ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

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

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIEROS DE ALIMENTOS

Presentada por:

Shirley Linley Díaz Ponce

Milton Horacio Pinoargote Chang

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año 2012

AGRADECIMIENTO

A Dios, a mi familia y mis amigos, ya que son los principales causantes de que nuestra vida tenga sentido.

A mi directora de tesis, maestra y sobretodo amiga la Ing. Priscila Castillo, por ser nuestra mentora durante el desarrollo de este proyecto.

A mi compañero de tesis y amigo, Milton y a mis amigos Abel, Natalie e Ingrid por ser mis acompañantes durante esta travesía.

Al INIAP en especial a Eddyn, Gladys y Fabián; y a todo el personal que conforma la empresa RistokCacao S.A. por su infinita ayuda.

Linley

AGRADECIMIENTO

A Dios y a mi familia por su esfuerzo y apoyo durante toda mi carrera universitaria, siendo un ejemplo y motivación para poder terminar mis estudios con éxito.

A mi compañera de tesis y amiga, Linley Díaz, por su paciencia, entusiasmo y dedicación, a mis amigos Abel Navia, Natalie Pazmiño, Ingrid Lucin y María Fernanda Quijano por su ayuda incondicional, a la Ing. Priscila Castillo, mi directora de tesis, por su aporte y guía durante el desarrollo de este trabajo.

Al INIAP y a la empresa RistokCacao S.A. por haber permitido que realicemos nuestros ensayos en sus instalaciones.

Milton

DEDICATORIA

A Dios, por haberme guiado y brindado las actitudes necesarias para llegar hasta este punto y lograr mis objetivos

A mi familia, especialmentea mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por la oportunidad brindada, por su ayuda y apoyo incondicional perenne

A mis amigos, que de una u otra manera formaron parte de las alegrías y tristezas que se viven durante esta ardua trayectoria

Linley

DEDICATORIA

A DIOS,

A MI FAMILIA,

A MIS AMIGOS

Milton

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ing. Gustavo Guerrero M.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing. Priscila Castillo S.
DIRECTORA DE TESIS

Ing. Karín Coello O.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la "ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).

Shirley Linley Díaz Ponce

Milton Horacio Pinoargote Chang

RESUMEN

La finalidad de este trabajo investigativo fue mejorar el sabor y aroma del chocolate elaborado con cacao CCN51, reduciendo las características negativas de este tipo de cacao durante la fermentación, por medio de la adición de enzimas y tostándolo a una temperatura previamente determinada para ayudar a desenmascarar los precursores formados en la etapa de fermentación.

Para mejorar las características organolépticas del cacao CCN51, se utilizaron dos enzimas durante la fermentación: la Polifenoloxidasa presente de manera natural en la piña y una Proteasa comercial de origen fúngico y con actividad edo/exopeptídica. El papel de estas enzimas fue reducir la concentración de compuestos fenólicos disminuyendo el amargor y astringencia, y potenciar el sabor y aroma debido al desarrollo de precursores aromáticos.

La etapa de fermentación tuvo una duración de 4 a 5 días en cajas de madera de laurel, la temperatura de fermentación alcanzó valores en un rango entre 45 a 50˚C, temperaturas excelentes para el desarrollo de la actividad enzimática; posterior a ello se realizó un secado al sol sobre plataformas durante 5 a 7 días hasta que el grano del cacao alcance una humedad del 7%. Después se realizó la prueba de corte para determinar el índice de fermentación del grano.

Luego se tostaron muestras de cada tratamiento por separado a 120˚C por 45 minutos y a 140˚C por 35 minutos, a continuación se molieron los granos tostados y descascarillados para obtener licor de cacao. Cada licor de cacao fue evaluado por panelistas entrenados por medio de una prueba discriminativa, de esta manera se determinó que a 140˚C por 35 minutos era la temperatura en estudio más adecuada para el tostado final.

La elaboración del chocolate se hizo a nivel de laboratorio, utilizando una formula ya establecida. Los chocolates elaborados fueron analizados por panelistas entrenados, llegando a la conclusión que el chocolate elaborado con cacao CCN51, fermentado con adición la enzima polifenoloxidasa y tostado a 140˚C por 35 minutos, logró desenmascarar un aroma floral aproximándose al cacao Nacional.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN..... I
ÍNDICE GENERAL III
ABREVIATURAS..... VI
ÍNDICE DE FIGURAS..... VII
ÍNDICE DE TABLAS..... VIII
INTRODUCCIÓN.....1

CAPÍTULO 1.....4
1. MARCO TEÓRICO.....4
1.1. Materia Prima Cacao 4
1.1.1. Características 5
1.2. Tipos de cacao 8
1.2.1. Tipos de cacao en el Ecuador 10
1.3. Pre - Procesamiento de Cacao 12
1.3.1. Fermentación 14
1.3.2. Secado.....22
1.4. Tostado 23
1.5. Desenvolvimiento de los compuestos aromáticos.....25

1.6. Obtención de productos de cacao 32
1.6.1. Licor o masa de cacao 32
1.6.2. Manteca de cacao 33
1.6.3. Cacao en polvo 34
1.6.4. Chocolate 34
1.7. Elaboración de chocolate 36
1.8. Tipos de chocolate 39
1.9. Tendencias de mercado del chocolate 41
1.10. Análisis Sensorial 42
1.10.1. Términos descriptores de importancia sensorial en chocolate 45

CAPÍTULO 2 49
2. MATERIALES Y MÉTODOS 49
2.1. Material 49
2.1.1. Almendras de cacao 51
2.1.2. Equipos y aparatos 52
2.2. Metodología de los Procesos 53
2.2.1. Fermentación y Secado 53
2.2.2. Selección y clasificación según el grado de fermentación 57
2.2.3. Clasificación por tamaño 59
2.2.4. Tostado 59
2.2.4.1. Determinación del tiempo de tostado 61
2.2.5. Proceso de obtención de los nibs de cacao 62
2.2.6. Proceso de obtención de licor de cacao 63
2.2.7. Proceso de elaboración de chocolate 65
2.3. Metodología del Análisis Sensorial 68
2.3.1. Licor de cacao 69
2.3.2. Chocolate 73

2.3.3. Tratamiento estadístico de los datos 76

CAPÍTULO 3.....81
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS 81
3.1. Análisis de las condiciones de fermentación y secado.....81
3.2. Determinación de la temperatura de tostado 86
3.2.1. Curva de tiempo de tostado 86
3.3. Análisis sensorial del licor de cacao.....87
3.4. Análisis sensorial del chocolate 93

CAPÍTULO 4.....102
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 102

APÉNDICES
BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

CCN51	Colección Castro Naranjal 51
cm	Centímetros
EID	Esquina inferior derecha
EII	Esquina inferior izquierda
ESD	Esquina superior derecha
ESI	Esquina superior izquierda
et al.	Y otros
FDA	Food and Drug Administration(Administración de Drogas y Alimentos)
g	Gramos
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
INIAP	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
kg	Kilogramo
LAB	Bacteria Ácido Láctica
mg	Miligramo
MED	Medio
PPO	Polifenoloxidasa
µm	Micrómetro
TM	Toneladas Métricas

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. 1. Cambios químicos en los granos de cacao durante fermentación y secado....17
Figura 1. 2. Formación de los principales compuestos aromáticos vía Reacción de Maillard....29
Figura 2. 1. Cajas de fermentación....54
Figura 2. 2. Remoción con pala plástica y toma de temperatura con termómetro digital....55
Figura 2. 3. Secado en módulos solares....56
Figura 2. 4. Prueba de corte con guillotina....58
Figura 2. 5. Almendras de cacao impropias para el procesamiento....59
Figura 2. 6. Tostador eléctrico rotatorio....60
Figura 2. 7. Obtención de nibs de cacao....62
Figura 2. 8. Flujograma de obtención del licor de cacao....63
Figura 2. 9. Molienda de los nibs de cacao en un molino de mortero....64
Figura 2. 10. Flujograma de obtención de chocolate....66
Figura 2. 11. Miniconcha....67
Figura 2. 12. Chocolate elaborado en la instalaciones del INIAP....68
Figura 2. 13. Acondicionamiento del licor de cacao para la degustación....71
Figura 3. 1. Perfil de temperatura del tratamiento con enzima PPO....84
Figura 3. 2. Perfil de temperatura del tratamiento con enzima PROZYN....84
Figura 3. 3. Perfil de temperatura del tratamiento sin enzima....84
Figura 3. 4. Curvas de tiempo de tostado de los granos de cacao CCN51 a 120 y 140 ºC....87
Figura 3. 5. Resumen de los perfiles sensoriales del licor de cacao a 120 y 140 ºC....91
Figura 3. 6. Resumen de los perfiles sensoriales de los chocolates....97

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.
TABLA 1 Características de las principales enzimas activas durante el curado de la semilla de cacao 18
TABLA 2 Tratamientos de fermentación 57
TABLA 3 Temperaturas en diferentes puntos durante la fermentación 82
TABLA 4 Temperaturas en cada una d e las cajas de fermentación 82
TABLA 5 Prueba de corte para los diferente tratamientos enzimáticos 85
TABLA 6 Datos de porcentaje de humedad y tiempo de tostado 86
TABLA 7 Prueba sensorial de comparación.....87
TABLA 8 Prueba sensorial de preferencia 88
TABLA 9 Análisis de medias de los datos obtenidos de la prueba sensorial descriptiva del licor de cacao.....89
TABLA 10 Análisis de medias de los datos obtenidos de la prueba sensorial descriptiva de los chocolates.....93

INTRODUCCIÓN

La producción cacaotera del Ecuador es uno de los blancos más importantes para los negocios de exportación, siendo así considerado como el tercer producto tradicional no petrolero exportable del Ecuador, que para el 2010 generó ingresos por 349,9 millones de dólares en exportaciones.

Las variedades de cacao, Nacional y CCN51 son las que principalmente predominan las plantaciones de cacao en el Ecuador, de las cuales a la variedad de cacao Nacional o bien conocido como “Sabor arriba”, se le ha conferido un reconocimiento mundial por sus marcadas características de aroma floral y frutal, sumamente apreciadas en la preparación de chocolates finos; no obstante estas características se contrastan con la variedad CCN51, que no se deleita del sabor arriba del cacao Nacional sino mas bien se caracteriza por notas altas de astringencia y acidez.

A pesar de esto, en la actualidad el cacao CCN51 está siendo mayormente cultivado en las zonas cacaoteras del Ecuador, debido a que es tolerante a

enfermedades y presenta una alta productividad frente al cacao fino y de aroma. En consecuencia, en los últimos años el país ha sufrido una caída en cuanto a su imagen y calidad de aroma, debido a las malas prácticas de los agricultores, que tienden a mezclar estas dos variedades.

Frente a este problema, nos cuestionamos la posibilidad de que el cacao CCN51 pueda ser considerado adecuado para la elaboración de chocolate de buena calidad, como lo es el cacao Nacional; realizando cambios en los procesos post-cosecha a los que es sometido este cacao actualmente en el Ecuador, y así ayudar al mejoramiento de su calidad organoléptica en el chocolate.

Debido a que la buena calidad del cacao no sólo depende de su variedad, sino también en gran medida del proceso post-cosecha al cual es sometido. Procesos como la fermentación y secado, en conjunto con el proceso tecnológico del tostado 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 tales como los aminoácidos libres, péptidos y azúcares reductores; los mismos 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.

Estudios realizados prueban el hecho de usar enzimas durante la etapa de fermentación, con el objetivo de incrementar la producción de los precursores del sabor para el mejoramiento de las características organolépticas del cacao. Sin embargo, es necesario además, considerar las condiciones de tostado del cacao para el desenvolvimiento máximo del potencial aromático de las almendras de cacao. Y así obtener como producto final, un chocolate de calidad.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Materia Prima Cacao

Theobroma Cacao L. es el nombre científico que recibe el árbol del cacao, que en griego significa “alimento de los dioses”; pero cacao viene del maya Ka’kaw. El cacao es originario de América del Sur, específicamente de las cuencas hidrográficas del alto Amazonas y Orinoco, al este de la cordillera de los Andes, en territorios que hoy corresponden a Colombia, Ecuador, Perú, Brasil, Venezuela y las Guayanas. Actualmente se extiende desde Brasil a México en zonas tropicales, y también se lo siembra en el oeste de África (BARTLEY, 2005).

1.1.1. Características

El fruto es una mazorca que tiene forma alargada, se vuelve roja o amarillo purpúrea y pesa aproximadamente 450g cuando está madura, de 15 a 30 cm de largo por 7 a 12 cm de ancho. Las semillas son de forma oblonga y varían de tamaño de acuerdo al tipo de cacao pudiendo ser redondeadas en la parte más larga, como en el caso del cacao tipo Criollo y del Nacional de Ecuador; y otras aplanadas como el caso de los Forasteros. Poseen un recubrimiento cuya función es proteger a los cotiledones y en la parte exterior el mucílago que es la parte dulce y mucilaginosa que permite la fermentación de las semillas (BECKETT, 2011).

Composición química del grano de cacao

La composición química de los granos de cacao depende de varios factores entre los que se pueden citar: tipo de cacao, origen geográfico, grado de madurez, calidad de la fermentación y el secado. Los principales constituyentes químicos del cacao son: agua, grasa, compuestos fenólicos,

materia nitrogenada (proteínas y purinas), almidón y otros carbohidratos.

Contenido de grasa

El contenido de grasa usualmente varía del 50 al 55% en cacao fresco y luego de ser tostado dicho contenido oscila entre 48 y 52% en el licor de cacao. La grasa está constituida principalmente por glicéridos como el ácido oleico, láurico, palmítico y esteárico (WAKAO, 2002).

Concentración de polifenoles

Los polifenoles de la semilla del cacao están almacenados en células distribuidas en grupos a través de los cotiledones. Son compuestos que participan activamente en las modificaciones bioquímicas en el interior de las almendras durante la fermentación. Una de ellas, la oxidación enzimática, causa la disminución del contenido de polifenoles (CALDERÓN, 2002), a través de la hidrólisis de las antocianinas y la polimerización de los monómeros y oligómeros de flavonoides, transformándolos en compuestos insolubles. Como resultado disminuye

astringencia y amargor (CROS, 2004), influyendo positivamente sobre la calidad sensorial del cacao. En las almendras violetas, este fenómeno es incompleto, por lo que la intensidad de amargor y astringencia se encuentra asociada a una mayor concentración final de polifenoles totales. Si la fermentación es bien llevada, la concentración de polifenoles totales en los granos de cacao, se reduce en un 40% o más (INIAP, 2007). Los polifenoles son responsables en gran parte por la astringencia y amargor (CALDERÓN, 2002).

Acidez

El contenido de ácidos orgánicos, compuestos que aportan a la acidez del perfil sensorial del cacao, varía entre el 1.2% y 1.6%. Algunos, entre ellos el acético, cítrico y oxálico, se forman durante la fermentación (ARMIJOS, 2002). En los cotiledones el pH desciende desde aproximadamente 6.5 en almendras frescas, al momento de colocarse la masa en los cajones de fermentación, y hasta valores dentro del rango de 5.0 a 5.5 en almendras ya fermentadas (INIAP, 2007).

Teobromina y Cafeína

La teobromina y la cafeína pertenecen a la familia de las purinas y representan más del 99% de los alcaloides presentes en el cacao (WAKAO, 2002). Durante la fermentación, el contenido de teobromina y cafeína se reduce entre el 20 y 30%, contribuyendo en el descenso en el nivel de amargor de los granos al reducirse el aporte de la teobromina en la expresión de este rango sensorial. Según (BRAUDEAU, 1970), el sabor amargo del cacao está influenciado en gran parte por el contenido de las purinas (teobromina y cafeína) y en menor grado por los compuestos fenólicos. La reducción de las purinas causada por la fermentación, es similar en porcentaje para la teobromina y cafeína, concordando con resultados de un estudio conducido por (INIAP, 2007). Un estudio conducido por (WAKAO, 2002) también demostró que los contenidos de teobromina y cafeína disminuyen a medida que avanza la fermentación, en proporciones que varían entre el 15 y 24%.

1.2. Tipos de cacao

Según (HARDY, 1961), hay tres grandes grupos genéticos de cacao: Criollos, Forasteros y Trinitarios. Sin embrago, estudios

contemporáneos de genética molecular confirman la amplia diversidad genética de la especie, colocando a la variedad de cacao Nacional como un grupo separado de los otros tres.

Cacao Criollo

En este grupo están incluidos genotipos con almendras dotadas de cotiledones de color blanco marfil, presentes principalmente en América central, México y sectores de Venezuela y Colombia (INIAP, 1993). Las mazorcas usualmente tienen una forma alargada, con punta acentuada en el extremo inferior. Este tipo de cacao requiere de dos a tres días para completar su fermentación, es muy aromático (ARGUELLO, 2000).

Cacao Forastero

En el grupo de los cacaos Forasteros, se incluyen los llamados cacaos corrientes del Brasil y los que se cultivan en el oeste africano. Son originarios de la alta Amazonía (ENRIQUEZ, 2004), y se les asigna esta dominación porque se distribuyen en la cuenca del río que lleva este nombre. La zona localizada entre los ríos Napo, Putumayo y Caquetá en América del Sur está considerada como el centro genético

de este grupo. Las mazorcas están dotadas de surcos y rugosidades notables, las almendras producen un chocolate con un sabor básico de cacao (CALDERÓN, 2002).

Cacao Trinitario

Este grupo pertenece botánicamente a un complejo constituido por una población hibrida originada en la isla Trinidad. Los caracteres botánicos de este grupo son difíciles de definir ya que pertenecen a una población hibrida polimorfa, pudiéndose observar los tipos intermedios de Criollos por un lado y Forastero por el otro (BRAUDEAU, 1970). Las mazorcas son rojas cuando están inmaduras, tornándose amarillas en la madurez. Al procesarse, desarrollan un sabor a chocolate bastante pronunciado, acompañado en algunos casos de notas sensoriales afrutadas (SUKHA, 2005).

1.2.1. Tipos de cacao en el Ecuador

Nacional

LECERTAU, 1997, apoyándose en técnicas de biología molecular, encontraron que el cacao Nacional es genéticamente más cercano a los cacaos Forasteros que al grupo Criollo. En

Ecuador hay cultivos que corresponden a los híbridos Nacional por Trinitario y en menor grado a los híbridos Nacional por Forastero, La población híbrida predominante conserva aún el sabor “Arriba” y aroma del cacao Nacional, pero se ha modificado el sistema de fermentación y secado ya que ahora requiere más días de beneficio post-cosecha (INIAP, 2007).

Las almendras son moradas claras, el mucílago es poco abundante. Este mucílago tiene un sabor mucho más dulce que los tipos Trinitario y Forasteros, los cuales son ligeramente ácido. Cuando se mastica el cotiledón, sin la testa de la semilla, presenta un sabor ligero amargo y muy poca astringencia; aquí es cuando se puede detectar el olor y sabor florar que se siente intenso en el paladar (ANECACAO, 2004).

