



Estudio de la fermentación espontánea de cacao (*Theobroma Cacao L.*) y evaluación de la calidad de los granos en una unidad productiva a pequeña escala

Study of the spontaneous cocoa fermentation (*Theobroma Cacao L.*) and evaluation of bean quality in a productive unit in small-scale

Estefania Garcia Gonzalez¹, Angie Milena Serna Murillo, Diego Armando Córdoba Pantoja, Juan Gabriel Marín Aricapa, Constanza Montalvo Rodríguez, Ginna Alejandra Ordoñez Narváez

Recibo: 02.08.2018 Aceptado: 22.04.2019

Garcia, E., Serna A., Cordoba D., Marin J., Montalvo C., Ordoñez G. (2019). Estudio de la fermentación espontánea de cacao (*Theobroma Cacao L.*) y evaluación de la calidad de los granos en una unidad productiva a pequeña escala. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 41-51

Resumen

La dinámica microbiana en la fermentación de granos de cacao y los parámetros físico-químicos durante la fermentación en una unidad productiva del Valle del Cauca fueron estudiados. Se emplearon mazorcas de cacao de variedades mixtas y se monitoreó la fermentación diariamente durante 5 días. Se determinó la concentración de levaduras, bacterias lácticas, bacterias acéticas y aerobios mesófilos (UFC/g) y se evaluó la respuesta de parámetros físicoquímicos (pH, el porcentaje de acidez titulable, concentración de azúcares reductores (mg/g), porcentaje de humedad, temperatura). Así mismo, se evaluaron parámetros de cosecha y de calidad como: índice de fermentación, porcentaje de fermentación visual, índice de grano, índice de mazorca, porcentaje de humedad de grano seco, porcentaje de cáscara y cascarilla. Durante la fermentación, la temperatura ambiental y temperatura máxima de fermentación registraron un promedio de $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,58$ y $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Mientras el pH inicial y final del mucilago estuvo en $3,61 \pm 0,02$ y $4,24 \pm 0,12$, el pH de la almendra inicial y final estuvo en $5,60 \pm 0,21$ y $6,04 \pm 0,06$, respectivamente. Se presentó aumento del porcentaje de acidez durante la fermentación. El consumo de azúcares reductores fue del 64,4%. El comportamiento de la temperatura favoreció el crecimiento de las levaduras. El índice de grano fue de 98 g/100 granos, la humedad de $17,3 \pm 2,36\%$ y $11,70 \pm 0,51\%$ de cascarilla. El índice de mazorca promedio de las muestras fue de 26 mazorcas/kg de grano seco. De acuerdo a los resultados obtenidos uno de los factores influyentes en las variables evaluadas es la temperatura. Deben asegurarse las condiciones (infraestructura) para que los cambios de temperatura propicien la sucesión de microorganismos. El secado es un punto crítico a ser mejorado.

Palabras clave: Chocolate, levaduras, bacterias lácticas, bacterias acéticas, biotecnología agroindustrial

¹Servicio Nacional de Aprendizaje SENA; Correo: esgarcia@sena.edu.co; Colombia

Abstract

The microbial dynamics in the fermentation of cocoa beans and the physico-chemical parameters during fermentation in a productive unit of Valle del Cauca were studied. Cocoa pods of mixed varieties were used and the fermentation was monitored daily for 5 days. The concentration of yeasts, lactic acid bacteria, mesophilic aerobic and aerobic bacteria (CFU/g) was determined and the response of physicochemical parameters (pH, percentage of titratable acidity, concentration of reducing sugars (mg/g), moisture percentage, temperature) were evaluated. Likewise, harvest and quality parameters were evaluated such as: fermentation index, percentage of visual fermentation, bean index, pod index, moisture percentage in dry bean, percentage of husk and husky. During fermentation, the environmental temperature and maximum fermentation temperature recorded an average of $23^{\circ}\text{C} \pm 2.58$ and 28°C , respectively. While the initial and final pH of the mucilage was at 3.61 ± 0.02 and 4.24 ± 0.12 , the pH of the initial and final cotyledon was 5.60 ± 0.21 and 6.04 ± 0.06 , respectively. There was an increase in the percentage of acidity during fermentation. The consumption of reducing sugars was 64.4%. The behavior of the temperature favored the growth of the yeasts. The grain index was 98 g/100 grains, the humidity was $17.3 \pm 2.36\%$ and $11.70 \pm 0.51\%$ was husky. The average pod index of the samples was 26 pod/kg of dry bean. According to the results obtained, one of the influencing factors in the variables evaluated is temperature. The conditions (infrastructure) must be ensured so that the temperature changes propitiate the succession of microorganisms. Drying is a critical point to be improved.

