



Espirales revista multidisciplinaria de investigación científica
ISSN: 2550-6862
compasacademico@icloud.com
Grupo Compás
Ecuador

Acceleration of cocoa fermentation through the action of bacteria (*Acetobacter aceti*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

El Salous, Ahmed; Angulo-González, Alex; Solís Flores, Luis

Acceleration of cocoa fermentation through the action of bacteria (*Acetobacter aceti*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

Espirales revista multidisciplinaria de investigación científica, vol. 3, núm. 28, 2019

Grupo Compás, Ecuador

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=573263327001>

Acceleration of cocoa fermentation through the action of bacteria (*Acetobacter aceti*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

Aceleración de la fermentación del cacao mediante la acción de bacterias (*Acetobacter aceti*) y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

Ahmed El Salous eelsalous@uim.edu.mx

Universidad internacional Iberoamericana de México, Ecuador

 <http://orcid.org/0000-0001-7395-5420>

Alex Angulo-González aangulo@agraria.edu.ec

Universidad Agraria del Ecuador, Ecuador

 <http://orcid.org/0000-0002-8537-2107>

Luis Solís Flores luissolisflores@gmail.com

Universidad Agraria del Ecuador., Ecuador

 <http://orcid.org/0000-0002-9270-5897>

Espiraes revista multidisciplinaria de investigación científica, vol. 3, núm. 28, 2019

Grupo Compás, Ecuador

Recepción: 17 Octubre 2018

Aprobación: 15 Enero 2019

Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=573263327001>

Resumen: **Introducción** La fermentación del cacao, es sin duda una operación realmente indispensable para el desenvolvimiento apropiado de los precursores del aroma de chocolate. En el proceso de fermentación, el cacao precisa de tres a cinco días para activar los precursores de sabor. **Objetivo** acelerar la etapa de la fermentación del cacao mediante la acción de bacterias (*Acetobacter*) y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) durante las horas que conllevan el proceso. Durante este lapso de tiempo se desarrollan las bacterias responsables de la fermentación de los carbohidratos residuales. **Materiales y métodos** se realizarían 2 ensayos y 2 repeticiones por cada uno, en él se añadió: Primer ensayo: 0.5 gramos de levadura por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao Segundo ensayo: 1 gramo de levadura por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao. **Resultados** el ensayo 1 con el 72% de fermentación total dio los mejores resultados en relación al ensayo 2 que obtuvo un valor ligeramente menor con el 70%. **Discusión** Se trabajó con la bacteria *Acetobacter aceti* en los ensayos 1 y 2. Se distribuyeron los 0.72 gramos de esta sepa pura a razón de 1:05. **Conclusiones** cabe mencionar que el ensayo 1 ofreció mejores características y resultados en relación al ensayo 2

Palabras clave: bacteria, cacao, aceleración, análisis, calidad.

Abstract: **Introduction** the management of the curriculum in teacher training within the Catholic University of Salta in the School of Education and Teacher Improvement, this thought from a deductive perspective in which theoretical processes are established that allow the explanation of the curriculum in terms of teacher training and its impact on the organizational articulation. **Objective** to specify a strategic articulated intervention device that requires the constitution of a new emancipatory discourse. **Materials and methods** We present a qualitative research that analyzes the problems and variables established in the study. **Results** The process of rupture leads us to reflect on the teaching position in the face of praxis, on the processes of "learning to teach" which involves continuous training. **Discussion** This perspective points to the development of certain skills that are developed over time of the formation through diverse strategies **Conclusions** the development of the professional competences of the teacher that confront with the disciplinary approach from an innovative glance

Keywords: bacteria, cocoa, acceleration, analysis, quality.

INTRODUCCIÓN

El cacao CCN-51 es más demandado por el sector de la industria cacaotera que se dedica a los chocolates más comerciales del mercado en general por presentar características deseables para el proceso; como alto contenido de grasa no presenta problemas para moldearse. Las características físicas y organolépticas del cacao son puntos importantes en la selección de nuevos clones de cacao para determinar su utilidad y obtener ganancias genéticas mediante procesos de mejoramientos. Conjuntamente a esta búsqueda por obtener un producto final con las mejores características se han venido realizando estudios científicos de los métodos de la fermentación del cacao de esta variedad evaluando su comportamiento durante todo el proceso fermentativo.

