

Uso del exudado y placenta del cacao para la obtención de subproductos

Quimbita, F., Rodriguez, P., Vera, E.
Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología
Escuela Politécnica Nacional
Ladrón de Guevara E11 - 253, Código Postal 17-01-2759, Quito, Ecuador
edwin.vera@epn.edu.ec

Resumen

El cultivo de cacao en la economía ecuatoriana representa un rubro importante, ya que es reconocido a nivel mundial por ser un producto de la más alta calidad y por poseer un exquisito aroma. En las cosechas de cacao, el exudado y la placenta son desechadas durante el proceso de cura, por lo que el presente trabajo pretende valorizar estos elementos. Una de las posibilidades es la producción de bebida de baja concentración alcohólica y néctar, lo que permitirá aprovechar estos subproductos que no son utilizadas por la industria, e incrementar de esta forma el valor agregado en el mercado. En este trabajo se determinaron los procesos necesarios para la obtención de los productos indicados, para lo cual se trabajó con mazorcas de CCN51, las mismas que fueron procesadas para la obtención y estabilización del exudado y la placenta, subproductos a partir de los cuales se realizaron pruebas para obtener el néctar y la bebida alcohólica. Se realizaron varias pruebas experimentales para determinar las condiciones de operación para la estabilización y formulación de los productos. Se realizó además una caracterización físico-química, microbiológica, sensorial y estabilidad de los productos obtenidos. Los resultados indican que bajo determinadas condiciones de operación, los productos obtenidos son estables en el almacenamiento y tienen una buena aceptabilidad entre los consumidores.

Palabras Claves: cacao CCN51, exudado, placenta, producción de bebida alcohólica, elaboración de néctar

Abstract

Ecuadorian cacao is world renown because of its high quality and exquisite aroma. This crop represents an important source of revenue to the Ecuadorian economy. The exudate and placenta are discarded during the curing process, but they could be used in order to maximize the full potential of the cacao bean. One of the possibilities is the production of a low concentration alcoholic beverage or the production of juice. In this work, the operations for manufacturing these products were determined. The CCN51 cacao pods were employed and processed to obtain and stabilize the exudate and the placenta; using these by-products several experiments were performed to produce the nectar and the alcoholic beverage. Several tests were done for determining the best operating conditions to stabilize and to formulate the products. Besides, a physico-chemical, microbiological, sensory and stability characterization of the products was performed on the products obtained. The results show that under specific operating conditions, the products were stable in storage and they had a good consumer acceptability.

Keywords: cacao CCN51, exudate, placenta, , alcoholic beverage production, nectar elaboration.

1. Introducción

El cultivo del cacao es de mucha importancia en la economía del Ecuador, ya que es un producto de exportación y materia prima para industrias de fabricación de chocolate y sus derivados [1]. El área cultivada con cacao en el Ecuador, según el último Censo Agropecuario realizado en el año 2000, es de 243.045 hectáreas como cultivo solo y 190.919 hectáreas como cultivo asociado. La variedad de cacao ecuatoriano CCN-51 (Colección Castro

Naranjal), es actualmente de gran interés en el país, ya que se ha probado que con la utilización de prácticas adecuadas, puede ser un cultivo resistente a plagas y enfermedades, alcanzando elevados niveles de productividad.

Actualmente en el Ecuador, la placenta y el exudado de los granos de cacao son eliminados en el momento de cura, pese a que estos poseen características organolépticas agradables como olor y sabor. Es por esto que el presente trabajo pretende valorizar el exudado y la placenta mediante la

elaboración de bebida alcohólica y néctar, y su posible uso a nivel comercial e industrial, y ofrecer nuevas alternativas de aprovechamiento de estos subproductos.

2. Materiales y métodos

2.1. Materia prima

La fruta fue obtenida en la Hacienda Costa de Marfil, en la parroquia “Patricia Pilar”, kilómetro 60 vía Santo Domingo - Quevedo. La recolección de la fruta madura se la realizó en la mañana, 24 horas antes del procesamiento, de forma manual con tijeras. El transporte hasta la Escuela Politécnica Nacional en Quito se lo realizó en gavetas plásticas a temperatura ambiente.