Keywords: *Chocolate, yeast, lactic acid bacteria, acetic bacteria, agroindustrial biotechnology.*

Introducción

El manejo poscosecha del cacao (*Theobroma cacao* L.) determina la calidad final del producto en el mercado de los chocolates y sus derivados (Contreras, 2017; Peláez et al., 2016). El cacao es por lo regular un cultivo de pequeños agricultores. El 80% de la producción mundial se cultiva en pequeñas fincas familiares entre una y cinco hectáreas (Chaux y Pérez, 2017). En Colombia, durante el año cacaotero 2016/2017 se tuvo una producción de 55 mil de toneladas (MINAGRICULTURA, 2018), cantidad superior al de años anteriores, sin embargo, a pesar del aumento, se ha identificado que el manejo post-cosecha de los granos de cacao en la fincas productoras, posee cierto letargo tecnológico (Contreras, 2017; Pabón et al., 2016). Por lo anterior, se hace importante,

estudiar los procesos que se realizan en las unidades productivas y sus efectos en la calidad de los granos. En la poscosecha, los granos de cacao después de cosechados se someten a un proceso de fermentación espontánea, que representa una etapa esencial para eliminar la pulpa mucilaginosa que envuelve los granos (despectinización) (Meersman et al., 2015) y el desarrollo de precursores del sabor del chocolate (Ho et al., 2014). Las semillas del árbol de cacao, son estériles (sin presencia de microorganismos) dentro de la mazorca (De Vuyst y Weckx 2016). Las semillas se extraen manualmente de las vainas de cacao recién cosechadas, a partir de las cuales comienza la fermentación, ya que la pulpa rica en carbohidratos (mucilago) que rodea al grano está contaminada con la microbiota del medio ambiente (Papalexandratou et al., 2011).

Este proceso se realiza durante cuatro a siete días donde varios microorganismos crecen en la pulpa de cacao de manera sucesional (levaduras; bacterias del ácido láctico, BAL; bacterias del ácido acético, BAA) (De Melo et al., 2013; Ho et al., 2018). Las levaduras están involucradas en la conversión del azúcar en etanol, los precursores del sabor y la producción de aromas. Las bacterias ácido lácticas y acéticas son responsables de la producción de ácidos láctico y acético e inducen un aumento de la temperatura (Serra et al., 2019). Estos procesos bioquímicos que se generan en la fermentación generan cambios que se ven reflejados en parámetros fisicoquímicos que influyen en la calidad del grano, como: pH, acidez, grado de fermentación (visual y espectrofotométrico), índice de grano, índice de mazorca, entre otros (Pérez y Contreras, 2017). Para muchos agricultores, la fermentación del cacao es un proceso empírico, lo que hace que la calidad del grano no sea constante (Lagunes-Gálvez et al., 2007), conllevando a problemas posteriores en la calidad del chocolate. De esta manera, se busca estudiar la fermentación de granos de cacao en una unidad productiva, a partir de sus prácticas convencionales. Entendiendo como la dinámica microbiológica influye la respuesta a ciertos parámetros. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la dinámica microbiana en la fermentación de cacao y evaluar los parámetros físico-químicos de los granos de cacao.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Se emplearon mazorcas de híbridos mixtos de cacao en estado de maduración y se rompieron con herramientas de corte (machete). Las mazorcas de cacao fueron cosechadas con una tijera de poda. Las semillas más su pulpa circundante (12 kg) se extrajeron manualmente y se llevaron al sitio de fermentación en un recipiente plástico.

Muestro y Fermentación

El seguimiento de la fermentación se realizó en una finca de cacao ubicada la vereda La Unión del municipio de Florida, departamento del Valle del Cauca, Colombia (3.270716 3° 16' 14.58" N, 76.216476 76° 12' 59.31" W). La fermentación se realizó en un recipiente plástico de Polietileno de alta densidad de 200 L donde se adicionaron 12 kg de granos de cacao (durante 4 días). La fermentación natural se realizó a temperatura ambiente ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,6$). Cada 24 h durante el proceso de fermentación, se tomaron 50 g de muestra. Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se realizaron el día de la recolección de muestras en el laboratorio de Biotecnología del Sena CBI Palmira.

Secado

Los granos fermentados fueron secados al sol durante 4 días sobre lonas por los productores. Posteriormente, una muestra de 50 g de granos secos fue llevada a laboratorio de Biotecnología del Sena CBI Palmira para determinación de algunos parámetros fisicoquímicos después del secado.

Determinación de parámetros de fermentación Durante el curso de la fermentación la temperatura ambiente e interna de la pulpa de cacao se monitoreó cada 24 h. Para el análisis fisicoquímico, el cotiledón fue separado de la testa mucilaginosa. Para la determinación del pH, 5 granos de cacao frescos fueron seleccionados al azar y se separó la testa mucilaginosa del cotiledón, cada sección (testa y cotiledón) fueron macerados y llevados a 50 ml con agua destilada, para la posterior medición con un pHmetro (Bante 210, China) (Steinau, 2017).

El porcentaje de acidez titulable fue determinado a partir de 5 g de una muestra de cacao, seccionando el grano en testa y cotiledón, posteriormente se maceraron y se llevó a 50 ml con agua destilada, 20 ml fueron tomados para realizar la valoración con NaOH 0,1 N (NTC 4623, 2016; Steinau 2017). La concentración de azúcares reductores se evaluó a partir de una muestra de 5 g de cacao a la cual se añadieron 45 ml de agua destilada en agitación constante

Los azúcares reductores (mg/g) fueron determinados mediante el método DNS (Miller, 1989). El porcentaje de humedad de los granos húmedos y secos se realizó por gravimetría (NTC 1252, 2012) en un horno de secado (Binder ED115, Alemania).