Durante las operaciones de manejo del cacao CCN51, la fermentación del cacao es sin duda una operación realmente indispensable para su desenvolvimiento apropiado de los precursores del aroma de chocolate. Durante esta etapa, la pulpa que envuelve las semillas son metabolizadas por microorganismos que producen compuestos como el etanol, el ácido acético y láctico formados en primera instancia, los cuales serán absorbidos por los cotiledones, promoviendo varios cambios físico-químicos, que tendrán notable influencia en el sabor final (Navia, 2012, pág. 1)

Durante la fermentación los microorganismos juegan papeles muy importantes: las levaduras eliminan la pulpa que rodea a los granos de cacao frescos, des-polymerizando o rompiendo la pectina y en las condiciones anaeróbicas (sin oxígeno) que imperan en el ambiente, llevando a cabo la fermentación de los azúcares para producir etanol. Las bacterias fermentan los azúcares y producen ácido láctico, ácido acético y manitol. Sin la participación de estos microorganismos no puede ocurrir una correcta fermentación impidiendo la obtención del sabor completo del chocolate.

Se debe considerar que el tiempo que toma la fermentación del cacao varía entre los 5 a 7 días al verse influenciado por factores como la calidad del grano, humedad, temperatura, debido a que se debe esperar a que se originen las reacciones químicas y microbiológicas en el grano para poder obtener los precursores del sabor que se requieren. La aceleración de estos procesos químicos mediante la adición de microorganismos en ambientes controlados se presenta como una opción para mejorar y disminuir el tiempo en la etapa poscosecha del cacao.

La reducción del tiempo de fermentado busca disminuir el tiempo requerido para la producción del cacao, aumentando así la productividad, sin reducir su calidad. Por ellos se propondrá en este trabajo la optimización en los tiempos de fermentado mediante la utilización de bacterias acéticas normalmente empleadas en la viabilidad de medios de cultivo.

Desde el punto de vista económico, la aceleración del proceso de fermentación busca hacer mucho más rentable el cultivo de cacao, al reducir el tiempo de poscosecha, debido a que la fermentación dependerá de las condiciones de temperatura del lugar y puede ser de 2 a 7 días según se trate de cacaos de origen criollo, trinitario o amazónico

La correcta fermentación es esencial para producir un buen sabor en el chocolate final. “En este proceso el grano muere, por lo que se daña la germinación. Dentro del grano de cacao tres grupos de sustancias dan interés nutricional, tecnológico y sensorial” (Badui, 2006, pág. 249).

Estos son los lípidos, las xantinas estimulantes (teobromina y cafeína), y los precursores del aroma. Esta última categoría consiste en aminoácidos y azúcares reductores, que reaccionan vía Maillard y la degradación de Strecker para dar varios compuestos presentes en el aroma del cacao: polifenoles y algunos ácidos orgánicos que contribuyen como tales al aroma en el grano fermentado (Cordova, 2014, pág. 15).

Una fermentación anómala ocurre cuando se mantienen las condiciones anaeróbicas durante todo el proceso, es decir, la ausencia de oxígeno, esto favorece la presencia de bacterias de la especie *Clostridium butyricum*. Se produce ácido butírico y CO₂ a partir de la lactosa. Es propia de bacterias del género *Clostridium* y se caracteriza por la aparición de olores no deseados de jamón ahumado y putrefacto (Bailón, 2012, pág. 115).

Los microorganismos llevan a cabo la fermentación en la pulpa, que contiene carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa) y un valor de acidez (pH) entre 3.3 y 4.0, debido a la presencia de ácido cítrico. La pulpa es viscosa porque contiene pectina y otros polisacáridos, que además dificultan la difusión del aire. El proceso de fermentación del cacao es natural o espontáneo, ya que no se añaden intencionalmente los microorganismos a los granos, que de hecho se encuentran estériles dentro de las vainas. Se contaminan con microorganismos provenientes de todas las superficies con las que entran en contacto: los utensilios y las manos de las personas que manipulan el cacao (Rodarte, 2011, pág. 4).

Se sabe que en el sabor a chocolate participan por lo menos 500 compuestos diferentes y que este sabor depende de muchos factores, como el tipo de grano de cacao, la época en la cual se cosechó, la fermentación (la acción de microorganismos), la acción de enzimas endógenas (enzimas del cacao), el tostado y el secado. “Es por lo mismo muy difícil definir de cuál de todas estas etapas depende la producción de aromas. Las enzimas endógenas, por ejemplo, pueden actuar sobre los carbohidratos, proteínas y polifenoles del grano de cacao, generando aromas. Lo que es un hecho es que el sabor característico del chocolate no se desarrolla si no hay fermentación” (Bailón, 2012, pág. 117).

