

El cultivo del cacao, sus características y su asociación con microorganismos durante la fermentación

Nadia Denisse Rodríguez-Velázquez^{1,2} , Belén Chávez-Ramírez² , Irene Gómez de la Cruz¹ ,
María-Soledad Vásquez-Murrieta¹ , Paulina Estrada de los Santos^{1*} 

¹ Laboratorio de Biotecnología Microbiana, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prol. Carpio y Plan de Ayala s/n. Col. Santo Tomás. C.P. 11340. Ciudad de México, México.

² Laboratorio de Fitopatología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prol. Carpio y Plan de Ayala s/n. Col. Santo Tomás. C.P. 11340. Ciudad de México, México.

*Email autor corresponsal: [*pestradadelossantos@gmail.com](mailto:pestradadelossantos@gmail.com)

Recibido: 12 diciembre 2021. **Aceptado:** 31 enero 2022

RESUMEN

Theobroma cacao L. es un árbol del bosque tropical, se clasifica dentro de la familia Malvaceae originario del sur de América. El árbol se conoce comúnmente como cacao mientras que el término cocoa se refiere a los productos preparados con las semillas secas y fermentadas. El cacao es un “commodity” que representa la base de la economía de millones de pequeños productores en el mundo. En el año 2019, la producción a nivel mundial fue de 6,800 millones de dólares con más de 10 millones de toneladas obtenidas. En México, se produjeron 28,473 ton siendo Tabasco el mayor productor (18,331 ton), seguido de Chiapas con 9,857 ton y Guerrero con 285 ton. El cacao se clasifica en tres grupos genéticos: criollo, forastero y trinitario. El cacao criollo es el de mejor calidad, pero de mayor susceptibilidad a enfermedades. El cultivo de cacao requiere de condiciones de temperatura, humedad, suelo y sombra, determinadas para su crecimiento y producción. Para la fermentación de cacao, las semillas y la pulpa se colocan en tapetes cubiertos con hojas de plátano o en cajas de madera con drenaje. Los microorganismos involucrados principalmente en la fermentación incluyen levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias ácido acéticas. El proceso de fermentación es fundamental para la calidad de los productos. Esta revisión muestra las características del cacao, así como los microorganismos involucrados en su fermentación.

Palabras clave: Cacao; cocoa, *Theobroma cacao*; fermentación del cacao.

ABSTRACT

Theobroma cacao L. is a tree from the tropical rainforest. It is classified in the Malvaceae family and was originated in the south of America. The tree is commonly known as cacao while cocoa refers to the products obtained from dried and fermented seeds. Cacao is a commodity which is the economic base for millions of small producers in the world. The production of cacao in the world in 2019 was valued in 6,800 million dollars, with more than 10 million of harvested tons. In Mexico, the production was 28,473 ton with Tabasco as the mayor producer (18,331 ton), followed by Chiapas with 9,857 ton and Guerrero with 285 ton. Cacao is classified in three genetic groups: criollo, forastero and trinitario. The criollo cacao has the best quality but it has the mayor susceptibility to diseases. The cacao tree requires special conditions of temperature, humidity, kind of soil and shade for its growth and production. To start the fermentation, the beans and pulp are removed from the pod and placed in heaps covered with banana leaves or in wooden boxes fitted with drainage holes. The main microorganisms involved in the fermentation are yeast, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria. Cacao fermentation is fundamental to obtain products with quality. This review features the main cacao characteristics and the microorganisms involved in the fermentation.

Keywords: Cacao; cocoa; *Theobroma cacao*; cacao fermentation.