Para el recuento de microorganismos, se añadieron 10 g de granos de cacao y pulpa adherente a 90 mL (dilución 10-1) de agua peptona al 0,1% (v/v) (Merck, EEUU). La pulpa fue separada, macerada y homogeneizada en agitador shaker (Labware Scientific ES-60, EEUU) a 140 rpm durante 30 minutos y diluido en serie. Se evaluó la concentración de levaduras (agar Saboraud, Merck), las bacterias ácido lácticas (agar MRS + azul de anilina, Merck), bacterias acéticas (Agar CAAR modificado) (Romero-Cortés et al., 2012) y aerobios mesófilos (agar triptona-extracto de levadura). Después de la difusión, las placas se incubaron (Binder BD56, Alemania) a 37 °C durante 48 horas para MRS y CAAR. Los cultivos de agar Saboraud y agar triptona-extracto de levadura se incubaron a 30 °C durante 48 horas. Después de la incubación, se registró el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de cacao fresco.

El índice de fermentación se realizó siguiendo la metodología de Gourieva y Tserrevitinov, (1979). Aproximadamente 0.1 g de la almendra de cacao seca y molida, se extrajo con 50 mL de una solución de metanol: HCl (97: 3 v/v). El homogeneizado se llevó a refrigeración (Whirlpool CWT5506D, México) durante 20 horas en un recipiente protegido de la luz con tapa. Luego se filtró al vacío (Welch 2534B-01, Estados Unidos) y el filtrado se leyó en un espectrofotómetro (Mapada UV-1200, China) a 460 y 525 nm de absorbancia. El índice de fermentación (IF) se estimó a través de la relación entre las lecturas de absorbancia en los rangos de 460 y 525 nm (Ecuación 1):

$$IF = \frac{Abs_{460}}{Abs_{525}} \quad (Ec. 1)$$

Determinación de parámetros de calidad

Durante la cosecha en campo, se tomaron 20 mazorcas al azar para registrar su peso y número de granos por mazorca. A partir de esas características se determinó el porcentaje de cáscara de la mazorca. Se determinó el índice de mazorca (número de mazorcas para producir 1 kg de grano seco), contando el número de mazorcas que se cosecharon y teniendo en cuenta el peso total de los granos después del secado. El índice de grano (Peso de 100 granos secos en 100) fue determinado, pesando 100 granos de cacao secos y dividiéndolo en 100, para determinar así el peso por grano de cacao (NTC 1252, 2012). Se determinó el porcentaje de cascarilla de acuerdo a Fedecacao (2005). El porcentaje de fermentación se determinó por análisis visual, donde 40 granos de cacao fueron analizados basados en las tablas de Pérez y Contreras, (2017). Basados en ese criterio, se determinó el porcentaje de granos con fermentación completa, fermentación media y sin fermentar.

Análisis estadístico

El cambio de variable se midió durante un tiempo de 1 a 5 días. Se realizaron 3 réplicas en el lugar de muestreo. Las variables que se midieron fueron: azúcares reductores (mg/g), porcentaje de acidez titulable en la testa mucilaginosa y en el cotiledón, pH tanto en la testa mucilaginosa como en el cotiledón, porcentaje de humedad de los granos frescos, concentración de bacterias lácticas, bacterias acéticas, levaduras y aerobio mesófilos (UFC/g). Para las variables asociadas con la concentración de bacterias se trabajaron con 2 réplicas, para cada sitio de muestreo. En las variables anteriores se utilizaron modelos mixtos de coeficientes aleatorios.

Otro grupo de variables determinadas en campo fue la temperatura ambiente y la temperatura de proceso, en este grupo de variables se estableció un modelo de ANOVA no paramétrica de muestras independientes. Para el análisis, se utilizó el software estadístico R en su versión 3.5.0, se utilizó la librería “nime” para el ajuste

de modelos mixtos de coeficientes aleatorios y se utilizó la librería “stat” con la función *kruskal.test* para la realización de ANOVA no paramétrica de muestras independientes (Team, 2013).