Durante la fermentación los microorganismos juegan papeles muy importantes: las levaduras eliminan la pulpa que rodea a los granos de cacao frescos, des-polimerizando o rompiendo la pectina y en las condiciones anaeróbicas (sin oxígeno) que imperan en el ambiente, llevando a cabo la fermentación de los azúcares para producir etanol. Las bacterias lácticas fermentan los azúcares y producen ácido láctico, ácido

acético y manitol. Ambos tipos de microorganismos consumen el ácido cítrico. Las bacterias lácticas convierten el etanol en ácido acético y esa reacción produce calor, por lo que la temperatura aumenta hasta 50°C. El etanol y el ácido acético producidos penetran en los granos, haciendo que su pH interno disminuya de 6.5 a 4.8 y junto con el incremento de la temperatura a 50°C, dañando la estructura interna del cacao. Esto debe ocurrir para que se formen precursores del sabor, que en etapas posteriores se convertirán en compuestos de sabor. También ocurre la degradación de pigmentos por las enzimas endógenas (Rodarte, 2011, pág. 11).

Tal vez el papel más importante de los microorganismos es el desarrollo de precursores del sabor a chocolate, porque, como hemos señalado, sin la fermentación no se obtiene el sabor completo del chocolate. “Pero por otra parte, los microorganismos también son esenciales para preparar el grano, ya que sin ellos no se eliminaría el mucílago, no se eliminaría la acidez del grano, causada por la presencia del citrato, y sin la producción del ácido acético, el etanol” (Castillo, 2013, pág. 74).

En la primera fase aparecen entre 5 y 6 especies diferentes de levaduras, que luego desaparecen dejando su lugar a *Hanseniaspora guilliermondii*, que es la levadura predominante durante las primeras 24 horas. A *Hanseniaspora* sólo se le encuentra ocasionalmente en las fases posteriores. La levadura *Candida zemplinina* es una nueva especie que sólo se pudo detectar hasta que aparecieron las técnicas modernas de la biología molecular que detectan la presencia de microorganismos por sus genes, más no cultivándolos. *Candida silvae*, *Candida zemplinina* y *Candida diversa* son levaduras que se encuentran comúnmente en las fermentaciones en charolas, posiblemente por la mayor concentración de oxígeno en ese tipo de fermentación. Se reporta que a las 36-38 horas dominan *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia membranaefaciens*, que se encuentra al final de la fermentación; *Candida krusei* y *Hanseniaspora guilliermondii*, en las fermentaciones en charolas, y predomina también *Saccharomyces cerevisiae* (Rodarte, 2011, pág. 25).

En la fermentación del cacao participan un gran número de especies de microorganismos, “algunos de los cuales no se han reportado en otros ambientes o fueron aislados inicialmente del cacao. Este es el caso de nuevas levaduras como *Candida halmiae*, *Geotrichum ghanense*, *Candida awuuii*” (Rivera, 2017, pág. 52).

Las levaduras llevan a cabo el proceso de fermentación, transformando los azúcares sencillos del mucílago o pulpa en etanol, degradando la pectina, lo que modifica la textura del grano y elimina el ácido cítrico, lo que trae como consecuencia una disminución de la acidez. “Por otro lado, el consorcio de levaduras consume el oxígeno, creando un ambiente anaerobio que favorece el desarrollo de bacterias lácticas” (Rodarte, 2011, pág. 29).

En las fermentaciones de pilas se han aislado sobre todo bacterias del tipo *Lactobacillus* (*Lb. collonides*, *Lb. fermentum*, *Lb. mali* y *Lb. plantarum*), aunque también se han identificado bacterias como *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc pseudoficulneum*, y

Pediococcus acidilactici. Por otro lado, *Lb fermentum* y *Lb plantarum* son indígenas de esta fermentación (Rodríguez, 2013, pág. 36).

Una cepa de *Weissella*, una bacteria láctica aislada de fermentaciones de cacao en Ghana, se reportó como una especie nueva, *Weissella fabaria*. Las levaduras contienen enzimas del tipo “pectinolítico”, lo que les permite hidrolizar las pectinas, ocasionando una disminución de la viscosidad de la pulpa de mucílago y favoreciendo la entrada de aire (De Bruyne, 2010, pág. 38).

Con este ambiente aerobio y menos ácido -debido al consumo de ácido cítrico- se favorece el desarrollo de bacterias acéticas.

Dado que la transformación de etanol en ácido acético es una reacción exotérmica, se produce calor. El etanol y el ácido acético se difunden hacia el interior de los granos y, junto con la temperatura alta, matan al embrión. Las más importantes bacterias acéticas que se han aislado de la fermentación del cacao, son: “*Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter aceti* y *Acetobacter pasteurianus*. Se encuentra primero *Gluconobacter oxydans*, luego *A. syzygii* y *Acetobacter pasteurianus* y, al final de la fermentación, *Acetobacter tropicalis* (Nielsen *et al.*, 2007). *Acetobacter fabarum* es una especie nueva, aislada de fermentaciones de cacao en Ghana” (Cleenwerck, 2008, pág. 78).

