Análisis de las Características Organolépticas del Chocolate a partir de Cacao CCN51 Tratado Enzimáticamente y Tostado a Diferentes Temperaturas.

Linley Díaz, Milton Pinoargote, Priscila Castillo
Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral
Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador
sldiaz@espol.edu.ec, mhpinoar@espol.edu.ec, pcastil@espol.edu.ec

Resumen

La finalidad de este trabajo fue mejorar el sabor y aroma del chocolate elaborado con cacao CCN51, reduciendo las características negativas de este cacao durante la fermentación, por medio de la adición de enzimas y tostándolo a una temperatura previamente determinada para ayudar a activar los precursores formados en la fermentación. Para mejorar las características organolépticas del cacao CCN51, se utilizaron dos enzimas en la fermentación: la Polifenoloxidasa y una Proteasa comercial. La etapa de fermentación tuvo una duración de 4 a 5 días en cajas de madera de laurel, posterior a ello se realizó un secado al sol hasta que el grano del cacao alcanzó una humedad del 7%. Las muestras fueron tostadas a 120°C por 45 minutos y a 140°C por 35 minutos, posteriormente se molieron los granos para obtener licor de cacao, los cuales fueron evaluados por panelistas entrenados mediante una prueba discriminativa, determinando que a 140°C por 35 minutos era la temperatura adecuada para el tostado final. Los chocolates fueron analizados por panelistas entrenados, llegando a la conclusión que el chocolate elaborado con cacao CCN51, fermentado con la enzima polifenoloxidasa y tostado a 140°C por 35 minutos, logró desenmascarar un aroma floral aproximándose al cacao Nacional.

Palabras Claves: Cacao, CCN51, fermentación, chocolate, enzimas.

Abstract

The purpose of this research was to improve the chocolate flavor made with cocoa CCN51; reducing the negative characteristics of the cocoa during the fermentation by the addition of enzymes and toasting to a predetermined temperature to activate the flavor precursor formed in the fermentation. To improve the organoleptic characteristics ofcocoaCCN51, two enzymes were used during the fermentation: the Polifenoloxidasa and a commercial Protease. The fermentation lasted 4-5days in wooden boxes of white laurel, after that the cocoa beans were sun dried until they reached 7% moisture. The samples were toasted at 120°Cfor45 minutes and 140°Cfor35 minutes, then the grains were ground to get cocoa liquor, which were evaluated by trained panelists using a discriminative test, determining that at 140°Cfor 35° minutes was the adequate temperature to roasted the cocoa beans. The chocolates were analyzed by trained panelists, they concluded that chocolate made withcocoaCCN51, treated with polyphenoloxidase enzyme during the fermentation and roasted at 140°Cfor 35 minutes, uncovered a floral aroma approaching the National Cocoa.

Keywords: Cocoa, CCN51, fermentation, chocolate, enzymes.

1. Introducción

La producción cacaotera del Ecuador es uno de los blancos más importantes para los negocios de exportación. El cacao ecuatoriano es reconocido mundialmente por sus marcadas características de aroma y color sumamente apreciadas en la preparación de chocolates finos, revestimientos y coberturas.

La buena calidad del producto ecuatoriano depende, en gran medida, del proceso post-cosecha al cual es sometido el cacao. Procesos como la fermentación, secado, tostado y conchado del cacao

para la obtención de un chocolate de calidad son de fundamental importancia.

La fermentación se realiza con el objetivo de desarrollar los precursores del sabor a chocolate y son estos precursores amino ácidos libres, péptidos y azúcares reductores los que interactúan en el proceso de tostado gracias a la reacción de Maillard, produciendo los componentes específicos del aroma y sabor a chocolate, tales como alcoholes, tiazoles, éteres, fenoles, furanos, ácidos, pironas, ésteres, aldehídos, cetonas, iminas, aminas, oxazoles, pirazinas y pirroles que contribuyen a una agradable impresión sensorial.

