



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS**

**FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao*) VARIEDAD
CCN-51 INOCULANDO *Acetobacter***

Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Ingeniero
en Alimentos

Por: Maritza Paola Maisincho Asqui

Tutor: Ing. Gladys Navas

**AMBATO – ECUADOR
2006**

INDICE DE CONTENIDOS

CAPITULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

| | |
|--|---|
| Tema de Investigación..... | 1 |
| Planteamiento del problema..... | 1 |
| Contextualización Macro, Meso y Micro..... | 2 |
| Análisis crítico..... | 3 |
| Prognosis..... | 3 |
| Formulación del Problema..... | 4 |
| Delimitación..... | 4 |
| Justificación..... | 5 |
| Objetivos..... | 6 |

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

| | |
|---|-----|
| Antecedentes Investigativos..... | 7-9 |
| Fundamentación Filosófica..... | 10 |
| Fundamentación Legal..... | 11 |
| Categorías fundamentales..... | 12 |
| Hipótesis..... | 13 |
| Señalamiento de las variables de las hipótesis..... | 13 |

CAPITULO III METODOLOGÍA

| | |
|---|----|
| Enfoque..... | 14 |
| Modalidad básica de la investigación..... | 14 |
| Nivel o tipo de Investigación..... | 14 |
| Población y Muestra..... | 15 |
| Operacionalización de las variables..... | 16 |
| Recolección de la información..... | 17 |

| | |
|--------------------------------------|--------------|
| Técnicas e Instrumentos..... | 17-22 |
| Procesamiento y análisis..... | 22 |

CAPITULO V MARCO ADMINISTRATIVO

| | |
|--------------------------|--------------|
| Recursos..... | 23 |
| Cronograma..... | 24 |
| Bibliografía..... | 25-26 |
| Anexos..... | 27-31 |

CAPITULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN: FERMENTACIÓN DE CACAO (*Theobroma cacao*) VARIEDAD CCN-51 INOCULANDO *Acetobacter*.

El cacao (*Theobroma cacao*), es una planta que por poseer excelentes características organolépticas y nutricionales, es muy apetecido por todo el mundo, en especial el cacao conocido como “ Arriba ”, único en el Ecuador, pero en los últimos años se ha encontrado dificultades para encontrar cacao de buena calidad, por esta razón los agricultores han dejado a un lado estos cultivos, y se han enfocado a las variedades clónales siendo una de ellas, CCN-51 (Colección Castro Naranjal), cuyos orígenes se iniciaron en nuestro país, esta variedad rinde un 80% de su fermentación, su peso en semillas está alrededor de 150 gramos en 100 granos, es más resistente a enfermedades y plagas, contiene mayor porcentaje de grasa que el cacao Nacional. Pero en lo que se refiere al sabor, su principal desventaja es el de no poseer “sabor arriba” ni buen sabor a chocolate (acidez, astringente y otros). El sabor a chocolate se inicia en la fermentación donde las almendras sufren cambios internos que se manifiestan por pérdida de astringencia y el color que se torna gradualmente marrón, finalizada la etapa de una correcta fermentación se procede a un secado, para luego ser tostadas las almendras donde el cambio más importante en esta etapa se le conoce como “Precursor del sabor a chocolate”.

Por lo anteriormente dicho para mejorar este sabor a chocolate y obtener un cacao de calidad, se pretende inocular *Acetobacter* en el proceso de fermentación ya que estos m/o soportan valores bajos de pH, oxidan el etanol a ácido acético y conjuntamente con la temperatura y tiempos adecuados nos permitirá dar una muerte rápida al embrión produciéndose así las reacciones enzimáticas con sus respectivas transformaciones bioquímicas.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

CONTEXTUALIZACIÓN

En la actualidad se está produciendo cacao a nivel mundial con baja tecnología. Costa Marfil que es el principal productor con alrededor de 1.400.000 TM. de producción tiene rendimientos de aprox. 0.3 a 0.7 TM por hectárea niveles considerados de subsistencia.

Lo mismo se puede decir de los demás productores africanos como lo son Ghana, Camerún, Nigeria etc. En Asia solamente Indonesia está obteniendo rendimientos interesantes similares a los que se producen Ecuador con la variedad CCN-51 en ciertas haciendas y a nivel más pequeño alrededor de 1 a 1.5 TM por hectárea. Indonesia solo representa 10% de la producción mundial.

Eso implica que en la actualidad 90% de la producción mundial es de subsistencia y solamente 10% es producido con alta tecnología. Al mismo tiempo Ecuador con su tecnología aplicada hacia la siembra del CCN-51 tiene actualmente la tecnología más avanzada del mundo en lo que significa producir con alto rendimiento. Si la inversión de Ecuador mantiene los niveles necesarios para producir cacao de alta tecnología esto puede significar una producción de 200.000 TM para el 2010 y 400.000 TM para el 2020 que representa un nivel similar al de Indonesia.

