± 0.09^a	80.00 ± 4.58^a	11.93 ± 50^a	56
Jute bags	5.48 ± 0.04	7.9 ± 0.4^a	0.49 ± 0.04^a	2.46 ± 0.58^a	76.66 ± 2.51^a	11.57 ± 5.48^a	56

For each component, the means $\pm$ standard deviations. Means not labelled with the letter "a" are significantly different from the mean of the control level at a threshold of $p \leq 0.05$ according to the DUNNETT test.

Degree of fermentation and level of bean degradation (Cut-test) as a function of fermentation substrate: The results of the parameters evaluated during the cutting test revealed significant differences ($P < 0.05$) (see Table 2). Overall, beans fermented inside cocoa pods showed the lowest proportion of fully brown beans, at $85.33 \pm 0.57\%$, compared to a proportion ranging between 93% and 98% for other substrates,

with significant differences compared to the control substrate (Dunnett test; $\alpha = 0.05$). Additionally, these beans recorded a higher percentage of violet beans, reaching $6.67 \pm 0.57\%$, with significant differences compared to beans showing signs of germination and mould exceeding 3%. The cutting test score was also lower for these beans, at 886.667 ± 7.6 , with a fermentation index below 1.

Table 2: Analysis of the cut-test and fermentation index

Supports	Moisture content	purple	Slate	sprouted	Sprouted	Mite	Mouldy	broad beans	IF	Score Cut test	Grade
Banana leaves (control)	93,33 ^a ±3,05	5,33 ±1,52 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00 ^a	1,42 ±0,04 ^a	960,00 ± 22,91 ^a	I
palm leaves	95,00 ±1,00 ^a	4,66 ±0,57 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,33 ±0,57 ^a	0,00 ±0,00 ^a	1,60 ±0,14 ^a	973,33 ± 12,58 ^a	I
cocoa pod	85,33 ±0,57	6,67 ±0,57 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,33 ±0,57 ^a	3,00 ±1,00	1,00 ±1,00 ^a	3,67 ±0,57	0,00 ±0,00 ^a	0,93 ±0,06	886,667 ± 7,63	II
polyp tarpaulin	94,67 ±0,57 ^a	5,33 ±0,57 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	1,08 ±0,03	973,33 ± 2,88 ^a	I
Polyp bags	94,67 ±1,52	5,33 ±1,52 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	1,08 ±0,19	973,33 ± 7,63 ^a	I
Jute bags	96 ,00 ±2,64 ^a	4 ±2,64 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	0,00 ±0,00 ^a	1,11 ±0,24	980,00 ±13,23 ^a	I

For each component, the means ± standard deviations. Means not labelled with the letter "a" are significantly different from the mean of the control level at a threshold of $p \leq 0.05$ according to the DUNNETT test.

Multivariate Analysis: Observing the 'scree plot' graph reveals that three components can be extracted for principal component analysis. In fact, 90.12% of the information contained in the physico-chemical data is retained by the first three components (Figure 4a). Figure 4b presents the results of the principal component analysis (PCA) applied to the physico-chemical characteristics of the various samples. These results are represented based on the first two axes, PC1 and PC2, which together account for 79.7% of the total observed variability, thus providing a significant explanation of the PCA. Consequently, beans fermented in cocoa pods, jute bags, and polypropylene sheets are identified as being predominant in the formation of the first component, PC1 (62.9%). The second component, PC2 (16.8%), is mainly influenced by beans fermented on polypropylene sheets, palm leaves, and banana leaves (control). Four

groups were identified with the axes PC1 and PC2 in conjunction with the contribution of the variables listed in Table 1. The first group, exclusively consisting of beans fermented in cocoa pods, is negatively correlated with PC1 and is distinguished by higher values in pH, percentage of germinated, mouldy, slaty, mite-damaged, and purple beans. The second group includes beans fermented on palm leaves and control substrates, characterized by water activity, ash content, and the fermentation index. The third group is composed of beans fermented on polypropylene bags and jute bags, characterized by bean consistency (bean count), moisture content, and a higher percentage of brown beans. The last group consists of beans fermented on polypropylene sheets, which showed a higher proportion in yield, brown beans, cut test score, and ash content.