2. Materiales y Métodos

2.1. Material.

2.1.1 Almendras de cacao:En el estudio se utilizaron mazorcas de cacao CCN51, proveniente de la finca La Lorena, ubicada en el cantón Quinsaloma, en el centro este de la Provincia de Los Ríos. Además, se utilizaron las enzimas propuestas en (NAVIA & 2012):Polifenoloxidasa PAZMIÑO. proveniente de la piña (Ananascomosus) en estado maduro proteasa con actividad V una endo/exopeptídica. con nombre comercial ProzynFlavour de grado alimenticio derivada de una cepa seleccionada no genéticamente modificada del Aspergillus orysae.

2.1.2 Equipos y aparatos: Termómetro digital, Data-LoggerTemperatureRecorder Log TagTrix -16, guillotina, balanza analítica digital Mettler, modelo AB204, higrómetro Mini GAC plus, tostador eléctrico rotativo, Probat-Werke, Termopar, descascarillador, separador de cascara de almendra por flujo de aire, molino tipo mortero Restch, modelo RM200, concheador, baño maría, congelador y otros aparatos y materiales comunes de laboratorio.

2.2 Metodología de los procesos.

2.2.1 Fermentación y Secado:La madera a utilizar para la elaboración de las cajas fue laurel, debido a que cumple con las características de no desprender sustancias extrañas como taninos que interfieren en la calidad final del cacao, y a que es resistente a la humedad (INIAP, 2009). Cada una de las cajas estuvo conformada por cuatro cubículos (Figura 1).

Se colocaron 50 kg de masa de cacao en baba en el primer cubículo. Se realizó una remoción del cacao al siguiente cubículo a las 48 horas. La adición de las enzimas se realizó junto a la primera remoción. Se realizaron tres remociones en total durante el periodo de fermentación cada 24 horas.



Figura 1. Cajas de fermentación

Terminada la fermentación, el cacao fermentado se expuso al secado natural, llevado a cabo en módulos solares (Figura 2), el cacao fue removido a intervalos de una hora durante los dos primeros días. Las almendras de cacao permanecieron en esta etapa hasta obtener una humedad alrededor del 7%, en un tiempo aproximado a los 7 días dependiendo de las condiciones climáticas. La humedad fue analizada con ayuda de un higrómetro.



Figura 2. Secado en módulos solares

2.2.2 Tostado: El tostado fue efectuado en un tostador eléctrico rotativo escala piloto, con un termopar acoplado al interior del tostador para el control de la temperatura. Se realizó en muestras de 500g de almendras de cacao a 120 y 140°C, temperaturas que se encuentran dentro del rango utilizado comúnmente en la industria.

Determinación del tiempo de tostado: El tostado fue efectuado en un tostador eléctrico rotativo escala piloto, con un termopar acoplado al interior del tostador para el control de la temperatura. Se realizó en muestras de 500g de almendras de cacao a 120 y 140°C, temperaturas que se encuentran dentro del rango utilizado comúnmente en la industria.

2.2.3 Proceso de obtención de los nibs de cacao:

Una vez realizado el proceso de tostado, las almendras se dejaron enfriar, antes de proceder a retirarles la cascarilla; es decir de liberar los cotiledones o también llamados "nibs", de la testa. Para el descascarillado las almendras fueron trituradas de forma mecánica y luego sometidas a un separador de cáscara de almendra por flujo de aire, obteniendo así los nibs de cacao listos, para posteriormente proceder a la molienda.

2.2.4 Proceso de obtención de licor de cacao: Para la molienda se utilizó un molino de mortero RM 200, RETSCH con capacidad de 100 g por muestra, durante un tiempo de 60 minutos para obtener muestras homogéneas en finura aproximándose a los 10 µm en tamaño de la partícula de cacao.