Al hablar de cacao mundial debemos recordar que Ecuador tiene la tecnología actualmente para producir con alto rendimiento a gran escala, que sumados a los conflictos mundiales y en especial de Costa de marfil han generado la necesidad para una expansión mundial del cultivo.

(Extracto de charla sobre cacao de alta tecnología por Vincent Séller).

<http://www.agrotropical.com/productos/cacao/>

ANÁLISIS CRÍTICO

En los últimos años se ha estado empleando microorganismos en distintos procesos industriales para minimizar los costos y tener así buenos productos y de alta calidad. Al inocular *Acetobacter* en la fermentación de cacao CCN-51 se pretende mejorar el sabor a chocolate, con lo que aumentaría la demanda de esta nueva variedad, nuestros productores serían los principales beneficiados ya que tendrían un cacao de buena calidad y por ende se elevarían los costos de venta.

En nuestro país existen pocas instalaciones donde se esta fermentando cacao CCN-51 y actualmente en el PICHILINGUE-INIAP se esta estudiando este variedad desde su cultivo hasta su etapa de aceptación por el consumidor, donde se esta invirtiendo dinero y esfuerzo ya que se esta aplicando tecnología de países europeos con mano de obra ecuatoriana calificada.

PROGNOSIS

Al no presentar esta propuesta de fermentación de cacao CCN -51 inoculando *Acetobacter* tendremos los siguientes problemas:

- No mejoraríamos el sabor a chocolate.
- No podríamos obtener productos procesados de buena calidad.
- No podríamos exportar ya que las normas internacionales en cuanto a pruebas de corte y degustación son demasiado exigentes.
- Los productores no serian beneficiados ya que sus ingresos disminuirían por la mala calidad del cacao.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Una vez indicado el contexto y el análisis crítico el problema es:

¿Cual será el efecto de inocular *Acetobacter* en el proceso de fermentación de Cacao CCN-51?

¿Como utilizar correctamente *Acetobacter* en la fermentación de cacao CCN-51?

¿Se puede utilizar el *Acetobacter* para mejorar el sabor a chocolate?

¿Cual será la temperatura y tiempo adecuada para fermentar el cacao?

¿Que porcentaje de cacao tendría una buena fermentación?

¿El licor de cacao obtenido será de buena aceptación por parte del consumidor?

DELIMITACIÓN

CAMPO : Agroindustrial

AREA : Fermentación (Poscosecha)

ASPECTO : Mejora del sabor a chocolate del cacao

TEMA : Fermentación de cacao (*Theobroma cacao*) variedad CCN-51
Inoculando *Acetobacter*.

1.3 JUSTIFICACIÓN

El Ecuador ha sido reconocido a nivel mundial como un país productor y exportador de cacao conocido como “fino de aroma”, pero la introducción del material genético exótico como el cacao tipo trinitario a provocado una hibridación natural, generando de esta forma una compleja mezcla genética que demanda investigaciones específicas de poscosecha para poder mantener las calidades organolépticas del cacao.

Tal es así que la variedad CCN-51 apareció hace 30 años gracias a las investigaciones del ing. Agrónomo Homero Castro el cual al morir, se llevo consigo los resultados de esta investigación. Razón por la cual en los últimos años se esta retomando investigaciones sobre su cultivo, fermentación y secado. Siendo la fermentación la etapa más importante ya que de allí es donde se produce una serie de transformaciones que genera el sabor a chocolate.

Por tal razón se debe realizar una correcta fermentación ya que influye de manera significativa en el desarrollo de un buen sabor a chocolate por esto al inocular *Acetobacter* a la temperatura y tiempo adecuados, se pretende que se produzca una rápida transformación de alcohol en acido y por medio de la testa ingrese al embrión causando así su muerte, lo cual nos lleva a transformaciones bioquímicas en menos tiempo, y conjuntamente con lo las cualidades de la variedad las cuales son: el de no ser tan propenso a enfermedades, su peso en grano es mayor al promedio de los otras variedades, es de fácil retiro su testa, el contenido de grasa es superior al 54 % y su grasa no se derrite con facilidad siendo esto beneficioso para los productos procesados. Con todo esto aumentaríamos así su precio en cuando a granos de cacao no procesados y si aplicamos la tecnología adecuada podríamos obtener productos de alta calidad como chocolates, polvo de cacao, manteca de cacao y lo ultimo conocido como nibs.

OBJETIVOS:

General:

- Fermentar cacao (*Theobroma cacao*) variedad CCN-51 inoculando *Acetobacter*

Específicos:

- Caracterizar la parte externa e interna (pulpa y cotiledón) de la materia prima.
- Estudiar el efecto de las concentraciones de *Acetobacter* en la fermentación de cacao.
- Conocer cuales son la temperatura y tiempo adecuados de fermentación.
- Realizar análisis de control de los granos fermentados y secos.
- Determinar mediante la evaluación sensorial en base del estudio del sabor, que tratamiento fermentativo es el más aceptable por el consumidor.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

El proceso de fermentación antes de ser una ciencia es un arte, para lo cual se requiere de mucha experiencia en esta labor, y así obtener excelentes resultados. Enríquez, (1989).