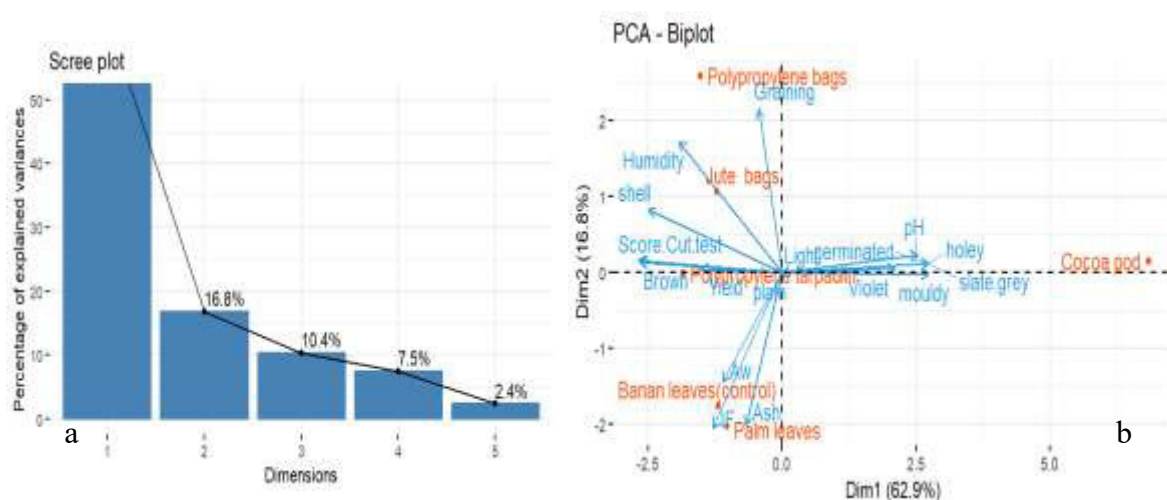


Figure 4: Applied Variance (a) and Contribution of Physicochemical Parameters (b) in the Representation of Dimensions

The dendrogram (CHA) encompassing all the studied parameters allowed for the differentiation of the various substrates and identified those closest to the control substrate (banana leaves). The results reveal that the beans fermented in cocoa pods exhibited a very different quality from those

of the control substrate. The beans fermented in the polypropylene sheet and polypropylene bags were more similar to each other. Finally, the beans fermented on jute bags and palm leaves showed qualities closer to those of the control substrate.

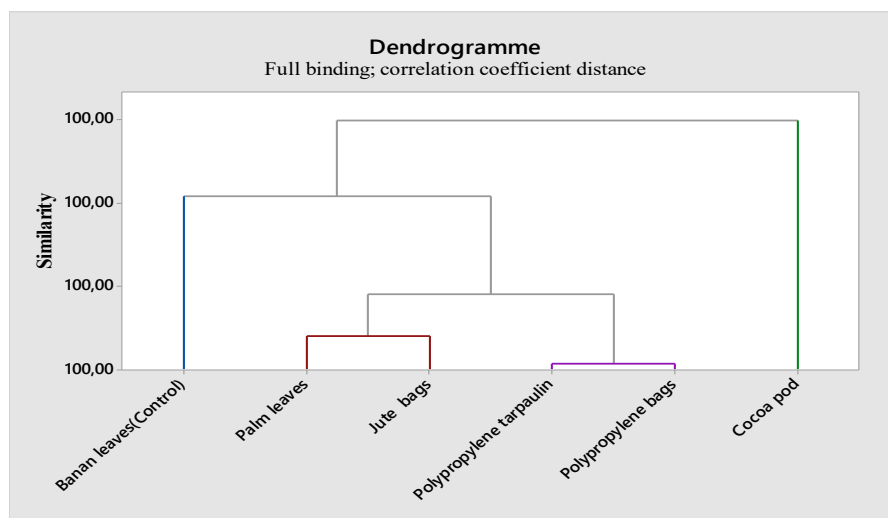


Figure 5: Dendrograms (HCA) Grouping All Studied Physicochemical Parameters

DISCUSSION

Measuring the temperature indicates the speed and degree of progress of the various chemical reactions necessary for fermentation. The results revealed a higher temperature, above 35°C, in palm leaves and polypropylene sheets before the first mixing, while the value recorded in the cocoa pod was below 32°C. The pH ranged between 2 and 4 with a dip observed in banana leaves (control) and palm leaves during the first two days of fermentation. This slight increase in temperature and pH before mixing observed in polypropylene sheets and palm leaves could be attributed to more favourable conditions for the alcoholic phase. According to Bankoff *et al.* (2013), this phase is accelerated by microbial activities followed by mucilage degradation, which acidifies the fermentation medium with a slight increase in temperature. However, the recorded pH variation is comparable to the values obtained by Sandra *et al.* (2007), who reported a pH profile between 3.2 and 4.75 in cocoa beans from various spontaneous fermentation substrates. After mixing, fermentation in palm leaves and polypropylene sheets maintained a temperature (23 to 48°C) and pH (2 to 6) profile close to that sought with banana leaves, consistent with previous