2.2.5 Proceso de elaboración de chocolate: El procesamiento de los chocolates se llevó a cabo de la siguiente manera: el mezclado de los ingredientes se realizó hasta que se formó una masa pastosa y consistente, poco después se procedió a someter a esta masa al proceso de conchado el mismo que fue realizado en lotes de 500g en una miniconcha con capacidad de 1 kg, manteniéndose la temperatura en

un rango entre los 45 a 50 °C durante un tiempo total de 26 h; para el temperado se siguió el siguiente método, realizado en tres fases; en la primera fase elchocolate permaneció a 45 °C \pm 0,5 °C durante 10 min, enseguida fue realizado un enfriamiento a 30 °C \pm 0,5 °C, a una tasa de 2 \pm 0,2 °C/min, permaneciendo durante 10 min con la temperatura y en la tercera fase el chocolate fue recalentado a 33 °C \pm 0,5 °C (EFRAIM, 2009), a esta temperatura el chocolate fue colocado en los moldes con forma de barras rectangulares de 9×3×0,8 cm, manteniéndolo al ambiente durante 15 min y colocado posteriormente en refrigeración durante 24 h, después las barras fueron desmoldadas, embaladas en papel de aluminio (Figura 3).



Figura 3. Chocolate elaborado en las instalaciones del INIAP

2.3 Metodología del Análisis Sensorial.

2.3.1 Licor de cacao: El panel sensorial en su totalidad estuvo conformado por 9 panelistas entrenados. Cada muestra fue evaluada 2 veces por cada panelista. El licor fue degustado puro, en forma líquida a aproximadamente 40°C.La prueba sensorial que se realizó fue una "prueba discriminativa de comparación por parejas" en conjunto con una de "preferencia pareada" que son útiles cuando hay que elegir entre dos muestras (SALTOS, 2008). Cada muestra de licor de cacao representó una temperatura, 120 y 140°C. El propósito fue establecer si las muestras presentaban diferencia en sabor y aroma y cuál era la de mayor agrado.

Dentro de la misma evaluación también se aplicó una prueba sensorial descriptiva cuantitativa; por lo que en la hoja de cata se incluyó una tabla para la caracterización de cada una de las muestras, para así establecer cuáles fueron las diferencias existentes entre ellas acerca de la intensidad de los aromas y sabores; y por ende conocer cuál fue el papel que jugó la temperatura de tostado sobre cada una de ellas, para el efecto fue utilizada una escala de intensidad de 6 puntos: 0 = Ausente; 1 = Muy débil; 2= Débil; 3 = Neto; 4 = Pronunciado; 5 = Muy pronunciado. Los atributos de sabor y aroma evaluados fueron:cacao, acidez, amargor, astringencia, floral, sobrefermentación, quemado.

2.3.2Chocolate: El panel sensorial estuvo conformado por 7 panelistas entrenados, considerando que es el número mínimo de panelistas según (ANDALZÚA, 1994). Cada muestra fue evaluada 3 veces por cada panelista.La temperatura de presentación de cada muestra estuvo entre los 20-25°C. Se utilizó una prueba descriptiva cuantitativa para la descripción de cada una de las muestras de chocolate, con el propósito de establecer perfiles sensoriales para lo cual se aplicaron descriptoresque permitieron la caracterización de los productos, en este caso de las diferentes muestras de chocolate.

El perfil retrató con precisión cuales fueron los aspectos en que influyeron los tratamientos enzimáticos en estudio, y luego mediante el análisis estadístico se definió cuáles fueron las diferencias sensoriales existentes en las distintas muestras, precisando la intensidad de la acidez, amargor, sabor a chocolate y aromas florales y frutales. Se empleó una escala de calificación de 6 puntos, al igual que en el licor de cacao.

2.3.3Tratamiento estadístico de los datos: Los datos obtenidos del monitoreo de la temperatura fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para la determinación de diferencias significativas, utilizándose el paquete estadístico MINITAB 14. Las diferencias significativas fueron consideradas cuando el valor P<0.05; es decir con un nivel de confianza del 95%.