CCN51

De acuerdo a (FIERRO, 2008), EL CCN51 se caracteriza por ser un cultivo precoz pues inicia su producción a los 24 meses de edad, no necesita de polinización cruzada para su adecuado fructificación tal como la mayoría de los clones y es tolerante a

la “Escoba de Bruja”, enfermedad que ataca a la mayoría de variedades de cacao destruyendo su producción.

Entre las características de este clon podemos citar su excelente índice de mazorca: 8 mazorcas/libra de cacao seco en comparación con el índice promedio de 12 mazorcas/libra; excelente índice de semillas: 1.45 gr/semilla seca y fermentada comparado con el índice promedio de 1.2 gr/semilla seca; adaptabilidad: es un clon cosmopolita que se adapta a casi todas las zonas tropicales; alto porcentaje de manteca (54%), lo que lo hace cotizado por las industrias.

1.3. Pre - Procesamiento de Cacao

El pre-procesamiento o beneficiado del cacao se refiere a la preparación de las almendras como paso previo para su comercialización e industrialización, facilitando el transporte y almacenamiento de las mismas. Con este propósito, se ejecutan una serie de operaciones ordenadas que inician en la cosecha de las mazorcas con el grado de maduración adecuado para extraer las almendras, seguida por la fermentación y concluyendo con el secado del grano (INIAP, 2009).

Cosecha

La cosecha consiste en la recolección de las mazorcas sanas y maduras. Una señal de madurez, es el sonido que se produce en la mazorca al golpearla ligeramente, sugiriendo que algo se encuentra suelto en el interior. La cosecha frecuente evita la sobre maduración de las mazorcas y germinación de las almendras en su interior. La presencia de almendras germinadas, es un grave defecto porque los hongos invaden estas almendras, influyendo negativamente sobre el sabor del chocolate y poniendo en riesgo su inocuidad. El hecho de cosechar mazorcas pintonas también representa un problema porque las almendras no han alcanzado el desarrollo completo, ni la pulpa contiene la cantidad de azúcar suficiente para la fermentación alcohólica. Con seguridad se obtendrán más almendras violetas al final de la fermentación (INIAP, 2009).

Extracción de almendras

Las mazorcas se parten manualmente utilizando un mazo de madera, con el que se da un golpe en la parte media para que quiebre sin que se despedace del todo y riegue los granos, o también se utiliza un machete pequeño. En ambos casos la parte inferior de la cáscara se

separa con facilidad mientras que las almendras permanecen unidas a la placenta o vástago central que queda unido a la parte superior de la mazorca. La extracción de los granos se hace entonces fácilmente con ayuda de los dedos, deslizándolos a lo largo de la placenta por uno y otro lado. Una vez extraídos los granos, éstos son sometidos a fermentación (GONZÁLEZ & RUIZ, 2009).

1.3.1. Fermentación

De acuerdo a EFRAIM, 2009; la fermentación es una de las etapas realizadas después de la cosecha, que más afectan a la calidad de los productos obtenidos a partir de cacao.

La razón principal para la fermentación de cacao es inducir transformaciones bioquímicas dentro de los granos que llevan al desenvolvimiento de precursores del sabor de chocolate. Sin este tratamiento, los granos de cacao son excesivamente amargos, ácidos y astringentes, y cuando son procesados no desarrollan el aroma y sabor característico del chocolate (THOMPSON, *et al*., 2001).

De acuerdo a THOMPSON, *et al*., 2001 e INIAP, 2009; el sistema de fermentación del cacao varía considerablemente de país a país y de acuerdo con el volumen de producción pudiendo ser complejo y costoso cuando los volúmenes cosechados son grandes; la mayoría de cacao del mundo se fermenta en montones cubiertos con hojas de plátano, en cestas, sacos; o en una variedad de cajas de madera, pudiendo ser a un nivel o tipo escalera.

Se debe tener en cuenta que de acuerdo al tipo de método escogido y tiempo de fermentación dado, la bioquímica interna del grano se verá afectada debido a los cambios de pH y temperatura, que influyen en la actividad enzimática del grano (CAMU, *et al*., 2008).

Bioquímica de la fermentación del cacao

La fermentación comienza inmediatamente después de que los granos se retiran de las vainas; la pulpa que rodea a los granos, no el grano de cacao en sí, es la que experimenta la fermentación microbiana. Los cambios químicos tienen lugar dentro del grano como resultado de la fermentación de la pulpa.

La testa del grano actúa como una barrera natural entre las actividades de fermentación microbiana fuera del grano y las reacciones químicas dentro del grano. Como resultado de la fermentación de la pulpa se obtiene etanol, ácido acético, ácido láctico y agua; los cuales migran del exterior al interior del grano, produciendo la muerte del mismo. Después de que el grano muere, los componentes solubles del grano son lixiviados a través de la piel y perdidos en los escurrimientos (THOMPSON, *et al*., 2001).

El resultado más importante de la fermentación es el proceso autolítico que se produce dentro de la semilla y genera los precursores del aroma y sabor, (C. O. CHICHESTER, B. S. SCHWEIGERT, 1986) compuestos en los que se incluyen aminoácidos libres, péptidos y azúcares reductores; los mismos que son modificados por la reacción de Maillard durante el tostado de las almendras secas, produciendo el característico sabor a chocolate (CAMU, *et al*, 2008).

Acción de las enzimas del cacao durante la fermentación

Las enzimas juegan un papel crucial que influye en el aroma del cacao. Según (CAMU, *et al*, 2008) la actividad de estas enzimas en los cotiledones resulta en un aumento significativo del contenido de aminoácidos libres y azucares reductores (glucosa y fructosa), teniendo como consecuencia la reducción de sacarosa, ver figura 1.1. El incremento de la temperatura de 25°C hasta aproximadamente 50°C durante la fermentación ayudan a la aceleración de las reacciones enzimáticas dentro del grano, de lo contrario la actividad de las enzimas se reduce, dando como resultado un menor número de los precursores de aromas y pobre sabor a chocolate(THOMPSON, *et al*, 2001).

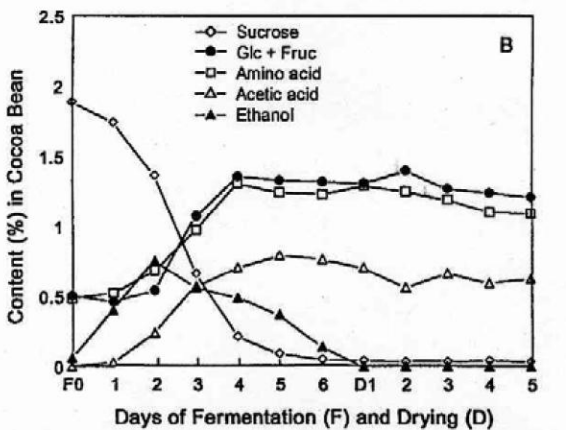

FIGURA 1. 1. CAMBIOS QUÍMICOS EN LOS GRANOS DE CACAO DURANTE FERMENTACIÓN Y SECADO
FUENTE: THOMPSON, MILLER & LOPEZ, 2001

Reacciones enzimáticas hidrolíticas

Las enzimas hidrolíticas tales como invertasa, glicosidasas, y proteasas tienen mayor actividad durante la fase de fermentación anaeróbica de cacao. Después de que la muerte del grano ocurre, estas enzimas proteolíticas son libres de actuar sobre sustratos de proteínas en el grano, y su actividad se vuelve dependiente del pH y la temperatura. Los sustratos en conjunto con el pH y temperaturas óptimos de cada una se muestran en la tabla 1.

TABLA 1

CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES ENZIMAS ACTIVAS DURANTE EL CURADO DE LA SEMILLA DE CACAO

Enzyme	Location	Substrate	Product	pH	Temp (ºC)
Invertase	Testa	Sucrose	Glucose and fructose	4.0 5.25	52 37
Glycosidases (*β*-galactosidase)	Bean	Glycosides (3-*β*-D-galactosidyl cyanidin and 3-*α*-L-arabinosidyl cyanidin)	Cyanidin and sugars	3.8-4.5	45
Proteases	Bean	Proteins	Peptides and amino acids	4.7	55
Polyphenol oxidases	Bean	Polyphenols (epicatechin)	*σ*-Quinones and *σ*-diquinones	6.0	31.5, 34.5

FUENTE: (THOMPSON, MILLER & LOPEZ, 2001)

Los azúcares y aminoácidos/péptidos participan en las reacciones de pardeamiento no enzimáticas durante el tostado,

mientras que las cianidinas tienen impacto en el color del grano, existiendo un blanqueamiento del color purpura de los granos; los granos de cacao que contienen un color púrpura significativo después de la fermentación, son considerados que han sido mal fermentados.

Reacciones enzimáticas oxidativas

Una importante actividad enzimática oxidativa también ocurre, siendo más frecuente al final de la fase aeróbica de la fermentación y continuando en la etapa de secado del cacao. La polifenoloxidasa es la oxidasa principal en el cacao y es responsable de gran parte del color marrón que se produce durante la fermentación, como resultado del oxígeno que penetra el cotiledón. Los eventos que contribuyen a la actividad incluyen la muerte de la semilla, posterior ruptura de las membranas celulares, la reducción en la cantidad de pulpa de la semilla, y la aireación de la masa de granos cacao por la agitación. El oxígeno continúa penetrando en los granos durante el proceso de secado, permitiendo que la actividad de la polifenoloxidasa continúe hasta el aumento de las

temperaturas y disminución de la humedad que llegan a ser los factores inhibidores.

Como indican (THOMPSON, *et al*, 2001), las catequinas y leucocianidinas son las principales clases de polifenoles que están sujetos a la oxidación en los granos de cacao. Epicatequina constituye más del 90% de la fracción catequina total y es el principal sustrato de la polifenoloxidasa.

Los polifenoles en la configuración dihidroxi se oxidan para formar quinonas que a su vez pueden polimerizarse con otros polifenoles o complejos con aminoácidos y proteínas para producir característicos compuestos coloreados y material insoluble de alto peso molecular. La formación de estos complejos polifenólicos menos solubles reduce la astringencia y la amargura asociados con polifenoles nativos presentes en el cacao fermentado. Además, la capacidad de los polifenoles para formar complejos con proteínas resulta en la reducción de sabores desagradables.

Adición de enzimas durante la fermentación

Basados en la intensa actividad bioquímica durante la etapa de fermentación, diversos trabajos han sido desenvueltos con la finalidad de mejorar las características sensoriales del cacao en el producto final; tales como, la utilización de levaduras puras, hongos y diferentes tipos de bacterias, remoción parcial de la pulpa de los granos de cacao y utilización de enzimas en el proceso de fermentación; esta última ha demostrado ser efectiva en el mejoramiento del sabor en el producto final del cacao (DA SILVA, 2001).

DA SILVA, 2001; demostró que el uso de enzimas con características proteolíticas durante el proceso de fermentación ayuda a un aumento significativo de los aminoácidos libres en el grano de cacao en relación con muestras de cacao sin adición de enzima durante la fermentación, promoviendo una significativa mejora del sabor.

Según (YOSHIYAMA E ITO, 1996 & FERNANDEZ-BARBERY, 1999; citados por SOUSA, PEZOA & LOPEZ, 2004) demostraron tener éxito en la reducción del contenido de

polifenoles por acción de la polifenoloxidasa propiciando una reducción importante en la astringencia y sabor amargo.

1.3.2. Secado

El desenmascaramiento del sabor de cacao continúa durante el secado. El proceso de secado se basa en el movimiento de aire para eliminar el agua, como consecuencia el aire penetra a las almendras a través de la cutícula o testa, oxidándose parte de los polifenoles que aún quedan en el grano. Esta fase es la continuación de las reacciones bioquímicas internas que conducen al desarrollo delos precursores del sabor y aroma del cacao en almendras bien fermentadas. Al final, la oxidación se detiene porque la falta de humedad en la almendra inactiva las enzimas que regulan el proceso oxidante.

Al completarse la fermentación, las almendras terminan con alrededor del 55% de humedad, la que mediante el secado baja hasta 6-8%, nivel necesario para su almacenamiento seguro. (INIAP, 2009).

Se utilizan dos métodos para el secado: el natural (secado al sol) y el artificial (secadoras mecánicas). A pesar que más aconsejable es el primero por su aporte para la disminución de la acidez volátil del grano, se dice que el cacao de mejor calidad se produce cuando los granos se han secado completamente en el sol(KNIGHT, 1999), aunque la desventaja de este método es que la duración del secado depende del clima, pudiendo completarse dentro de una o dos semanas; el secado mecanizado tiende a ser una operación altamente rápida y muy eficiente para producir un producto uniforme a un bajo costo por kilogramo. El producto es a menudo de un sabor que es no es especialmente buscado, debido a que al usar un secador artificial podemos incrementar la temperatura del cotiledón, aumentando la dureza del grano. La dureza del grano restringe la perdida de ácidos volátiles, lo cual es perjudicial en el sabor final de chocolate (CAMU, *et al.*, 2008).

1.4. Tostado

El criterio más importante que define la calidad del grano de cacao en los fabricantes de chocolate es el sabor, como ya se explicó anteriormente este sabor a chocolate es desarrollado esencialmente,

en dos etapas de fundamental importancia como son la fermentación y el tostado (CHICHESTER, 1986). Los precursores de aromas desarrollados durante la fermentación interactúan en el proceso de tostado para producir el deseado sabor a chocolate (NAZARUDDIN, et al, 2006), es por ello que de acuerdo a (RAMLI, 2006 citado por BIN HASNY, 2012) el tostado es considerado como la operación tecnológica más importante en el procesamiento de los granos de cacao, (MERMET, 1992) afirma que optimizar las condiciones de tostado de cacao significa desenvolver al máximo el potencial aromático de las almendras.

El tostado convectivo es el método más común usado en el tratamiento térmico de los granos de cacao (KRYSIAK, 2006), se realiza en tostadores continuos tipo tambor de revolución, en donde se exponen los granos de cacao a un rango de temperatura de operación entre los 120 a 140 ºC (BECKETT, 2009).

Principalmente de las variables; tiempo y temperatura, dependerán las propiedades de los granos tostados, así como; la concentración de compuestos volátiles, el sabor, acidez total y contenido de grasa, según (KRYSIAK, 2006); esta última debido a que las habas rotas dejan escapar la manteca de cacao a través de las células

lesionadas, disminuyendo el rendimiento productivo, en tanto que la acidez se ve afectada debido a la reducción de las concentraciones de ácidos volátiles, tales como el ácido acético pero no los ácidos no volátiles tales como el oxálico, cítrico, ácido tartárico, succínico y láctico (RAMLI, 2006).

La temperaturas y tiempos de tueste, dependerán de la humedad con la que ingrese el grano al tostador, esto se puede estimar por medio de una curva de tiempo de tostado, la cual indica el tiempo que se debe tostar vs la humedad inicial del cacao a una temperatura determinada (PLÚA, 2008).

1.5. Desenvolvimiento de los compuestos aromáticos

Según (QUEIROZ, 1999) el aroma envuelve un gran número de constituyentes orgánicos con diferentes estructuras químicas y diferentes propiedades, estando presentes en los alimentos generalmente en nivel de trazas. Además, son compuestos termolábiles que pueden a cualquier aumento de temperatura ser reordenados o sufrir ciclación. Así como tantos otros sabores de ocurrencia natural, el sabor de chocolate es el resultado de una

mezcla compleja de un gran número de compuestos, siendo así imposible caracterizarlo por un único componente.

El sabor a chocolate producido es el resultado de combinaciones de 400-500 compuestos, incluyendo pirazinas, aldehídos, éteres, tiazoles, fenoles, cetonas, alcoholes, furanos y esteres (NAZARUDDIN, *et al*., 2006). Entre estos, los compuestos mayormente formados durante el tostado son las pirazinas, a través de la reacción de Maillard y la degradación de aminoácidos y azúcares.

Los aminoácidos libres presentes en las almendras de cacao se condensan (después de la fermentación) con los azúcares disponibles en los cotiledones para formar cetonas y otros compuestos dicarboxílicos que se condensan con aminoácidos libres para formar aldehídos y aminas, dando como resultado la formación de pirazinas por ciclación, (BAREL, *et al*. 1983,citado por QUEIROZ 1999). Según estudios expuestos por C.O. CHICHESTER, 1988; durante el tostado, el contenido de aminoácidos libres se reduce a aproximadamente 50% del nivel inicial, acompañado por una reducción del 90% en el nivel de azúcares reductores.

Las pirazinas además de ser uno de los compuestos más formados, se ha sugerido desde muy temprano que son una de las causas más importantes del aroma a chocolate. REINECCIUS, 2006; mostró que durante el tostado de 100g de almendras de cacao, cerca de 1g de aminoácidos y azucares son consumidos vía Reacción de Maillard, pero solamente 142-698 ug de pirazinas son formadas, sin embargo el aroma producido es extremadamente importante.

Reacción de Maillard

Según NOOR-SOFFALINA, 2009; durante el tostado la reacción de Maillard juega un papel importante en la formación del aroma del cacao. Los azúcares reductores son precursores del sabor carbonilo, principalmente formados a través de la hidrólisis de la sacarosa por la acción de la invertasa y la hidrólisis enzimática de las antocianinas.

La reacción de Maillard, también conocida como “pardeamiento no enzimático” debido a que está envuelta en la formación de pigmentos marrones, comprende la reacción de condensación entre los compuestos carbonilos reductores como los azucares reductores, aldehídos o cetonas; y compuestos con grupos amino libres, tales

como aminas, aminoácidos, proteínas o cualquier compuesto nitrogenado (BIN HASNY, 2012).

En la etapa temprana de la reacción de Maillard, los azúcares reductores se condensan con un grupo amino libre de los aminoácidos o proteínas para dar un producto de condensación, N-glicosilamina sustituida, en el caso de que un azúcar aldosa se reorganiza el producto es llamado Amadori o Heyns si la reducción del azúcar es una cetosa. Al final, la cantidad de compuestos, dependerá de los sustratos y el pH, y a su vez se polimerizaran contribuyendo al sabor de chocolate final. Algunos de los compuestos más importantes son pirazinas, pirroles, piridinas, imidazoles, tiazoles y oxazoles (BIN HASNY, 2012). Ver figura 1.2.