Según Samah, O. / Puteh, F. / Selamat, J. /y Limón, H. (1993), fermentaron cacao híbrido inoculando *Acetobacter xylinum*, donde indican que aumenta en poco la acidez dentro de los cotiledones.

Según Von Rutte, S. (1983) menciona que antes del proceso de fermentación del cacao CCN-51 se debe realizar un presecado de 4 a 10 horas en un tendal y si es posible el mismo día de la cosecha para obtener cacao con un buen sabor a chocolate.

Estudios realizados por Jiménez, J. (2000) establece que al fermentar cacao Trinitario (CCN-51), por un periodo demasiado prolongado 7 días existe una sobre fermentación y por ende un sabor desagradable.

Schawan y López citado por Mejía y Arguello (2000), considera que la extracción de la pulpa no influye en la fermentación y su reducción antes del proceso puede ser benéfica para la calidad del cacao, ya que se disminuye la acidez, tomando en cuenta que en la exudación solo el 60 % de esta es necesaria.

Para Nicholls citado por Cascante et al (1993), la fermentación es la reducción de sustancias de mayor composición molecular a otras de naturaleza menos compleja, por la acción de microorganismos con amplias repercusiones comerciales. Los cambios físicos y químicos que se producen en este proceso son de gran valor.

Irie y Agbo (1999), considera que la fermentación es de esencial significación porque es el punto en que surgen los precursores del sabor y aroma a chocolate, la misma que esta asociado a la muerte del embrión que no debe ser precoz, ya que

tiene una influencia culminante sobre la evolución de los índices de fermentación. El embrión debe mantenerse vivo durante los tres primeros días de fermentación ya que los cambios que se producen antes de la muerte del embrión determinan la bioquímica del tratamiento subsiguiente Wadsworth, (1995).

Nosti, (1963), considera que la fermentación tiene por objeto facilitar la eliminación de la pulpa y mejorar los caracteres organolépticos del grano a consecuencia de una fermentación interna estimulada por la elevación de temperatura exterior.

Cros, (2004), manifiesta que la fermentación incluye dos fenómenos distintos, pero no independientes: a) una fermentación microbiana de la pulpa que contribuye a eliminar la pulpa mucilaginosa de los granos y b) un conjunto de reacciones bioquímicas internas que conlleva entre otras cosas a una profunda modificación de la composición fenólica a la formación de los precursores del aroma a chocolate que se consumirá en el tostado.

Moreno y Sánchez (1989), dice que la fermentación pasa por dos fases: la primera (anaeróbica hidrolítica), sin aire donde abundan las levaduras que convierten el mucílago azucarado en alcohol y anhídrido carbónico, durante las primeras 48 horas; la segunda fase (aeróbica) puede ser posterior o simultánea con la primera, aquí ocurre la penetración de aire con la remoción y favorece a una mayor cantidad para una buena fermentación.

Ramos, (2004) considera que la pulpa del cacao tiene aproximadamente el 10% de azúcares y 2% de ácido cítrico y que la fermentación pasa por dos fases: la primera fase las almendras de cacao que se infectan inmediatamente después de ser extraídas de las mazorcas, son atacadas por levaduras que convierten los azúcares en los alcoholes y metabolizan el ácido cítrico disminuyendo la acidez, esto sumado al aumento de temperatura generado por la fermentación alcohólica, proporcionan las condiciones apropiadas para que actúen las bacterias lácticas que también producen ácido acético y disminuyen la acción de las levaduras. Estas transformaciones producen la pérdida del líquido y peso en las almendras, y se realiza en condiciones anaeróbicas. La fase acética o (aeróbica), el aumento de

etanol y la aireación permite la proliferación de bacterias acéticas que convierten el etanol en ácido acético, durante esta transformación se produce Monóxido de Carbono y agua, donde se presenta una liberación de calor y se pueden alcanzar temperaturas de 48 a 60 °C, en este punto mueren la mayoría de las bacterias, las acéticas quedan inactivadas y el ácido acético no se oxida totalmente.

Según Roelofsen y Giosberger, citados por Semiglia (1979), manifiesta que la fermentación es más rápida a medida que se realizan en la masa fermentable son más lentos. Según las consideraciones de Leycock citado por Lainez (1955); Word (1982) y Pastorelly (1992), en la fermentación las células de los endospermos y del embrión mueren al tercer día de la fermentación cuando las temperaturas alcanzan 40 y 50 °C.

Sanin y Gutiérrez (1990), manifiestan que la duración de la fermentación es uno de los aspectos más importantes de esta fase, que depende del tipo de cacao, método de fermentación, frecuencia de remoción, volumen de cacao a fermentar, estado de madurez de las mazorcas y condiciones sanitarias del grano. Si la fermentación se prolonga excesivamente, la masa de cacao se contamina por microorganismos proteolíticos, provocando la neutralización del ácido existentes por el amoníaco, causando la pérdida del sabor a chocolate con desarrollo de otros aromas y sabores extraños. Mejía y Arguello, 2000).