La fermentación es muy importante “en la elaboración y determinación de los sabores que desarrollará posteriormente el chocolate. Consiste en un proceso en el que a los granos se les desprovee de vida, es decir ya no es posible desarrollar la germinación” (Quintero, 2015, pág. 211).

La levadura es un pequeño microbio de características vegetales que se utiliza para hacer crecer la masa del pan y elaborar bebidas alcohólicas, como el vino, la sidra y la cerveza. Es en sí un alimento muy nutritivo, rico en proteínas y vitaminas del grupo B. Los residuos de levaduras procedentes de la fermentación se procesan para elaborar pastas untables e ingredientes para una amplia variedad de productos, desde aperitivos hasta carnes procesadas (Casadesús, 2016, pág. 71).

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio la población estuvo conformada por mazorcas de cacao de la variedad CCN-51 presentes en la región de Naranjal, Provincia del Guayas. Se ubica al sur de la Región Costa. Se trabajó con una muestra representada por 280 mazorcas de cacao.

Acerca del área de estudio De acuerdo al Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, en su boletín meteorológico del mes de Mayo del año 2017, la ciudad de Guayaquil presento una precipitación acumulada de 168.0 mm en 15 días con lluvia. En cuanto a la temperatura, Guayaquil presento una temperatura de 27,7 Celsius con un máximo absoluto de 33.0 Celsius el día 07 y una mínima absoluta de 22.2 Celsius el día 31 del mes de Mayo. Las coordenadas del sitio donde se realizó la investigación: 2°06'05"S 79°53'31"O / -2.10129, -79.89205.

Fueron considerados como criterios de inclusión los siguientes: 1.) Todo cacao procedente de la región naranjal 2.) Números de mazorcas

trabajadas (280 mazorcas) 3.) Color rojizo de las mazorcas característico de la variedad CCN-51. Así mismo fueron excluidos: 1.) Los cacaos procedentes de la amazonia 2.) Números de mazorcas menores a la cantidad designada 3.) Color amarillo característico de cacao Nacional.

RESULTADOS

Tratamiento 1

Se realizaron 2 ensayos y 2 repeticiones por cada uno, se añadió:

- Primer ensayo: 0.5 gramos de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por cada 100 gramos de cacao. Se trabajó con levadura de marca comercial Levapan la cual contiene levadura seca activa en una presentación de 500g.
- Segundo ensayo: 1 gramo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao.

Tratamiento 2

Se realizarían 2 ensayos y 2 repeticiones por cada uno, se añadió:

- Primer ensayo: 0.24 gramos de bacteria (*Acetobacter aceti*) por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao. Se empleó este microorganismo distribuido por el laboratorio Microbiologics® contenido en su presentación comercial KWIK-STIK™. Cada KWIK-STIK™ presenta dos artefactos que contienen cada uno un único microorganismo liofilizado contenido en un pellet, una ampolla de líquido hidratante y un hisopo de inoculación. La recuperación es de más de 1000 Unidades Formadoras de Colonias por cada pellet.
- Segundo ensayo: 0.48 gramos de bacteria (*Acetobacter aceti*) por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao.

Aceleración en la fermentación

Primera fase: Se pesaron 20 kilogramos de habas de cacao para cada caja fermentadora. Se procedió inmediatamente con el primer tratamiento; en el primer ensayo se estableció que para cada 100 gramos de habas de cacao se aplicaría 0.5 gramos de levadura, así que se pesaron 100 gramos de levadura para los 20 kilogramos de habas de cacao. Para el segundo ensayo se planteó que para cada 100 gramos de habas de cacao se aplicaría 1 gramo de levadura, así que se pesaron 200 gramos de levadura para los 20 kilogramos para el segundo ensayo.

Se procedió también a depositar 20 kilogramos de habas de cacao sin tratamiento en la caja denominada blanco. Cada caja se cubrió internamente con hojas de plátano con el propósito de contener el calor originado en la fermentación. Las hojas fueron perforadas para favorecer el escurrido. A las primeras 12 horas el cacao empezó a fermentar. Temperatura de 28 grados Celsius. A las 24 horas del proceso: Temperatura de 31 grados Celsius.

A las 48 horas se procedió a voltear la masa en fermentación con una paleta de madera. La temperatura variaba en las diferentes zonas de las cajas. Esta estuvo entre unos 29 a 32 grados Celsius. El pH fue de 4. La fermentación transcurre a la par en los tres ensayos transcurridas las 48 horas. La apariencia externa del cacao es la misma en las tres cajas. La

mayor cantidad de calor está en el centro de la masa fermentante; 32 grados Celsius. El pH se mantiene en 4.