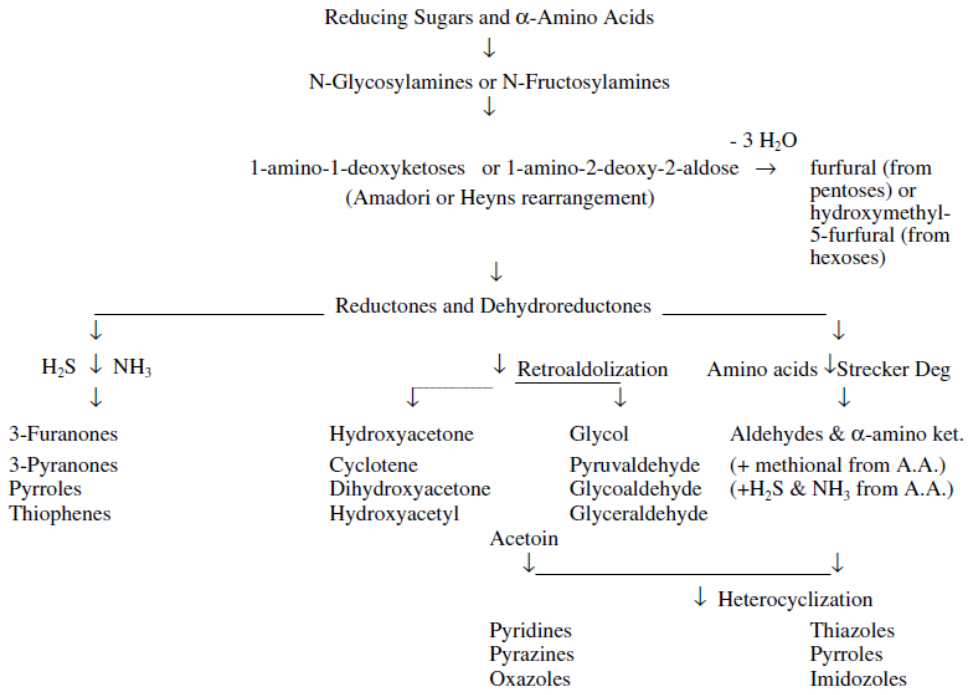

FIGURA 1. 2. FORMACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS AROMÁTICOS VÍA REACCIÓN DE MAILLARD
FUENTE: REINECCIUS, 2006

Principales constituyentes volátiles del cacao

Entre los compuestos volátiles de mayor relevancia tenemos a los aldehídos, pirazinas, esteres, furanos, cetonas, fenoles, pirroles, alcoholes entre otros.

Aldehídos

Los aldehídos son uno de los grupos principales formados a partir del proceso de tostado en la producción de chocolate (RAMLI, 2006).

Varios aldehídos han sido reportados como compuestos cruciales en el sabor del cacao, incluyendo licor de cacao, chocolate y cacao en grano. Entre estos tenemos (E)-2-nonenal, (E)-2-octenal, 2-furaldehído, 2-metilbutanal, 2 metilpropanal, 3-metilbutanal, 5-metil-2-fenil-hexenal, acetaldehído, benzaldehído, hexanal y fenilacetaldehído (COUNET, 2002; SCHNERMANN & SCHIEBERLE 1997; PRAAG, 1968; FRAUENDORFER & SCHIEBERLE 2006). Entre estos aldehídos importantes, algunos contribuyen una fuertenota en el aroma a chocolate, de los cuales 3-metil-butanal, 2-metilpropanal, 2 metilbutanal, acetaldehído, isobutiraldehído, benzaldehído, fenilacetaldehído, 5-metil-2-fenil-2-hexenal, y 2-furaldehído (YI-HSUAN, 2010)**.**

Pirazinas

Las pirazinas son uno de los grupos principales formados en la reacción de Maillard durante el tostado. Entre los 525 compuestos volátiles identificados en cacao en grano tostado, una quinta parte de ellos estuvieron predominados por fracciones de pirazinas (SCHNERMANN & SCHIEBERLE, 1997). Cinco pirazinas se han identificado como compuestos de aroma importantes por estudios

previos 2, 3-dietil-5-metilpirazina, los2-etil-3, 5-dimetilpirazina, 2-metoxi-3- Isopropilpirazina y trimetilpirazinas.

Ácido acético

El ácido acético es un importante compuesto que tiene un efecto significativo sobre el aroma a chocolate, ya que puede proporcionar sabor indeseable, como olor a vinagre. (FRAUENDORFER & SCHIEBERLE, 2006). Los ácidos volátiles pueden ser eliminados mediante el procesamiento, tales como el tostado y enconchado.

Otros

Ácidos, ésteres, furanos, cetonas, fenoles, y pirroles también se han reportado como compuestos importantes, aunque no tanto como aldehídos, pirazinas y ácido acético. 2 - Ácido metilbutanoico y ácido 3-metilbutanoico fueron identificados como compuestos importantes debido a sus altas intensidades de olor y el 2-metil-3-(methyldithio) furano fue también un odorizante clave en el licor de cacao (YI-HSUAN, 2010).

1.6. Obtención de productos de cacao

1.6.1. Licor o masa de cacao

El licor de cacao se produce por medio de la molienda de los nibs de cacao. La finura a la cual la masa necesita ser molida depende de su uso final (BECKETT, 2009).

De acuerdo a SIVASANKAR, 2004; la calidad microbiológica de la masa de cacao es un parámetro para la industria. Debido al alto recuento de aerobios mesófilos (>1x106ufc/g) y la presencia de Salmonella en los granos de cacao, se debe aplicar un tratamiento térmico para obtener productos derivados del cacao, los cuales cumplen la aceptación general dada para la masa de cacao. Cuando se elaboran chocolates con alto contenido de cacao, la masa de cacao se añade directamente en el conchado, el cual debe estar libre de partículas gruesas para evitar una textura arenosa. El tamaño de las partículas de este tipo de masa de cacao debe ser alrededor de 20 µm.

1.6.2. Manteca de cacao

Dependiendo del método de extracción, la manteca de cacao se clasifica en: en manteca de cacao prensada (obtenida por un proceso de prensado), manteca de cacao expulsada (la grasa se obtiene por medio de una extracción física usando un expulsor que reduce la grasa de los granos, nibs, masa o torta de cacao), y finalmente la manteca de cacao refinada. El tipo de proceso usado puede afectar la calidad de la manteca de cacao. Por ejemplo, una severa alcalización puede alterar completamente sus características como la solidificación. La manteca de cacao prensada, la cual es la más usada en la industria, solo es filtrada y desodorizada para obtener el sabor y aroma deseado.

La vida útil de la manteca de cacao sólida es buena y es de un año cuando se almacena en condiciones adecuadas. Para la manteca de cacao líquida la vida útil es de un mes. Si se necesita almacenar la manteca de cacao líquida por largo periodos, se recomienda el uso de nitrógenos para prevenir la oxidación (BECKETT, 2009).

1.6.3. Cacao en polvo

Para la producción de polvo de cacao con contenido de grasa no más del 10% se necesita una extracción usando CO_2 u otros solventes. Otras técnicas como la molienda criogénica de la masa de cacao están disponibles para producir polvo de cacao con un contenido de grasa que excede el 30%. Idealmente, la torta de cacao que se produce tiene una cantidad residual de grasa 10-24% y mezclando las diferentes tortas en cualquier proporción se pueden producir diferentes tipos de polvo de cacao con características específicas. Una ventaja de este método es que es posible estandarizar propiedades como el color del polvo de cacao. Un incorrecto temperado de polvo de cacao puede provocar cambios en su apariencia visual, afectando el color y textura por la formación de grumos. El color del polvo de cacao se torna a una tonalidad clara debido al fat bloom (BECKETT, 2009).

1.6.4. Chocolate

Según AFOAKWA, 2011; los chocolates son suspensiones semisólidas de partículas sólidas finas de azúcar, cacao y leche

(dependiendo del tipo), que constituyen el 70% del total del producto. La clasificación principal del chocolate son dark, leche y blanco, los cuales difieren en contenido de licor de cacao, leche, grasa y manteca de cacao. La variedad del chocolate también depende de las proporciones de carbohidratos, grasa y proteínas. Los triglicéridos en chocolates están liderados por ácidos grasos esteáricos saturados (34%) y palmítico (27%) y ácidos oleicos mono insaturados (34%). Los chocolates son sólidos a temperatura ambiente (20-27 ˚C) y se derriten a temperatura corporal (37 ˚C) durante su consumo, dando una suave suspensión de partículas sólidas en la manteca de cacao y grasa de la leche.

A pesar del alto contenido de lípidos y azúcar, el chocolate contribuye positivamente en la nutrición humana debido a la provisión de antioxidantes, principalmente polifenoles, incluyendo flavonoides como epicatequinas, catequinas y procianidinas. La viscosidad aparente en la solución acuosa influye en el sabor dentro de la boca e intensifica el sabor durante el consumo, estos parámetros reológicos por lo general dan información relacionada a las características sensoriales

del chocolate. Chocolates con alta viscosidad dan una sensación pastosa persistente en la boca.

1.7. Elaboración de chocolate

Los procesos de elaboración de chocolates generalmente comparten características comunes como:

1. Mezclado
2. Refinado
3. Conchado de la pasta de chocolate
4. Temperado
5. Moldeado

El resultado final es un producto de textura delicada, considerado deseable durante la percepción oral.

Mezclado

El mezclado de ingredientes durante la elaboración de chocolates es una función fundamental empleada, usando una combinación de tiempo y temperatura en mezcladores a batch o continuos para obtener una buena consistencia. En mezcladores a batch el licor de cacao, azúcar, manteca de cacao, crema de leche y leche en polvo

(dependiendo del producto) se mezcla normalmente por 12-15 minutos a 40-50˚C. El mezclado continuo se aplica usualmente en grandes fábricas de chocolates multinacionales, las cuales usan amasadoras automáticas que dan una textura dura y consistencia plástica.

Refinado

De acuerdo a AFOAKWA, 2011; el refinado de chocolate es importante para obtener una textura suave que es deseable en las fábricas de chocolates actualmente. Mezclas de azúcar y licor de cacao (y leche, dependiendo del tipo de chocolate) y un contenido total de grasa de 8-24% son refinadas a un tamaño de partículas inferior a 30 µm, normalmente usando una combinación de refinadores de dos a cinco rodillos. El tamaño de las partículas al final influye en las propiedades reológicas y sensoriales.

Conchado

El conchado es uno de los procesos finales en la elaboración de chocolate, ya sea de tipo dark o con leche. Es un proceso esencial que contribuye al desarrollo de la viscosidad, textura final y sabor. El

conchado se realiza agitando el chocolate a más de 50 ˚C por algunas horas. En la etapa anterior la humedad es reducida con la remoción de una cantidad indeseable de compuestos volátiles activos como el ácido acético, y subsecuentemente la interacción en la dispersión empieza. El tiempo de conchado varía de acuerdo al tipo de chocolate que se desee elaborar: Para chocolates con leche va de 10-16 horas a 49-52˚C, con leche en polvo el tiempo es de 16-24 horas a temperaturas superiores a 60˚C, y para chocolates dark a temperaturas entre 70˚C o 82 ˚C(AFOAKWA, 2011).

Temperado

El temperado implica una pre-cristalización de una pequeña porción de triglicéridos, con la formación de núcleos (1-3%) para mantener los lípidos en la forma correcta. El temperado consta de 4 pasos claves: derretimiento a 50˚C, enfriamiento al punto de cristalización a 32 ˚C, cristalización a 27˚C y conversión de algún cristal inestable a 29-31˚C. En la antigüedad el chocolate era temperado a mano, y este método es ocasionalmente usado por chocolateros que producen en pequeñas cantidades. La combinación de tiempo y temperatura son parámetros importantes en el proceso diseñado. En el temperado

continuo, el chocolate es llevado a 45˚C y luego es enfriado lentamente para iniciar la formación de cristales (AFOAKWA, 2011).

Moldeado

El chocolate se moldea en tabletas, se puede hacer de forma manual o mecánica pasándolo por unas cabezas dosificadoras que llenan por igual los moldes. Generalmente los moldes se encuentran a la misma temperatura que la masa para evitar contraste de temperaturas. Los moldes se someten a una serie de vibraciones en donde son agitados brevemente para eliminar las burbujas de aire que pudieran haberse formado al caer la masa del molde. Luego entran a un túnel, a baja temperatura, que enfriará uniformemente el chocolate hasta endurecerlo y darle su forma definitiva. Cuando la masa se enfría se contrae más que el molde, por lo que sólo con darle la vuelta se desprende y se desmolda (AFOAKWA, 2011).

1.8. Tipos de chocolate

Como menciona JARRÍN, 2010; la FDA ha establecido estándares de identificación para muchos chocolates y productos derivados del cacao. Estos estándares designan el porcentaje de ingredientes que

deben presentar. En general, los productores de chocolate elaboran tres tipos de chocolates: chocolate con leche, chocolate dark y chocolate blanco.

Chocolate con Leche

Para que un chocolate se considere chocolate con leche, este debe contener por lo menos 40 % de cacao, 20% de leche y 3.7% de grasa de vegetal. Por lo general se lo mezcla con vainilla, mantequilla, cacao, azúcar y lecitina. El chocolate con leche es usado en la fabricación de barras de chocolate y pasteles, pies y otros postres. Su sabor dulce le da esa preferencia más popular que el chocolate dark.

Chocolate Dark

A diferencia del chocolate con leche, el chocolate dark contiene una gran cantidad de licor de chocolate lo cual le da un sabor más amargo, comparado con el chocolate con leche que es suave y dulce. Es por esto que a este tipo de chocolates se los conoce como amargos. Para este tipo de chocolate el mínimo exigido de cacao es de 60%, de manera que el chocolate negro de alta calidad se caracteriza por su bajo contenido de azúcar.

Chocolate blanco

La clasificación de chocolate blanco es relativamente nueva. Por años, cualquier chocolate que no contenía licor de cacao no se lo consideraba como tal. El chocolate blanco contiene manteca de cacao como la principal fuente de grasa, es actualmente considerado dentro del grupo de chocolates. Está constituido sólo de manteca de cacao (20% mínimo), leche en polvo (14%), azúcar (55% máximo), vainilla y lecitina. Sin nada de licor de cacao, es un chocolate dulce, aunque puede llegar a tener la misma intensidad de sabor que el chocolate dark.

1.9. Tendencias de mercado del chocolate

Según THORTON, 2007; la demanda de chocolates de alta calidad ha aumentado, siendo que los consumidores están cada día tornándose más exigentes, buscando nuevos y diferentes sabores. La búsqueda por chocolates más amargos, saludables, orgánico, su origen; es cada vez mayor, de forma que la calidad de las almendras de cacao se considera un requisito de gran importancia para la obtención y comercialización de estos nuevos tipos de chocolates con diferentes atributos (EFRAIM, 2009).

1.10. Análisis Sensorial

Propiedades Organolépticas

Siempre que se habla de calidad sensorial es preciso distinguir las características organolépticas que poseen los alimentos. Entre ellas podemos mencionar a la apariencia relacionada con la forma y especialmente en el color, textura que tiene que ver con las sensaciones que se manifiestan a través del tacto y la tensión; y el sabor, característica organoléptica en la que básicamente el presente estudio se centrará; que está caracterizada por el aroma, que resume las impresiones de agrado percibidas por vía indirecta a través del órgano olfativo; y el gusto. Para muchos el sabor es la principal razón que permite a las personas disfrutar de los alimentos.

La generación de un sabor determinado depende de ciertos compuestos químicos básicos, entre los que se destacan a los ácidos grasos, cetonas, lactonas, aldehídos, ácidos orgánicos, alcoholes y ésteres (SALTOS, 2010).

La degustación: Degustar un alimento es probarlo con la intención de valorar su calidad organoléptica global en función de un modelo

psicológico y real establecido a priori, con la posibilidad de que el modelo sea diferente según el lugar donde se ensaye.

El degustador: Es una persona seleccionada y entrenada para valorar sensorialmente (apreciar el gusto, color, textura, etc.), un alimento según unos modelos preestablecidos. Los degustadores o catadores, expresan su opinión de forma preferentemente numérica para cada variable estudiada, en función de un patrón ideal, según un escalado, o bien por medio de respuestas a preguntas determinadas.

La reunión de los datos de un grupo de degustadores, ha de permitir el manejo estadístico de estos valores al objeto de determinar el grado de certeza en igualdad o diferencia de los productos comparados.

En el caso del cacao, en la actualidad el mejor método para juzgar el sabor y el potencial funcional del cacao es tostar los granos, molerlos en licor y degustar éste como chocolate negro (C. O. CHICHESTER, B. S. SCHWEIGERT, 1988).

Con los datos resultantes se construye el perfil sensorial para los distintos tipos de cacao. Se requieren procesos bien llevados de fermentación y secado para construir la calidad sensorial del cacao.

Periodos prolongados de fermentación, con la idea de lograr porcentajes superiores de almendras fermentadas, puede terminar en la sobre fermentación del cacao, generando sabores y olores tipo jamón o podrido, que constituyen defectos graves para la industria. Las cualidades sensoriales del cacao se desarrollan y expresan normalmente con periodos de fermentación y secado que son estandarizados para zonas y tipos de cacao, en base a estudios previos (BRAUDEAU, 1970).

Cabe recalcar que los precursores del sabor que se forman durante la fermentación, se recombinan durante el tostado de las almendras para expresar el aroma típico del cacao y chocolate.

Si la temperatura de tostado es alta por mucho tiempo, las almendras terminan por quemarse. El sabor a quemado ocurre cuando ya no existe fructosa en el grano (CROS, 2004; RAMOS, 2004).

Las papilas gustativas de la lengua registran los cuatro sabores básicos (dulce, amargo, ácido y salado) en distintas regiones de la misma. Por el contrario, los aromas se perciben por medio del órgano olfatorio, por vía retro nasal en la cavidad bucal, según SANCHO *et al*. 2002.

1.10.1. Términos descriptores de importancia sensorial en chocolate

Perfiles de sabor es considerado como el mejor procedimiento de evaluación sensorial para el cacao. En este procedimiento, sabores intrincados están descritos en términos de un conjunto de simples y bien conocidos sabores conocidos como descriptores. En un esfuerzo para reducir al mínimo la ambigüedad que a veces existe entre los catadores, o entre los paneles sobre la interpretación de los descriptores utilizados, se han publicado una lista de descriptores comunes.(C. O. CHICHESTER, B. S. SCHWEIGERT, 1988).

En la explicación de los descriptores, se ha tratado dar una probable razón para la generación del sabor que se describe. Según (INIAP, 2009) los descriptores se dividen en tres grupos de sabores: sabores básicos, sabores específicos y sabores adquiridos.

Sabores básicos

Acidez: describe licores con sabor ácido; expresan la presencia de ácidos volátiles y no volátiles; se percibe a los lados y centro de la lengua. Referencias: Frutas cítricas, vinagre.

Amargor: describe un sabor fuerte y amargo, en respuesta a una falta de fermentación; se percibe en la parte posterior de la lengua o en la garganta. Referencia: café, cerveza, toronja.

Astringencia: describe un sabor fuerte también por falta de fermentación; se expresa como sequedad en la boca producto de la precipitación de las proteínas en la saliva; va acompañada de un aumento de salivación; se percibe en toda la boca, lengua, garganta y hasta en los dientes. Referencia: cacao no fermentado, mango verde, hojas de plátano, carambola pintona.

Sabores y aromas específicos

Cacao: describe el sabor típico de granos de cacao bien fermentados, secos, tostados y libre de defectos. Referencia: barras de chocolate negro, cacao fermentado y tostado.

Floral: describe aroma a flores, con tonos perfumados. Referencia: lilas, violetas, flores de cítricos.