INTRODUCCIÓN

Origen y domesticación del cacao

El cultivo de cacao se originó en América; se han propuesto diferentes centros de origen como Mesoamérica, América del Sur o una combinación del origen del cacao criollo en Mesoamérica y del cacao forastero en América del Sur [1]. No obstante, un estudio donde se analizó cacao de la mayoría de los países donde se cultiva esta planta, mostró que la mayor diversidad alélica proviene de la región alta del amazonas en Perú y Brasil [2]. Otros estudios corroboraron lo anterior, demostrando que la parte alta del amazonas en Perú, Ecuador y la región del amazonas compartida por Perú, Colombia y Brasil representan el centro de origen del cacao más probable [3,4]. *Theobroma*

está dividido en veintidós especies de las cuales *Theobroma cacao* es la más conocida [5].

El origen de la domesticación del cacao es un debate. El descubrimiento de residuos de teobromina (principal alcaloide en cacao) en utensilios preclásicos Mayas muestran el uso del cacao desde 1000 a 400 a.C. [6]. Análisis similares demostraron el uso del cacao por los Olmecas en México en 1800 a 1000 a.C. [7]. También, análisis bioquímicos, de espectrometría y moleculares de utensilios arqueológicos encontrados en la parte alta del amazonas, en la frontera de Ecuador y Perú, revelaron que el cacao no solo se consumía en 3450 a 3300 a.C., sino que el centro de domesticación de este cultivo fue en la parte alta del amazonas en América del Sur, opuesto a los mencionado

inicialmente sobre Mesoamérica [8]. Por lo tanto, las investigaciones apuntan a que tanto el centro de origen como el de domesticación de cacao sucedió en la misma región de la parte alta del Amazonas en América del Sur.

La importancia del cacao en las culturas prehispánicas es bien conocida, los granos se utilizaban como moneda o unidad de medida. Las bebidas alcohólicas y no alcohólicas producidas con el cacao se ofrecían a los altos mandos como reyes o sacerdotes. El cacao también era utilizado en rituales religiosos como ofrenda [9].

Características generales del cacao

El árbol que da origen al cacao es *T. cacao* L., planta perenne tropical endémica de la región del Amazonas que pertenece a la familia Malvaceae [10]. Constituye una de las plantas de mayor cultivo y valor comercial en las regiones tropicales del mundo por ser su fruto base de procesamiento industrial para la obtención de diversos productos de confitería, de grasas en la industria de los cosméticos y de la medicina [11].

El cacao es una planta con una altura media de 6 m que puede alcanzar hasta 20 m. Las hojas son lustrosas hasta de 30 cm de longitud y su pigmentación varía desde un verde claro hasta un violeta oscuro. Las flores son pequeñas y rosas que se forman en el tronco y en las ramas más viejas (cauliflor). El cacao florece todo el año, pero existen variedades que solo lo hacen en cierta época. El fruto es una baya (mazorca) de tamaño que varía de 10 a 42 cm, de forma oblonga, elíptica, ovada, esférica u oblata. La

superficie de la mazorca es lisa o rugosa y de color rojo a verde. El interior de la mazorca contiene semillas o almendras de tamaño variable (1.2 a 3 cm), cubiertas con un mucílago o pulpa de color blanco cremoso. Los tipos de cacao se clasifican tradicionalmente en tres grupos genéticos: criollo, forastero y trinitario (Figura 1) [12].

Criollo: El cacao criollo comprende árboles delgados. Los frutos son alargados y rojizos, típicamente presentan una cubierta delgada y esculpada y los granos tienen una calidad superior que el cacao forastero y trinitario. No obstante, el cacao criollo muestra bajos rendimientos y mayor susceptibilidad a plagas. Esta forma de cacao es originaria de Sudamérica, pero se domesticó en México y Centro América y se conoce como híbrido de cacao dulce. Algunos tipos de cacao criollo se cultivan en Venezuela, el Caribe, Papúa-Nueva Guinea, México y Colombia. El 5-10% de la producción mundial de cacao se origina de la forma criollo [10].