Segunda fase: En esta fase se aplicó el segundo tratamiento; se procedió a aplicar la bacteria. La cepa está contenida en un tubo con un peso de 1.98 gramos, el cual se mezcló con el contenido de otro tubo similar dando un peso de 2.34 gramos, la diferencia es de 0.36 gramos. Con un total de 0.72 gramos se aplicó 0.24 gramos al primer y 0.48 gramos en el segundo ensayo. Se mezcló con una paleta de madera para homogenizar la masa. Temperaturas entre 35 y 40 grados Celsius entre las tres cajas.

A las 72 horas del proceso la temperatura fue de 40 a 45 grados Celsius. Se procedió a secar el cacao.

Al abrir una haba de las cajas fermentadoras esta posee buen olor y un color pardo oscuro café.

Tabla 1
Requisitos del cacao

Requisitos	Unidad	CCN-51
Cien granos pesan	g	135-140
Buena fermentación (mín.)	%	***65
Ligera fermentación* (mín.)	%	11

Autores (2017)

Determinación de los porcentajes requeridos de *Acetobacter aceti* y *Saccharomyces cerevisiae* para la aceleración de la fermentación del cacao. Se adicionó la cantidad de levadura designada.

Tabla 2
Tratamiento 1- aplicación de levaduras

Primer ensayo	Segundo ensayo
0.5 gramos de levadura por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao.	1 gramo de levadura por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao.

Autores (2017)

La cantidad de la bacteria acética fue administrada en proporciones menores a la cantidad designada.

Tabla 3
Tratamiento 2- aplicación de bacterias acéticas

Primer ensayo	Segundo ensayo
0.24 gramos de bacteria acetobacter aceti por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao.	0.48 gramos de bacteria acetobacter aceti por cada 100 gramos de muestras de granos de cacao.

Autores (2017)

Los proveedores de este producto indican que no es recomendada para alimentación y que después de uso debe ser descartado. Esta sepa pura es utilizada como indicativo de viabilidad de medios de cultivo.

Nota a considerar: Los altos precios para cultivar la cantidad de bacterias necesarias para cumplir con las proporciones establecidas, sumándole que la proliferación de esta bacteria puede provocar riesgos a la salud al momento de desecharse, limitaron la cantidad a utilizar.

Determinación de las características físico químico y sensorial indicadas para el grano de cacao Se evaluaron 3 muestras de habas de cacao llevadas a procesos de fermentación.

Las muestras evaluadas fueron: ensayo 1, ensayo 2 y ensayo testigo (sin bacterias fermentadoras).

Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 4
Análisis de cacao sin agentes de fermentación

Cacao Seco- Blanco			
Parámetros	Unidades	Resultados	Métodos de Ensayos
Acidez	Unidades de ph	5,71	AOAC 97021
Grasas	%	49,9	INEN 174:2013

Autores (2017)

Tabla 5
Análisis de cacao del ensayo 1

Ensayo 1			
Parámetros	Unidades	Resultados	Métodos de Ensayos
Acidez	Unidades de ph	5,94	AOAC 97021
Grasas	%	49,3	INEN 174:2013

Autores (2017)

Tabla 6
Análisis de cacao del ensayo 2

Ensayo 2			
Parámetros	Unidades	Resultados	Métodos de Ensayos
Acidez	Unidades de ph	6,11	AOAC 97021
Grasas	%	48,7	INEN 174:2013

Autores (2017)

Cada muestra evaluada correspondió a un peso de ½ kilo, analizada a temperatura ambiente durante un lapso de 10 días de manera respectivas.

Evaluación comparativa de los resultados

Tabla 7
Análisis físico-químico

Cacao					
Parámetros	Unidades	Seco-Blanco	Ensayo 1	Ensayo 2	Requisitos
acidez	Unidades de pH	5,71	5,94	6,11	5-7
grasas	%	49,9	49,3	48,7	----

Autores (2017)

El análisis de laboratorio corresponde a cada muestra evaluada correspondió a un peso de ½ kilo, analizada a temperatura ambiente durante un lapso de 10 días de manera respectivas.

Acidez: Los tratamientos son similares con respecto a la acidez. Esto se dio seguramente al correcto escurrido realizado durante la fermentación entre las primeras 48 horas, lo que como consecuencia redujo azúcares de la pulpa que no permitieron la elevada concentración de ácidos.

Grasas: Los granos de cacao tienen un alto contenido de grasas con valores simultáneos en los 3 tratamientos, reflejando que la adición de bacterias manteniendo el desarrollo de estos compuestos durante el proceso de la fermentación.