En lo que respecta a las evaluaciones sensoriales, para el análisis estadístico de la prueba discriminativa de comparación por parejas se utilizó una prueba de hipótesis, con la finalidad de determinar si existía una diferencia significativa entre las muestras de licor a 120 y 140°C.El análisis fue llevado a cabo en el programa estadístico MINITAB 14, utilizando Two-Sample T-Test (Prueba - t de dos muestras), con un nivel de confianza del 95%. Una vez determinado si existía o no diferencia significativa entre las muestras se procedió a analizar si existió preferencia por alguna de las muestras de licor.Para esto se hizo uso de la tabla de significación para Tests Pareados, en la cual se presenta el número mínimo de juicios correctos para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para pruebas de preferencia por pares.

Los datos obtenidos en las pruebas sensoriales de tipo descriptiva tanto para el licor de cacao como para el chocolate, también fueron sometidos al igual que los datos de temperaturas, al análisis de varianza (ANOVA) y la prueba deTukey para la determinación de diferencias significativas con un nivel de confianza del 95%.

3. Análisis de resultados

3.1 Análisis de las condiciones de fermentación y secado.

Dentro de lo que fue el análisis de las temperaturas, a partir del termómetro digital; se obtuvieron los resultados presentes en la Tabla 1, la misma que indica que a un nivel de confianza del 95%, de todos los puntos analizados en los cubículos de la caja; el punto medio fue el único que mostró una diferencia significativa, con una mayor temperatura; determinándolo como el punto más adecuado para colocar el data logger y con el mismo obtener el perfil de temperatura del proceso fermentativo.

Tabla 1.Temperaturas en diferentes puntos durante la fermentación

PUNTOS	TEMPERATURA*				
EID	39,16 ± 5,27 a				
EII	39,26 ± 5,17 a				
ESD	40,50 ± 5,9 a				
ESI	40,38 ± 6,05 a				
MED	42,22 ± 6,2 b				

La Tabla 2, en cambio nos demuestra que las diferentes ubicaciones de las tres cajas de fermentación, en las se llevaron a cabo las experimentaciones, no influyeron en la temperatura del proceso; debido a que no existió una diferencia significativa entre las mismas, con respecto al promedio de las temperaturas de todo el proceso fermentativo.

Tabla 2.Temperaturas en cada una de las cajas de fermentación

CAJA	TEMPERATURA*
1	40,31 ± 5,78 a
2	39,92 ± 5,89 a
3	40,69 ± 5,91 a

3.2 Determinación de la temperatura de tostado.

3.2.1 Curva de tiempo de tostado: En la Figura 4se puede observar los granos de cacao una vez secados alcanzaron una humedad aproximada al 7%, partiendo de eso se pudo determinar que el tiempo de tostado para las temperaturas en estudio 120 y 140°C fueron 45 y 35 minutos respectivamente, tiempo en el que los granos de cacao tostados alcanzaron una humedad del 2.5%.

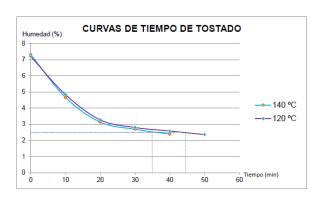


Figura 4. Curvas de Tiempo de Tostado.

3.3 Análisis sensorial del licor de cacao.

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico de la prueba discriminativa de comparación por parejas, fueron los siguientes:

Tabla 3. Prueba sensorial de comparación

Tratamiento de tostado	Iguales	Diferentes
120 °C y 140 °C	2	16

Usando el programa estadístico MINITAB14, el análisis estadístico de dos proporciones, con un nivel de confianza del 95% se obtuvo un valor p<0,05 por lo que se rechazó la hipótesis nula a favor de la hipótesis alterna, concluyendo que existió diferencia significativa entre las dos muestras.