Discusión

Durante la fermentación, la temperatura ambiente y de fermentación registraron un promedio de $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,6$ y $26^{\circ}\text{C} \pm 1,9$, respectivamente (Fig. 1), con una temperatura máxima de 27°C . Estas temperaturas (entre $25 - 37^{\circ}\text{C}$), favorecen el crecimiento de microorganismos mesófilos (Abdel-banat et al., 2010), sin embargo, en una fermentación espontánea adecuada se debe alcanzar

temperaturas entre 40 y 50°C (Romero-Cortes et al., 2012), debido a la producción de etanol y lo que favorece la muerte del embrión de la semilla (Crafack et al., 2014). La producción de etanol, permite la sucesión de microorganismos como las bacterias acéticas, encargadas de oxidar el etanol a ácido acético. Bajas temperaturas de fermentación indican inadecuada infraestructura de fermentación, ya sea porque la capacidad del recipiente es mayor que la cantidad de grano a fermentar, por el material del compartimiento de fermentación o el poco aislamiento del ambiente a 460 y 525 nm de absorbancia. El índice de fermentación (IF) se estimó a través de la relación entre las lecturas de absorbancia en los rangos de 460 y 525 nm (Ecuación 1):

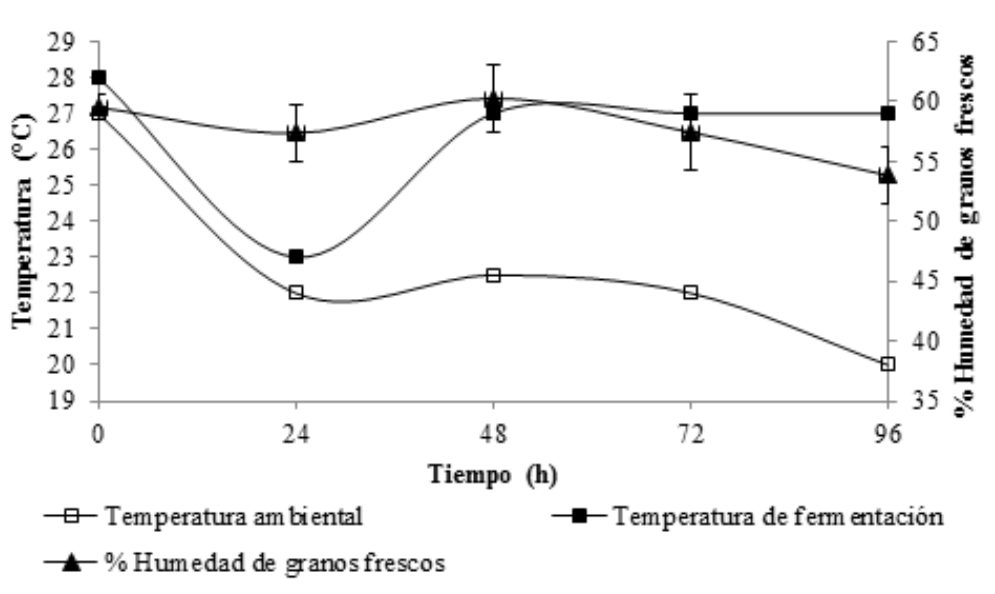


Figura 1: Perfil de temperatura (ambiental y de fermentación) y % de humedad de granos frescos de cacao, durante los 5 días de fermentación. Elaboración propia

El porcentaje de humedad inicial de los granos frescos no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), sin embargo, se evidencia una pérdida de humedad de $59,5 \pm 2,0$ y $53,8 \pm 0,5\%$ al final de la fermentación, resultados similares fueron obtenidos por Peláez et al., (2016), donde el porcentaje de humedad disminuyó de $51,89$ a $46,33\%$, cuando evaluó las características físico química

de la fermentación en híbridos de la variedad Forastero CCN-51. El pH es un indicador de la muerte de la semilla de cacao (Febriami et al., 2015). Conforme transcurre la fermentación, ácidos orgánicos son formados en la testa mucilaginoso y rápidamente se difunden hacia el interior del cotiledón, causando la muerte del embrión, reacciones enzimáticas para generar precursores de aroma y sabor y provocando degradación de pigmentos (Camu et al., 2008)

El pH en la testa mucilaginosa presenta diferencias estadísticamente significativas entre días de muestreo ($p < 0.05$), mientras que para la testa mucilaginosa no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). En el presente estudio, el pH inicial y final del cotiledón fue de $5,60 \pm 0,21$ y $6,04 \pm 0,06$ (Fig. 2), respectivamente, lo que indica que hubo un aumento de pH y no una disminución. El pH inicial de la testa mucilaginosa fue de $3,61 \pm 0,02$, debido a la presencia de ácido cítrico en la pulpa de cacao (De Vuyst y Weckx, 2016).

El pH final de la testa mucilaginosa fue de $4,24 \pm 0,12$, ese comportamiento se podría explicar por el consumo de ácido cítrico por microorganismos (Lagunes-Gálvez et al., 2007). Estudios muestran que después del consumo de ácido cítrico, y a pesar de la producción de ácido acético, el valor de pH de la pulpa de cacao podría aumentar a 5 o incluso a 6 (Schwan y Wheals, 2004). Estudios con cacao trinitario plantean que la fermentación culmina cuando el pH de la testa mucilaginosa y el cotiledón tiende al equilibrio (Romero et al., 2012).