recommendations and comparable to the temperature values of 48°C observed by Aka *et al.* (2021). Indeed, according to studies conducted by De Vuyst and Weckx (2015), beans considered well-fermented are those whose maximum fermentation temperature is between 45 and 50°C. Additionally, Schwan & Wheals (2004) showed that a temperature above 45°C during fermentation is favourable for accelerating the death of the embryo and preventing bean germination. However, the lower temperature and pH levels observed in the cocoa pod could be due to the number of beans (40 beans) and the aerated space between the pods, which reduces microbial fermentation activity (Thompson *et al.*, 2001). The size of cocoa beans is a key factor in assessing their commercial quality. Quality standards require fewer than 100 beans per 100 grams, meaning each bean should weigh at least 1 gram (Guéhi *et al.*, 2007). Our results show that all analysed samples were uniform, with 75 to 80 beans per 100 grams, well within the standard of 100 beans and without significant differences (see Table 1). These results can be attributed to the Mercedes variety of cocoa, a hybrid, and the pre-sorting process of the beans. Our findings are consistent with those of Chen-Yen-Su

(2020), who also found 83 to 87 beans in his studies. The evaluated shell percentage ranged between 10 and 12%. The results for beans fermented in cocoa pods ($9.76 \pm 6.36\%$) were significantly lower ($P < 0.05$) compared to beans fermented on banana leaves ($11.22 \pm 5.08\%$), while those on polypropylene sheets ($12.17 \pm 4.79\%$) were higher and exceeded the standard (11%). This disparity could be attributed to the thick mucilaginous pulp adhering immediately to the testa before fermentation. According to the work of Afoakwa *et al.* (2008), it is recommended that the shell percentage of beans be as low as possible (10-12%), since it is removed during the processing stage. The beans fermented in polypropylene bags had a higher moisture content ($9.1 \pm 0.26\%$), significantly different from the beans fermented in banana leaves ($7.7 \pm 0.36\%$), and while the beans fermented in cocoa pods had a lower moisture content ($6.46 \pm 0.23\%$). This observation can be attributed to the structure of the polypropylene support, which potentially has a higher water retention capacity during the fermentation process. It is important to note that a moisture content of 8% constitutes a critical threshold beyond which fungal proliferation is favoured (Dharmaputra *et al.*, 1999). The pH of the beans after drying ranged between 4 and 6. Beans fermented inside cocoa pods had the highest pH, measuring 6.23 ± 0.04 , which significantly differs from that of beans fermented on banana leaves (5.08 ± 0.01) and other supports, indicating a lower level of fermentation. According to Beckett (2009), beans with a high pH (5.5 to 5.8) are generally considered unfermented or minimally fermented, while those with a lower pH (4.75 to 5.19) are classified as well-fermented. This difference could be attributed to temperature fluctuations during the fermentation process. As for the ash content, it ranged between 2.46 and 2.84% without showing a significant difference

compared to the beans fermented on the control support, which is comparable to the values obtained by Karim *et al.* (2020) for cocoa beans of the 'Mercedes' and 'Theobroma cacao' varieties from the Lôh-Djiboua (Divo) and Indénié-Djuablin (Abengourou) regions. According to these authors, the ash content of cocoa varies depending on the origin of the cocoa beans, genotype, and post-harvest processing methods. Nevertheless, these results demonstrate that these cocoa beans are excellent sources of minerals. The results of the visual evaluation showed that all samples met the defined quality criteria, with high percentages of brown beans indicating high-quality fermentation, ranging from 85% to 96%. According to the criteria established by Guehi *et al.* (2010), bean quality is assessed based on the proportion of fully superior brown beans, set at 60%. However, beans fermented inside cocoa pods exhibited higher rates of mouldy, germinated, and insect-damaged beans, exceeding 3%. This was associated with a lower fermentation index (835.83 ± 23.11), attributable to a higher proportion of germinated beans during fermentation. Additionally, these beans displayed a fermentation index below 1, with a score of 0.93 ± 0.06 , significantly different from that of the control substrate (1.42 ± 0.04). Consequently, these beans were classified as lower quality (grade II) according to international standards (ISO 2451) and ICCO (2008), while other substrates produced higher grade I beans. The results of Principal Component Analysis (PCA) coupled with Hierarchical Ascendant Clustering (HAC) corroborated the observations made on the different variables. Indeed, these findings revealed that beans fermented inside cocoa pods exhibited significantly different quality compared to the control substrate, potentially explained by their higher pH and a notable proportion of mouldy, germinated, and damaged beans.