Moreno y Sánchez, (1989), manifiesta que la fermentación ha concluido cuando los granos se ven hinchados se reduce la humedad, desciende la temperatura y al partir las almendras se presentan cambios de color interno y grietas en los cotiledones.

FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

Según Braudeau, J. (1970), indica que la fermentación es conocida como “cura” o “sudado” donde se elimina la pulpa mucilaginosa, muere el embrión evitando así la germinación, se desencadena modificaciones bioquímicas en el interior del cotiledón y disminuye en forma considerable el amargor y la astringencia.

Para Eduardo y Fernando Crespo (1997), la variedad de cacao CCN-51, significa Colección Castro Naranjal, porque es una colección de clones, su autor se apellida Castro y fue creado en la población de Naranjal en 1965. El número 51 es la secuencia de los clones que se investigó hasta llegar al 51 que es la variedad que obtuvo éxito y brindó las características requeridas, es una variedad ecuatoriana que crece en la zona tropical del país, es conocida como un clon de alta calidad, de excelente productividad y tolerancia a enfermedades como la “Escoba de bruja”, “Monilla” y *Ceratocystis* (Mal del Machete). La fermentación de los granos de cacao CCN-51 indica que el principal factor determinante del buen éxito de este proceso está en el tiempo empleado en producir la muerte de los embriones, mas rápidamente también tendrán lugar las reacciones enzimáticas capaces de producir las transformaciones bioquímicas. Las mejores condiciones para una buena fermentación se consiguen bajo un equilibrio apropiado de humedad y aire.

Tomando precauciones para evitar la pérdida de calor, los microorganismos se multiplican abundantemente y en forma rápida elevan la temperatura de la masa en fermentación de 45°C o 50 °C, finalmente se seca lentamente hasta llegar a una humedad del 7%, y se los almacena.

Frazier, W. (1976), indica que *Acetobacter* es un tipo de bacterias que pertenece al género de *Pseudomonas*, son productoras de ácido acético oxidan el alcohol etílico a ácido acético y transforman otros compuestos orgánicos en productos de oxidación diversos.

2.3 FUNDAMENTO LEGAL

El acuerdo N° 287. **Ministerio de Comercio Exterior, Industrialización, Pesca y Competitividad –MICIP- y Ministerio de Agricultura y Ganadería –MAG-**. Dispone que la Asociación Nacional de Exportadores de Cacao –ANECACAO-, hasta la creación del Instituto Nacional del Cacao, emita el certificado de calidad, que no podrá ser inferior a la Norma INEN 176. **Anexo 1.**

ACUERDO N° 060. **MAG.** Dispone que los lotes de cacao tanto del tipo nacional como los del CCN-51 no contengan mezcla alguna entre si.

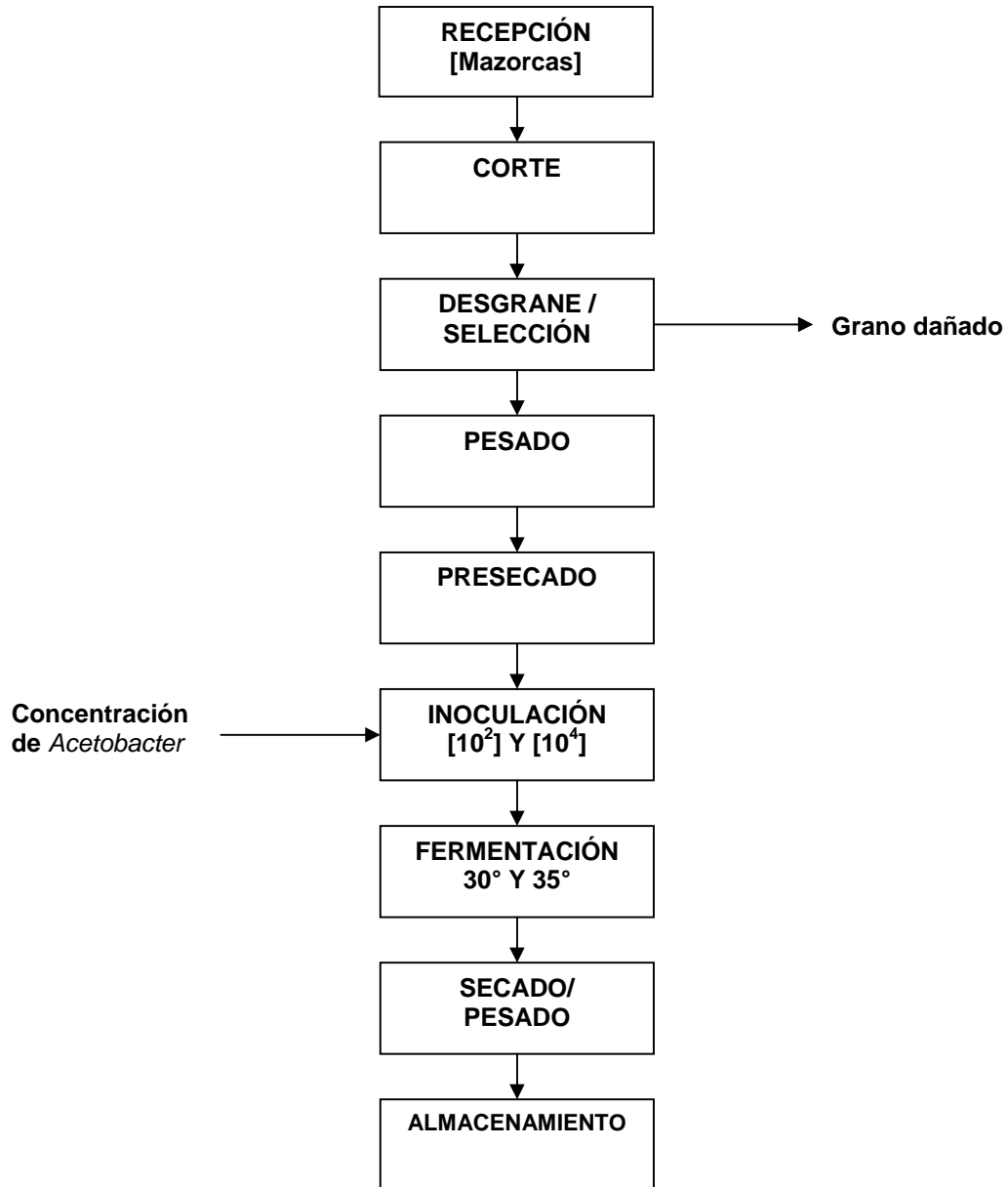
ACUERDO N° 70. **MAG.** Declara al cacao como producto Símbolo del Ecuador.