2.2. Obtención de exudado y placenta

Las operaciones realizadas para la obtención y estabilización del exudado y la placenta se muestran en la Figura 1.

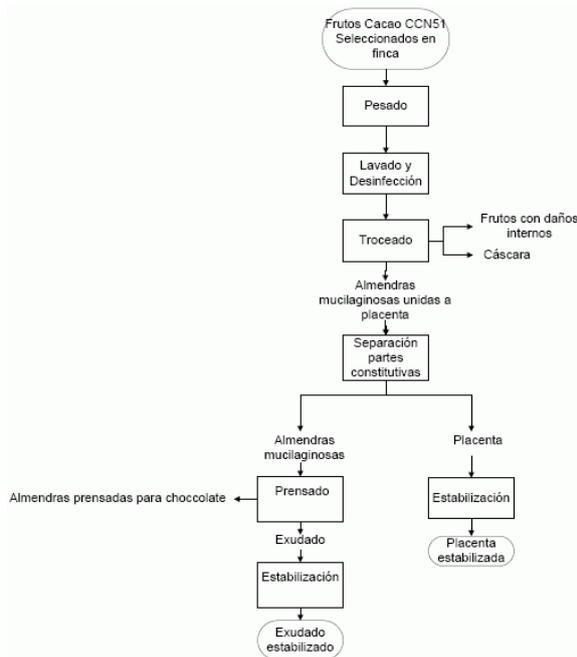


Figura 1. Proceso de obtención y estabilización del exudado y placenta de cacao.

Se lavaron las frutas en agua clorada (100 ppm cloro) y se enjuagaron con agua potable. Se troceó los frutos realizando 2 cortes longitudinales y 2 transversales y se separó manualmente la cáscara de las almendras.

Para la extracción del exudado se diseñó una caja-prensa de acero inoxidable de 30cm x 15cm x 15cm

(altura, largo y ancho), con una base de malla de orificios circulares de 2 mm de diámetro. En la parte superior de la caja-prensa se colocó una tapa donde se ubicó el peso necesario para ejercer la presión requerida. Se manejaron 2 variables: altura de llenado de las almendras (10 y 20 cm) y presión ejercida (0,087; 0,109 y 0,131 bares). Se mantuvieron constantes los siguientes parámetros: temperatura ambiente y un tiempo de prensado de 15 minutos. Se consideró las siguientes variables de respuesta: rendimiento (Volumen exudado / masa almendras) x 100, daño físico de las almendras (revisión visual), características físico-químicas del exudado recolectado (°Brix, pH y acidez titulable).

Para evitar el pardeamiento enzimático del exudado, se probaron dos técnicas [2-5]: (a) estabilización térmica que se realizó en un recipiente de acero inoxidable calentado con llama directa, empleando las condiciones de operación mencionadas en [5] para zumos de frutas 77°C – 60 s, 85°C – 60 s, 88°C - 15 s, y (b) estabilización química con meta bisulfito de sodio y ácido ascórbico sin sobrepasar los límites señalados en el CODEX Alimentarius [6] y en el INEN, las concentraciones usadas se indican en la Tabla 1. La efectividad de la estabilización se verificó mediante la prueba de guaiacol.

Tabla 1. Concentraciones usadas para la estabilización química

Tratamiento	Concentración en ppm	
	Ácido Ascórbico	Metabisulfito de sodio
1	50	50
2	50	100
3	100	50
4	100	100
5	100	150

Para la estabilización de la placenta se utilizó también dos métodos (a) estabilización térmica mediante vapor de agua a 92 °C por 30, 60 y 120 segundos, usando un escaldador de fabricación nacional y (b) estabilización química sumergiendo la placenta en una solución con las concentraciones indicadas en la Tabla 2 durante 15, 30 y 45 minutos. La efectividad de la estabilización se verificó igualmente mediante la prueba de guaiacol.