Forastero: Los frutos presentan forma amelonada, son de cáscara dura y leñosa, de superficie relativamente tersa y de granos aplanados [12], son verdes y los granos son de menor calidad que el cacao criollo. Se caracterizan por ser de mayor tolerancia a las enfermedades que el cacao criollo. Esta variedad se originó en la parte alta de la cuenca del Amazonas en el área comprendida entre los ríos Napo, Putumayo y Caquetá. La mayoría del cacao que se cultiva en Brasil, África Occidental, América Central y el Caribe pertenece a este grupo. Con cerca del 80% de la producción mundial del cacao, es el grupo

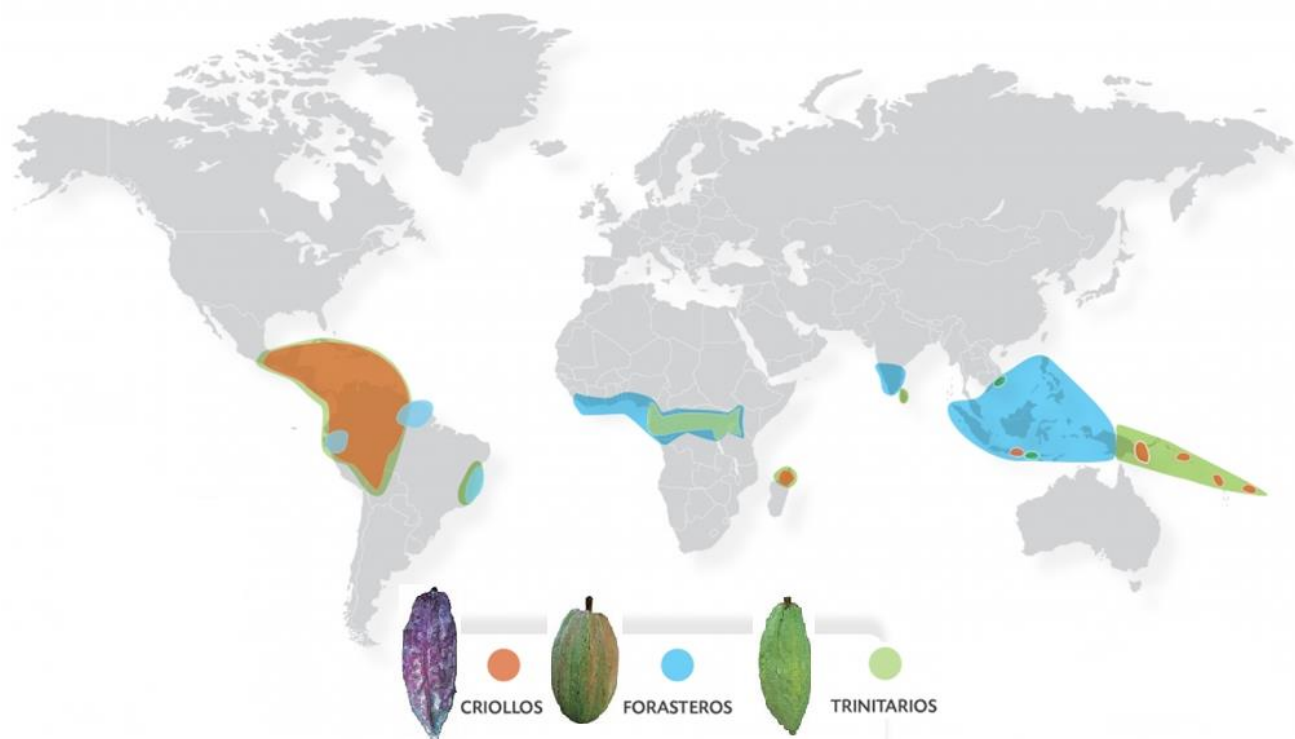


Figura 1. Distribución geográfica de las principales variedades de cacao; información basada en [1] y modificada.

comercialmente más importante. Tanto los granos de cacao criollos como los forasteros tienen un alto nivel aromático y sabor, recibiendo la denominación de “cacaos aromáticos o finos” [10].