En el caso de exportación la **NORMA Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Cacao, productos y derivados** Cacao. II Chocolate.III Derivados. Especificaciones sanitarias. Denominados comercialmente, manifiesta que el cacao no debe contener mas de 20 u g/kg de aflatoxinas, el productor o fabricante de los productos, debe establecer mecanismos de control que permitan determinar la presencia y cantidad de metales pesados y metaloides en las materias primas, en el producto en proceso de elaboración o en el producto terminado y finalmente debe cumplir con especificaciones microbiológicas para el cacao tostado.

Anexo 2

2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

DIAGRAMA DE FERMENTACION DE CACAO



Fuente: Elaboración Autor

2.5 HIPOTESIS

Ho: No influye la concentración de *Acetobacter*, temperatura y tiempo en la fermentación.

H1: Existe influencia de la concentración de *Acetobacter*, temperatura y tiempo en la fermentación.

2.6 SELAÑAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPOTESIS

VARIABLE INDEPENDIENTE

Concentración de *Acetobacter*, temperatura, tiempo.

VARIABLE DEPENDIENTE

pH, Acidez, °Brix, Recuento m/o, Porcentaje de Fermentación, Sabor.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 ENFOQUE

El presente trabajo de grado es de tipo cuantitativo, cualitativo, estadístico formulando así análisis de resultados.

3.2 MODALIDAD BASICA DE LA INVESTIGACIÓN:

Es un estudio de manera deductiva, analítica y objetiva, en la cual se desea resaltar lo cuantitativo a cualitativo. Esto será de gran importancia ya que nos interesa saber como afectara la aplicación de *Acetobacter*, en la fermentación de cacao variedad CCN-51, por esta razón será necesario hacer, recuentos microbiológicos, análisis físico-químicos y organolépticos (en base al sabor).

Las variables que influirán serán la concentración de *Acetobacter*, temperatura y tiempo en la fermentación, a mas de esto al obtener las semillas de cacao ya secadas es importante saber la cantidad de granos de cacao bien fermentados realizando para esto una prueba de corte y poder relacionarlo con la prueba organoléptica.

3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Es una investigación de aspecto bibliográfico, en donde se recopilara la información necesaria para la fermentación de cacao CCN-51 y como mejorarla. Y Como es un proceso largo se hará una investigación experimental necesitando así un laboratorio.

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

Diseño Experimental aplicado: El Diseño experimental comprende un sistema de dos factores A * B * C con sus respectivos niveles y con una replica para cada nivel determinándose así 16 tratamientos.

Factor A: Concentración *Acetobacter*

Nivel 1: $1 \cdot 10^2$

Nivel 2: $1 \cdot 10^4$

Factor B: Temperatura Fermentación

Nivel 1: 30 °C

Nivel 2: 35 °C

Factor C: Tiempo de Fermentación

Nivel 1: 2 días

Nivel 2: 4 días

Se investigará cacao proveniente de Naranjal Provincia Guayas –Ecuador.