Tabla 2. Parámetros de estabilización química de la placenta del cacao

Tratamiento	Ácido Ascórbico (ppm)	Metabisulfito de sodio (ppm)
1	200	200
2	400	400

3	800	800
4	1600	1600
5	3200	3200

Se evaluó también el cambio de coloración del exudado y la placenta comparándolo con la materia prima sin estabilizar, y midiendo color en lapsos de 15 minutos durante 120 minutos, utilizando un colorímetro triestímulo marca Minolta, modelo CR-200.

Se realizaron también análisis proximales y físico-químicos del exudado y la placenta estabilizados (sólidos totales, proteína, fibra cruda, cenizas, grasa, fructosa, glucosa, sacarosa, sólidos solubles, acidez titulable, pH), empleando los métodos descritos en [7] y [8]. Para el análisis físico – químico, la placenta se preparó de la siguiente manera: se pesó 20 g y se licuó con 80 g de agua destilada hasta, se colocó el homogenizado en una malla nylon y se presionó manualmente para obtener el filtrado.

2.3. Obtención de la bebida alcohólica y néctar

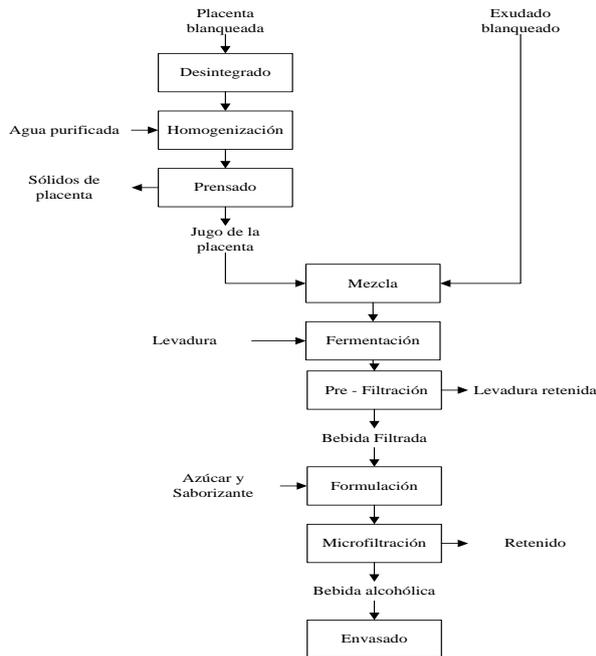


Figura 2. Proceso empleado para la elaboración de la bebida alcohólica.

Las etapas del proceso empleadas en la elaboración de la bebida alcohólica se describen en la Figura 2.

El desarrollo de la bebida alcohólica se utilizó 0.2 g/l de levadura activa seca (de pan) y se evaluó los siguientes parámetros:

- Influencia en el proceso fermentativo al adicionar sulfato amónico como nutriente en concentración de 0,3 g/l en el mosto.
- Concentración inicial de sólidos solubles en el mosto: 11,6 °Brix (natural sin adicionar azúcar) y 15,6 °Brix (adicionado azúcar blanca)
- Influencia del pH (el natural del mosto 3,7 y elevado a 4,1) en el proceso fermentativo y aceptación de los panelistas a través de evaluaciones sensoriales.

Las etapas del proceso empleadas en la elaboración del néctar se describen en la Figura 3.

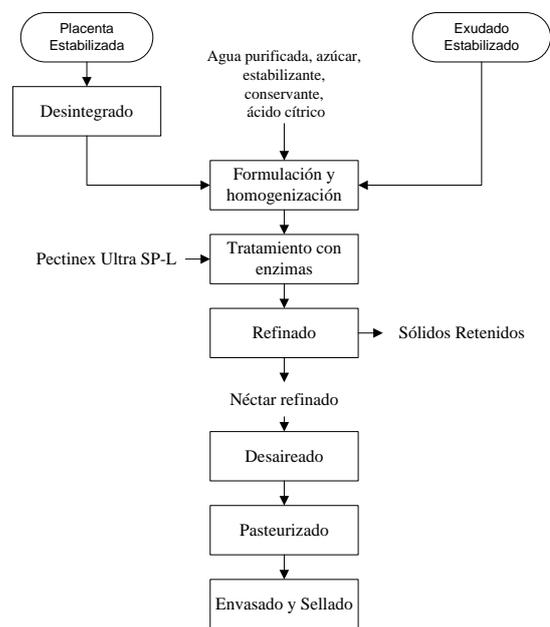


Figura 3. Proceso empleado para la elaboración de néctar.