Trinitario. Los frutos son alargados y verdes. Esta variedad se originó aparentemente cuando un genotipo criollo se cruzó naturalmente con un forastero de forma amelonado del Brasil. Por tal razón, estos materiales presentan características morfológicas y genéticas de ambas razas. Esta variedad surgió en Trinidad y Tobago. Presenta grano de tamaño mediano a grande y cotiledones de color castaño [10]. Es más resistente a las enfermedades y más productivo que el cacao criollo, pero de menor calidad [12]. El cacao trinitario ocupa del 10-

15% de la producción mundial. Se produce en Granada, Jamaica, Trinidad y Tobago, Colombia, Venezuela y América Central.

Condiciones de cultivo

El cultivo de cacao se concentra en las tierras bajas tropicales. La temperatura para su cultivo se valora como mínima de 22 °C y en su máxima de 28 °C. Se desarrolla mejor en altitudes de 5-400 msnm y con precipitaciones de 1,500-2,500 mm anuales [13].

Humedad: Una humedad relativa alta (aproximadamente del 50 al 70%) es una condición necesaria para el desarrollo del cacao y deseable especialmente cuando la humedad aprovechable en el suelo es insuficiente, ya que permite disminuir las pérdidas por

transpiración. Sin embargo, no existen evidencias experimentales que demuestren que una humedad atmosférica menor pudiera ser perjudicial. En los lugares donde además se presentan periodos prolongados de neblina y nubosidad, los árboles son propensos al ataque de hongos [14]. En la mayoría de las regiones cacaoteras, la cantidad de lluvia excede la evapotranspiración, por lo que el agua se debe eliminar por otros medios. Si los suelos no tienen suficiente drenaje, la planta de cacao puede presentar algunos daños que reducen considerablemente su producción [10]. Por otro lado, este cultivo es extremadamente sensible a la falta de agua, ya que los estomas de las hojas se cierran aún con pequeños cambios en su contenido de agua. El cierre de los estomas induce una rápida disminución del poder fotosintético de las hojas y, por consiguiente, afecta la capacidad productiva de la planta [15]. Si la falta de agua es persistente, la muerte de los tejidos o “quema” sobreviene rápidamente, con la muerte y caída de las hojas [16].

Suelo: Los mejores suelos para el cultivo de cacao comprenden desde suelos arcillosos agregados hasta franco-arenosos con pH entre 6-7 [14]. La distinción entre partículas de arena y arcilla no se basa solamente en el tamaño, ya que, además, las arcillas tienen la facilidad de absorber agua dentro de su estructura cristalina y de expandirse considerablemente cuando están húmedas, condición que no presentan ni la arena ni el limo [17]. Los suelos arenosos ordinarios (partículas mayores de 0.2 mm) aunque permiten un buen crecimiento de la raíz,

no son buenos para el cultivo de cacao. Uno de los factores esenciales para el crecimiento de las raíces del cacao es una buena aeración, es decir, una renovación permanente del oxígeno del suelo [16]. El intercambio gaseoso se efectúa por medio de poros intercomunicados del suelo. Si estos poros están llenos o parcialmente llenos de agua, el intercambio gaseoso es nulo. En un suelo donde el agua no se evacúa rápidamente para dejar libres los poros, las plantas de cacao mueren. Cuando por condiciones excepcionales en una localidad la capa freática es bastante alta y el suelo superficial es rico en materia orgánica, el cacao puede crecer y producir satisfactoriamente si se da un buen crecimiento de raíces. Si hay cambios relativamente insignificantes en el régimen de humedad del suelo y desciende la capa freática, el sistema radicular se queda sin agua y el árbol se marchita y muere [16].