Humedad: El control de humedad del experimento dio los siguientes resultados:

Tabla 8
Medicio#n de la humedad

	Repetición		media
	Repetición 1	2	
blanco			
m0	34,1101	34,1092	
m1	39,1359	39,1185	
m2	38,0295	38,7678	
humedad	22,0144057	7,00097818	14,5076919
Ensayo 1			
m0	35,4845	33,2462	
m1	40,4924	38,2799	
m2	40,1436	37,973	
humedad	6,96499531	6,09690685	6,53095108
Ensayo 2			
m0	34,7821	36,6475	
m1	39,7962	41,6685	
m2	39,3462	41,487	
humedad	8,97469137	3,61481777	6,29475457

Autores (2017)

Resumen de la evaluación de la humedad registrada durante la fermentación de las muestras de cacao.

Tabla 9

	repetición 1	repetición 2	media
Blanco	22,0144	7,0009	14,5077
ensayo 1	6,9649	6,0969	6,5309
ensayo 2	8,9746	3,6148	6,2947

Autores (2017)

Comparación de los resultados de los ensayos con relación a las características físico químico y sensorial indicado para el grano de cacao en la NTE INEN 176:2006.

Los cacaos del Ecuador por la calidad se clasifican, de acuerdo a lo establecido en la tabla indicada en la norma INEN 176

Tabla 10
Norma INEN 176

Requisitos	Unidad	CCN51
Cien granos pesan	g	135-140
Buena Fermentación (BF) mínimo	%	65
Ligera Fermentación (mínimo)	%	11
Total Fermentado	%	76
Violeta (máximo)	%	18
Pizarroso (máximo)	%	5
Moho (máximo)	%	1
Total (análisis sobre 100 pepas)	%	100
Defectuoso	%	1

INEN 176 (2016)

Ensayo testigo: En este ensayo se realizó una fermentación natural, sin adición de levadura y bacterias. Los valores obtenidos son muy cercanos a los señalaos en la norma INEN 176.

Tabla 11
Resultados del ensayo testigo

Requisitos	Unidad	Testigo	Requisitos
Cien granos pesan	g	130	135-140
Buena Fermentación (mínimo)	%	60	65
Ligera Fermentación (mínimo)	%	15	11
Total Fermentado	%	69	76
Violeta (máximo)	%	15	18
Pizarroso (máximo)	%	12	5
Moho (máximo)	%	3	1
Defectuoso	%	1	1
Total (análisis sobre 100 pepas)	%	100	100

Autores (2017)

Ensayo 1: En este ensayo se realizó una fermentación con adición de 0.5 gramo levadura y 0.24 gramos de bacterias obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 12
Resultados del ensayo 1

Requisitos	Unidad	Testigo	Requisitos
Cien granos pesan	g	130	135-140
Buena Fermentación (BF) mínimo	%	60	65
Ligera Fermentación (mínimo)	%	15	11
Total Fermentado	%	72	76
Violeta (máximo)	%	11	18
Pizarroso (máximo)	%	13	5
Moho (máximo)	%	2	1
Defectuoso	%	2	1
Total (análisis sobre 100 pepas)	%	100	100

Autores (2017)

En la Figura 4 se puede observar que el total de granos fermentados de manera óptima fue del 72%; el 11% presento una ligera fermentación y el 17% presento defectos.

Ensayo 2: En este ensayo se realizó una fermentación con adición de 1 gramo levadura y 0.48 gramos de bacterias obteniendo los siguientes resultados:

Requisitos	Unidad	Testigo	Requisitos
Cien granos pesan	g	130	135-140
Buena Fermentación (BF) mínimo	%	60	65
Ligera Fermentación (mínimo)	%	15	11
Total Fermentado	%	70	76
Violeta (máximo)	%	10	18
Pizarroso (máximo)	%	16	5
Moho (máximo)	%	1	1
Defectuoso	%	3	1
Total (análisis sobre 100 pepas)	%	100	100

Tabla 13
Resultados del ensayo 2

Autores, 2017

En la Figura 1 se puede observar que el total de granos fermentados de manera óptima fue del 70%; el 10% presento una ligera fermentación y el 20% presento defectos.