El desarrollo del néctar se centró en el proceso de formulación, en el cual se determinó el °Brix y acidez mediante pruebas sensoriales. Se varió el contenido de sólidos solubles, adicionando azúcar blanca hasta alcanzar grados °Brix de: 9, 11, 13, 15, 17, y 19. Se obtuvo valores de relación sólidos solubles / acidez titulable de 30; 36,7; 43,3; 50; 56,7 y 63,3 respectivamente. Las relaciones °Brix/acidez, se evaluaron sensorialmente por 15 panelistas semientrenados.

Para la caracterización del néctar y la bebida alcohólica, se analizaron las propiedades físico-químicas (acidez titulable, sólidos solubles, pH) y color con los mismos métodos indicados anteriormente. En la bebida alcohólica se incluyó además la densidad para lo cual se utilizó un densímetro universal marca Fisher, y el porcentaje de alcohol se calculó con la variación de Brix y

considerando la reacción de fermentación de fructosa y glucosa. Los análisis microbiológicos de coliformes totales, conteo total de aerobios, hongos y levaduras se realizaron según la FDA-CFSAN-BAM (2001).

La bebida alcohólica envasada en botella tipo champagne y el néctar envasado en fundas Doypack y botella de vidrio (usada en el producto comercial gatorade), fueron almacenados a dos condiciones 20 y 32 °C y se realizaron evaluaciones sensoriales, físico - químicos y microbiológicos a los 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento. Para las evaluaciones sensoriales se usó el método de ordenamiento por ranking, con un panel semientrenado.

Los datos obtenidos en el estudio de estabilidad, se evaluaron mediante un análisis de varianza de una vía ANOVA ONE WAY, usando el programa estadístico STATGRAPHICS con la prueba LSD y límite de confiabilidad de 95%.

3. Resultados y discusión

3.1. Obtención de exudado y placenta

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la influencia de la presión y la altura de llenado de las almendras sobre el daño físico en las almendras y el rendimiento de exudado recolectado. Se observó que las características físico-químicas básicas no varían significativamente, contrario al rendimiento y al estado final de las almendras. Al aumentar la presión; el rendimiento de exudado recolectado disminuye, esta diferencia puede deberse a que las almendras se compactan y obstruyen la salida del exudado, las almendras sufren señales de aplastamiento y magulladuras, lo cuál podría afectar el proceso normal de fermentación.

Tabla 3. Resultados de la extracción del exudado

Presión (bar)	Altura almendras (cm)	Rendimiento (%)	Daño físico
0,087	20,1	15,0 ^a	NO
0,109	20,1	15,7 ^a	NO
0,131	20	15,4 ^a	NO
0,087	10,2	15,9 ^a	NO
0,109	10	15,8 ^a	NO
0,131	10,1	15,3 ^a	NO
0,218	10	12,3^b	SI
0,218	40	12,7^b	SI

Los exponentes indican valores significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Cada ensayo se lo realizó por duplicado, los valores reportados son el promedio de los mismos.

Ya que las diferencias no fueron grandes, se estableció la presión de extracción en 0,109 bares, que corresponde a la presión natural ejercida por el peso las almendras en una caja de fermentación de 1 m x 1 m x 1 m [9, 10].

Los resultados de la estabilización térmica del exudado, mostraron que en los 3 tratamientos aplicados la prueba de guaiacol fue negativa. Se escogió por lo tanto al tratamiento con temperatura más baja para disminuir el daño organoléptico del producto. El método químico mostró que para controlar el pardeamiento, se necesita adicionar en el exudado 100 ppm de ácido ascórbico y 150 ppm de metabisulfito de sodio, valores que se encuentran por debajo del nivel máximo permitido.