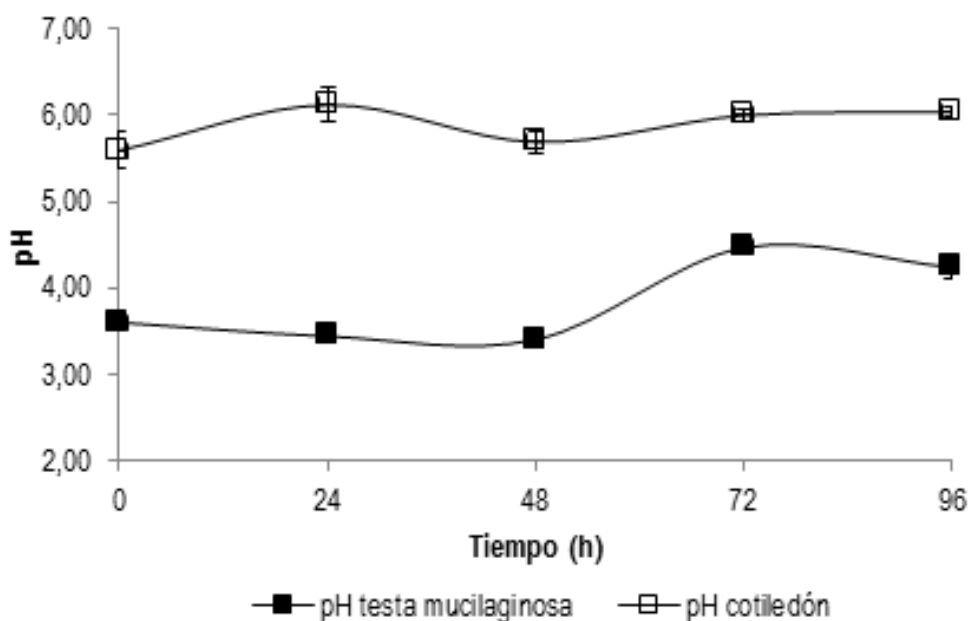


Figura 2: Comportamiento del pH (testa mucilaginosa y cotiledón) durante los 5 días de fermentación. Elaboración propia

El porcentaje de acidez titulable presentó diferencias estadísticamente significativas entre días evaluados ($p < 0.05$). Se presentaron variaciones durante la fermentación (inicial: 1,84% y final: 3,17%) (Fig. 3). El porcentaje de acidez inicial del grano, coincidió con los valores de acidez reportados por Ortiz y Álvarez (2015), que emplearon en su estudio cacao criollo, forastero e híbridos. El aumento de la acidez es efecto de la formación de ácidos orgánicos como ácido acético por la oxidación del etanol producido por las BAA y ácido láctico

de las BAL (Ho et al., 2018).

El consumo de azúcares reductores fue del 64,4% y el % de humedad de los granos frescos pasó de $59,5 \pm 1,1$ a $53,8 \pm 2,4\%$, resultados similares a los obtenidos por Peláez et al., (2016) en híbrido forastero CCN51, donde el consumo de azúcares reductores fue de 68,14% y el % humedad disminuyó de 51,89 a 46,33%. En cuanto a la sucesión microbiológica (Fig. 4), las levaduras presentaron crecimiento exponencial durante las 96 horas de fermentación (entre 5,27 y 7,50 log UFC/g).

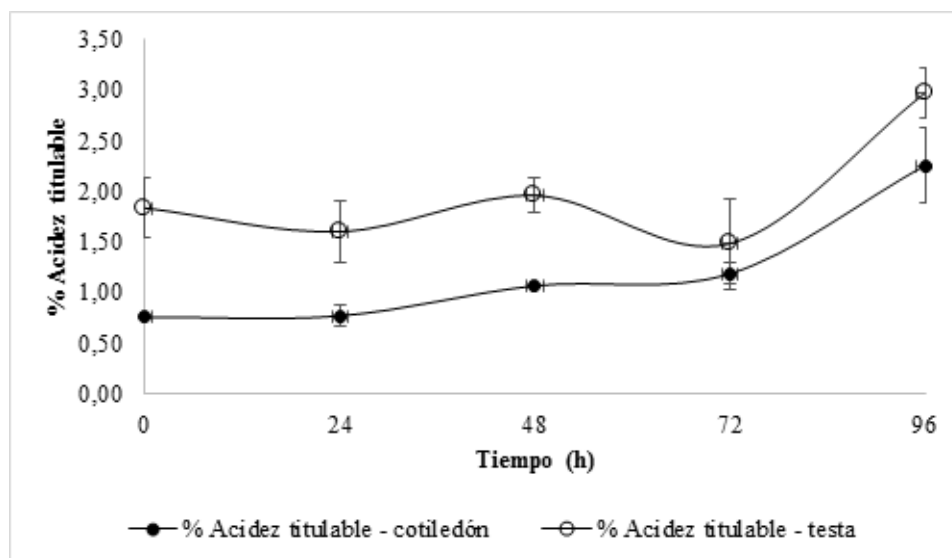


Figura 3: Comportamiento de % de acidez titulable (testa mucilaginosa y cotiledón) durante los 5 días de fermentación. Elaboración propia