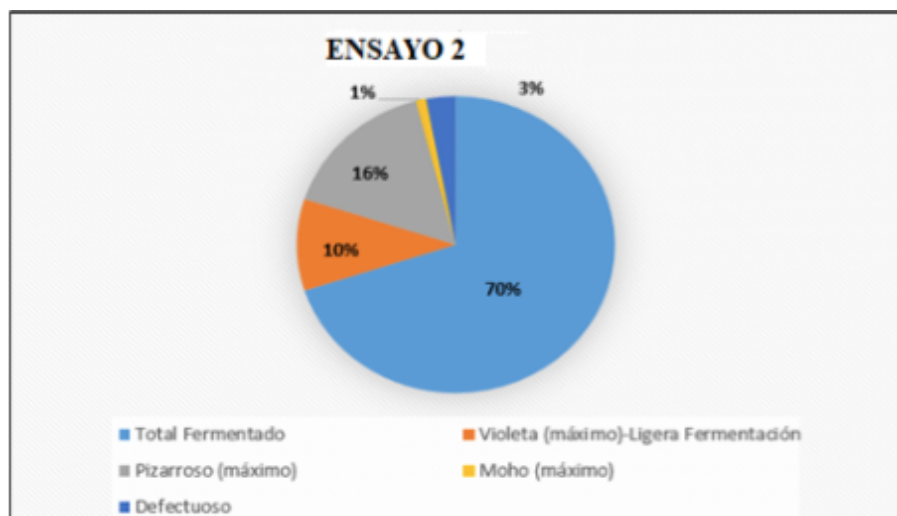


Figura 1
Fermentación del ensayo 2
Autores (2017)

Comparaciones de los resultados

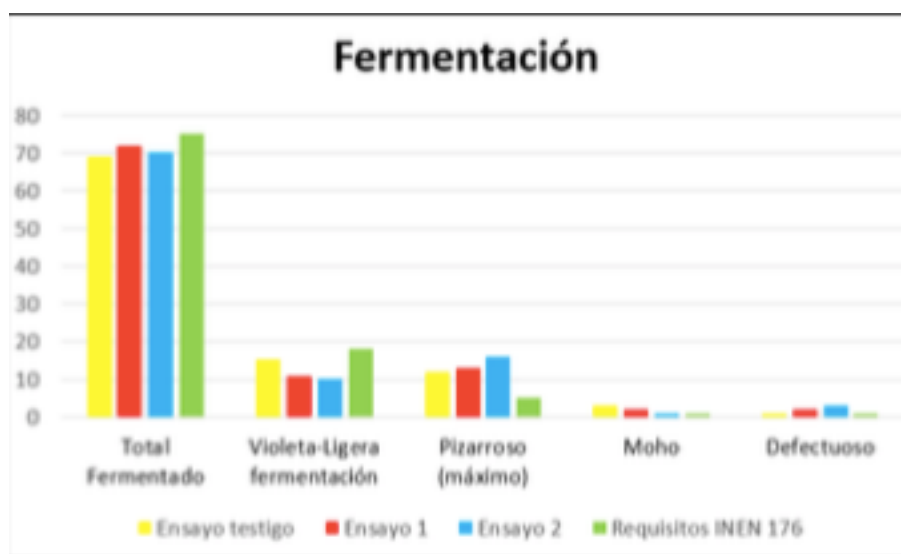


Figura 2.
Cuadro comparativo de fermentaciones
Autores (2017)

Basado en el parámetro de la categoría “mejor fermentación” sobre un conteo en 100 granos de cacao en relación a los requisitos señalados por la norma INEN 176. El ensayo 1 con el 72% de fermentación total dio los mejores resultados en relación al ensayo 2 que obtuvo un valor ligeramente menor con el 70% del total de su fermentación. Además el

ensayo 1 presento una menor cantidad de granos defectuosos con 17% en relación al ensayo 2 con el 20% de granos no fermentados correctamente.

DISCUSIÓN

Se recomienda tomar en cuenta el prolongar la actividad de las levaduras por medio de la adición de sustratos. Muchas investigaciones han demostrado la necesidad de la muerte del grano para desencadenar reacciones para el beneficiado. En este contexto, se podría estimar qué consecuencias tiene el proveer a las levaduras de los sustratos necesarios para producir etanol. Se podría cuantificar los azúcares consumidos en diferentes etapas de la fermentación y hacer una relación con el aumento de la temperatura.

Se podría aplicar estos tratamientos a montones de 243 kilogramos como mínimo. Esta condición se asemeja más a la fermentación tradicional. En estas condiciones los parámetros de temperatura y acidez pueden verse afectados. Generando así resultados diferentes y que contribuyen decisivamente a la comprensión del beneficio del cacao.

Otro parámetro a considerar sería el aumento de la bacteria acética en la masa fermentante. De este parámetro podríamos conocer si la cantidad de ácido acético aumenta y qué consecuencias tiene en la valoración final del cacao.

Existe suficiente evidencia de como manipular la temperatura y acidez en la fermentación a nivel de laboratorio. Al igual que existen métodos aplicables a nivel artesanal. Ya sea a nivel de laboratorio o a manera artesanal, está demostrado que si se quiere generar cambios en el beneficiado del cacao, es a los parámetros de temperatura y acidez conjuntamente donde se debe apuntar.