Beans fermented on jute bags and palm leaves showed qualities relatively similar to

those of the control, possibly attributed to their closer cutting test profile.

CONCLUSION AND APPLICATION OF RESULTS

This study underscores the crucial importance of fermentation in the cocoa bean transformation process. The results reveal significant variations in temperature and pH conditions depending on the different substrates used during fermentation. At the end of the drying process, analyses showed modifications in the overall composition of the final beans. Beans fermented inside cocoa pods exhibited higher proportions of mouldy and germinated beans, pH levels exceeding standard norms, and a relatively low fermentation index, disqualifying them from meeting the criteria for high-quality final

beans. Statistical analyses based on Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Ascendant Clustering (HAC) indicate that palm leaves and jute bags, in addition to their availability, exhibit qualities more closely resembling those of beans fermented on banana leaves (controls). Consequently, these substrates could serve as viable alternatives to banana leaves in ensuring optimal cocoa bean quality in Côte d'Ivoire. Furthermore, this study highlights the importance of further research to explore the relationship between different fermentation substrates and the aromatic profiles of cocoa beans.

REFERENCES

- BanKoffi, G. H. Ouattara, T. G. Karou, S. T. Guehl, J. G. NEMLIN, and J. K. Diopoh (2013). Impacts of cocoa fermentation on the growth of microbial flora and the quality of commercial beans. *African Agronomy* 25 (2): 159-170.
- Barel M. (2013). Cocoa quality: the impact of post-harvest processing. Quae Editions, pp. 22.
- Bartley, Basil GD. 2005. « The genetic diversity of cacao and its utilization ». <https://doi.org/10.1079/9780851996196.0000>
- Bastide P. (2007). Cocoa. Atlas of Regional Integration in West Africa, Economic Series. In: Atlas of Regional Integration in West Africa, Economic Series, Chapter: Cocoa, Publisher: ECOWAS-OECD/SAEO, Editors: ECOWAS, OECD/SAEO: 1-16.
- Beckett S.T. (2009). "Industrial chocolate manufacture and use." Wiley-Blackwell, New York, Etats Unis 4ème édition : 192 p. <https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch9>
- Chen-Yen-Su Alexandre. 2014. Morphological analysis and aromatic, sensory profiles of Sambirano cocoa. Saint-Denis: University of Reunion, 81 p.
- Coulibaly K. (2014). Study of the population structure of *Phytophthora* spp, the agent of cocoa pod rot (*Theobroma cacao* L.) in Côte d'Ivoire. Doctoral thesis in Plant Pathology and Physiology. Félix Houphouët-Boigny University. Abidjan, Côte d'Ivoire, 190 p.
- De Vuyst, L., & Weckx, S. (2015). The functional role of lactic acid bacteria in cocoa bean fermentation. *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*, 248-278. <https://doi.org/10.1002/9781118868386.ch16>
- Dharmaputra O.S., Amad S.M., Retnowati I et Wahyudi T. (1999). The occurrence of insects and moulds in stored cocoa beans at South Sulawesi. *Biotropia*, 12 : 1-18.