En la estabilización térmica de la placenta, se observó que se necesita mantener a la placenta en vapor de agua a 92 °C como mínimo por 1 min para controlar su pardeamiento. Para la estabilización química fue necesario sumergir la placenta durante 45 minutos en agua con una concentración mínima de 3200 ppm de ácido ascórbico y 3200 ppm de metabisulfito de sodio. El blanqueamiento químico de la placenta, demanda gran tiempo y alta cantidad de metabisulfito de sodio y ácido ascórbico para lograr su estabilización.

Se consiguió la estabilización del exudado y la placenta por el método físico y químico, sin embargo se recomienda estabilizar la materia prima a través del tratamiento térmico, ya que el uso de conservantes hace que el producto final sea menos apreciado por las actuales tendencias del consumidor.

3.2. Elaboración de néctar

Los resultados del balance de masa para la elaboración del néctar se muestran en la Figura 4. Se obtiene un 7,1 % de sólidos retenidos, material que

puede ser utilizado para compostaje por sus características nutricionales.

En cuanto a la formulación del néctar, los resultados de los análisis sensoriales indicaron que los 3 néctares con mayor puntuación son aquellos que fueron formulados utilizando una relación °Brix/acidez de 43,3; 50 y 56,7. Basado en estos resultados, se realizó un segundo análisis sensorial preparado formulaciones según se indica en la Tabla 4.

Tabla 4. Formulaciones de néctar de cacao

Formulación	°Brix	Acidez (%ácido cítrico)	°Brix/acidez Resultante
A	15	0,3	50,0
B	15	0,4	37,5
C	17	0,3	56,7
D	17	0,4	42,5

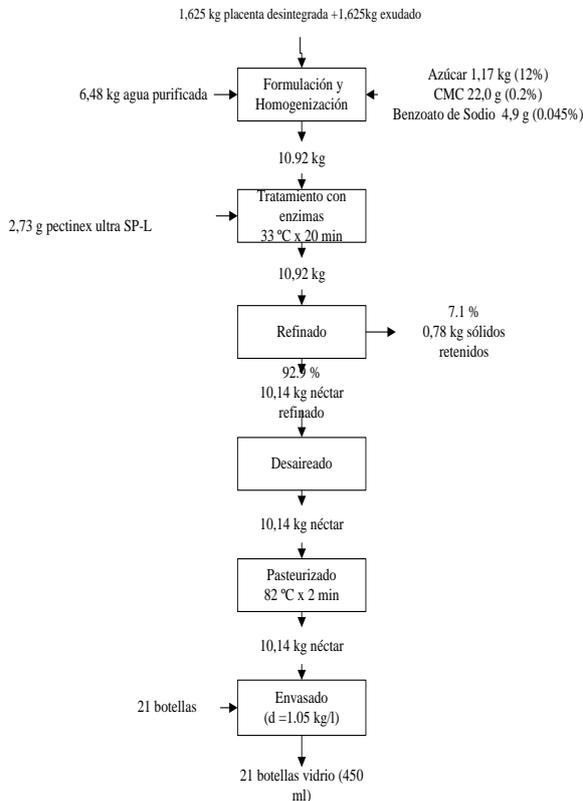


Figura 4. Balance de masa para la elaboración del néctar

Los resultados del análisis sensorial muestran que los atributos acidez y dulzor mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$), lo cual indica que los panelistas identificaron correctamente estos parámetros (Tabla 5). En cuanto al sabor a cacao y a preferencia, no mostraron diferencia significativa entre ellas, sin embargo, la formulación A, que alcanzó la segunda mejor puntuación, tiene una menor acidez y un menor contenido de sólidos

solubles (°Brix), y por lo tanto, para esta formulación se requiere menor cantidad de azúcar y no se requiere adicionar ácido cítrico, representando una ventaja económica para el proceso.

Tabla 5. Resultados del análisis sensorial del néctar de cacao

Parámetro Evaluado	Muestra			
	A	B	C	D
Acidez	3,68 ^a	8,03 ^c	4,91 ^{a,b}	6,44 ^b
Dulzor	6,77 ^b	5,15 ^a	9,17 ^c	7,2 ^b
Sabor Cacao	5,78 ^a	5,82 ^a	5,87 ^a	5,8 ^a
Preferencia	8,7 ^a	7,04 ^a	7,65 ^a	9,14 ^a

Los exponentes indican valores significativamente diferentes ($p < 0.05$)

3.3. Elaboración de la bebida alcohólica

Los resultados del balance de masa para la elaboración de la bebida alcohólica (sin adición de azúcares) se muestran en la Figura 5.