CONCLUSIONES

Una vez desarrollado el estudio propuesto y mediante el análisis de las variables expuestas en la metodología se pudo llegar a las siguientes conclusiones:

Con respecto al primer objetivo se trabajó o se adicionó la cantidad de levadura designada. La cantidad de la bacteria acética fue administrada en proporciones menores a la cantidad designada. Se trabajó con la bacteria *Acetobacter acetii* en los ensayos 1 y 2. Se distribuyeron los 0.72 gramos de esta sepa pura a razón de 1:05. Esta sepa pura es utilizada como indicativo de viabilidad de medios de cultivo. Tiene un riesgo para la salud: 2. Los proveedores de este producto indican que no es para alimentación y que después de uso debe ser descartado. Los altos precios para cultivar la cantidad de bacterias necesarias para cumplir con las proporciones establecidas, sumándole que la proliferación de esta bacteria puede provocar riesgos a la salud al momento de desecharse, limitaron la cantidad a utilizar.

De acuerdo con el segundo objetivo que buscaba generar un aumento en la velocidad de fermentación: la adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) al ensayo 1 y ensayo 2 mostraron temperaturas contemporáneas al ensayo sin adición (blanco). Se produjo en un ambiente anaerobio que duro 48 horas, momento en el que se pudo apreciar, por medio de un corte longitudinal a muestras de las tres cajas, un disco pardo alrededor de los cotiledones que indican la culminación de la fase de hidrólisis anaerobia.

Para determinar de alguna forma la acidez con respecto a este parámetro, se midió a nivel de laboratorio la acidez. El ensayo 1 obtuvo un menor en relación al ensayo 2. El segundo ensayo posee un valor más alto con respecto a la acidez, esto en conclusión otorgan un nivel de preferencia más alto al ensayo 1 en comparación al ensayo sin adición microbiana cuyo valor fue inferior.

Basado en el parámetro de la categoría “mejor fermentación” sobre un conteo en 100 granos de caco; el ensayo 1 con el 72% de fermentación total dio los mejores resultados en relación al ensayo 2 que obtuvo un valor ligeramente menor con el 70% del total se su fermentación. El ensayo 1 presento de manera general un porcentaje de menor de defectos: Ligera Fermentación (mínimo), Pizarroso (máximo), Moho (máximo), defectuoso. Este análisis se puede considerar que el ensayo 1 es el más aconsejable para el proceso de fermentación.

Cabe mencionar que el ensayo 1 ofreció mejores características y resultados en relación al ensayo 2 y al tratamiento sin adición de bacterias, pero es importante señalar que esto no garantiza que en grandes cantidades de granos de cacao este resultado pueda ser replicable debido a que en esta ocasión se controló las condiciones climáticas y factores externos, con la intención de favorecer la acción de las bacterias. Tal caso se dificulta al realizar la fermentación en un sector expuesto a temperaturas y condiciones del ambiente generando probablemente que existan resultados diferentes.

Referencias bibliográficas

- Badui. (2006). *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Mexico: PEARSON EDUCACIÓN.
- Bailón. (2012). *Fermentaciones industriales*. Callao: Universidad nacional de Callao.
- Casadesús . (2016). *Levadura: El Microorganismo illustre*. España: Consejo Europeo de Información sobre la Alimentación.
- Castillo. (2013). *Estudio y manejo poscosecha del cacao y su aporte nutricional*. Universidad de Barcelona, Barcelona
- Cleenwerck. (2008). *Acetobacter fabarum, sp. Nov., una bacteria de ácido acético de una fermentación ghaniana del montón de frijol de cacao*. Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva, Bogotá
- Cordova. (2014). *Estudio de Factibilidad para el Cultivo de CACAO CCN51 en la Parroquia Cristóbal Colon de la ciudad de Santo Domingo de los*

Colorados y su comercialización. Facultad de Ciencias administrativas, Escuela Politécnica Nacional, Quito

De Bruyne. (2010). *La fermentación de Ghana en grano de cacao se caracteriza por métodos espectroscópicos y cromatográficos y quimiometría.* Ghanian

Navia. (2012). *Mejoramiento de las características sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de enzimas durante el proceso de fermentación.* Espol, Guayaquil

Quintero. (2015). *Productos básicos agrícolas y desarrollo: producción y comercialización de cacao en Venezuela.* Universidad de la Laguna, Venezuela

Rivera. (2017). *Estudio de la actividad microbiana durante el proceso de fermentación en híbridos de cacao y mediante la adición de musaceas.* Universidad Estatal de Quevedo, Quevedo

Rodarte. (2011). *Microorganismos y chocolate.* Tecnologías de Información y Comunicación -UNAM, México

Rodríguez. (2013). *Beneficio del cacao (Theobroma cacao L) y sus opciones en el campo agroindustrial.* Espol, Guayaquil