- Djougoue, P. F. et al. 2007. « Heritability of Phenols in the Resistance of *Theobroma Cacao* against *Phytophthora Megakarya*, the Causal Agent of Black Pod Disease ». *Journal of Phytopathology* 155(9): 519-25. doi:10.1111/j.1439-0434.2007.01268.x. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01268.x>
- Efraim, P., Pezoa-García, N. H., Jardim, D. C. P., Nishikawa, A., Haddad, R., & Eberlin, M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Food Science and Technology*, 30, 142-150. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500022>
- Guéhi T.S., Dabonne S., Ban-Koffi L., Kedjebo D.K. & Zahouli G.I.B. (2010). Effect of tuming beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2(3) : 163-171.
- Guehi T.S., Konan Y.M., Koffi-Nevry R., N'Dri D.Y. & Manizan N.P. (2007). Enumeration and Identification of Main Fungal Isolates and Evaluation of Fermentation's Degree of Ivorian Raw Cocoa Beans. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1 : 479-486.
- Harwich N. (2008). *History of Chocolate*. Paris. Editions Des Jonquères. 1st edition. 312 p.
- Hii L.C., Law L.C. & Cloke M. (2009)., Modeling using a new thin layer drying mode and product quality of cocoa. *Journal of Food Engineering*, 90 : 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.022>
- ICCO; 2021; *Cocoa Market Report*; Abidjan, Côte d'Ivoire; 5p.
- Karim, C., Justin, S., Loh, Y., Bernard, S., & Kouame, P. (2020). Physicochemical potentials of cocoa beans from Mercedes and *Theobroma cacao* varieties from the Loh-Djiboua and Lindenie-Djuablin regions (Côte d'Ivoire). *International Journal of Advanced Research*, 8, 1178-1186. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/11031>
- Kealey K.S., Snyder R.M., Romanczyk L.J., Hammerstone J.F., Buck M.M. & Cipolla G.G. (2004). "Cocoa extracts prepared from cocoa solids having high cocoa polyphenol contents. Mars, Incorporated." Patent US 6, 737,088 B1.
- Koua S.H., Coulibaly N.A.M.-D., & Alloueboraud W.A.M. (2018). Characterization of cocoa orchards and diseases in Côte d'Ivoire: case of the departments of Abengourou, Divo, and Soubré. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 35(3): 5706-5714.
- Kouakou B.J, Irie B.Z., Dick E., Nemlin G., & Bomisso L.E. (2013). Characterization of cocoa drying techniques in the main production areas of Côte d'Ivoire and determination of their influence on the quality of marketed beans. *Journal of Applied Biosciences*. 64: 4797-4812. <https://doi.org/10.4314/jab.v64i1.88469>
- Nielsen, O.S., Teniola , L. Ban-Koffi, M. OMJsu, T.S. Andersson and W.H. Holzapfel, 2007. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentation analysed using culture-dependent and cultureindependent methods, 114: 16&-186. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.010>

- UN-REDD. (2016). Qualitative analysis of deforestation and forest degradation factors in Côte d'Ivoire, Final Report 2016, BNETD/ETC TERRA/RONGEAD, Côte d'Ivoire, 114p.
- Sandra, L.G., L. Gérard, L.P. Jose, B. Michel, and G. Jean-Pierre. (2007). Study on the microbiology and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 124-130.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.041>
- Schwan R.F. & Wheals A.E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 205-222.
<https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Thompson S.S., Miller K.B. & Lopez A.S. (2001). Cocoa and coffee. In : Doyle M. J., Beuchat, L.R., Montville T.J. (Eds.). *Food Microbiology Fundamentals and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C., pp. 721-733.

COMMUNICATIONS



CONSEIL AFRICAIN
ET MALGACHE POUR
L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR



PROGRAMME THÉMATIQUE DE
RECHERCHE DU CAMES - SÉCURITÉ
ALIMENTAIRE ET NUTRITIONNELLE

Colloque Scientifique International Co-NUTRISA, 1^{ère} édition

ATTESTATION D'ORGANISATION DE COLLOQUE

Délivrée à **Monsieur KONAN KOUAKOU AHOSSI, CÔTE D'IVOIRE**
pour sa participation active à l'organisation de la première édition du Colloque Scientifique International du Programme Thématique de Recherche en Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle du CAMES (CoNUTRISA-1) en tant que Membre de la commission chargé du secrétariat. Ce colloque tenu du 21 au 23 Octobre 2024 à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan en Côte d'Ivoire, a porté sur le thème « Durabilité des systèmes alimentaires et promotion des ressources alimentaires locales pour la résilience des ménages en Afrique ».

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Abidjan, le 23 octobre 2024

La Présidente du comité d'Organisation

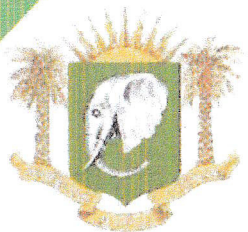


Pr. ASSA Rebecca Epse YAO



Le Président du Comité Scientifique

Pr. AMOUZOU Sabiba Kou'Santa Émile



Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la
Recherche Scientifique



ATTESTATION DE MEMBRE DU COMITE SCIENTIFIQUE

L'ONG Action pour l'Innovation et le Développement Durable en partenariat avec le Programme Thématique de Recherche Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle (PTR-SAN) du CAMES et la Direction Régionale de l'Environnement du Hautassandra Certifient que :

KONAN KOUAKOU AHOSSI

a participé en tant que membre du comité scientifique de la Conférence Universitaire sur l'Environnement (CUE 2024), qui s'est déroulé le 05 Juin 2024, à la Préfecture de Daloa (Côte d'Ivoire).