Frutal: describe el sabor y aroma a fruta madura, combinado con notas dulzainas agradables. Referencia: cualquier fruta seca madura, fruta cítrica madura y seca; ciruelas pasas.

Frutos secos: describe el sabor y aroma de almendras y nuez.

Sabores adquiridos (normalmente defectos)

Moho: describe licores con sabor mohoso por una sobrefermentación de las almendras o por un secamiento

incorrecto que favoreció la proliferación de hongos. Referencia: Sabor a pan viejo, musgo, olor a bosque.

Verde/Crudo: describe características sensoriales que demuestran la insuficiencia de fermentación, o de tostado incompleto.

Humo: describe licores contaminados por humo de madera, usualmente por el uso de prácticas de secado artificial. Referencia: humo de madera, notas fenólicas, jamón (INIAP, 2009).

CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Considerando como aspectos importantes a los procesos de fermentación, secado y tostado; para el desarrollo del sabor y aroma del chocolate. Se plantea la siguiente hipótesis:

Hipótesis

El tratamiento enzimático durante la etapa de fermentación de cacao para el desarrollo de una mayor cantidad de precursores del sabor en conjunto con el tostado de los granos a una adecuada temperatura ayudará a potenciar el perfil sensorial del cacao CCN51.

Objetivos

Objetivo general

Analizar las características organolépticas de aroma y sabor, de chocolate preparado a partir de cacao CCN51 previamente sometido a un tratamiento enzimático durante la fermentación y a dos diferentes temperaturas de tostado.

Objetivos específicos

- Comprobar que los procesos de fermentación y secado del cacao, aplicados en este estudio son los propicios, con respecto al grado de fermentación que se obtenga en las almendras de cacao.

- Determinar el tiempo de tostado para cada una de las temperaturas en estudio.

- Determinar cual de las temperaturas en estudio es la más idónea para el proceso de tostado, con ayuda de degustaciones sensoriales en licor de cacao.

- Evaluar sensorialmente el efecto de los diferentes tratamientos enzimáticos durante la fermentación del cacao CCN51 en la calidad organoléptica del chocolate, mediante la aplicación de una prueba de comparaciones múltiples.

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. Zona caracterizada por ser un bosque húmedo tropical con una precipitación media anual que oscila entre 2000 mm, temperaturas entre los 22^0 y 28^0 grados centígrados, humedad relativa máxima de 90% y mínima de 60%; características propicias para el cultivo del cacao. Para la cosecha se contó con el apoyo del propietario de la finca; los tiempos de cosecha estuvieron marcados por las épocas, febrero 2012 a mayo 2012.

Para el estudio se utilizaron las enzimas propuestas en (NAVIA & PAZMIÑO, 2012).

- Polifenoloxidasa (PPO) proveniente de la piña (*Ananas comosus*) en estado maduro.
- Proteasa con actividad endo/exopeptídica, nombre comercial Prozyn Flavour de grado alimenticio derivada de una cepa seleccionada no genéticamente modificada del *Aspergillus orysae.*

2.1.2. Equipos y aparatos

Termómetro digital

Data-Logger Temperature Recorder Log Tag Trix -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

Otros aparatos y materiales comunes de laboratorio

2.2. Metodología de los Procesos

2.2.1. Fermentación y Secado

Las muestras de cacao fresco una vez cosechadas se trasladaron a la Planta de beneficio de RISTOKCACAO S.A. ubicada en la localidad de Quinsaloma.

Allí se procedió a la fermentación aplicando el método de fermentación en cajas de madera a un nivel propuesto por (NAVIA & PAZMIÑO, 2012). La madera a utilizar 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 4 cubículos de 50 cm^3, con capacidad de hasta aproximadamente 70 Kg de

masa fresca, de los cuales 50 Kg de masa fueron la cantidad total a utilizarse. Las cajas fueron perforadas para facilitar el drenaje de las exudaciones producidas por la descomposición del mucílago de las almendras, y la masa de fermentación fue cubierta con sacos de yute (ver Figura 2.1.) para conservar la temperatura durante la fermentación y desacelerar el enfriamiento de la masa.

FIGURA 2. 1. CAJAS DE FERMENTACIÓN
EID – Esquina inferior derecha / EII – Esquina inferior izquierda / ESD – Esquina superior derecha / ESI – Esquina superior izquierda / MED – Medio

Una vez colocada la masa de cacao en baba en las cajas, la misma permaneció 2 días en el primer cubículo, y un día en los cubículos restantes. Se realizaron tres remociones en total durante el periodo de fermentación, utilizando para el efecto palas plásticas (Figura 2.2.) La primera remoción fue a las 48 horas, contadas desde el comienzo de la fermentación y de ahí en adelante a las 24 horas. El proceso fermentativo de toda la masa se completó en cinco días.

FIGURA 2. 2. REMOCIÓN CON PALA PLÁSTICA Y TOMA DE TEMPERATURA CON TERMÓMETRO DIGITAL

El avance de la fermentación se monitoreó mediante registros diarios de la temperatura, con ayuda de un data logger y un termómetro digital (Figura 2.2.). El uso del termómetro digital permitió determinar el lugar en la caja más adecuado para colocar el data logger, es decir donde se desarrollaba más la temperatura. Las lecturas se tomaron, en puntos ubicados a 5 cm de la superficie superior de la masa, en los lados derecho e izquierdo (ESD, ESI); a 5 cm de la superficie inferior, en los lados derecho e izquierdo (EID, EII) y por último un punto en la parte central (MED); en cada uno de los cuatro cubículos que conformaban la caja de fermentación, en la figura 2.1. se indican los puntos en uno de los cubículos.

Se emplearon 2 tipos de enzimas diferentes, cada una representando un tratamiento realizado en cajas independientes, la adición de las enzimas se realizó a las 48 horas junto a la primera remoción. En la Tabla 2 se presentan los experimentos fermentativos llevados acabo.

Terminada la fermentación, el cacao fermentado se expuso al secado natural, llevado acabo en módulos solares (Figura 2.3.), 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. 3. SECADO EN MÓDULOS SOLARES

Se llevaron acabo un total de 9 corridas experimentales con el motivo de poseer confiabilidad en los datos experimentales para contrarrestar errores o influencias no controladas.

TABLA 2

TRATAMIENTOS DE FERMENTACIÓN

Experimento	Tratamiento	Tipo de cacao	Tiempo de adición
1	Adición de 7,5% de pulpa de piña en base a la masa total del cacao fresco	CCN51	Después de 48 h
2	Adición de 0,5% de enzima PROZYN en base a la cantidad de proteína total de la masa de cacao	CCN51	Después de 48 h
3	Sin adición de enzima	CCN51	-

ELABORADO POR: Díaz & Pinoargote, 2012.

2.2.2. Selección y clasificación según el grado de fermentación

Las almendras fermentadas y secas fueron seleccionadas y clasificadas utilizando la “Prueba de Corte”, conforme al método propuesto por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 175 (Cacao en grano – Ensayo de corte) y considerando los criterios

establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176 (Cacao en grano – Requisitos) correspondientes a los Apéndices A y B.

Según (INIAP, 2009), la técnica de la Prueba de Corte es una prueba subjetiva que requiere de la observación visual y se utiliza para evaluar la calidad o grado de fermentación en las distintas muestras, por su influencia directa sobre el sabor y aroma a chocolate. Esta consiste en dividir longitudinalmente en dos mitades cada uno de los granos de un grupo de 100 tomados aleatoriamente, mediante el uso de un instrumento conocido como “guillotina”, para luego examinarlos de acuerdo al color e intensidad de las grietas de los cotiledones. Ver Figura 2.4.

FIGURA 2. 4. PRUEBA DE CORTE CON GUILLOTINA

2.2.3. Clasificación por tamaño

Una vez determinado el grado de fermentación de las muestras, las mismas pasan a ser previamente seleccionadas antes de ser tostadas, eliminando manualmente las almendras muy pequeñas, achatadas, vanas e impropias para el procesamiento, incluyendo también alguna materia extraña que se pudiese presentar.

FIGURA 2. 5. ALMENDRAS DE CACAO IMPROPIAS PARA EL PROCESAMIENTO

2.2.4. Tostado

Como es conocido la temperatura de tostado del cacao influye de forma significativa en el sabor y aroma final del producto, por ello es importante establecer la temperatura en que debe ser tostado el grano.

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 (Figura 2.6.). Se realizó en muestras de 500g de almendras de cacao; a 120 y 140ºC, temperaturas que se encuentran dentro del rango utilizado comúnmente en la industria. Las muestras fueron escogidas aleatoriamente, siguiendo las recomendaciones propuestas en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177:95 (Cacao en grano – Muestreo) Apéndice C, completamente al azar y a diferentes profundidades del depósito en el que se encontraban.

FIGURA 2. 6. TOSTADOR ELÉCTRICO ROTATORIO

2.2.4.1. Determinación del tiempo de tostado

Para determinar el tiempo de tostado se elaboró una curva de tiempo de tostado por cada temperatura empleada, que dependió de la humedad inicial del grano de cacao, permitiéndonos conocer la variación de la humedad del grano en función del tiempo de tostado a temperatura constante. Para su realización se tomaron muestras de 500g, libres de impurezas; las mismas que se colocaron en el tostador previamente acondicionado a las temperaturas establecidas, se verificó cada 10 minutos el peso del cacao.

Cabe recalcar que la humedad final de tueste que se busca es aproximada al 2,5%, debido a que una humedad menor significa un menor rendimiento del producto, y una humedad mayor podría originar problemas en la molienda del grano.

2.2.5. 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. (la Figura 2.7. ilustra los pasos descritos).

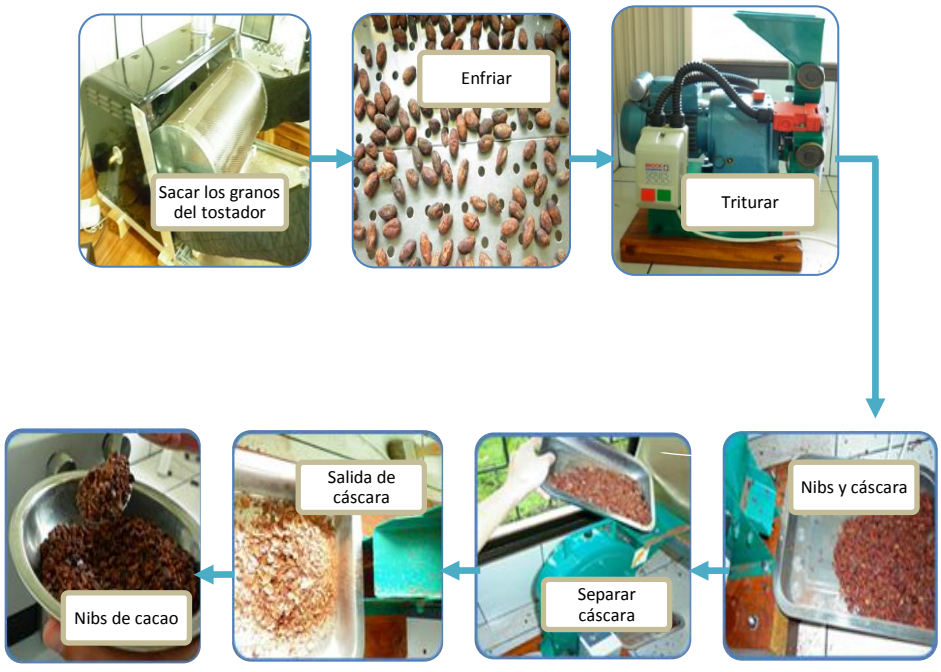

FIGURA 2. 7. OBTENCIÓN DE NIBS DE CACAO

2.2.6. Proceso de obtención de licor de cacao

La Figura 2.8. representa de forma general el flujograma del procesamiento de las almendras de cacao para la obtención de licor de cacao.

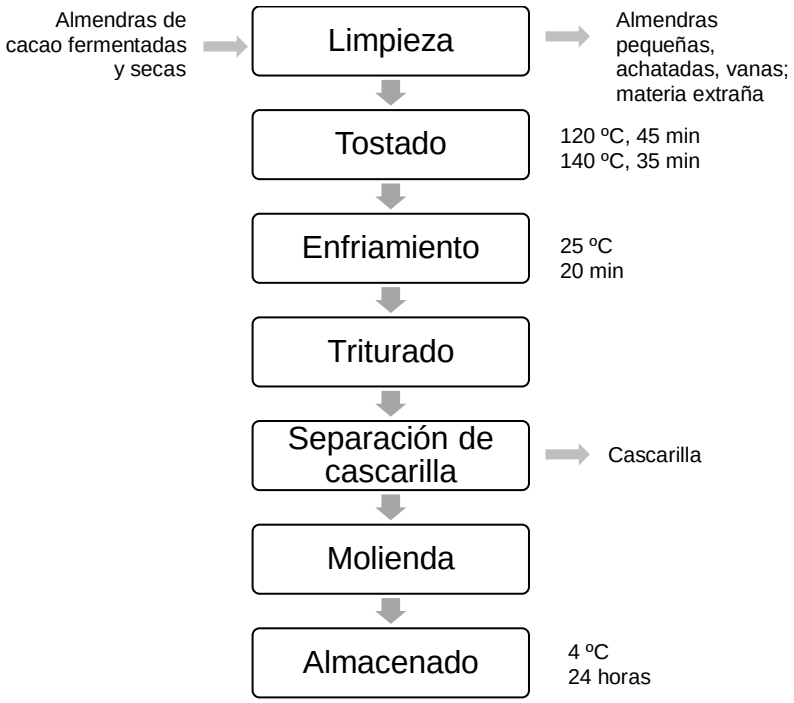

FIGURA 2. 8. FLUJOGRAMA DE OBTENCIÓN DEL LICOR DE CACAO

Para la molienda se utilizó un molino de mortero RM 200, RETSCH con capacidad de 100 g por muestra (Figura 2.9.), durante un tiempo de 60 minutos para obtener muestras homogéneas en finura aproximándose a los 10 µm en tamaño de la partícula de cacao.

FIGURA 2. 9. MOLIENDA DE LOS NIBS DE CACAO EN UN MOLINO DE MORTERO

Las muestras fueron almacenadas a una temperatura de refrigeración aproximada a los 4°C por 24 horas, en recipientes individuales debidamente rotulados con los códigos correspondientes, para luego ser degustadas por los panelistas entrenados.

Se debe tener presente que la finura afecta a las percepciones sensoriales en la lengua y cavidad bucal, partículas con tamaños grandes dificultan su contacto con los “sensores” o papilas gustativas. Por esa razón, los sólidos de cacao en el licor deben tener tamaños alrededor de los 25 µm para asegurar la máxima sensibilidad gustativa por parte del degustador.

2.2.7. Proceso de elaboración de chocolate

Para la elaboración de chocolates, fueron utilizados los licores obtenidos conforme a lo descrito en el ítem anterior; provenientes de las muestras de cacao con diferentes tratamientos de fermentación, tostado a la temperatura más adecuada dentro de las dos propuestas.

Para la determinación de la fórmula base se eligió realizar un chocolate negro (amargo, sin leche, con alto contenido de cacao), con miras a una mejor evaluación de las diferencias en el sabor por los jueces.

La formulación general utilizada estuvo compuesta por un 65% de licor de cacao, 5% de manteca de cacao y 30% de azúcar, obteniendo así un chocolate negro de 70%. De acuerdo a (SANCHO, BOTA & CASTRO, 2002) el uso de canela en este caso es indebido ya que la experiencia demuestra que algunos olores pueden enmascarar total o parcialmente a otros, y más aún ésta que es considerada como un agente aromático dentro de los aditivos que alteran las características sensoriales.

La Figura 2.10. representa el flujograma del procesamiento de los chocolates de las diferentes muestras estudiadas.

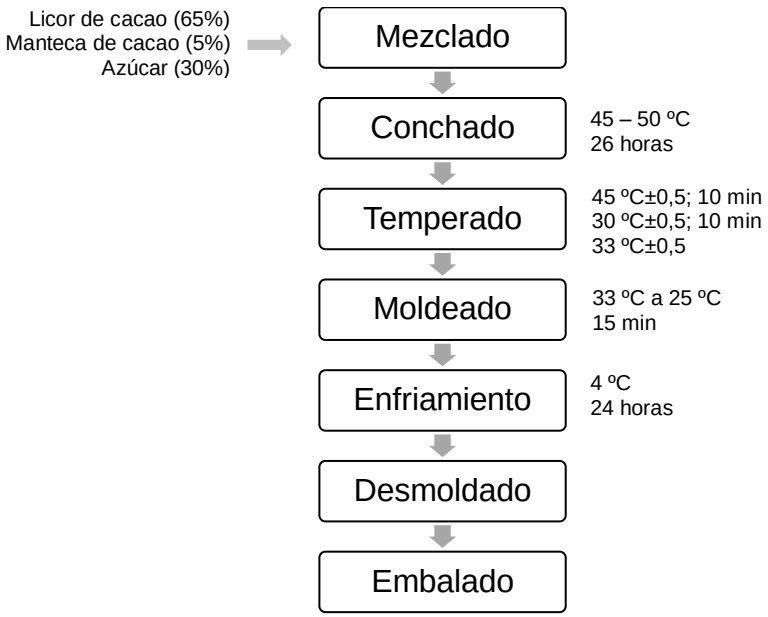

FIGURA 2. 10. FLUJOGRAMA DE OBTENCIÓN DE CHOCOLATE

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 (Figura 2.11.), manteniéndose la temperatura en un rango entre los 45 a 50 ºC durante un tiempo total de 26 h; para el temperado se siguió el

siguiente método, realizado en tres fases; en la primera fase el chocolate permaneció a 45 °C ± 0,5 ºC durante 10 min, enseguida fue realizado un enfriamiento a 30°C ± 0,5 ºC, a una tasa de 2 ± 0,2 ºC/min, permaneciendo durante 10 min con la temperatura y en la tercera fase el chocolate fue recalentado a 33°C ± 0,5ºC(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 2.12.).

FIGURA 2. 11. MINICONCHA

Los diferentes procesos tanto el de obtención de licor de cacao a las distintas temperaturas de tostado, como el de elaboración del chocolate se realizó en los Laboratorios de Calidad de

Cacao de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP.

FIGURA 2. 12. CHOCOLATE ELABORADO EN LA INSTALACIONES DEL INIAP

2.3. Metodología del Análisis Sensorial

Consideraciones generales tanto para el licor de cacao y el chocolate

Las sesiones de cata de las diferentes muestras se realizaron entre las 10 - 11 h de la mañana y 4 - 5 h de la tarde, ya que el momento de la realización de la degustación viene regido por el sistema de comida de los catadores. Antes y después de las comidas. (SANCHO, BOTA & CASTRO, 2002).

La codificación de las muestras se realizó de tal manera que no proporcione al catador ninguna información sobre la identidad de la muestra o sobre el tratamiento que hayan sufrido y así evitar errores

de anticipación que, según (SANCHO, BOTA & CASTRO, 2002) y (SALTOS, 2008), generalmente ocurre cuando los panelistas reciben mucha información sobre la naturaleza del experimento, por ello se usaron codificaciones de tres números al azar siguiendo las tablas de números aleatorios (Apéndice D).