3.5 OPERACIONABILIDAD DE LAS VARIABLES

Cuadro 1.1

Variables independientes = Concentración de *Acetobacter*, temperatura, tiempo

| Conceptualización | Categoría | Indicadores | Técnicas e Instrumentos |
|---------------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------------|
| Concentración de <i>Acetobacter</i> . | Método Microbiológico | Desarrollo m/o. | Cultivo de m/o Termómetro |
| Temperatura | Método Físico | Aumento de Temperatura. | |
| Tiempo | Método Físico | | |

Variables dependientes: Fermentación.

| Conceptualización | Dimensiones | Indicadores | Items |
|-------------------|--|--|---|
| Fermentación | - Determinado por métodos físicos, microbiológicos, sensoriales. | pH Acidez °Brix m/o P. Fermentación Humedad Evaluación Sensorial | Método Bogantes. Método 2.9 Análisis de los Alimentos de Pearson. Cultivo m/o. INEN 176 Balanza Mettler Sabor |

3.6 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

La recolección de datos se lo hará diariamente tomando 2 duplicado por muestra.

- Caracterización de la materia prima (pulpa y cotiledón).
- Toma de temperatura
- Ver si la fermentación ocurrió
- Tomar muestras para realizar análisis de pH, acidez y microbiológicos.
- Ya fermentado y secas las muestras se toara el porcentaje de humedad
- Seguidamente se realizará por triplicado la prueba de corte
- Y finalmente se realizará la evaluación sensorial de las muestras en base al sabor.

3.7 TECNICAS E INSTRUMENTOS

METODOLOGÍA

3.5.1 Métodos de Análisis Físicos-Químicos

a) Análisis de materia prima: El cacao a utilizarse debe tener la madurez adecuada (rojo), la variedad de CCN-51 provendrá de Naranjal Provincia del Guayas.

- El pH de la pulpa se determina empleando un pH-metro según la norma INEN 389.
- El pH de cotiledón se lo realiza mediante Bogantes, (1989), donde menciona que se debe registrar en dos ocasiones 1.-antes de iniciar la fermentación. Y 2.- después de terminar el secado. Para lo cual se debe tomar 10 almendras al azar, luego se separa la testa de los cotiledones, y estos se maceran en un mortero. Posteriormente se pesa 10gr.de la muestra macerada en 90 ml., de

agua destilada agitándose conjuntamente, y finalmente se realizara la medición con un pH –metro.

- Acidez de la Pulpa se lo realizará mediante el método 2.9 de Análisis de los Alimentos de Pearson (1976).
- Acidez del cotiledón según el método 2.9 de Análisis de los Alimentos de Pearson (1976).
- Sólidos solubles, midiendo la concentración de sólidos solubles en una disolución preparada con la pulpa con un brixometro..

Análisis durante la Fermentación

- pH y acidez, sólidos solubles métodos ya descritos
- Recuento m/o utilizando Petrifil
- Temperatura

Análisis al finalizar la fermentación

- pH y acidez, métodos ya descritos
- Humedad mediante Balanza Mettler

b) Metodología para la obtención de Acetobacter

Repique y aislamiento de los *Acetobacter* sobre un medio de cultivo sólido alcoholizado.

Se puede repicar las bacterias en un medio gelosado de Maze o de tubos de mosto de cerveza gelosaza previamente fundidos y enfriados a temperatura de 40°C añadir gotas de alcohol absoluto para mas tarde verlo en cajas petri.

Se puede utilizar un medio acuoso de levadura gelosaza al que le agrega gotas de alcohol absoluto y colorante de Tashiri y viertiendo en cajas petri.

1. Preparación del mosto de cerveza

- Gelatina sin sabor 18 gr.
- Mosto de cerveza 1000 gr.
- Se mezcla bien y se coloca en tubos más o menos 10 cc por tubo.
- Esterilizar por 20 minutos 120 °C.
- Inclinar los tubos para que se enfríen.

2. Caldo de fréjol sacrosado gelosado

- Gelatina 20 gr.
- Caldo de fréjol 1000 gr.
- se mezcla bien y se coloca en tubos mas o menos 10 cc por tubo.
- Esterilizar por 20 minutos 120 °c
- Inclinar los tubos para que se enfríen.

Recuento m/o

Se hará recuentos de mohos , hongos y levaduras en petrifil.

c) Metodología que se utilizará para la fermentación

1. **Recepción.-** Se recibe las mazorcas de cacao antes de las 48 horas de la cosecha.
2. **Corte.-** Es el proceso mediante el cual se corta con mucho cuidado cada una de las mazorcas
3. **Desgrane y selección.-** Es un proceso que se lo hace manualmente y consiste en extraer las semillas con la testa y pulpa, retirando las semillas que se encuentren enfermas.
4. **Pesado.-** Se pesa el montón de semillas desgranadas y seleccionadas para saber el rendimiento.