Manejo de sombra: Los árboles de sombra pueden ser un espacio para la conservación y manejo de la biodiversidad, sobre todo en la condición del sitio donde el hábitat natural se ha perturbado [18]. La ventaja del uso de sombra en el cultivo de cacao es que permite un mejor uso de los fertilizantes aplicados al cacao, ya que el fertilizante que se perdería por lixiviación es aprovechado por los árboles de sombra, también estos árboles aportan materia orgánica al suelo mejorando sus propiedades físicas y las hojas que se caen al suelo liberan nutrientes [16]. La sombra protege a las hojas del cacao contra el efecto directo del sol, evita que se produzcan quemaduras, que provocarían

que el viento las rompa y se arranquen con facilidad; también la sombra adecuada disminuye la incidencia de ciertas plagas y enfermedades como la mancha negra ocasionada por *Phytophthora palmivora* y la moniliasis ocasionada por *Moniliophthora roreri* [11]. Por otra parte, los árboles sombra ayudan a mantener un buen ambiente para la permeabilidad y la aireación del suelo, permitiendo un buen drenaje del agua y disminuyendo las inundaciones o encharcamientos en los cultivos y evitan también la erosión del suelo [10]. En México, algunos ejemplos de árboles que proporcionan sombra al cultivo de cacao son árboles frutales como el plátano (*Musa* sp. L.), mamey (*Mammea americana* L.), mango (*Mangifera indica* L.), naranja (*Citrus sinensis* L.), rambután (*Nephelium lappaceum* L.), aguacate (*Persea americana* Mill), mangostán (*Garcinia mangostana* L.), cedro (*Cedrela odorata* L.), otros como roble (*Tabebuia pentaphylla* L.), hule (*Castilla elastica* C.), palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.), colorín (*Erythrina* sp. L.), yaite o matarrón (*Gliricida sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp., guachipilín (*Diphysa americana* Mill.), crotalaria (*Crotalaria vitellina* Ker Gawl. y samán (*Pithecellobium* sp. Mart.) [14,18].

Distribución y producción

Theobroma cacao L. es una especie cauliflora con ciclos de producción superpuestos, la producción de frutos se da todo el año. Sin embargo, en México existen dos picos de producción: marzo-mayo y septiembre-

diciembre. En 2019, la producción mundial total de cacao en grano alcanzó los 10 millones de toneladas [19], siendo África la región con mayor producción (73%) y un 64% de la superficie sembrada de cacao, mientras que América contribuye con el 17% de producción mundial y 17% área sembrada de cacao. Asia y Oceanía disminuyeron un 10% de la producción y el 19% de la superficie sembrada; la caída correspondió en gran medida a Indonesia, debido a las condiciones atmosféricas adversas y un brote de podredumbre negra del cacao [20]. La producción mexicana de cacao se valoró en 1074 millones de pesos entre 2012 y 2018; de ese flujo monetario, Tabasco aportó 68.2%, seguido de Chiapas con un 31.6% y Guerrero con 0.2% [21].

Composición química de *Theobroma cacao*

El cacao contiene un alto contenido natural de sustancias fenólicas, estas desempeñan un papel dominante en el sabor y la calidad del grano, ya que son responsables del sabor amargo y la astringencia, pero también se relacionan con la respuesta ante el estrés debido a sus propiedades antioxidantes [22]. Los compuestos fenólicos se acumulan en el grano de cacao durante la fase de maduración, junto con otras sustancias y proteínas involucradas en el estrés ocasionado por factores bióticos y abióticos [23]. Las metilxantinas son alcaloides (teobromina y cafeína), los cuales tienen efectos estimulantes sobre el sistema nervioso central. Los valores reportados para el contenido de teobromina y cafeína en granos de cacao sin grasa son aproximadamente del 4 y el

0.2% del peso seco, respectivamente [24]. El contenido de estos compuestos puede afectarse por el proceso de la fermentación o depende de la variedad de cacao [25]. Por otro lado, hay tres principales aldehídos presentes en el cacao, los cuales tienen un fuerte aroma a chocolate: 2-metilpropanal, 2-metilbutanal y 3-metilbutanal [26]. También se encuentran otro tipo de compuestos relacionados en el proceso de fermentación de los granos de cacao que pueden ser ésteres (etil acetato, isoamil acetato y fenil etil acetato), cetonas (2-heptanona, 2-pentanona, 2-nonanona, acetofenona y acetoina), pirazinas (tetrametilpirazina y trimetilpirazina), ácidos (ácido acético y láctico) y alcoholes (2,3-butanediol y 2-fenetiletanol) [27,28].