Entre las 48 y 96 horas las bacterias lácticas presentaron un crecimiento exponencial (1,00 a 6,28 log UFC/g), esto coincide con el aumento del pH y disminución del porcentaje de acidez titulable entre las 48 y 72 h, esto se podría explicar por la producción de ácido láctico y su consecuente oxidación por bacterias acéticas lo que podría generar diacetilo, acetoina y 2,3 butanodiol, permitiendo un ligero aumento del pH de la testa mucilaginosa del cacao (De Vuyst & Weckx, 2016). Durante las primeras 48 horas, la presencia de las bacterias acéticas fue evidente (5,06 a 6,04 log UFC/g), terminando en una fase decreciente a partir de las 48 horas. (Papalexandratou et al. (2011) evaluó el crecimiento de microorganismos en fermentaciones de cacao orgánico Brasileiro, donde evidenció que las levaduras disminuyen su población a partir de las 12 horas de fermentación, coincidiendo con un aumento de temperatura, las bacteria lácticas tienen su máxima concentración entre las 24 y 36 horas y las bacterias acéticas tienen su máximo crecimiento entre las 36 y 60 horas de fermentación. De Melo Pereira et al., (2013) evaluó el crecimiento de levaduras y bacterias en fermentaciones de cacao en cajones de madera y

lo comparó con fermentaciones en recipientes de acero inoxidable; las levaduras, disminuyeron su población a partir de las 12 horas en cajones de madera, mientras que en recipientes de acero inoxidable disminuyó su población a partir de las 24 horas, lo que coincidió con menores temperaturas alcanzadas en el recipiente de acero inoxidable. Presuntivamente, uno de los factores determinantes en la sucesión dada en el presente estudio, fue la temperatura, debido a que la máxima temperatura alcanzada fue de 26 °C, lo que favorece el crecimiento de microorganismos mesófilos (levaduras y aerobios mesófilos).

Algunos parámetros de cosecha como índice de grano, índice de mazorca se relacionan con condiciones genéticas de las plantas de cacao (Aneani y Ofori, 2013), y otros aspectos se relacionan con la fermentación y los procesos poscosecha (Fedecacao, 2005). Las características físico-químicas posteriores al secado, representan parámetros de importancia comercial, el índice de grano fue de 98 g/100 granos, que corresponde a un índice de peso bajo según NTC 1252 (bajo peso entre 61 – 99 g/ 100 granos de cacao seco) (Tabla 1).

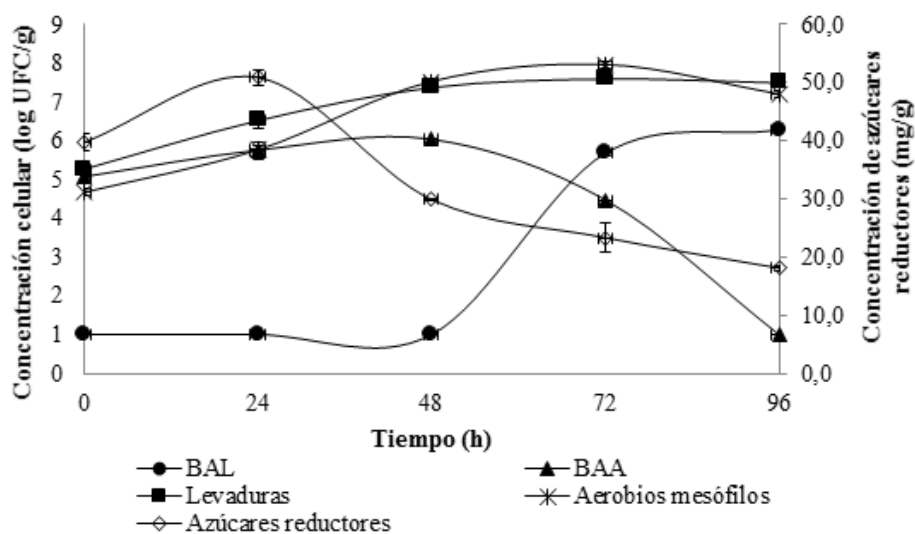


Figura 4: Dinámica poblacional de los microorganismos (BAL, BAA, levaduras y aerobios mesófilos) en la fermentación de los granos de cacao y concentración de azúcares reductores. . Elaboración propia

La humedad de $17,33 \pm 2,3$ %, $10,33\%$ por encima de la humedad sugerida para cacao seco del 7% (NTC 1252, 2012), altos porcentajes de humedad generan proliferación de hongos en el almacenamiento, lo cual influencia el sabor final del chocolate (Fagbohun et al., , 2011). El porcentaje de cascarilla fue de $11,70 \pm 0,5$ % (Parámetro normal, según Fedecacao, 2005), siendo evidente la necesidad de mejorar la calidad para alcanzar parámetros dentro de las normas establecidas. El índice de mazorca promedio de las muestras fue de 26. Se han reportado Índices de mazorca entre 12-19 para el departamento de Santander de los clones ICS-60, ICS-1 y FTA-1, y de 16-19 para el departamento del Huila de los materiales EET-96, EET-400 e ICS-95., , valores muy positivos con respecto a los obtenidos en el presente trabajo, dado que menores índices de mazorca indican mayor rendimiento en el cultivo (Fedecacao, 2005). El peso promedio de mazorca y porcentaje de cáscara fueron de 732,8 g y 81,8%,

respectivamente. El porcentaje de cáscara de cacao puede representar del 52 al 76% (Chan y Choo, 2013).