En lo que respecta a los resultados de la prueba de sensorial de preferencia pareada se obtuvo lo siguiente:

Tabla 4. Prueba sensorial de preferencia

Tratamiento	Preferencia	No Preferencia
120 °C	1	17
140 °C	15	3

Para el análisis de estos datos se utilizó la tabla estadísticaen la que se indica el número mínimo de juicioscorrectos para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para pruebas de preferencia por pares; por lo que teniendo como número de ensayos un total de 18 degustaciones y a un nivel de probabilidad de 0,05, el número mínimo de juicios para que exista diferencia significativa fue un total de 14, como se puede observar en la Tabla 4, para la muestra de licor de cacao a 140°C se obtuvo un total de 15 juicios a favor, por lo que se concluyó que la temperatura más adecuada para tostar los granos de cacao fue 140°C.

Al analizar las tendencias en la Figura 5 para interpretar el comportamiento de los diferentes perfiles sensoriales, se destaca una predominancia elevada del sabor/aroma a chocolate, en conjunto con los atributos aromáticos floral y frutal, en el tratamiento a temperatura de 140°C en comparación con el de 120°C, esto se debe a que segúna mayores temperaturas de tostado aumentan los atributos sensoriales del chocolate ya que hayuna elevada producción de pirazinas, según (BECKETT, 2009)las pirazinas son excepcionalmente importantes para el sabor de chocolate.

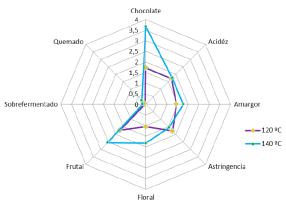


Figura 5. Resumen de los perfiles sensoriales del licor de cacao a 120 y 140°C.

También se pudo observar en el estudio realizado por (NAZARUDDIN et al., 2005) que hubo una diferencia significativa además de las pirazinas, en la producción de ésteres y aldehídos, teniendo que a 140°C durante 35 min existió una mayor producción de estos compuestos que a los 120°C durante 45 min, los ésteres en general tienen notas aromáticas de numerosas frutas mientras que combinaciones de los aldehídos con acil-azufre son compuestos responsables importantes en la notas de sabor a chocolate.

3.4 Análisis sensorial del chocolate.

Las características sensoriales evaluadas y los resultados obtenidos se muestran en la siguiente Tabla 5.

Tabla 5.Análisis de medias de los datos obtenidos de la prueba sensorial descriptiva de los chocolates

ATRIBUTOS	TRATAMIENTOS				
SENSORIALES	CACAO NACIONAL	PROZYN	PPO	BLANCO	
Aroma a Chocolate	3,42 a	2,42 ab	2,71 ab	2,00 b	
Aroma Frutal	3,14 a	2,28 ab	2,42 ab	1,71 b	
Aroma Floral	3,42 a	1,71 b	2,28 ab	1,57 b	
Sabor a Chocolate	4,14 a	3,71 a	3,71 a	2,57 b	
Aroma a Frutos Secos	3,71 a	3,14 b	3,57 ab	2,42 b	
Acidez	1,34 a	1,43 a	1,71 a	2,14 a	
Amargor	2,29 a	2,14 a	2,00 a	2,14 a	
Astringencia	2,00 ab	2,28 ab	1,85 a	3,75 b	

Modificado por: CSegarra / Octubre 2011

Como se puede observar en Aroma a Chocolate existe diferencia significativa entre el Cacao Nacional y el Blanco pero no hay diferencia entre las enzimas Prozyn y PPO. Según GIL, 2010; esto se debe a que el aroma a chocolate se caracteriza por los compuestos de pirazinas y componentes heterocíclicos en el cual una de las reacciones esenciales es la formación del compuesto 5-metil-2-fenil-2-hexenal a partir de la fenilalanina y leucina, los cuales son aminoácidos libres después de su ruptura a partir de la proteína nativa. Estos compuestos presentan el impacto de aroma a chocolate al igual que la 2-acetilpiridina.

En el caso de la piña, además de la polifenoloxidasa existe también la acción de la bromelina, la cual es una enzima del grupo de las cisteínas endopeptidasa, que al romper proteínas a péptidos existe un potencionamiento similar al de la enzima Prozyn.