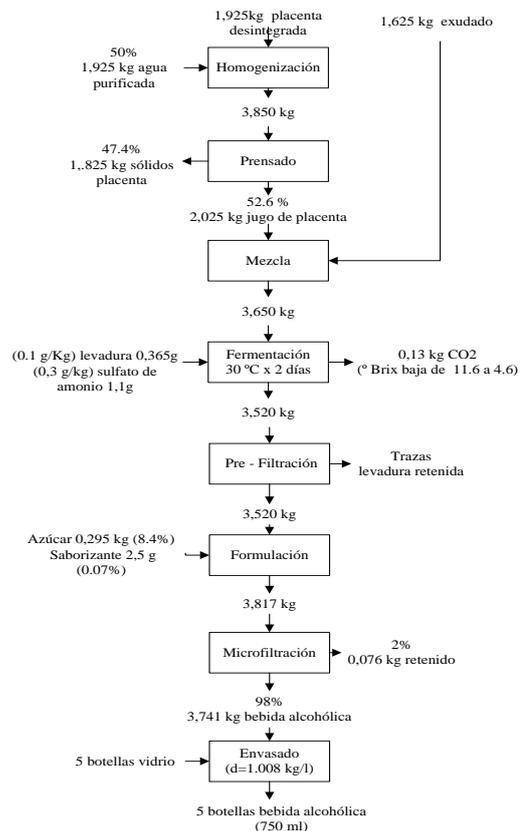


Figura 5. Balance de masa para la elaboración de la bebida alcohólica

El mosto que se obtiene con la mezcla del jugo de la placenta con el exudado en relación 5:4 Peso/Peso respectivamente, presenta las características descritas en la Tabla 6.

Tabla 6. Propiedades del mosto

Parámetro	Valor
Sólidos solubles (°Brix)	11,2 ± 0,8
Acidez (%ácido cítrico)	0,70 ± 0,07
pH	3,67 ± 0,07
Densidad (g/ml)	1,048 ± 0,004

Los resultados indicaron que la adición de 0,3 g/l de sulfato de amonio como nutriente para la fermentación, incrementaba la velocidad de reacción, y el grado alcohólico alcanzado es mayor. Los tiempos de fermentación variaron entre 48 h y 96 h según los grados brix y la presencia o no de nutriente.

En cuanto al pH, la bebida realizada a partir de la fermentación del mosto sin modificación de pH, alcanza un menor contenido de sólidos solubles y una menor densidad de aquella bebida en la que se elevó el pH. Esto puede deberse a que hay mayor formación de alcohol, sin embargo esta diferencia es mínima (0,2% aproximadamente). En [11] se menciona que el pH inicial del mosto de fermentación influye en la cantidad de etanol formado, así como también en el tiempo de estabilización de la fermentación.

Los resultados de la evaluación sensorial para la formulación de la bebida alcohólica, indicaron que la bebida que contiene 3,5 % alcohol fue la bebida más aceptada por los panelistas. Sin embargo, algunos panelistas describieron que existía un “sabor a levadura”, por lo que se decidió utilizar el proceso de microfiltración tangencial, con el fin de retener completamente la levadura y mejorar el sabor [12]. Pruebas sensoriales realizadas con bebidas alcohólicas de diferente brix, permitieron encontrar que conforme aumenta el dulzor y disminuye el pH la aceptabilidad crece, además la percepción de sabores extraños disminuye. Por esta razón, se encontró que la bebida con más aceptación fue aquella formulada con 12 ° Brix y pH 3,4.