Se presentó un porcentaje de fermentación buena de 59%, media del 36% y violáceos (fermentación incompleta) de 5%. Para un cacao especial se requiere que entre el 65 y 70% de los granos estén con fermentación buena, mientras que para un cacao corriente debe ser mínimo de 65% (NTC 1252, 2012).

Tabla 1. Parámetros de calidad de cosecha de cacao

Parámetro		
Índice de mazorca	26 mazorcas/ kg de cacao seco	
Índice de grano	98 g/100 granos	
% Cáscara	$81,76 \pm 5,3$	
% Cascarilla	$11,71 \pm 1,1$	
% Humedad	$17,33 \pm 2,3$	
% Fermentación*	Fermentación completa	59
	Fermentación media	36
	Sin fermentación	5
Índice de fermentación	$0,78 \pm 0,03$	

*Determinación visual (tablas de fermentación Pérez y Contreras, 2017)

El índice de fermentación mide el cambio de color del cacao, y puede utilizarse como indicador del grado de fermentación (Febriami et al., 2015). El índice de fermentación es determinado por espectrofotometría, y estos cambios pueden ser evidenciados debido a la descomposición de los pigmentos de antocianina durante la fermentación con la formación posterior de más y más productos de condensación de antocianina (Afoakwa et al., 2012). Se evidencia una deficiente fermentación del grano teniendo en cuenta el índice de fermentación, pues se considera que los granos no están correctamente fermentados cuando el índice de fermentación es inferior 1.0 (Emmanuel et al., 2012). Una correcta clasificación por variedades permite una correcta fermentación, pues variedades aciolladas requieren menos días en fermentación comparada con la variedad forastero, y así mismo, se debe seleccionar por tamaños de granos, pues los granos más pequeños fermentan más rápido que los grandes (Utami et al., 2015).

Conclusión

De acuerdo a los resultados obtenidos uno de los factores influyentes en las variables evaluadas es la temperatura. Deben propiciarse las condiciones (infraestructura) para que los cambios de temperatura propicien la sucesión de microorganismos (levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias ácido acéticas) que genere que una correcta fermentación de los granos. El alto valor en el pH del cotiledón, el porcentaje de fermentación visual (prueba de corte) y el índice de fermentación, indicaron una baja fermentación de los granos de cacao. Se debe mejorar los procesos de secado para asegurar un porcentaje de humedad del 7% en los granos secos.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a SENNOVA por el financiamiento del proyecto

y a la unidad productiva de cacaoteros BIOCACAO de la vereda La Unión, Florida (Valle del Cauca) por el apoyo en la realización de este estudio.

Referencias

Abdel-banat, B. M. A., & Hoshida, H. (2010). High-temperature fermentation: how can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast?, 861–867.

Afoakwa, E. O., Quao, J., Takrama, F. S., Budu, A. S., & Saalia, F. K. (2012). Changes in total polyphenols, o-diphenols and anthocyanin concentrations during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 19(3), 1071–1077.

Aneani, F., & Ofori, K. (2013). An Analysis of Yield Gap and Some Factors of Cocoa (*Theobroma cacao*) Yields in Ghana. *Sustainable Agriculture Research*, 2(4), 117–127.

Camu, N., González, Á., De Winter, T., Van Schoor, A., De Bruyne, K., Vandamme, P., ... De Vuyst, L. (2008). Influence of turning and environmental contamination on the dynamics of populations of lactic acid and acetic acid bacteria involved in spontaneous cocoa bean heap fermentation in Ghana. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 86–98.

Chan, S. Y., & Choo, W. S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141(4), 3752–3758.

Chaux, M. A., & Pérez, M. A. (2017). ¿Nuevos caminos para los cacaos especiales de Colombia? Una experiencia desde el proyecto Coexca 2012 - 2017 (Fundación). Swisscontact Colombia. Bogotá D.C. 52 p.