El orden de presentación de las muestras fue estudiado estadísticamente con el objetivo de balancear las posibilidades de colocación mediante un estudio de distribución al azar y así evitar errores por posición de las muestras. Esto es debido a que existe una marcada tendencia a escoger la muestra probada en medio como más desigual o diferente, cuando las diferencias entre las muestras son muy pequeñas (SANCHO, BOTA & CASTRO, 2002).

2.3.1. Licor de cacao

Con la finalidad de escoger la temperatura mas adecuada para el proceso de tostado, los licores fueron evaluados sensorialmente, los análisis fueron conducidos por dos paneles de evaluación sensorial: el panel del Laboratorio de calidad de cacao de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP y el panel sensorial de la empresa procesadora de cacao

RISTOKCACAO S.A., con el objetivo de detectar las diferencias y particularidades de cada muestra con mayor agudeza sensorial.

En conjunto 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 40ºC.

Preparación de las muestras

El licor de cacao se sometió a un calentamiento leve para que al momento de degustarlo se encuentre a una viscosidad adecuada (GIOFFRÉ, 2006), como se encontraba refrigerado se procedió a cortarlo en trozos pequeños e iguales para que la temperatura de fusión sea homogénea; y luego se fundió en baño maría que es el método más usado, pues permite mantener una temperatura baja (inferior a 45°C), procurando que el agua del baño no llegue a ebullición en consecuencia a que el vapor y las gotas de condensación dañan la muestra por lo que la vuelve granulosa. No se debe fundir directamente al

fuego, debido a que la muestra se quemaría de inmediato (la Figura 2.13. ilustra los pasos descritos).

FIGURA 2. 13. ACONDICIONAMIENTO DEL LICOR DE CACAO PARA LA DEGUSTACIÓN

Proceso de degustación

Previo a dar inicio al proceso de degustación, las muestras se codificaron siguiendo el método descrito en el ítem anterior.

Los panelistas procedieron a degustar las muestras de licor de cacao calentado; colocando mediante una paleta plástica, una pequeña porción del licor de cacao sobre la parte central de la lengua y distribuyéndola convenientemente en la cavidad bucal, para enseguida identificar los sabores percibidos por las papilas gustativas de la lengua y paredes de la boca, durante aproximadamente 20 segundos, antes de registrarlos en el

formulario correspondiente. Las calificaciones se tabularon en una base de datos para los respectivos análisis estadísticos.

Prueba sensorial

En este caso 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 140ºC. El propósito fue establecer si las muestras presentaban diferencia en sabor y aroma y cuál era la de mayor agrado. En la hoja de cata se insertó una sección de comentarios destinada a registrar el por qué los jueces han preferido tal muestra.

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, frutal, sobrefermentación, quemado. El diseño de la hoja de cata se puede observar en el Apéndice E.

2.3.2. Chocolate

Con el propósito de conocer si los tratamientos enzimáticos marcaron cambios significativos en la etapa de fermentación y por consiguiente se justifique el uso de las enzimas, se procedió a evaluar sensorialmente chocolates elaborados a partir de los diferentes tratamientos.

Los análisis fueron conducidos por el panel de evaluación sensorial de una empresa productora de chocolate de exportación, al igual que en el licor con el objetivo de detectar las diferencias y particularidades de cada muestra. 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.

Preparación de las muestras

Las muestras de chocolate fueron cortados en tamaños iguales y se sirve en platos blancos. La temperatura de presentación de cada muestra estuvo entre los 20-25ºC, este es un aspecto de importancia, ya que por lo general el producto se debe servir a la temperatura de consumo normal.

Proceso de degustación

Previo a dar inicio al proceso de degustación, las muestras se codificaron siguiendo el método descrito en el ítem 1.3. Los panelistas procedieron a degustar el chocolate, colocándose un trozo sobre la parte central de la lengua, identificaron los sabores y los registraron en la hoja de cata. Una vez efectuadas las catas, se tabuló la información proporcionada por los catadores en una base de datos para posteriormente proceder a analizarla estadísticamente.

Prueba sensorial

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 descriptores (palabras definidas asociadas con los distintos aromas y sabores) que 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 cuales 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.

En la hoja de cata se incluyó tres secciones bien diferenciadas, que son: las instrucciones de la cata; la escala que se escogió para medir la intensidad de los atributos; y los atributos sensoriales establecidos. En el Apéndice F se ilustra el formato a utilizarse en esta evaluación.

2.3.3. Tratamiento estadístico de los datos

Los datos obtenidos del monitoreo de la temperatura con el termómetro digital, 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%.

El modelo estadístico correspondiente al análisis de las temperaturas estuvo dado por la siguiente ecuación:

$$y_{k(ij)} = \mu + T_i + C_j + \varepsilon_{k(ij)} \qquad \text{(Ec. 2.1)}$$

Donde:

$y_{k(ij)}$: Variable de respuesta de la temperatura en un punto específico del cubículo de la caja de fermentación.

μ: Media general de los datos de temperatura.

T_i: Efecto de la ubicación de los granos de cacao dentro del cubículo de la caja de fermentación, en la temperatura (esquina superior derecha e

izquierda, esquina inferior derecha e izquierda y medio).

C_j: Efecto de la caja de fermentación.

$\varepsilon_{k(ij)}$: Error que incluye todas la fuentes de variabilidad en el experimento.

Las hipótesis planteadas fueron:

$$H_{o1}: \mu_1=\mu_2=\mu_3=0 \text{ vs } H_{i1:}\ \mu_1=\mu_2=\mu_3 \neq 0$$

$$H_{o2}: C=0 \text{ vs } H_{i2:}\ C \neq 0$$

La primera hipótesis evaluará si las medias de las temperaturas en cada uno de los puntos evaluados en el cubículo de la caja de fermentación difieren o no significativamente.

La segunda hipótesis, evaluará si existe un efecto o no en la temperatura por parte de las cajas de fermentación, es decir, si existe alguna diferencia significativa entre las mismas, esto se analiza debido a que las cajas no se encontraban ubicadas exactamente en un mismo lugar.

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 ºC. Las hipótesis planteadas fueron las siguientes:

H_o: Licor de cacao a 120 ºC = Licor de cacao a 140 ºC

H_i: Licor de cacao a 120 ºC ≠ Licor de cacao a 140 ºC

El análisis fue llevado a cabo en el programa estadístico MINITAB 14, utilizando la Prueba de comparación de dos proporciones, 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 Test 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 (ver Apéndice G).

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 de Tukey para la determinación de diferencias significativas con un nivel de confianza del 95%.

El modelo correspondiente al análisis sensorial estuvo dado por la siguiente ecuación:

$$y_{k(ij)} = \mu + T_i + J_j + \varepsilon_{k(ij)} \qquad \text{(Ec. 2.2)}$$

Donde:

$y_{k(ij)}$: Variable de respuesta de la característica sensorial evaluada, (aroma floral, frutal, etc.).

μ: Parámetro para todos los tratamientos llamado media general.

T_i: Efecto del tratamiento de temperatura de tostado en el caso de la prueba del licor de cacao, (120 y 140 ºC).

Efecto del tratamiento enzimático en el caso de la prueba en el chocolate, (PROZYN, PPO, BLANCO).

J_j: Efecto del juez entrenado.

$\varepsilon_{k(ij)}$: Error que incluye todas la fuentes de variabilidad en el experimento.

Las hipótesis planteadas fueron:

1. Para el caso del licor de cacao

$$H_{o1}: \mu_1=\mu_2 = 0 \text{ vs } H_{i1:} \mu_1=\mu_2 \neq 0$$

2. Para el caso del chocolate

$$H_{o1}: \mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4 = 0 \text{ vs } H_{i1:} \mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4 \neq 0$$

3. Para ambos casos

$$H_{o2}: J= 0 \text{ vs } H_{i2:} J\neq 0$$

Para el primer y segundo caso las hipótesis evaluarán si las medias de cada tratamiento difieren o no significativamente.

Para el tercer caso las hipótesis, evaluarán si existe alguna diferencia significativa en las respuestas de los jueces con respecto a cada una de las características sensoriales, pudiendo existir incompatibilidad en los resultados.

CAPÍTULO 3

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 3, 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 3

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

*Medias de todas las mediciones
EID – Esquina inferior derecha / EII – Esquina inferior izquierda / ESD – Esquina superior derecha / ESI – Esquina superior izquierda / MED – Medio
Observación: Las medias de los datos, seguidas por letras diferentes en la misma fila, son estadísticamente diferentes (Test Tukey a 5% de significancia).
ELABORADO POR: Díaz &Pinoargote

La Tabla 4, en cambio nos demuestra que las diferentes ubicaciones de las tres cajas de fermentación, en las se llevaron acabo 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 4

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

*Medias de todas las mediciones durante todas las corridas de fermentación
Observación: Las medias de los datos, seguidas por letras diferentes en la misma fila, son estadísticamente diferentes (Test Tukey a 5% de significancia).
ELABORADO POR: Díaz &Pinoargote

Perfil de temperatura durante el proceso fermentativo

En las figuras 3.2., 3.3., 3.4.; se encuentran los perfiles de temperatura durante el proceso fermentativo de las almendras de cacao con los diferentes tratamientos, obtenidos de los data loggers. En los tres casos se puede observar que el pico más alto de temperatura se dio aproximadamente a las 63 horas luego de dar inicio al proceso, con una temperatura cercana a los 50ºC, lo que nos indica que se llevó un buen proceso de fermentación, además de que es una temperatura óptima para la actividad enzimática.

El aumento de la temperatura durante el proceso de fermentación se debe básicamente a la actividad metabólica de los microorganismos. Durante el primer día 1, predominan ciertas especies de levaduras que requieren poco oxígeno, y por lo tanto la temperatura no es alta. Cuando comienzan a predominar las bacterias productoras de ácido acético, se alcanzan temperaturas más altas, 45 ° C a 50 ° C (DÍAS, 1987 citado por OLIVEIRA, 2004).

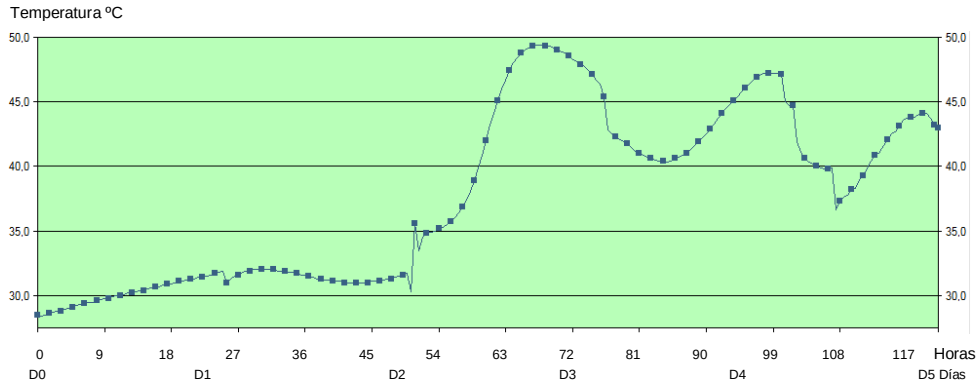

FIGURA 3. 1. PERFIL DE TEMPERATURA DEL TRATAMIENTO CON ENZIMA PPO
FUENTE: Data logger

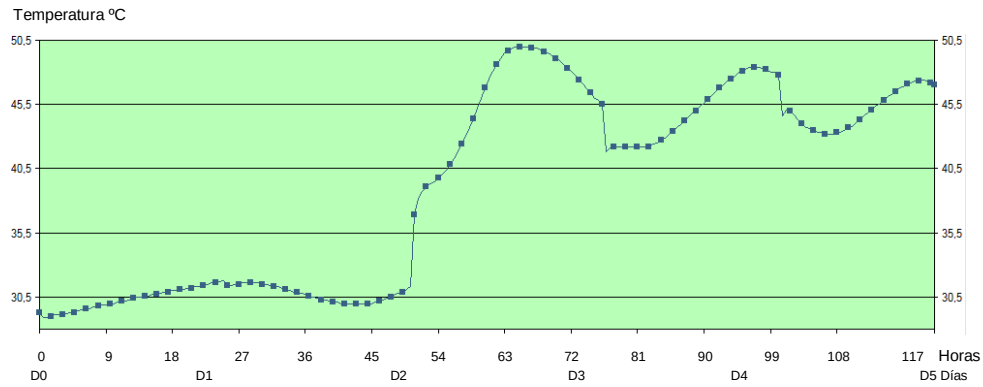

FIGURA 3. 2. PERFIL DE TEMPERATURA DEL TRATAMIENTO CON ENZIMA PROZYN
FUENTE: Data Logger

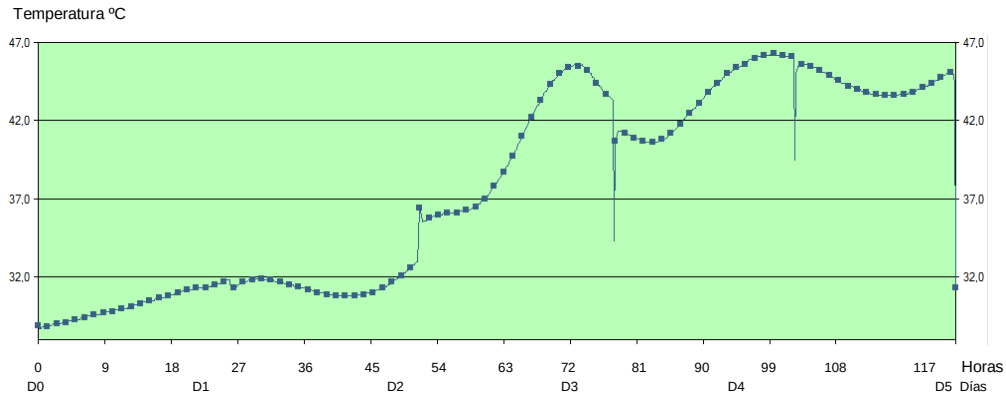

FIGURA 3. 3. PERFIL DE TEMPERATURA DEL TRATAMIENTO SIN ENZIMA
FUENTE: Data Logger

Clasificación de las almendras de cacao

En la Tabla 5, se presentan los resultados de la prueba de corte realizada en las almendras de cacao de los diferentes experimentos.

TABLA 5

PRUEBA DE CORTE PARA LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS ENZIMÁTICOS

EXPERIMENTO	BF (%)*	PF (%)*	MF (%)*
Prozyn	85,7 ± 2,08	11,7 ± 4,04	2,7 ± 2,31
PPO	81,7 ± 4,16	9,7 ± 4,04	8,7 ± 5,86
Blanco	79,3 ± 6,11	11 ± 1,73	9,7 ± 6,66

*Media de tres mediciones
BF – bien fermentadas / PF – parcialmente fermentadas / MF – mal fermentadas
ELABORADO POR: Díaz & Pinoargote, 2012

De acuerdo a los criterios establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176 (Cacao en grano – Requisitos) correspondientes a el Apéndice B, que indican que para el cacao CCN51 el total de fermentación entre bien fermentadas y parcialmente fermentadas como mínimo debe de alcanzar un 76%; por los resultados obtenidos, se comprueba que el proceso fermentativo fue bien conducido.

3.2. Determinación de la temperatura de tostado

3.2.1. Curva de tiempo de tostado

Los datos de porcentaje de humedad y tiempo de tueste necesarios para realizar las curvas de tiempo de tostado para cada temperatura se presentan en la Tabla 6.

TABLA 6

DATOS DE PORCENTAJE DE HUMEDAD Y TIEMPO DE TOSTADO

Tiempo (min)	% Humedad (120 ºC)	% Humedad (140 ºC)
0	7,2	7,32
10	4,84	4,66
20	3,27	3,13
30	2,8	2,69
40	2,58	2,39
50	2,36	-

ELABORADO POR: Díaz &Pinoargote, 2012

Con estos datos se pudo graficar las curvas que se muestran en la figura 3.4., como se 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 ºC fueron 45 y 35

min respectivamente, tiempo en el que los granos de cacao tostados alcanzaron una humedad del 2,5%.

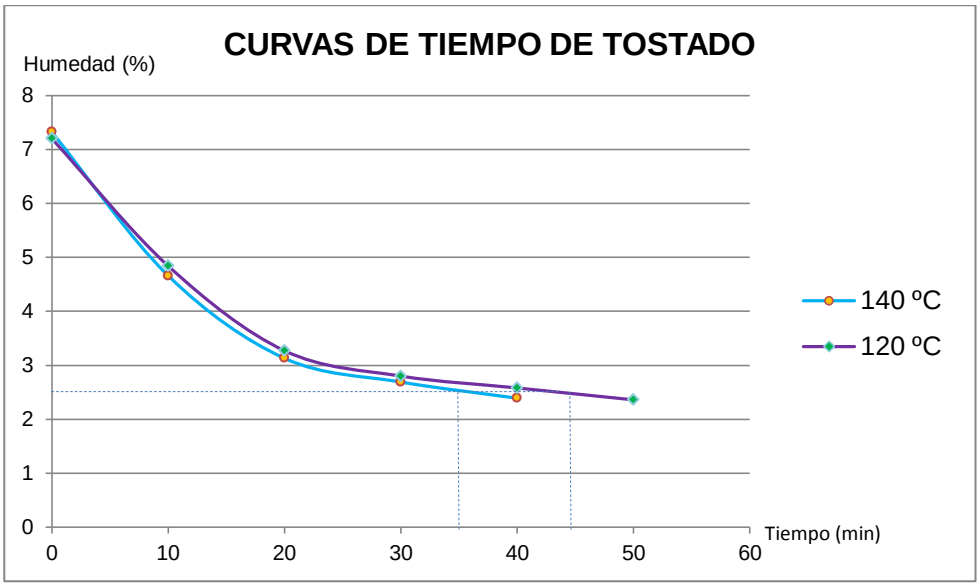

FIGURA 3. 4. CURVAS DE TIEMPO DE TOSTADO DE LOS GRANOS DE CACAO CCN51 A 120 Y 140 ºC
ELABORADO POR: Díaz &Pinoargote, 2012

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 7

PRUEBA SENSORIAL DE COMPARACIÓN

Tratamiento de tostado	Iguales	Diferentes
120 ºC y 140 ºC	2	16

ELABORADO POR: Díaz & Pinoargote, 2012

Usando el programa estadístico MINITAB 14, el análisis de comparación 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. Los cálculos se encuentran adjuntos al Apéndice G.

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

TABLA 8

PRUEBA SENSORIAL DE PREFERENCIA

Tratamiento	Preferencia	No Preferencia
120 ºC	1	17
140 ºC	15	3

ELABORADO POR: Díaz &Pinoargote, 2012

Para el análisis de estos datos se utilizó la tabla estadística adjunta en el Apéndice H, en la que se indica el número mínimo de juicios correctos 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 8, para la muestra de licor de cacao a 140 ºC 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 ºC.