3.3. Caracterización y estabilidad de los productos obtenidos

El material bibliográfico es muy reducido en cuanto a las características físico-químicas de estos materiales. Los únicos valores reportados en cuanto a estos parámetros se mencionan en [13], en donde se indica que el mucílago fresco del cacao (*Theobroma cacao* L.) presenta valores promedios de 16,3 °Brix y pH de 3,32; valores que guardan gran concordancia con los valores obtenidos y presentados en la Tabla 7.

Tabla 7. Propiedades del exudado

Parámetro	Valor Obtenido
-----------	----------------

Sólidos solubles (° Brix) ¹	16,7 ± 1,1
Acidez titulable (% ácido cítrico) ¹	1,05 ± 0,05
pH ¹	3,25 ± 0,08
Densidad (g/ml) ¹	1,049 ± 0,001
Sólidos Totales (g/100g) ²	22,45±0,225
Proteína (g/100g) ²	0,28±0,006
Fibra Cruda (g/100g) ²	1,73±0,069
Cenizas (g/100g) ²	1,50±0,060
Grasa (g/100g) ²	0,17±0,009
Fructosa (mg/100 g muestra) ²	3063,51
Glucosa (mg/100 g muestra) ²	2799,54
Sacarosa (mg/100 g muestra) ²	6115,43

La Tabla 8 muestra la caracterización físico-química de la placenta del cacao, mientras que en las tablas 9 y 10 se presenta las propiedades del néctar y la bebida alcohólica.

Tabla 8. Propiedades de la placenta

Parámetro	Valor Obtenido
Sólidos solubles (° Brix) ¹	12,4 ± 0,96
Acidez titulable (% ácido cítrico) ¹	0,8 ± 0,05
pH ¹	4,41 ± 0,1
Sólidos Totales (g/100g) ²	22,30±0,223
Proteína (g/100g) ²	1,38±0,028
Fibra Cruda (g/100g) ²	4,62±0,185
Cenizas (g/100g) ²	1,28±0,051
Grasa (g/100g) ²	0,21±0,011
Fructosa (mg/100 g muestra) ²	4229,17
Glucosa (mg/100 g muestra) ²	4901,26
Sacarosa (mg/100 g muestra) ²	LND

Tabla 9. Propiedades del néctar

Parámetro	Valor Obtenido
Sólidos solubles (° Brix)	15±0,2
Acidez titulable (% Ácido cítrico)	0,32±0,3
pH	3,83±0,08

Tabla 10. Propiedades de la bebida alcohólica

Parámetros	Valor Obtenido
Sólidos solubles (° Brix)	12 ± 0,2
Acidez titulable (% Ácido cítrico)	0,80 ± 0,4
pH	3,60 ± 0,07
Densidad (g/ml)	1,036 ± 0,002
Grado alcohólico (%V)	3,7± 0,1

Los análisis microbiológicos indicaron que los contajes de aerobios, coniformes, hongos y levaduras fueron siempre inferiores a 1×10^1 UFC/g, por lo que aptos para su consumo de acuerdo a la norma alimentaria vigente para cada producto.

En cuanto a las pruebas de estabilidad para la bebida alcohólica, se encontró que los atributos evaluados (olor, sabor, color y acidez) no cambian en función del tiempo y de la temperatura de almacenamiento, y estadísticamente nos son diferentes ($p < 0.05$), en comparación con la bebida de referencia. En el producto terminado hubo una baja percepción de sabores extraños, el almacenamiento, no influyó en el incremento de los mismos. Tampoco se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en los valores de los parámetros analizados (pH, °Brix, acidez y densidad), almacenada durante 28 días. El análisis microbiológico realizado, mostró que luego de los 28 días de almacenamiento, el producto se encuentra dentro de los rangos aceptables para el consumo según la norma vigente en el Ecuador.