Thème : « La restauration des terres, la désertification et la résilience à la sécheresse: quelle contribution de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique ? »

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

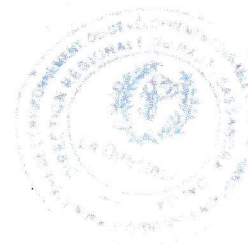
Programme Thématique de Recherche Sécurité
Alimentaire et Nutritionnelle (PTR-SAN) du CAMES



Professeur ASSA REBECCA épse YAO



Direction Régionale de l'Environnement du Haut
assandra



BRAGORI KOUAKOU MAURICE
07 07 94 07 40
Email: christianm23@gmail.com



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE

RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UFR AGROFORESTERIE

ATTESTATION DE COMMUNICATION

Décernée à:

M. /Mme **KONAN KOUAKOU AHOSSI**

Pour sa communication orale au cours des Quatrièmes Journées Scientifiques de Nutrition et des Sciences des Aliments, tenues à l'Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire, les 9 et 10 Juin 2021, sur le thème : « Nouveau procédé de fermentation par cabosse des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.1753) et caractérisation de paramètres physico-chimiques et microbiologiques »

En foi de quoi, la présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.



Vice-Président,
Université Jean Lorougnon Guédé

Prof. KONE Tidiani

Coordonnatrice
PTR-SAN du CAMES

Dr. ASSA Rebecca Rachel
Epse YAO



Daloa, le 10 Juin 2021

Président
du Comité Scientifique

Prof. BEUGRE Grah Avit M.



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE

RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UFR AGROFORESTERIE

ATTESTATION DE COMMUNICATION

Décernée à:

Mr/Mme KONAN KOUAKOU AHOSSI

Pour sa communication orale au cours des 5^{èmes} Journées Scientifiques de Nutrition et des Sciences des Aliments, tenues à l'Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire, les 08 et 09 Juin 2022 sur le thème : **Caractérisation de paramètres de la qualité marchande des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.1753) issues des nouveaux supports de fermentation dans la région du Bas Sassandra**

En foi de quoi, la présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Directrice de l'UFR Agroforesterie

Dr TONESSIA Dolou Charlotte

Maître de Conférences

Daloa, le 09 Juin 2022

Président
du Comité Scientifique

Prof. BEUGRE Grah Avit M.
Professeur Titulaire



CONSEIL AFRICAINE
ET MALGACHE POUR
L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ATTESTATION DE COMMUNICATION

Décernée à

Monsieur KONAN Kouakou Ahossi, Université Jean Lorougnon Guédé, Côte d'Ivoire

pour avoir participé à la 6ème édition des Journées Scientifiques du CAMES, organisée à l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Yamoussoukro (Côte d'Ivoire), du 11 au 14 Mars 2024, sur le thème : « *Recherche et Innovation pour un développement durable en Afrique : défis et opportunités pour l'enseignement supérieur* ».

Programme Thématique de Recherche : Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle

Titre de la communication : « Caractérisation des paramètres de la qualité marchande des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.1753) issues des nouveaux supports de fermentation dans les régions du Bas-Sassandra, du Haut-Sassandra et de la Nawa. »

Type de la communication : Affichée

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yamoussoukro, le 14 mars 2024

**Le Secrétaire Général, Grand Chancelier de
l'OIPA et de l'OMI du CAMES**

Pr. Souleymane KONATE

Grand-Croix de l'Ordre International
des Palmes Académiques du CAMES



CERTIFICATE OF ATTENDANCE



It is hereby certified that **Mr. KOUAKOU AHOSSI KONAN** from Doctorant en biochimie et microbiologie, Université Jean Lorougnon Guédé (Côte d'Ivoire) en stage au laboratoire de chimie des molécules naturels, Gembloux Agro-Bio Tech, participated at the workshop "*2nd ADVANCES IN SEPARATION SCIENCE: from Extraction to Chromatographic Applications*" held on June 28-29 at Gembloux Agro-Bio Tech, University of Liège, Gembloux (Belgium).