En la Tabla 9 se presentan las medias de los datos obtenidos en la evaluación sensorial descriptiva del licor de cacao.

TABLA 9

ANÁLISIS DE MEDIAS DE LOS DATOS OBTENIDOS DE LA PRUEBA SENSORIAL DESCRIPTIVA DEL LICOR DE CACAO

ATRIBUTOS SENSORIALES	LICOR DE CACAO	
	120 ºC	140 ºC
Chocolate	1,72a	3,67b
Acidez	1,72a	1,77a
Amargor	1,44a	1,77a
Astringencia	1,77a	1,55a
Floral	1,05a	1,83b
Frutal	1,72a	2,55b
Sobrefermentado	0,05a	0,16a
Quemado	0,05a	0,27a

Observación: Las medias de los datos, seguidas por letras diferentes en la misma fila, son estadísticamente diferentes (Test Tukey a 5% de significancia).
ELABORADO POR: Díaz & Pinoargote, 2012

La figura 3.5. muestra una comparación más comprensible de los resultados producidos en la evaluación sensorial con respecto al análisis descriptivo. Al analizar las tendencias 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 ºC en comparación con el de 120 ºC, esto se debe a que según (NAZARUDDIN et al., 2005)a mayores temperaturas de tostado aumentan los atributos sensoriales del chocolate ya que hay una elevada producción de pirazinas, según (BECKETT, 2009) las pirazinas son excepcionalmente importantes para el sabor de chocolate.

(REINECCIUS, 2006) demostró esto, en el siguiente ejemplo, mientras que 1,3 g (por 100 g de granos de cacao) de reducción de azúcares y aminoácidos (en total) se perdieron durante el tostado de los granos de cacao, sólo 0,9 mg de pirazinas (de la caracterización volátiles de chocolate) se formaron. Así, aproximadamente 0,07% de los reactivos fueron transformados en pirazinas mientras que el resto de los reactivos fue en otros productos; sin embargo esta pequeña producción de pirazinas aunque parezca despreciable es la que mayormente contribuye al sabor a chocolate.

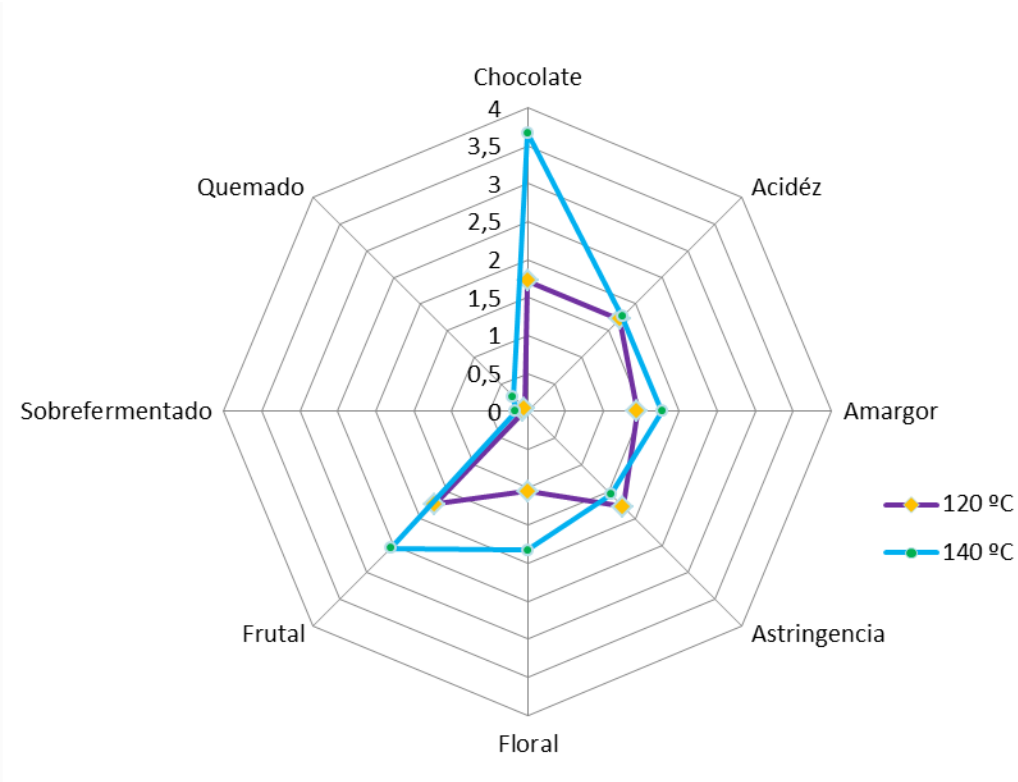

FIGURA 3. 5. RESUMEN DE LOS PERFILES SENSORIALES DEL LICOR DE CACAO A 120 Y 140 ºC

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 ºC durante 35 min existió una mayor producción de estos compuestos que a los 120 ºC 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.

Los demás parámetros como se puede observar parecen coincidir en intensidades, se muestra una estrecha correspondencia entre las dos temperaturas, esto se debe a que los atributos como amargor y astringencia son el resultado básicamente del proceso de fermentación, en el cual se da la disminución de compuestos como los polifenoles que son los que confieren estas características; la acidez en cambio se debe al proceso de secado en donde se disminuyen los ácidos volátiles, siempre y cuando exista una buena aireación y remoción de los granos durante esta etapa, aunque según (NAZARUDDIN et al., 2005)a temperaturas altas debería existir notas de astringencia más bajas, sin embargo el mismo autor indica que a 120 ºC durante 20 min se observó una disminución significativa en la astringencia, además de que a temperaturas mayores 160ºC existe un aumento significativo del sabor amargo.

Con respecto a los atributos de sobrefermentado y quemado, en ningún tratamiento se los logró presenciar significativamente, éstos se evaluaron con el fin de conocer si en el proceso de fermentación pudo haber existido una sobrefermentación y que los tratamientos de las diferentes temperaturas de tostado no hayan quemado las muestras.

3.4. Análisis sensorial del chocolate

Para el análisis sensorial de las muestras de chocolates de cada tratamiento se realizaron degustaciones con la participación de 7 catadores entrenados. Las características sensoriales evaluadas y los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

TABLA 10

ANÁLISIS DE MEDIAS DE LOS DATOS OBTENIDOS DE LA PRUEBA SENSORIAL DESCRIPTIVA DE LOS CHOCOLATES

ATRIBUTOS SENSORIALES	TRATAMIENTOS			
	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

Observación: Las medias de los datos, seguidas por letras diferentes en la misma fila, son estadísticamente diferentes (Test Tukey a 5% de significancia).
ELABORADO POR: Díaz &Pinoargote, 2012

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.

Con respecto al Cacao Nacional, este tipo de características sensoriales son fáciles de evidenciar debido a que estos componentes se encuentran de forma innata en esta variedad.

Se evidenció que este tipo de componentes se logran activar a temperaturas como 140˚C. En estudios previos a 110˚C no presentaron diferencia estadística significativa.

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 Blanco. Esto ocurre porque a partir del adicionamiento de la enzima PPO ayudará al rompimiento de glicoproteínas, formándose péptidos y azúcares, permitiendo un mayor tiempo de acción de las levaduras. Las levaduras provocan un 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, etil octanoato 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 desarrollo del grupo de pirazinas, siendo la

tetrametilpirazina 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 y L-treonina, 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).

En la figura 3.6 se puede observar de una manera más didáctica las diferencias significativas entre los perfiles sensoriales del chocolate.

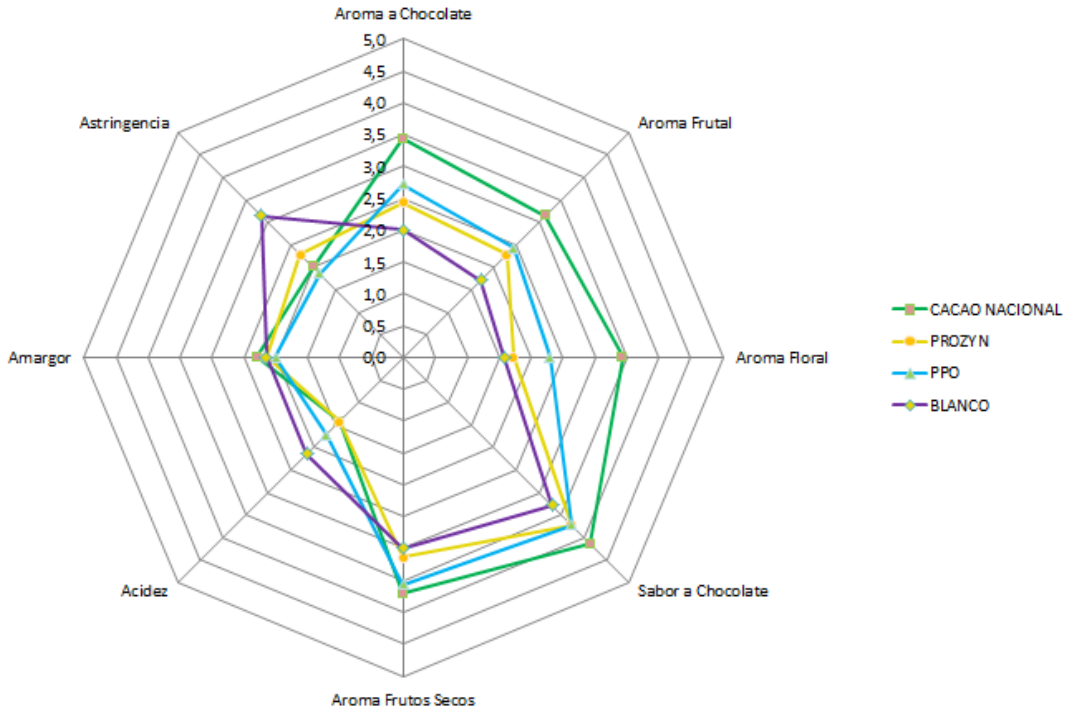

FIGURA 3. 6. RESUMEN DE LOS PERFILES SENSORIALES DE LOS CHOCOLATES

Con este trabajo investigativo se demuestra que no necesariamente el potencionamiento de aromas depende en su totalidad de la fermentación, ya que es el tostado que logra incrementar aún más las características sensoriales deseadas en un chocolate. Es así que en estudios anteriores (Navia & Pazmiño, 2012) obtuvieron mejores sabores y aromas con la adición de la enzima Prozyn Flavour, tostado a una temperatura de 110°C y un tiempo de 20 minutos, la enzima PPO queda relegada como mejor opción para ellos, debido a que esa temperatura no ayudó a manifestar el correcto

potencionamiento de precursores brindados por la adición de PPO, insistiendo en que una prueba sensorial realizada en el licor de cacao a 110°C, no asegura el total desarrollo de aromas como lo harían temperaturas más elevadas en el tostado como las aplicadas en este estudio (140°C), que mostraron mayor preferencia por el chocolate a partir del cacao tratado con adición de la enzima PPO durante el proceso de fermentación. También existen estudios en que el uso de polifenoloxidasa, presente en pulpa de chirimoya, y tostado a 150°C (Da Silva 2001), brindó muy buenos resultados; sin embargo únicamente logra reducir la acidez, el amargor y astringencia. Debido a que la pulpa de chirimoya no posee la acción de la bromelina, enzima necesaria para el potencionamiento de sabores debido a su característica endopeptídica.

Concluyendo que, aunque una prueba sensorial en el licor de cacao ofrece un panorama previo de las características sensoriales que podrían presenciarse en el producto final, que es el chocolate, se hace fundamental el que exista un razonamiento adicional para este tipo de tratamientos con una temperatura más elevada, ya que para el caso del tratamiento con pulpa de piña es ventajoso que posea la acción de la endopeptidasa de la bromelina, formando péptidos que contienen aminoácidos terminales hidrofóbicos. Dichos terminales

hidrofóbicos quese encuentran dentro de envolturas de agua y permiten aún estabilidad a la proteína, es decir que impide que estructuras terciarias o secundarias sean alteradas, mediante el incremento de temperaturas a 140°C, esta cantidad de agua se evapora y permite la aparición de precursores, que junto a la acción de solubilizar previamente compuestos fenólicos en agua, debido a la PPO, existirá un mejor resultado de dicho tratamiento para el panel sensorial que el de Prozyn Flavour, el cual debido a no poseer acción de solubilización de compuestos polifenólicos permite un enmascaramiento de precursores por parte de características negativas como astringencia, amargor o acidez, otorgando un nivel de preferencia menor que el de PPO.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El porcentaje de semillas fermentadas por el método propuesto fue superior al 80%, superando al requisito mínimo de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176, el cual indica que para el cacao CCN51 el total de fermentación entre bien fermentadas y parcialmente fermentadas como mínimo debe de alcanzar un 76%.

Tanto la adición enzimática durante la fermentación del cacao CCN51 como la temperatura de tostado aplicada (140 ˚C) tuvieron un efecto significativo en las características organolépticas evaluadas en el chocolate con respecto al que no fue tratado enzimáticamente.

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 significativamente estos atributos sensoriales del cacao.

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 enzima polifenoloxidasa contenida en la piña (PPO), por lo que se concluye que esta enzima actuó sobre los compuestos polifenólicos solubilizándolos, evitando el enmascaramiento de los precursores por parte de las características negativas como astringencia, amargor o acidez, y otorgando un nivel de preferencia mayor al chocolate en comparación a los otros tratamientos estudiados.

Recomendaciones

Realizar estudios de actividad enzimática 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 presenten mayor disponibilidad en el Ecuador y que contengan 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.

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

Cabe recalcar que la piña también presenta un rico contenido de la enzima bromelina, que al igual que la enzima Prozyn, tiene actividad endopeptídica, por lo que se recomienda realizar estudios de la actividad de estos compuestos durante la fermentación del cacao CCN51.

APÉNDICE A

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 175

Cacao en grano – Ensayo de corte

1 OBJETO

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para realizar el ensayo de corte en una muestra de cacao en grano.

2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

2.1 Se mezcla cuidadosamente la muestra para ensayo, obtenida según la norma INEN 177 y, mediante reducciones sucesivas, aplicando un procedimiento de cuarteo o un aparato adecuado, se obtiene una muestra representativa de 500 gramos de cacao.

3 PROCEDIMIENTO

3.1 Se cortan los 500 gramos longitudinalmente por la mitad, de tal manera que quede expuesta la máxima superficie de los cotiledones. Se examina visualmente las dos mitades de cada grano a plena luz del día o bajo una luz artificial equivalente.

3.2 Se cuenta separadamente, el número de granos correspondientes a cada tipo de defecto, de acuerdo con los criterios establecidos en la respectiva Norma de clasificación (INEN 176).

3.3 Cuando un grano presente más de un defecto, se considerará una sola vez con respecto al orden establecido en la norma de clasificación y requisitos.

4 INFORME DE RESULTADOS EXPERIMENTALES

4.1 En el informe de resultados experimentales, deberá indicarse el porcentaje de granos defectuosos correspondiente a cada tipo de defecto considerado, calculado con respecto a los 500 gramos examinados.

4.2 Debe indicarse, además, el método y cualquier condición no especificada por esta Norma que pueda haber influido sobre los resultados.

4.3 Debe incluirse todas las indicaciones necesarias para la completa identificación de la muestra.

APÉNDICE Z

Z.1 **NORMAS A CONSULTAR**

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 176:2003 Cacao en grano.
Requisitos
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177:1987 Cacao en grano.

Muestreo

Z.2 **BASES DE ESTUDIO**

Recomendación ISO R. 1114. Cocoa Beans Cut Test
Internacional Organization for Standarization, Suiza 1969
Estudio sobre la Normalización del Cacao en el Ecuador
Ing. Vicente Illingworth C. Instituto Ecuatoriano de Normalización,
Quito, febrero 1973.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

La primera revisión de la INEN 175 fue estudiada por el Subcomité Técnico: Cacao en grano y aprobada por este en 1986/12/11.
Formaron parte del Subcomité Técnico las siguientes personas:
La Norma INEN 175 (Primera Revisión) fue aprobada por el Consejo Directivo del Instituto Ecuatoriano de Normalización en sesión de 1986-12-18.

NOMBRE	INSTITUCIÓN
Ing. Juan Ramírez	Programa Nacional del Cacao - MAG
Ing. Nicolás Fuentes Morla	Programa Nacional del Cacao - MAG
Econ. Gonzalo Varas	MICIP
Srta. Martha Ledesma	Inedeca
Dr. Jorge Sotomayor	Sector industrial
Ing. Hermul Níkel	Sector industrial
Sr. Miguel Marchán	Agroin S. A.
Econ. Pablo Garaycoa	Lafeica
Sr. Luis Paulson Amador	Procoa C. A.
Econ. Juan Cevallos C.	Corp. Bolsa Nacional de Productos Agropecuarios
Sr. José Ordoñez	Asociación de Cacaoteros del Ecuador
Agr. Víctor Chacón	Asociación de Cacaoteros del Ecuador
Sr. Benigno Robles A.	Asociación de Cacaoteros del Ecuador
Sr. Alejandro Orellana	Cafeica
Sr. Vincent Zeller	Granex
Ing. Miguel Barcia	Coexba
Lcdo. Johnny Arévalo	Corroa
Ing. Galo Serrano	Almaco
Sr. Fernando Martínez	Colcacao
Dra. Leonor Orozco L.	INEN

El señor Ministro de Industrias, Comercio, Integración y Pesca autorizó y oficializó esta Norma con el carácter de OBLIGATORIA Y EMERGENTE, mediante Acuerdo Ministerial N° 47 de 1987-01-16, publicado en el Registro Oficial N° 620 de 1987-02-06.

APÉNDICE B

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 176

Cacao en grano – Requisitos

1 OBJETO

1.1 Esta norma establece la clasificación y los requisitos de calidad que debe cumplir el cacao en grano beneficiado y los criterios que deben aplicarse para su clasificación.

2 ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica al cacao beneficiado, destinado para fines de comercialización.

3 DEFINICIONES

3.1 Cacao en grano. Es la semilla proveniente del fruto del árbol Theobroma cacao L.

3.2 Cacao beneficiado. Grano entero, fermentado, seco y limpio.

3.3 Grano defectuoso. Se considera como grano defectuoso a los que a continuación se describen:

3.3.1 Grano mohoso. Grano que ha sufrido deterioro parcial o total en su estructura interna debido a la acción de hongos, determinado mediante prueba de corte.

3.3.2 Grano dañado por insectos. Grano que ha sufrido deterioro en su estructura (perforaciones, picados, etc.) debido a la acción de insectos.

3.3.3 Grano vulnerado. Grano que ha sufrido deterioro evidente en su estructura por el proceso de germinación, o por la acción mecánica durante el beneficiado.