Las pruebas de estabilidad para el néctar mostraron que el néctar envasado en botellas de vidrio, no variaba significativamente ($p < 0.05$) sus propiedades (olor, sabor y color) en función del tiempo de almacenamiento (28 días). Sin embargo, el néctar envasado en fundas Doypack, aunque el olor y el sabor no difirieron significativamente en función del tiempo, se presenta deterioro del color o pardeamiento en el mismo a los 28 días de almacenamiento. Para los dos tipos de envase, hubo una baja percepción de sabores extraños, y el almacenamiento no influyó en el incremento de los mismos. Tampoco se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en los valores de los parámetros analizados (pH, °Brix y acidez), en los 2 tipos de envases, almacenados durante 28 días. Sin embargo, se observó que a partir de la primera semana de almacenamiento, se presentan precipitaciones en todos los néctares analizados. El análisis microbiológico realizado al néctar, mostró que luego de 28 días de almacenamiento este se encuentra dentro de los rangos aceptables para el consumo según la norma vigente.

4. Conclusiones

En este trabajo se determinaron las mejores condiciones de operación para la producción de néctar y bebida alcohólica a partir de los residuos que se obtienen en la extracción de las almendras de cacao. Para el blanqueamiento de la placenta y el exudado se encontró que con el tratamiento térmico y con la adición de químicos se consiguió estabilizar a la materia prima mencionada. Sin embargo, el uso de compuestos químicos no es muy recomendable debido a las tendencias actuales del consumidor que optan por productos naturales. Mediante análisis

sensoriales se determinaron las mejores formulaciones para el néctar y la bebida alcohólica. Se encontró también, que en la elaboración de la bebida alcohólica, el proceso de microfiltración tangencial mejoró considerablemente las características organolépticas de la bebida (olor, color y sabor). Finalmente, en cuanto a la estabilidad de los productos obtenidos se encontró que en la bebida alcohólica envasada en botella de vidrio tipo champagne, y en el néctar envasado en botellas de vidrio (usada en el producto comercial gatorade), se mantienen estables las propiedades físico-químico, sensoriales y microbiológicas durante el tiempo evaluado (28 días) a las dos temperaturas de almacenamiento (20°C y 32°C). El néctar envasado en fundas Doypack, presentó un deterioro del color a partir de los 15 días de almacenamiento. Todos estos resultados muestran la factibilidad técnica para aprovechar los subproductos del cacao y mejorar su valor agregado.

5. Referencias

- [1] UTEPI, *Cacao. Estudio agroindustrial en el Ecuador: Competitividad de la cadena de valor y perspectivas de mercado*, Imprenta Camaleón Diseño Visual, Ecuador, 2007.
- [2] Arthey, D. y Ashurst, P.R., *Procesado de frutas*, Editorial Acirbia S.A., Saragoza, España, 1996.
- [3] Casp, A. y Abril, J., *Procesos de conservación de alimentos*, 2da. Edición, Editorial Artes Gráficas Cuesta S.A., Madrid, España, 2003.
- [4] Cubero, N., Monferrer, A. y Villalta, J., *Aditivos Alimentarios*, Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España, 2002.
- [5] Fellows, P., *Tecnología del Procesado de los Alimentos*, Editorial Acirbia S.A., Saragoza, España, 1994..
- [6] Codex Alimentario, *Norma del CODEX para el zumo (jugo) concentrado de piña con sustancias conservadoras, destinado a la fabricación*, 2005. Disponible en <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/normativa/codex/stan/139-1983.PDF>, (Julio, 2007).
- [7] A.O.A.C., *Official Methods of Analysis*, 2000.
- [8] I.C.C., *International Association for Cereal Chemistry*, 1989, Standards N° 113
- [9] INIAP, *Manual del Cultivo de Cacao N° 25*, 2da. Edición, Estación Experimental Tropical Pichilingue, 1993
- [10] Palencia, G.E. y Mejía, L.A., *Manejo integrado del cultivo de cacao*, Editorial Litografía y Tipografía La BASTILLA Ltda., Bucaramanga, Colombia, 2000.
- [11] Afkinson, B. y Maviton, F., *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*,

second edition, Printed by Stockton Press, N.Y., USA, 1991.

- [12] Baker, W., *Membrane technology and applications*, Second editions, 2004.
- [13] Álvarez, C., Pérez, E. y Lares, M., *Morfología de los frutos y características físico-químicas del mucílago del cacao de tres zonas del estado aragua*, 2001. Disponible en http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasCientificas/Agronomia%20Tropical/at5204/arti/alvarez_c.htm, (Julio, 2007).