En Aroma Frutal, el Cacao Nacional presenta una diferencia significativa en comparación con el Blanco. En esta característica las enzimas Prozyn y PPO no tienen diferencia, ya que dichas enzimas desarrollan compuestos esteáricos como el etilacetato, que según (RODRIGUEZ-CAMPOS, 2011) están asociados al sabor a piña. Otros esteres que desarrollan Aroma Frutal son el 2-feniletilacetato y 3 metil-q-butanol acetato.

En Aroma Floral el Cacao Nacional posee diferencia significativa frente a la enzima Prozyn y el ocurre porque a partir adicionamiento de la enzima PPO ayudará al rompimiento de glicoproteínas, formándose péptidos y azúcares, permitiendo un mayor tiempo de acción de levaduras. Las levaduras provocan potencionamiento del 2-fenilacetato, que pertenece al grupo de los esteres y está relacionado al aroma floral. También se ven potenciados a partir de aminoácidos libres como 1-fenil etanol, benzil alcohol, 2-fenil etanol, 2 heptona, acetofenona, etiloctanoato y bencil acetato. (RODIGUEZ-CAMPOS, 2011).

En cuanto al Sabor a Chocolate, todos los tratamientos presentan diferencia significativa con respecto al Blanco, porque las enzimas potenciaron el pirazinas, desarrollo del grupo de latetrametilpirazina uno de los componente en el aroma de chocolate. Según (CHI-KUEN SHU, 1999) este tipo de compuestos se ven formados a partir de aminoácidos libres, L-serina L-treonina, У potenciando el aroma característico a chocolate con temperaturas mayores a los 120°C.

Para el caso de Fruta Seca la enzima Prozyn tiene diferencia significativa frente al Cacao Nacional. Esto se debe a que la tetrapirazina, que es el compuesto responsable de la formación de aromas a chocolate, también está relacionada con el desarrollo del aroma a Fruta Seca.

En la Astringencia, la enzima PPO tiene diferencia significativa en relación al Blanco. La astringencia es reducida gracias a la acción de la PPO, la cual reduce compuestos polifenólicos aumentando su peso

molecular o debido a la unión con otras proteínas (DA SILVA, 2001).

4. Discusión

El método de fermentación utilizado y el secado realizado deriva una excelente fermentación de los granos de cacao, como se pudo comprobar en la prueba de corte, además también de contrastar estos resultados con los monitoreos de temperatura que demostraron el alcance de temperaturas aproximadas a los 50 °C requeridas para los procesos bioquímicos, que se desenvuelven durante esta etapa indispensable, para el desarrollo de los precursores del sabor.

La adición enzimática durante la fermentación del cacao CCN51 y la temperatura de tostado aplicada (140 °C) tuvo diferencia significativa en las características organolépticas evaluadas en el chocolate con respecto al que no fue tratado enzimáticamente. Las enzimas aplicadas en este estudio fueron la polifenoloxidasa contenida en la piña fresca madura y "ProzynFlavour" enzima proteolítica de origen fúngico con actividad endo/exopeptidasa.

Al analizarse las tendencias para interpretar el comportamiento de los diferentes perfiles sensoriales, se destacó una predominancia elevada del sabor/aroma a chocolate, en conjunto con los atributos aromáticos floral y frutal, en el tratamiento a temperatura de 140°C durante 35 minutos en comparación con el de 120°C durante 45 minutos, por lo que se demuestra que a mayores temperaturas de tostado aumentan los atributos sensoriales del cacao, debido a que se presenta una elevada producción de pirazinas, las cuales influyen en el sabor de chocolate.