3.3.4 Grano múltiple o pelota. Es la unión de dos o más granos por restos de mucílago.

3.3.5 Grano negro. Es el grano que se produce por mal manejo poscosecha o en asocio con enfermedades.

3.3.6 Grano ahumado. Grano con olor o sabor a humo o que muestra signos e contaminación por humo.

3.3.7 Grano plano vano o granza. Es un grano cuyos cotiledones se han atrofiado hasta tal punto que cortando la semilla no es posible obtener una superficie de cotiledón.

3.3.8 Grano partido (quebrado). Fragmento de grano entero que tiene menos del 50% del grano entero.

3.4 Grano pizarroso (pastoso). Es un grano sin fermentar, que al ser cortado longitudinalmente, presenta en su interior un color gris negruzco o verdoso y de aspecto compacto.

3.5 Grano violeta. Grano cuyos cotiledones presentan un color violeta intenso, debido al mal manejo durante la fase de beneficio del grano.
3.6 Grano ligeramente fermentado. Grano cuyos cotiledones ligeramente estriados presentan un color ligeramente violeta, debido al mal manejo durante la fase de beneficio del grano.
3.7 Grano de buena fermentación. Grano fermentado cuyos cotiledones presentan en su totalidad una coloración marrón o marrón rojiza y estrías de fermentación profunda. Para el tipo CCN51 la coloración variará de marrón a marrón violeta.
3.8 Grano infestado. Grano que contiene insectos vivos en cualquiera de sus estados biológicos.
3.9 Grano seco. Grano cuyo contenido de humedad no es mayor de 7% (cero relativo).
3.10 Impureza. Es cualquier material distinto a la almendra de cacao.
3.11 Cacao en baba. Almendras de la mazorca del cacao recubiertas por una capa de pulpa mucilaginosa.
3.12 Fermentación del cacao. Proceso a que se somete el cacao en baba, que consiste en causar la muerte del embrión, eliminar la pulpa que rodea a los granos y lograr el proceso bioquímico que le confiere el aroma, sabor y color característicos.

4 CLASIFICACIÓN
4.1 Los cacaos del Ecuador por la calidad se clasifican de acuerdo a lo establecido en la tabla 1.

5 REQUISITOS
5.1 Requisitos específicos.
5.1.1 El cacao beneficiado debe cumplir con los requisitos que a continuación se describen y los que se establecen en la tabla 1.
5.1.2 El porcentaje máximo de humedad del cacao beneficiado será de 7% (cero relativo), el que será determinado o ensayado de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 173.
5.1.3 El cacao beneficiado no deberá estar infestado.
5.1.4 Dentro del porcentaje de defectuosos el cacao beneficiado no deberá exceder del 1% de granos partidos.
5.1.5 El cacao beneficiado deberá estar libre de: olores a moho, ácido butírico (podrido), agroquímicos, o cualquier otro que pueda considerarse objetable.
5.1.6 El cacao beneficiado, deberá sujetarse a las normas establecidas por la FAO/OMS, en cuanto tiene que ver con los límites de recomendación de aflatoxinas, plaguicidas y metales pesados hasta tanto se elaboren las regulaciones ecuatorianas correspondientes.
5.1.7 El cacao beneficiado deberá estar libre de impurezas.

TABLA 1. Requisitos de las calidades del cacao beneficiado

REQUISITOS	UNIDAD	CACAO ARRIBA					CCN-51
		ASSPS	ASSS	ASS	ASN	ASE	
Cien granos pesan	g	135-140	130-135	120-125	110-115	105-110	135-140
Buena fermentación (mínimo)	%	75	65	60	44	26	65***
Ligera fermentación* (mínimo)	%	10	10	5	10	27	11
Total fermentado (mínimo)	%	**85**	**75**	65	**54**	**53**	**76**
Violeta (máximo)	%	10	15	21	25	25	18
Pizarroso/pastoso (máximo)	%	4	9	12	18	18	5
Moho (máximo)	%	1	1	2	3	4	1
Totales (análisis sobre 100 pepas)	%	100	100	100	100	100	100
Defectuoso (máximo) (análisis sobre 500 gramos)	%	0	0	1	3	4**	1

ASSPS Arriba Superior Summer Plantación Selecta
ASSS Arriba Superior Summer Selecto
ASS Arriba Superior Selecto
ASN Arriba Superior Navidad
ASE Arriba Superior Época
* Colocación marrón violeta
** Se permite la presencia de granza solamente para el tipo ASE.
*** La coloración varía de marrón violeta

5.2 Requisitos complementarios

5.2.1 La bodega de almacenamiento deberá presentarse limpia desinfestada, tanto interna como externamente, protegida contra el ataque de roedores.

5.2.2 Cuando se aplique plaguicidas, se deberán utilizar los permitidos por la Ley para formulación, importación, comercialización y empleo de plaguicidas y productos afines de uso agrícola (Ley No 73).

5.2.3 No se deberá almacenar junto al cacao beneficiado otros productos que puedan transmitirle olores o sabores extraños.

5.2.4 Los envases conteniendo el cacao beneficiado deberán estar almacenados sobre pallets (estibas).

6 INSPECCIÓN

6.1 Muestreo

6.1.1 El muestreo se efectuará de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 177.

6.1.2 Aceptación o rechazo. Si la muestra ensayada no cumple con los requisitos establecidos en esta norma, se considera no clasificada. En caso de discrepancia se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tales efectos.

Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso será motivo para reclasificar el lote.

7 ENVASADO

7.1 El cacao beneficiado deberá ser comercializado en envases que aseguren la protección del producto contra la acción de agentes externos que puedan alterar sus características químicas o físicas; resistir las condiciones de manejo, transporte y almacenamiento.

8 ETIQUETADO

8.1 Los envases destinados a contener cacao beneficiado, serán etiquetados de acuerdo a las siguientes indicaciones:

Nombre del producto y tipo.
Identificación del lote.
Razón social de la empresa y logotipo.
Contenido neto y contenido bruto en unidades del Sistema Internacional de Unidades (SI).
País de origen
Puerto de destino

APÉNDICE

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 173:1987 Cacao en grano
Determinación de la humedad
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 177:1987 Cacao en grano
Muestreo

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Española UNE 34 002:1994. Cacaos. Asociación Española de Normalización y Certificación. AENOR. Madrid, 1994.

Norma Técnica Colombiana NTC 1 252. Cacao. Instituto Colombiano de Normas Técnicas Industrias Alimentarias. Bogotá, 1988.

Norma Cubana NC 87 08:1984. Cacao. Términos y definiciones. Comité *Estatal de Normalización*. La Habana, 1984.
Norma Cubana NC 87 05:1982. Cacao beneficiado. Especificaciones de calidad. Comité Estatal de Normalización. La Habana, 1982.
International Standard ISO 2451. Cocoa beans s*pecifications*.
International Organization for Standardization, Geneva 1973.
Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Manual del cultivo del cacao. Quito, 1993.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA
Documento: NTE INEN 176 (3R)
TITULO: CACAO EN GRANO, REQUISITOS
Código: AL.02.06-401
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 19
REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo
1995-07-04
Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 248
de 1995-09-05
Publicado en el Registro Oficial No. 790 de 1995-09-27
Fecha de iniciación del estudio: 2000-10-05
Subcomité Técnico: "CACAO Y PRODUCTOS DE CACAO"
Fecha de iniciación: 2000-10-16 * Fecha de aprobación: 2000-11-13
Integrantes del Subcomité Técnico:

NOMBRES	INSTITUCIÓN PRESENTADA
Ing. Julio César Zambrano (Presidente)	COFINA
Ing. Sergio Cedeño Amador	APROCAFA
Sr. José Sierra Fiallos	REPEC S.A.
Sr. Gonzalo Romero	REPEC S.A.
Sr. Gustavo Rodríguez	INTERCA
Sr. Alejandro Orellana Jara	EXITORE CIA. LTDA.
Eco. José Ampuero Balda	ATLANTIC COCOA
Ing. Askley Delgado	ASDE
Ing. Alfredo Villavicencio	UNOCACE
Sr. René Rodríguez	ANECACAO
Ing. Carlos Elizalde	ANECACAO
Ing. Rosa Pérez	UNOCACE
Ing. Jacinto Velásquez	UNOCACE
Sr. Jaime Zea	INMOBILIARIA GUANGALA
Ing. Freddy Amores	INIAP (PICHILINGUE)
Ing. Eduardo Crespo del Campo	APROCAFA
Sr. Javier Elizalde Romero	CORPEI-GUAYAQUIL
Ing. Lorena Vasquez Gonzales	NESTLE-ECUADOR
Ing. Bolívar Cano (Secretario Técnico)	INEN

APÉNDICE C

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 177:95

Cacao en grano – Muestreo

1 OBJETO.

1.1 Esta norma establece el procedimiento para la toma de muestra del cacao en grano.

2 ALCANCE.

2.1 Lote. Es la cantidad específica de cacao en grano con características similares, que se somete a inspección como un conjunto unitario.

2.2 Muestra. Es un grupo de granos extraído de un lote, que sirve para obtener la información necesaria que permite apreciar una o más características de ese lote, lo cual servirá de base para tomar una decisión sobre dicho lote.

2.3 Muestra elemental. Es la cantidad de granos tomada de una sola vez y de un solo punto del lote determinado.

2.4 Muestra global o total. Es el conjunto de muestras elementales.

2.5 Muestra reducida (porción). Es la cantidad de cacao en grano que se obtiene al reducir de tamaño la muestra global.

2.6 Muestra de laboratorio. Es la cantidad de cacao en grano obtenida de la muestra reducida, que está en condiciones de ser enviada al laboratorio, para en ella efectuar los ensayos correspondientes.

2.7 Muestra de ensayo. Es la parte de la muestra de laboratorio destinada a un análisis o ensayo.

2.8 Nivel de calidad aceptable (AQL). Es el máximo porcentaje defectuoso, o el mayor número de defectos en 100 unidades, que debe tener el producto para que el plan de muestreo de por resultado la aceptación de la mayoría de los lotes sometidos a inspección.

2.9 Nivel de inspección. Es el número que identifica la relación entre el tamaño del lote y el tamaño de la muestra.

2.10 Envase (saco). Es el recipiente que contiene cacao en grano y que está destinado a protegerlo del deterioro, contaminación y a facilitar su manipulación.

2.11 Sacamuestras. Instrumento que se utiliza para extraer el producto de un embalaje.

2.12 Producto granel. El que no está envasado.

3 DISPOSICIONES GENERALES

3.1 Se deberá tomar todo tipo de precauciones para evitar la contaminación del cacao en grano durante el muestreo.

3.2 Las muestras serán identificadas consecutivamente según hayan sido tomadas.

3.3 Las muestras se protegerán contra los cambios en su composición, pérdidas y contaminación por impurezas, etc.

4 MUESTREO.

4.1 Toma de muestras

4.1.1 Si el cacao en grano que se va a muestrear se presenta en envases de distintos tamaños se deberá agrupar en lotes de acuerdo con la capacidad de los envases, es decir, en cada lote deberá haber envases de una misma capacidad.

4.1.2 El número de muestras elementales extraídas completamente al azar, estarán en función de lo indicado en la tabla 1, y serán tomadas en gramos.

4.1.3 Las muestras elementales que en conjunto forman la muestra global, podrán ser de aproximadamente de 100 a 1.000 gramos, las mismas que serán divididas de acuerdo a lo indicado en el numeral

4.4.1., hasta obtener una muestra reducida de 1.500 gramos.

4.1.4 Las muestras en los lotes para producto envasado o empacado se obtendrán realizando un muestreo al azar, para lo cual se enumerarán las unidades del lote, se utilizarán los números aleatorios, y el número de muestras según lo establecido en la tabla 1. En los envases la muestra se obtendrá introduciendo el calador (ejemplo Fig. 1) en un solo punto, este deberá penetrar por lo menos hasta la mitad diagonal el saco, y por lo menos en tres puntos seleccionados al azar, cuando se utilice uno de los caladores que se indican como ejemplo en las figuras 2, 3 y 4.

Cuando por condiciones del sitio de almacenamiento no sea posible movilizar el producto, se podrá muestrear las caras visibles del lote.

Cuando las partes interesadas consideren conveniente se hará un corte longitudinal el mismo que deberá llegar hasta el fondo del lote, con lo cual se tendrá dos caras adicionales para muestrear.

Siempre se utilizará un sistema de muestreo aleatorio, para lo cual el número de muestras elementales establecidos en la tabla 1, serán divididas para el número de caras visibles del lote.

4.1.5 Para muestreo de productos a granel y para obtener una muestra verdaderamente representativa, este deberá efectuarse en el lugar y momento adecuado, que será de preferencia en el momento de la carga, descarga o empaque del producto; cuando no se puedan aplicar los criterios anteriormente indicados, las muestras elementales serán tomadas en forma aleatoria o completamente al azar y a diferentes profundidades, y con uno de los caladores que se indican como ejemplo en las figuras 1 y 5.

El lote de productos a granel se reducirá matemáticamente a sacos de (n) kilogramos y se aplicará la tabla 1.

4.1.6 Cuando el producto esté en movimiento, durante las operaciones de carga y descarga, la toma de unidades de muestreo se hará a base del tiempo que va a durar el producto en movimiento, y se dividirá dicho tiempo para el número de muestras elementales que se deben tomar de acuerdo a lo establecido en la tabla 1. El resultado indica la frecuencia de la extracción. En la figura 6 se indica un ejemplo de muestreador para productos en movimiento.

El lote de productos a granel se reducirá matemáticamente a sacos de (n) kilogramos y se aplicará la tabla 1.

Tabla 1. Número de muestras elementales de cacao.

Tamaño del lote (número de sacos)	Número mínimo de muestras elementales
2 - 8	2
9 - 15	3
16 - 25	5
26 - 50	8
51 - 90	13
91 - 150	20
151 - 280	32
281 - 500	50
501 - 1.200	80
1.201 - 3.200	125
3.201 - 10.000	200
10.001 - 35.000	315
35.001 - 150.000	500
150.001 - 500.000	800
Mayor a 500.001	1250

*el tamaño de la muestra puede cambiar, dependiendo del nivel de inspección acordado entre el comprador y vendedor. Muestreo por atributos.

4.2. Sacamuestras
Dependiendo de la forma de presentación se podrá utilizar:
Calador sacamuestras de compartimiento de doble tubo. Compuesto de dos tubos metálicos concéntricos, ambos con aberturas que coincidan entre sí. El diámetro del tubo interior es ligeramente menor al del tubo exterior, lo cual hace posible la rotación mediante el uso de la manivela.
La forma y dimensiones del calador sacamuestras de compartimiento se indican en el ejemplo de la figura 1.
Sacamuestras de los ejemplos de las figuras 2 a 5, y para productos en movimiento ejemplo figura 6.
4.3. Divisores
Divisor tipo Boerner. Aparato constituido por un alimentador (a) una serie de tubos distribuidores (b) y un recipiente (c). Sirve para distribuir
el producto, dividiendo las muestras en dos porciones representativas, y también para homogenizar la muestra haciéndola pasar varias veces por
el aparato cuarteador que consta en el ejemplo de la figura 8.
4.4. Reducción por cuarteo.
4.4.1. Tanto para el cuarteo que se efectúe en forma manual o mecánicamente,
la cantidad del producto de la recolección de las muestras elementales se mezclará muy bien para tomar la muestra global, para luego dividirla en 4 partes iguales; se eliminarán dos porciones diagonalmente opuestas, las otras dos se mezclarán de nuevo y se repetirá sucesivamente la operación hasta obtener el tamaño requerido de muestra reducida (1.500 gramos) según lo establecido en el numeral 4.1.3.
4.5. Condiciones posteriores al muestreo.
4.5.1. La muestra reducida (1.500 gramos) se dividirá en tres muestras iguales, destinadas: una al vendedor, otra al comprador para destinarla al laboratorio de análisis y la tercera a la entidad que debe actuar en casos de discrepancia.

4.5.2. La muestra reducida y dividida según se indica en el numeral anterior (4.5.1.) Se distribuirá en recipientes adecuados (envases plásticos, etc.), limpios y secos, que se cerrarán herméticamente, se les pondrá los sellos o firmas de las partes interesadas.
4.5.3. Se deberá suscribir un acta de muestreo que incluya la siguiente información.
a) Número de la norma INEN de referencia: NTE INEN 177.
b) Dirección donde se realizó el muestreo.
c) Lugar y fecha donde se realizó el muestreo (establecimiento, bodega, etc.).
d) Nombre de la compañía comercializadora del cacao en grano y nombre del comprador.
e) Nombre comercial del cacao en grano (clasificación-tipo, nombre científico).
f) Número de lote.
g) Capacidad de los envases del lote, o cantidad a granel.
h) Número de envases y/o empaques muestreados.
i) Tamaño de la muestra en gramos del cacao en grano muestreado.
j) Observaciones sobre condiciones en que se encuentra el cacao en grano.
k) Nombre y firma de la persona que realizó el muestreo.
l) Nombre y dirección de las partes interesadas.
4.5.4. La muestra (500 gramos) destinada al análisis deberá enviarse al laboratorio tan pronto como se haya tomado, si no es posible hacer esto, se deberá guardar de tal modo que no se altere la calidad del cacao en grano, el tiempo que dure guardado no deberá ser mayor de 15 días. Las dos muestras restantes se almacenarán por el término de 30 días para efectos de discrepancia entre los interesados, y en condiciones que no afecte la calidad del cacao en grano.

Apéndice Z

Z.1. **Documentos normativos a consultar**

No requiere de otros documentos normativos para su aplicación.

Z.2. **Bases de estudio**

Norma Colombiana ICONTEC 1252. Industrias alimentarias. Cacao. Bogotá. 1988.

Norma Cubana NC 87-05.1987. Cacao beneficiado. Especificaciones de calidad. La Habana, 1982.

Norma Ecuatoriana INEN 255: 1976. Control de calidad. Procedimientos de muestreo y tablas para la inspección por atributos. Quito, 1976.

International Standard ISO 950. Cocoa beans sampling. Geneva, 1973.

Datos proporcionados por varias empresas en la fase de estudio al nivel de campo.