5. **Presecado.-** Este proceso consiste en colocar en un tendal de 4 a 10 horas, si es posible el mismo día.
6. **Inoculación.-** Este proceso consiste en añadir 60 ml. de los microorganismos al cacao presecado.
7. **Fermentación.-** Es el proceso donde muere el grano, se lo hará a dos temperaturas (30, 35 °C) durante (2, 4) días, en donde se debe remover una vez por día, este proceso se lo hará en cajas de madera.
8. **Secado y Pesado.-** Se lo hace en forma natural, exponiendo a los granos ya fermentados durante un periodo de 7 a 10 días, los primeros días debe exponerse al sol tres horas en la mañana y tres horas en la tarde, el segundo en cuatro horas en la mañana y los otros días se deja secar libremente. Lo recomiendan Mejía y Arguello.(2000).
9. **Almacenamiento.-** Se debe dejar 8 días de almacenamiento para que aumente la humedad a una temperatura ambiente en un lugar fuera de olores contaminantes ya que el cacao es higroscópico y absorbe fácilmente cualquier olor.

d) Metodología para conocer el Porcentaje de Fermentación

Luego del almacenamiento las muestras deben tener 7 % de humedad, tomamos 100 almendras de cada tratamiento y las pesamos. Las características internas del grano (corte Vertical) se clasifican de acuerdo a la siguiente escala:

- Almendras bien fermentadas.- Aquellas que presentaron características quebradizas, hinchadas, la testa debe encontrarse desprendida del cotiledón y el color debe ser café rojizo.
- Almendras medianamente fermentadas.- Aquellas almendras que presentan ligaras pigmentaciones de color violeta y marrón oscuro.
- Almendras violetas.- Aquellas que presentaron características compactas y de un color lila total.

- Almendras mal fermentadas.-Las que presentan color negrusco pizarroso, compactas, aplanadas y de olor desagradable.
- Otros.- Los que presentan moho, infestado, vanos entre otros.

Anexo 1.

e) Metodología que se utilizará para preparar el Licor de cacao

- Se debe tomar 200 gr. de cacao fermentado y seco.
- Luego sometemos a tostar las muestras a una temperatura de 124 °C por 15 minutos en un horno eléctrico.
- Se retira la testa del cotiledón.
- Trituramos los cotiledones en un molino manual y luego utilizamos una licuadora hasta obtener una pasta fina.

f) Metodología para realizar la Evaluación sensorial (Sabor)

- Las muestras se deben colocar en baño maria a una temperatura de 45 ° C antes de la degustación.
- Tome una cucharada de licor y coloque uniformemente sobre la lengua saboree mantenga la muestra en la boca por 15 a 20 segundos y durante ese tiempo se aparece la evidencia de los sabores.
- Debe ingerir o eliminar la muestra y cuidadosamente anote los atributos encontrados.
- Repita en forma individual por lo menos tres veces cada muestra y antes de continuar con la siguiente muestra es aconsejable lavarse la boca con agua o come una galleta.
- El tiempo que debe descansar antes de empezar con otra muestra es por lo menos un minuto. **Anexo 3.**

MATERIALES

- Cuchillos
- Baldes
- PH metro
- Vasos de precipitación
- Estufa
- Lienzos
- Baño Maria
- Fundas de tela
- Cajas de madera (laurel) de las siguientes dimensiones: 35 cm. x 35 cm. x 40 cm.) con agujeros en fondo del cajón.
- Cucharas
- Licuadora
- Petrifil
- Termómetro
- Brixometro
- Tubos
- Balanza Mettler
- Hidróxido de Sodio 0.1 N.

3.7 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

Los datos obtenidos se procesaran y se analizaran utilizando el paquete estadístico MSTAT y la hoja de calculo EXEL.

CAPITULO IV

4.1. RECURSOS

| RECURSOS | COSTO (USD) |
|----------------------|--------------------|
| Humano | |
| Graduado | 500 |
| Tutor | 300 |
| Asesor | |
| Físicos | |
| Equipos | 150 |
| Materiales | 150 |
| Financieros | |
| Papelería | 100 |
| Publicación de Tesis | 200 |
| TOTAL | 1400 |

4.3 BIBLIOGRAFÍA

Braudeau, J. 1970. "El cacao". Editorial Blume. Barcelona-España. Pág. 184-213.

Cascante, M. 1993. "Flora microbiana durante el proceso de fermentación de cacao". International Cocoa Research Conference.

Crespo E. /Crespo F. 1997. "Cultivo y beneficio del cacao CCN- 51". Quito - Ecuador. Pág.19, 20, 81,85, 102,106.

Cros, E. 2004. "Factores condicionantes de la calidad de Cacao". Sirad- Francia.

Enríquez, J. 1989. "Curso sobre cultivo de Cacao". Centro Agronómico de Investigaciones. Tutrial – Costa Rica, Pág. 190-198.

Girard / Rougieux. 1964. "Técnicas de microbiología agrícola".Zaragoza –España. Pág.50.

Gaibor, E. / Aldás, J. 1991. "Fermentación y secado de tres variedades de cacao cultivadas en el Ecuador". FCIAL-UTA. Ambato – Ecuador. Pág. 5, 24-25.

Irie / Ago. 1999. "Incidente de la mort tealable des senes de cocoa sur de qualite de leur fermentation". Salvador Bahía – Brasil. Pág. 993-999.

Jiménez, C.2000. "Efecto de dos métodos de fermentación sobre la calidad de tres grupos de cacao *Theobroma cacao* L.". Cultivados en la zona de Quevedo provincia de los Ríos". Guaranda – Ecuador. Pág. 15-25, 43,49.