Gembloux, 2023-07-04

The organizer, Prof. Giorgia Purcaro



Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université Polytechnique
de San Pedro

ATTESTATION DE COMMUNICATION

Délivrée à

KONAN Kouakou Ahossi

Pour sa communication à la première édition du Colloque International sur la Place des Initiatives Locales dans le Développement Durable des Etats (PILDDE 2024) dont le thème est Agriculture Durable, Souveraineté Alimentaire et Nutritionnelle à l'Université Polytechnique de San Pedro, du 23 au 26 octobre 2024.

Titre de la communication : Impact des nouveaux supports de fermentation sur les caractéristiques organoleptiques des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L. 1753) de la variété Mercedes dans la zone de Soubré.

Type : Communication orale

Fait à San Pedro, le 26 octobre 2024

Le Président du Comité d'Organisation

OUATTARA KARAMOKO
Professeur Titulaire
Université de San Pedro

Prof. OUATTARA KARAMOKO



Le Président de l'Université

UNIVERSITÉ DE SAN PEDRO
Le Président
Prof. MÉITÉ MÉKÉ



CONSEIL AFRICAIN
ET MALGACHE POUR
L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR



PROGRAMME THEMATIQUE
DE RECHERCHE SECURITE
ALIMENTAIRE ET NUTRITIONNELLE

Colloque scientifique international Co-NUTRISA 1^{re} édition
ATTESTATION DE COMMUNICATION

Délivrée à **KONAN KOUAKOU AHOSSI**, Côte d'Ivoire

Pour sa communication **Orale** intitulée « **Evaluation des parametres physico chimiques et la flore fongique des feves de cacao (Theobroma cacao L.1753) fermentees sur de nouveaux supports de fermentations dans la zone de San Pedro** »

lors du premier colloque scientifique international (Co-NUTRISA 1) organisé par le Programme Thématique de Recherche Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle du CAMES (PTR-SAN) sous le thème « Durabilité des systèmes alimentaires et promotion des ressources alimentaires locales pour la résilience des ménages en Afrique » du 21 au 23 Octobre 2024 à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY à Abidjan, en Côte d'Ivoire.

En foi de quoi, cette attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

La Présidente du Comité d'Organisation
Coordonnatrice du PTR SAN



Prof ASSA Rebecca Epse YAO



Fait à Abidjan, le 23 octobre 2024
Le Président du Comité Scientifique



Prof AMOUZOU S. Kou'Santa Émile

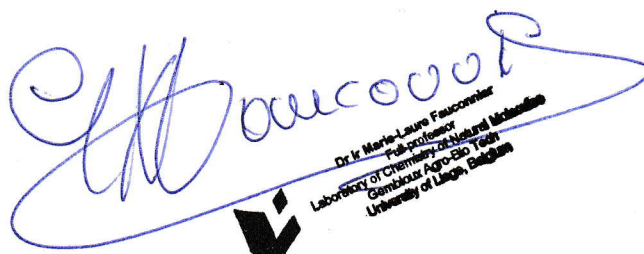
STAGE

Gembloux, le 11 décembre 2023

ATTESTATION DE STAGE

Je soussignée, Dr. Ir Marie-Laure FAUCONNIER, Professeure à la Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège et responsable du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles, atteste que Monsieur KONAN Kouakou Ahossi, Doctorant au Département d'Agriculture et Foresterie Tropical de l'Université Jean Lorougnon GUEDE, a effectué un stage de recherche scientifique au sein du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles d'une durée de 11 mois (du 08 Février au 20 Décembre 2023).

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée, pour servir et valoir ce que de droit.



Dr Ir Marie-Laure Fauconnier
Full professor
Laboratory of Chemistry of Natural Molecules
Gembloux Agro-Bio Tech
University of Liège, Belgium

Prof. Dr Ir Marie-Laure Fauconnier



Dr Ir Marie-Laure Fauconnier
Full professor
Laboratory of Chemistry of Natural Molecules
Gembloux Agro-Bio Tech
University of Liège, Belgium