APÉNDICE D

TABLA DE NÚMEROS ALEATORIOS

3	0	0	8	2	1	5	9	5	7	1	1	7	4	3	7	9	9	8	4	5	2	3	6	4	2	7	5	9	1
5	9	0	9	2	8	1	4	8	0	1	2	2	8	6	1	6	7	0	4	8	4	2	1	6	1	8	9	7	8
8	9	6	5	9	2	3	5	2	1	1	9	8	8	1	9	3	4	7	0	2	6	6	3	3	6	6	6	2	6
4	7	2	3	7	1	3	7	5	9	7	9	7	8	5	5	1	5	1	9	1	7	7	2	6	0	5	7	3	2
6	8	5	0	8	3	3	4	7	8	5	5	7	4	3	4	3	5	6	3	4	5	7	0	2	1	8	9	5	7
0	8	4	9	4	9	2	2	7	7	7	5	4	1	7	2	5	8	5	2	1	2	0	1	8	0	4	7	7	3
4	6	9	3	4	9	8	6	9	7	6	9	1	6	4	3	9	1	6	5	1	5	3	4	4	8	8	1	4	3
5	7	0	5	8	0	2	8	8	4	3	6	2	3	1	5	3	9	6	0	2	9	4	6	9	8	6	3	6	6
0	8	1	3	6	9	2	8	3	2	3	7	4	6	7	7	1	2	6	9	9	9	1	0	8	3	9	6	6	8
0	1	4	5	3	4	1	8	5	6	8	2	9	4	1	3	9	7	5	9	9	2	4	0	1	4	2	1	4	3
6	1	7	7	8	5	7	5	7	9	6	2	4	9	7	6	9	3	4	2	5	5	6	4	1	6	5	3	5	1
7	9	7	3	8	8	4	6	6	8	3	8	5	7	2	9	9	8	6	4	4	6	2	5	8	9	4	9	8	3
1	8	1	4	4	5	2	9	8	6	0	8	2	1	3	3	3	8	9	8	7	7	8	2	5	9	3	3	3	4
1	8	5	8	6	5	8	1	1	1	1	4	4	5	3	3	2	2	3	8	3	0	8	5	6	5	9	8	8	8
6	9	5	8	7	3	6	6	0	3	8	3	7	5	2	9	5	2	4	6	0	1	8	0	9	1	9	6	6	3
1	3	2	4	4	4	4	4	4	9	4	4	6	8	4	5	3	8	6	3	6	5	1	8	2	8	8	3	2	8
0	4	5	8	9	7	6	7	6	2	8	9	9	5	9	8	6	4	5	4	9	6	5	1	2	3	6	9	5	1
6	8	7	9	6	1	3	2	7	9	0	5	5	8	1	9	8	2	6	3	7	1	2	4	2	6	9	2	9	1
9	5	7	6	2	5	0	3	7	2	2	1	3	0	2	6	7	0	1	8	1	0	6	2	4	0	7	5	2	8
8	6	4	0	6	4	4	4	9	2	6	5	1	5	5	7	2	8	7	7	9	5	6	6	6	4	9	6	3	9
6	0	4	2	9	8	1	0	5	9	0	8	4	9	4	2	6	1	4	3	6	7	9	4	3	8	8	6	7	2
5	8	7	6	7	3	8	7	0	4	2	6	4	4	9	5	5	7	8	2	9	1	6	5	7	8	3	1	6	2
4	5	1	5	1	6	7	2	1	6	8	4	5	8	6	7	6	2	1	7	4	0	9	2	7	5	6	1	5	9
7	5	3	9	9	9	4	9	9	5	3	7	6	5	5	5	1	1	6	6	2	7	5	7	3	5	9	6	4	7
6	5	2	7	5	7	0	2	4	3	9	3	8	4	6	5	7	5	8	5	7	6	5	9	3	8	7	5	8	5

Se escoge un dígito cualquiera al azar, usando un lápiz se elige un sitio sin ver. El número que coincida donde se colocó el la punta del lápiz, será el dígito aleatorio, seguido de los dos números que lo prosigan en cualquiera de sus lados; derecho, izquierdo, arriba, abajo e inclusive diagonalmente.

APÉNDICE E

FORMATO DE CATACIÓN PARA EL LICOR DE CACAO

NOMBRE:_____ FECHA:_____/_____/_____

Usted está recibiendo 2 (dos) muestras de licor de cacao. Por favor pruebe las muestras de izquierda a derecha y evalúe el perfil sensorial en cada una de las muestras a una escala del 0 al 5.

PERFIL SENSORIAL

CÓDIGO	1:	2:
Chocolate		
Acidez		
Amargor		
Astringencia		
Floral		
Frutal		
Sobrefermentado		
Quemado		

Escala de evaluación de la intensidad de aromas y sabores	0	Ausencia total
	1	Muy débil
	2	Débil
	3	Moderada
	4	Intensa
	5	Muy intensa

Según su percepción indique si las muestras difieren en sabor y aroma.

Sí ☐ No ☐

En caso de que difieran, indique que muestra ud prefiere:_____

Señale brevemente las razones de su preferencia:_____

_____

_____

¡Gracias por su colaboración!

APÉNDICE F

FORMATO DE CATACIÓN PARA EL CHOCOLATE

Nombre:_____ Fecha:_____

Estimado Panelista: Usted ha sido invitado a participar en la evaluación sensorial de chocolate negro, a continuación se le presentan 4 muestras identificadas con un número de tres dígitos, para la evaluación siga las instrucciones.

1. Tome una de las muestras
2. Anote en la casilla de los códigos el número de tres dígitos correspondiente a la muestra que va analizar.
3. Evalúe la característica solicitada según la escala propuesta.
4. Anote sus resultados en la casilla correspondiente.
5. Consuma agua entre cada muestra y espere al menos 1 minuto antes de tomar una nueva muestra
6. Si tiene observaciones adicionales escríbalas en el espacio asignado.

ESCALA DE EVALUACIÓN DE LA INTENSIDAD DE LOS AROMAS Y SABORES

0	Ausente
1	Muy Débil
2	Débil
3	Neto
4	Pronunciado
5	Muy Pronunciado

ATRIBUTOS SENSORIALES	CÓDIGO				
	1:	2:	3:	4:	5:
Aroma a Chocolate					
Aroma Floral					
Aroma Frutal					
Aroma a Frutos Secos					
Sabor a Chocolate					
Acidez					
Amargor					
Astringencia					

COMENTARIOS:_____

_____

¡Gracias por su colaboración!

APÉNDICE H

TABLA DE SIGNIFICACIÓN PARA TESTS PAREADOS

Número mínimo de juicios correctos para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para pruebas de preferencia por pares (dos colas, p= ½)*

Número de ensayos (n)	*Niveles de probabilidad*						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
7	7	7	7	7			
8	8	8	8	8	8		
9	8	8	9	9	9	9	
10	9	9	9	10	10	10	
11	10	10	10	10	11	11	11
12	10	10	11	11	11	12	12
13	11	11	11	12	12	12	13
14	12	12	12	12	13	13	14
15	12	12	13	13	13	14	14
16	13	13	13	14	14	14	15
17	13	14	14	14	15	15	16
18	14	14	15	15	15	16	17
19	15	15	15	15	16	16	17
20	15	16	16	16	17	17	18
21	16	16	16	17	17	18	19
22	17	17	17	17	18	18	19
23	17	17	18	18	19	19	20
24	18	18	18	19	19	20	21
25	18	19	19	19	20	20	21
26	19	19	19	20	20	21	22
27	20	20	20	20	21	22	23
28	20	20	21	21	22	22	23
29	21	21	21	22	22	23	24
30	21	22	22	22	23	24	25
31	22	22	22	23	24	24	25
32	23	23	23	23	24	25	26
33	23	23	24	24	25	25	27
34	24	24	24	25	25	26	27
35	24	25	25	25	26	27	28
36	25	25	25	26	27	27	29
37	25	26	26	26	27	28	29
38	26	26	27	27	28	29	30
39	27	27	27	28	28	29	31
40	27	27	28	28	29	30	31
41	28	28	28	29	30	30	32
42	28	29	29	29	30	31	32
43	29	29	30	30	31	32	33

APÉNDICE G

RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DOS PROPORCIONES

Test and CI for Two Proportions: Iguales; Diferentes

```
Event = 1


Variable     X   N  Sample p
Iguales      2  18  0,111111
Diferentes  16  18  0,888889


Difference = p (Iguales) - p (Diferentes)
Estimate for difference:  -0,777778
95% CI for difference:  (-0,983097; -0,572459)
Test for difference = 0 (vs not = 0):  Z = -7,42  P-Value = 0,000
```

BIBLIOGRAFÍA

(1) ABEYGUNASEKERA D. & JANSZ E., Effect of the Maturation Process on Fermented Cocoa Bean I: Free Amino Acid & Volatile Carbonyls, Institute of Scientific & Industrial Research (CISIR), 1989.

(2) AFOAKWA EMMANUEL, Chocolate Science & Technology, First Edition, Editorial John Wiley & Sons, Oxford-U.K., 2011.

(3) ANECACAO, Origen del Cacao en el Ecuador: Características de los Cacaos Finos y Ordinarios, Primera Edición, Quito-Ecuador, 2004.

(4) ANDALZÚA-MORALES ANTONIO, La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica, Editorial Acribia, Zaragoza-España, 1994.

(5) ARGUELLO, O.; MEJÍA, A. & PALENCIA, G. Clasificación de especies cultivares de Theobroma cacao L. para el mejoramiento del sistema de multiplicación de cacao. Corpoica - Colombia, 2000, Pág. 11.

(6) ARMIJOS A., "Características de la acidez como parámetro químico de calidad en muestras de cacao (Theobroma cacao L.) fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación". (Tesis de Lic. en Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito - Ecuador, 2002).

(7) BALCAZAR M. & GUAMBA J., "Diseño de un Triturador de Cacao", (Tesis, Facultad de Ingeniería Mecánica, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, 2009), Pág. 25-26.

(8) BAREL M.; LEON D. & VINCENT, J.C.; Influence du Temps de Fermentation du Cacao sur la Production dês Pyrazines de Chocolat. Café, Cacao, Thé, Vol 29, France, 1985, Pág. 277-286.

(9) BARTLEY B., The Genetic Diversity of Cocoa and its Utilization. First Edition, CABI Publishing, Oxfordshire-U.K, Pág. 337.

(10) BECKETT, Industrial Chocolate Manufacture and Use, Cuarta Edición, 2009.

(11) BIN HASNY MUHAMAD, “Optimisation of Cocoa Bean Roasting Conditions Based on the Development of Flavour Compound”, (Thesis, Faculty of Applied Science, UniversitiTeknologi MARA, 2012).

(12) BORBOR F. & VERA M., Manual del Cultivo del Cacao para Productores. Unidad Ejecutora del Programa Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones CORPEI, y Co-Ejecutor Asociación Nacional de Exportadores de Cacao ANECACAO, Quito-Ecuador, Pág. 47.

(13) BRAUDEAU JEAN, El Cacao, Primera Edición, Editorial Blume, Barcelona-España, 1981, Pág. 283.

(14) CALDERÓN L., “Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (Theobroma cacao L.) de tipo fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación en relación a la calidad”. (Tesis de Lic. En Química, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito – Ecuador, 2002).

(15) CAMU N.; DE WINTER T.; ADDO S.; TAKRAMA J.; BERNAERT H. & DE VUYST L., Fermentation of Cocoa Beans: Influence of Microbial

Activities and Polyphenol Concentrations on the Flavour of Chocolate, J. Sci. Food Agric, 2008.

(16) CHICHESTER C., MRAK E. & SCHWEIGERT B., Advances in Food Research, Primera Edición, Volume 30, Orlando-USA, 1986, Pág. 93, 221-231.

(17) CHI-KUEN SHU, Pyrazine Formation from Serien and Threonine. J. Agric. Food Chem., 1999.

(18) CROS E., Factores que afectan el desarrollo del sabor a cacao, bases Bioquímicas del perfil aromático. INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue, Quevedo – Ecuador, 2004, Pág.20.

(19) CROUZILLAT D.; LAURENCE B.; RIGOREAU M.; BUCHELI P. & PETIARD V., Genetic Structure, Characterization and Selection of National Cocoa Compared to other Genetic Groups, INGENIC Publishing, Kota Kinabalu-Malaysia, 2001.

(20) 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).

(21) DIAS J.; “Permeabilidade da Casca da Semente de Cacau ao Ácido Acético: Evolução na Fermentação e Efeito da Adição de Celulases antes da Secagem, na Acidez do Producto Final”. (Tese Mestrado, Escola Superior de Agricultura de Lavras, Brasil, 1987), Pág 86.

(22) EFRAIM P., “Contribuição à Melhoria de Qualidade de Productos de Cacau no Brasil, por meio da Caracterização de Derivados de Cultivares Resistentes à Vassoura-de-Bruxa e de Sementes Danificadas pelo Fungo”, (Programa de PósGraduação, Facultade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad estadual de Campinas, Campina-Brasil, 2009).

(23) ENRIQUÉZ GUSTAVO, Curso sobre el Cultivo del Cacao, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Editorial Orton IICA/CATIE, Turrialba-Costa Rica, 1985, Pág. 206-207.

(24) ENRÍQUEZ 2004. Cacao Orgánico, Guía para Productores Ecuatorianos. INIAP. Manual No. 54, Quito – Ecuador, 2004, Pág. 39 - 294.

(25) ESPINOSA J., Evaluación Sensorial de los Alimentos, Primera Edición, Editorial Universitaria, La Habana-Cuba, 2007.

(26) FERNÁNDEZ BARBERY S., “Estudo do Melhoramento do Sabor de Cacau (Theobroma cacao L.) utilizando Polifenoloxidase Extraída da Pinha (Annona squamosa L.) e Tratamento Térmico não Convencional. (Tese Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-Brasil, 1999).

(27) FRAUENDORFER F. & SCHIEBERLE P., Changes in Key Aroma Compunds of Criollo Cocoa Beans During Roasting, J. Agric Food Chem., 2008.

(28) FRAUENDORFER F. & SCHIEBERLE P., Identification of the Key Aroma Compounds in Cocoa Powder Base on Molecular Sensory Correlations, J. Agric Food Chem., 2006.

(29) GIL ÁNGEL, Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimento, Editorial Panamericana, Tomo II, España, 2010, Cap. 13, Pág. 357.

(30) GIOFFRÉ R. & PECCI A.; El Gran Libro del Gourmet Chocolate Nuevas Armonías, Primera Edición, Editorial Susaeta, Madrid-España, 2006.

(31) GONZÁLEZ K. & RUÍZ J.; "Valoración Económica y Financiera de la Sustitución de Cultivos de Cacao Nacional por un Tipo de Clon de Cacao denominado CCN-51. Caso Finca San Miguel", (Proyecto de Grado, Facultad de Economía y Negocios, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil-Ecuador, 2009).

(32) HARDY F. Manual de Cacao. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba - Costa Rica, 1961, Pág. 439.

(33) HOPKINS JONATHAN, Sensory Properties of Chocolate & their Development, The American Journal of Clinic Nutrition, 1994.

(34) 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.

(35) INIAP, Influencia del pre-secado de las almendras sobre la evolución del pH y porcentajes de fermentación durante la época seca en las variedades de cacao CCN-51 y Nacional, Pichilingue-Ecuador, 2007.

(36) INIAP, Manual del Cultivo del Cacao 25: Antecedentes Históricos, Zonificación y Ecología del Cultivo, Segunda Edición, Quevedo-Ecuador, 1993.

(37) JARRÍN NELLY, “Diseño y Desarrollo de un Plan de Buenas Prácticas de Manufactura para una Empresa de Elaboración de Confites en el Área de Chocolates”, (Tesis, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, 2010).

(38) KNIGHT I., Chocolate and Cocoa: Health and Nutrition, PrimeraEdición, Editorial John Wiley & Sons, London-United Kingdom, 1999.

(39) KRYSIAK W., Influence of Roasting Conditions on Coloration of Roasted Cocoa Beans, Journal of Food Engineering, Lodz-Poland, 2006.

(40) LIENDO ROGEL, El Secado del Cacao, INIA, Aragua-Venezuela, 2005.

(41) MUSHET CINDY, The art and soul of baking. Andrew McMeel Publishing, Los Angeles-USA, 2008, Pág. 41.

(42) 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).

(43) 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.

(44) NOOR-SOFFALINA S.; JINAP S.; NAZAMID S. & NAZIMAH S., Effect of Polyphenol and pH on Cocoa Maillard-Related flavor Precursors in Lipidic Model System, International Journal of Food Science & Technology, Vol 44, 2009.

(45) OLIVEIRA M., Indetificação e Manejo das Principais Doenças do Cacaueiro no Brasil, Ilhéus, CEPLAC/CEPEC/SEFIT, 2004. Pág. 132.

(46) PLÚA JUAN CARLOS, “Diseño de una Línea Procesadora de Cacao Artesanal (Theobroma Cacao)”, (Tesis, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil-Ecuador, 2008).

(47) QUEIROZ M., “Estudo dos Parametros de Torração de Almendoas de Cupuaçu (Theobroma Grandiflorum), (Mestrado, Facultade de Engenharia de alimentos, Universidade estadual de Campinas, Campinas-Brasil, 1999).

(48) REED S., Sensory Analysis of Chocolate Liquor, The Manufacture Confectioner, 2010.

(49) REINECCIUS G., Flavor Chemistry & Technology, Second Edition, Editorial Taylor & Francis, Boca Raton-USA, 2006.

(50) RODRIGUEZ-CAMPOS J., Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. Editorial Elsevier, México, 2011.

(51) SANCHO J.; BOTA E. & CASTRO J., Introducción al Análisis de los Alimentos, Editorial ALFAOMEGA, Barcelona-España, 2002, Pág. 66, 106-108, 153.

(52) SALTOS HÉCTOR, Sensometría Análisis en el Desarrollo de los Alimentos Procesados, Editorial Pedagógica Freire, Riobamba-Ecuador, 2010, Pág. 9, 25-26.

(53) SERRA BONVEH J., Investigation of Aromatic Compounds in Roasted Cocoa Powder, European Food Research & Technology, Volume 221, Barcelona-España, 2005.

(54) SCHNERMANN P. & SCHIEBERLE P.; Evaluation of Key Odorants in Milk Chocolate and Cocoa Mass by Aroma Extract dilution Analyses, J. Agric. Food Chem., 1997.

(55) SIVASANKAR B., Food Processing & Preservation.First Edition.Editorial Prentice Hall, New Delhi-India, 2004, Pág.320-322.

(56) SORIA V., Principales Variedades de Cacao Cultivadas en América Tropical. Primera Edición, Editorial Orton IICA/CATIE, Turrialba-Costa Rica, 1966, Pág. 3, 261-266.

(57) SOUSA DE BRITO E.; PEZOA N. & AMANCIO A., Use of a Proteolytic Enzyme in Cocoa (Theobroma cacao L.) Processing, Brazilian Archive of Biology & Technology an International Journal, 2004.

(58) SUKHA DARIN, Desarrollo de Aromas del Cacao, UWI, Trinidad & Tobago, 2008.

(59) THOMPSON S.; MILLER K.; LOPEZ A., Cocoa & Coffee Food Microbiology: Fundamentals and Frontier, Second Edition, ASM, Washington, D.C. – USA, 2001, Pág 724-728.

(60) WAKAO H., Estudio de la variación del contenido de alcaloides en cacao (*Theo-broma cacao L*.) de producción nacional durante el proceso de beneficio, (Tesis de Licenciatura en Ciencias Químicas, especialidad Química Analítica, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas, Quito-Ecuador, 2002), Pág. 91.

(61) YI-HSUAN L., "Volatile Change Caused by Different Factors in Different Types of Chocolate", (Thesis, Graduate Program in Food Science & Technology, The Ohio State University, 2010).

(62) YOSHIMA M. & ITO Y., Decrease of Astringency of Cocoa beans by an Enzymatic Treatment, Nippon Shokuchin Kagaku Kagaku Kaishi, Vol 43, 1996, Pág. 124-129.