Mejía, L. / Arguello, O. 2000. "Fermentación y secado de los granos de cacao, Tecnología para el mejoramiento del sistema de producción de cacao". Bucaramanga – Colombia.

Moreno, J. / Sánchez, J. 1989. "Beneficios de cacao tecnología y desarrollo". Honduras. Fundación Hondureña de Investigaciones. Art.6.

Nosti, J. 1963. "Cacao, Café y Te". Salvat.

Pearson, D. 1971. " The chemical Análisis of foods". 6ta edición. Chemical Publishing Company. Inc. New Cork. Pág. 293.

Ramos, J. 2004. "La fermentación y el secado del cacao, almacenamiento" Taller Internacional, calidad integral del cacao. Teoría y Práctica. INIAP-ETP. Quevedo – Ecuador. Pág. 20.

Saltos, A. 2004. "Efectos de métodos de fermentación, frecuencias de remoción y volúmenes variables de masa fresca sobre la calidad física y organoléptica del complejo "Nacional x Trinitario". Vinces – Ecuador. Pág. 6 – 26.

Samah, O./ Puteh, F./, Selamat, J./ y Limón, H. 1993. "Fermentation Products in Cocoa Beans Inoculated with *Acetobacter xylinum*". ASEAN Food Journal. Vol. 8. Malaysia. Pág. 22 – 25.

Von Rutte, S. 2004. Presentación ORECAO S.A. Quevedo – Ecuador.

<http://www.agrotropical.com/productos/cacao/niveles-produccion-cacao.asp>

4.4 ANEXOS

Anexo 1.

Normas de INEN de la página web de Anecacao: *NORMA TÉCNICA ECUATORIANANTE INEN 176.*

Cacao en grano. Requisitos.

1 OBJETO.

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

2 ALCANCE.

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

3 DEFINICIONES.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.5 Grano violeta. Grano cuyos cotiledones presentan un color violeta intenso, debido al mal manejo durante la fase de beneficio del grano.

3.6 Grano ligeramente fermentado. Grano cuyos cotiledones ligeramente estriados presentan un color violáceo, debido al mal manejo durante la fase de beneficio del grano.

3.7 Grano de buena fermentación. Grano fermentado cuyos cotiledones presentan en su totalidad una coloración marrón o marrón rojiza y estrías de fermentación profunda. Para el tipo CCN51 la coloración variará de marrón a marrón violeta.

3.8 Grano infestado. Grano que contiene insectos vivos en cualquiera de sus estados biológicos.

3.9 Grano seco. Grano cuyo contenido de humedad no es mayor de 7,5% (cero relativo).

3.10 Impureza. Es cualquier material distinto a la almendra de cacao.

3.11 Cacao en baba. Almendras de la mazorca del cacao recubiertas por una capa de pulpa mucilaginosa.

3.12 Fermentación del cacao. Proceso a que se somete el cacao en baba, que consiste en causar la muerte del embrión, eliminar la pulpa que rodea a los granos y lograr el proceso bioquímico que le confiere el aroma, sabor y color característicos.

Requisitos de las calidades de cacao

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

Anexos 2

Límites máximos de contaminantes

| | Limite máximo mg/kg |
|---------------|--------------------------------|
| Arsénico (As) | 1 |
| Cobre (Cu) | 30 |
| Plomo (Pb) | 1 |

Especificaciones microbiológicas

| | Coliformes Totales UFC/g | <i>Salmonella spp</i> En 25 g | Mohos UFC/g | Levaduras UFC/g |
|---------------|-------------------------------------|--|------------------------|----------------------------|
| Cacao tostado | 10 | Ausente | 50 | 50 |

Anexo 3

Listado de atributos de licor de cacao en cuanto al sabor

Cacao.- Describe el sabor típico a granos de cacao bien fermentados, asados y libre de defectos.

Acidez.- Describe licores con sabor ácido, debido a la presencia de ácidos volátiles y no volátiles, se percibe a los lados y al centro de la lengua.

Amargor.- Se describe como un sabor fuerte y amargo, generalmente debido a la falta de fermentación.

Astringencia.- Se describe licores con sabor de astringencia fuerte, generalmente debido a la falta de fermentación, produce una sequedad en la boca.

Humo.- Describe olores contaminados por humo de madera, usualmente debido al secado artificial.

Mohoso.- Describe licores con sabor a mohoso, debido generalmente a la sobre fermentación de las almendras o de un incorrecto secado.

Nota: Para todos los atributos y defectos de calificación se basa en una escala de 0 a 10 puntos, relacionados con referencias específicas.

Escala

| | | |
|----------|-----------|---------------------------------------|
| 0 | 0 | = Ausente |
| 1 | 2 | = Intensidad baja |
| 3 | 5 | = Intensidad media |
| 6 | 8 | = Intensidad alta |
| 9 | 10 | = Intensidad muy alta/ fuerte. |

Fuente: INIAP-PICHILINGUE, 2003.