- Chaux, M. A., & Pérez, M. A. (2017). ¿Nuevos caminos para los cacaos especiales de Colombia? Una experiencia desde el proyecto Coexca 2012 - 2017 (Fundación). Swisscontact Colombia. Bogotá D.C. 52 p.
- Contreras Pedraza, C. A. (2017). Análisis de la cadena de valor del cacao en Colombia: generación de estrategias tecnológicas en operaciones de cosecha y poscosecha, organizativas, de capacidad instalada y de mercado. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de: <http://bdigital.unal.edu.co/59141/1/1032373448-2017.pdf>
- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Saerens, S., Blennow, A., ... Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, 63, 306–316.
- De Melo Pereira, G. V., Magalhães, K. T., de Almeida, E. G., da Silva Coelho, I., & Schwan, R. F. (2013). Spontaneous cocoa bean fermentation carried out in a novel-design stainless steel tank: Influence on the dynamics of microbial populations and physical-chemical properties. *International Journal of Food Microbiology*, 161(2), 121–133.
- De Vuyst, L., & Weckx, S. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*, 121(1), 5–17.
- Emmanuel, O. A., Jennifer, Q., Agnes, S. B., Jemmy, S. T., & Firibu, K. S. (2012). Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (theobroma cacao) beans. *International Food Research Journal*, 19(1), 127–133.
- Fagbohun, E., Anibijuwon, I., Egbebi, O., & Lawal, O. (2011). FUNGI ASSOCIATED WITH SPOILAGE OF DRIED COCOA BEANS DURING FUNGI ASSOCIATED WITH SPOILAGE OF DRIED COCOA BEANS DURING. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2, 204–214.
- Febriami, Hanny; Kresnowati, M. P. (2015). Mapping the Effects of Starter Culture Addition on Cocoa Bean Fermentation. *ASEAN Engineering Journal*, 5(1), 25–37.
- Fedecacao. (2005). Caracterización físico-química y beneficio del grano de cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia. Recuperado de: http://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_09B.pdf
- Ho, V. T. T., Fleet, G., & Zhao, J. (2018). Unravelling the contribution of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria to cocoa fermentation using inoculated organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 279: 43-56.
- Ho, V. T. T., Zhao, J., & Fleet, G. (2014). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 72–87.
- Lagunes Gálvez, S., Loiseau, G., Paredes, J. L., Barel, M., & Guiraud, J. P. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 124–130.
- Meersman, E., Steensels, J., Paulus, T., Struyf, N., Saels, V., Mathawan, M., ... Verstrepena, K. J. (2015). Breeding strategy to generate robust yeast starter cultures for cocoa pulp fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(18), 6166–6176.
- Ministerio de Agricultura (MINAGRICULTURA). (2018). Cifras sectoriales: Cadena de cacao. Indicadores

- e instrumentos 2018. Recuperado de: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/002%20-%20Cifras%20Sectoriales/002%20-%20Cifras%20Sectoriales%20-%202018%20Enero%20Cacao.pdf>
- Normas Técnicas Colombianas, NTC (2012). NTC 1252. Cacao en grano. ICONTEC. 11p.
- Normas Técnicas Colombianas, NTC (2016). NTC 4623. Productos de frutas y verduras. Determinación de la acidez titulable. ICONTEC. 10 p.
- Ortiz, K., & Álvarez, R. (2015). Efecto del Vertimiento de Subproductos del Beneficio de Cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre Algunas Propiedades Químicas y Biológicas en los Suelos de una Finca cacaotera, Municipio de Yaguará (Huila, Colombia). Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural, 19(1), 65–84.
- Pabón, M. G., Herrera-Roa, L. I., & Sepúlveda, W. S. (2016). Caracterización Socio-Económica y Productiva del Cultivo de Cacao en el Departamento de Santander (Colombia). *Revista Mexicana de Agronegocios*. 38, 283-294.
- Peláez, P. P., Guerra, S., & Contreras, D. (2016). Changes in physical and chemical characteristics of fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans with manual and semi-mechanized transfer, between fermentation boxes. *Scientia Agropecuaria*, 07(02), 111–119.
- Pérez, M., & Contreras, J. (2017). Instructivo para el control de calidad de granos de cacao. Swisscontact Colombia, 28. Recuperado de: https://www.swisscontact.org/fileadmin/user_upload/COUNTRIES/Colombia/Documents/Instructivo_control_calidad.pdf
- Romero-Cortes, T., Robles-Olvera, V., Rodríguez-Jimenes, G., & Ramírez-Lepe, M. (2012). Isolation and characterization of acetic acid bacteria in cocoa fermentation. *African Journal of Microbiology Research*, 6(2), 339–347.
- Romero, C., Cuervo, P. J. A., Ortiz, Y. G., Torres, M. A., Rodríguez, J. G., & Robles, O. V. (2012). Influence of acetic acid bacteria on the acidity of the cocoa beans during fermentation. *Fermented Foods and Beverages*, 497–501.
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. h
- Serra, J., Gomes, F., Melo, G. V. De, Soccol, C. R., Rogez, H., & Darnet, S. (2019). Determination of the microbial community in Amazonian cocoa bean fermentation by Illumina-based metagenomic sequencing. *LWT - Food Science and Technology*, 106(July 2018), 229–239.
- Steinau, I. A. D. (2017). Evaluación de la incidencia de la fermentación en la calidad del grano de cacao trinitario en caluco, Sonsonate, El Salvador. Facultad de Ciencias Agronomicas, Universidad del Salvador. Recuperado de: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/14635/1/13101640.pdf>
- Team, R. C. (2013). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Recuperado de: <http://www.r-project.org/>
- Utami, R., Kobarsih, M., & Cahyaningrum, N. (2015). Fungi Level Analysis of Cocoa Beans Based on Fermentation Box Type and Duration. *Italian Oral Surgery*, 3, 371–382.