La evaluación sensorial descriptiva realizada por catadores entrenados, dio mejores resultados en los chocolates elaborados a base de cacao CCN51 fermentado con la adición de la polifenoloxidasa contenida en la piña, por lo que se concluye que, la PPO actuó sobre los compuestos polifenólicos solubilizándolos, evitando enmascaramiento de los precursores por parte de las características negativas como astringencia, amargor o acidez, y otorgando un nivel de preferencia mayor a esta enzima en comparación a los otros tratamientos estudiados, cabe recalcar que la piña también tiene un rico contenido de la enzima bromelina, que de la misma manera tiene actividad endopeptídica al igual que la enzima Prozyn, pudiendo haber reaccionado y producir una mayor cantidad de precursores del sabor

Recomendaciones

Estudiar la factibilidad del uso de las enzimas estudiadas, en el proceso de fermentación del cacao, y así poder discernir totalmente cual sería la más apropiada a utilizar ya que no demuestran mayor diferencia significativa la una de la otra.

Realizar estudios similares con frutas que puedan tener mayor disponibilidad en el Ecuador y que presenten en su composición química enzimas que desempeñen las mismas actividades proteolíticas que las aquí estudiadas, además también de considerar el estudio de la adición enzimática con diferentes concentraciones.

Con respecto al estudio del tostado se podría experimentar con otras temperaturas y, además cuantificar y caracterizar los compuestos volátiles desprendidos en esta etapa para tener un estudio más exhaustivo en lo que respecte al cacao CCN51.

Realizar un estudio de estabilidad de los chocolates elaborados con el cacao sometido a los diferentes tratamientos enzimáticos para constatar de la vida útil de los mismos no se verá afectada.

5. Agradecimientos

A nuestros colaboradores: Abel Navia, Natalie Pazmiño, e Ingrid Lucin. INIAP y Ristokcacao S.A. por haber permitido que realicemos nuestros ensayos en sus instalaciones. ProzynBiosolutions por la donación de la enzima "ProzynFlavour".

6. Referencias

- [1]. ANDALZÚA-MORALES ANTONIO, La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica, Editorial Acribia, Zaragoza-España, 1994.
 [2]. BECKETT, Industrial Chocolate Manufacture and Use, Cuarta Edición, 2009.
- [3]. CHI-KUEN SHU, Pyrazine Formation from Serien and Threonine. J. Agric. FoodChem., 1999.
- [4]. DA SILVA SOARE, "Estudo do melhoramiento de sabor de cacau (Theobroma cacao L.) através de Ação Enzimática durante a Fermentação", (Doctorado, Facultade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade estadual de Campinas, Campinas-Brasil, 2001).
- EFRAIM P., "Contribuição à Melhoria de Qualidade de Productos de Cacau no Brasil, por meio da Caracterização de Derivados de Cultivares Vassoura-de-Bruxa Resistentes à e SementesDanificadas pelo Fungo", (Programa de PósGraduação, Facultade de Engenharia de Departamento de Alimentos, Tecnología de Universidad estadual de Campinas, Alimentos, Campina-Brasil, 2009).
- [6]. GIL ÁNGEL, Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimento, Editorial Panamericana, Tomo II, España, 2010, Cap. 13, Pág. 357.
- [7].INIAP, Boletín Técnico 135: Entorno Ambiental, Genética, Atributos de Calidad y Singularización del Cacao en el Nor Oriente de la Provincia de Esmeraldas, Quevedo-Ecuador, 2009.
- [8]. NAVIA A. & PAZMIÑO N., "Mejoramiento de las Características Sensoriales del Cacao CCN51 a través de la Adición de Enzimas durante el Proceso de Fermentación", (Tesis, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela

- Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil-Ecuador, 2012).
- [9]. NAZARUDDIN R.; OSMAN H.; MAMOT S.; WAHID S. & NOR A., Influence of Roasting Conditions on Volatile Flavor of Roasted Malaysian Cocoa Beans, Journal of Food Processing and Preservation, 2006.
- [10]. RODRIGUEZ-CAMPOS J., Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. Editorial Elsevier, México, 2011.
- [11]. SALTOS HÉCTOR, Sensometría Análisis en el Desarrollo de los Alimentos Procesados, Editorial Pedagógica Freire, Riobamba-Ecuador, 2010, Pág. 9, 25-26.

Modificado por: CSegarra / Octubre 2011