Résumé

La culture du cacao (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire est une activité économique cruciale, impliquant environ 800 000 petits producteurs. Cependant, le cacao ivoirien a récemment perdu en qualité sur le marché mondial, notamment à cause de la rareté des feuilles de bananier (*Musa* sp.), traditionnellement utilisées pour la fermentation. Cette pénurie a entraîné une augmentation des défauts comme la moisissure et l'ardoise, ternissant la réputation du cacao ivoirien. Pour résoudre ce problème, de nouveaux supports de fermentation ont été introduits. Cette étude vise à évaluer leur impact sur la qualité des fèves et à identifier les meilleures alternatives aux feuilles de bananier. Une enquête menée dans les zones de San-Pédro, Soubré et Daloa a révélé cinq nouveaux supports : feuilles de palmier, bâches en polypropylène, sacs en polypropylène, cabosses de cacao et sacs en jute. Deux variétés de cacao, *Forastero* et *Mercedes*, ont été étudiées avec les feuilles de bananier comme support témoin. Les essais de fermentation, réalisés sur six jours, ont suivi des paramètres comme la flore microbienne, la température, le pH, les sucres réducteurs et les acides organiques. Les analyses après séchage ont évalué la qualité physico-chimique, microbiologique, organoleptique, et la valeur marchande des fèves. Les résultats montrent que les feuilles de palmier, les bâches en polypropylène et les sacs en jute maintiennent une température supérieure à 45 °C et un pH acide (2 à 6), similaires au témoin. Ces supports permettent également une croissance optimale des micro-organismes (levures à $\times 10^6$ UFC/g, bactéries (acétiques, lactiques et *Bacillus*) à $\times 10^7$ UFC/g) et une bonne production de sucres réducteurs et d'acides organiques. Les fèves fermentées dans les cabosses de cacao ont offert des conditions moins favorables. La variété *Forastero* a globalement donné les meilleurs résultats que *Mercedes*. Statistiquement, les fèves fermentées sur feuilles de palmier, bâches en polypropylène et sacs en polypropylène ont des qualités proches de celles fermentées sur feuilles de bananier. Parmi ces alternatives, les feuilles de palmier et les bâches en polypropylène se démarquent, offrant des fèves de qualité irréprochable. Ces résultats démontrent que malgré le déclin des plantations de bananiers, les producteurs peuvent optimiser la fermentation avec ces nouveaux supports, assurant ainsi une meilleure qualité des fèves et des prix compétitifs. Ces pratiques améliorées offrent également des opportunités économiques pour les entrepreneurs, grâce à des produits de meilleure qualité et des revenus accumulés.

Mots clés : Cacao, fermentation ; micro-organismes fermentaires ; qualité organoleptique, Composés phénolique, Acide gras, minéraux, Côte d'Ivoire

Abstract

Growing cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Côte d'Ivoire is a crucial economic activity, involving around 800,000 small-scale producers. However, the quality of Ivorian cocoa has recently fallen on the world market, not least because of the scarcity of banana leaves (*Musa* sp.), traditionally used for fermentation. This shortage has led to an increase in defects such as mould and slate, tarnishing the reputation of Ivorian cocoa. To solve this problem, new fermentation media have been introduced. This study aims to assess their impact on bean quality and identify the best alternatives to banana leaves. A survey carried out in the San-Pédro, Soubré and Daloa areas revealed five new carriers: palm leaves, polypropylene tarpaulins, polypropylene bags, cocoa pods and jute bags. Two cocoa varieties, *Forastero* and *Mercedes*, were studied using banana leaves as a control. Fermentation trials, conducted over six days, monitored parameters such as microbial flora, temperature, pH, reducing sugars and organic acids. Post-drying analyses assessed the physico-chemical, microbiological and organoleptic quality and market value of the beans. The results show that palm leaves, polypropylene tarpaulins and jute bags maintain a temperature above 45°C and an acid pH (2 to 6), similar to the control. These supports also allow optimum growth of micro-organisms (yeasts at $\times 10^6$ CFU/g, bacteria (acetic, lactic and *Bacillus*) at $\times 10^7$ CFU/g) and good production of reducing sugars and organic acids. Fermented beans in cocoa pods offered less favourable conditions. Overall, the *Forastero* variety performed better than *Mercedes*. Statistically, beans fermented on palm leaves, polypropylene tarpaulins and polypropylene bags were of similar quality to those fermented on banana leaves. Among these alternatives, palm leaves and polypropylene tarpaulins stand out, offering beans of impeccable quality. These results show that, despite the decline in banana plantations, growers can optimise fermentation with these new substrates, ensuring better-quality beans and competitive prices. These improved practices also offer economic opportunities for entrepreneurs, thanks to higher-quality products and accumulated income.

Keywords: Cocoa, fermentation; fermentative micro-organisms; organoleptic quality, phenolic compounds, fatty acids, minerals, Côte d'Ivoire