En cuanto a los granos de cacao, estos contienen de un 50 a un 58% de grasas, de las cuales el 97% son triacilglicéridos (TGA). Los TGA constan de 24.1 a 27.1% de ácido palmítico, 32.9 a 37.6% de ácido esteárico y 32.7 a 37.6% de ácido oleico y cantidades bajas de ácido linoleico 2.3 a 3.7% [29]. La composición de estos ácidos grasos depende de diferentes factores como la variedad de la semilla de cacao, la temporada de crecimiento y el método de cultivo [27].

En otro aspecto, las proteínas constituyen el 10-15% del peso seco de los granos de cacao sin fermentar. Las proteínas más importantes son la albúmina, prolamina, globulina y gluteína [27]. Estas macromoléculas son la fracción de cacao que presentan la modificación más intensa en el proceso de fermentación, donde las reacciones

conducen a una degradación extensa de la semilla del cacao, produciendo péptidos y aminoácidos que son los precursores importantes del sabor [30].

Los carbohidratos principales en los granos secos de cacao fermentado son almidón (6%) y celulosa (9%). Los carbohidratos solubles incluyen glucosa, fructosa, sacarosa (0.08-1.5%), rafinosa y estaquiosa [27]. La sacarosa se hidroliza parcialmente durante la fermentación, proporcionando azúcares reductores precursores del desarrollo del aroma durante el tostado. Por otro lado, la fracción de fibra, aparte de contener celulosa, también tiene pentosas (1.5%), galactanos y polímeros de ácido galacturónico. Las fibras se concentran en las cáscaras de cacao [30].

Fermentación del cacao

El sabor final del chocolate está influenciado por diferentes aspectos, entre ellos la fermentación de los granos de cacao. Debido a que este proceso es generalmente llevado a cabo de una manera tradicional, resulta en una gran diversidad en los métodos de producción y en las características organolépticas del producto final. Es por ello que conocer el proceso y los microorganismos involucrados ayudan a obtener un producto de buena calidad [31].

La fermentación del cacao es un proceso que incluye varias etapas. El primer paso es abrir las mazorcas y tomar las semillas y la pulpa. La pulpa de cacao es un medio rico para el crecimiento microbiano, consta de 82 a 87% de

agua, 10 a 15% de azúcar, 2 a 3% de pentosanos, 1 a 3% de ácido cítrico y 1 a 1.5% de pectina [32]. El procesamiento primario de los granos de cacao se lleva a cabo a través de una fermentación espontánea y secado (Figura 2) [31]. El desarrollo del sabor implica la acción de varios microorganismos en la pulpa de cacao y la acción de las enzimas sobre los carbohidratos, proteínas y polifenoles en los granos de cacao [33]. Durante la fermentación del grano de cacao el papel de los microorganismos se limita a la eliminación de la pulpa que envuelve a los granos de cacao mediante la despolimerización de pectina por levaduras y a la producción de metabolitos indispensables, el cual engloba la fermentación

anaeróbica de azúcares en etanol, fermentación microaerofílica de azúcares y ácido cítrico en ácido láctico, ácido acético y manitol por bacterias del ácido lácticas (LAB) [31] y bioconversión exotérmica aeróbica de etanol en ácido acético por bacterias ácido acéticas (AAB) [34]. Estas actividades microbianas resultan en la muerte de la semilla debido a la penetración de etanol y ácido acético a través de la cáscara en los cotiledones, y una disminución del pH interno de 6.5 a 4.8, aumento de la temperatura del grano de cacao para el desarrollo de precursores del sabor y degradación del pigmento por enzimas endógenas, como invertasa, glicosidasas, proteasas y polifenol oxidasa [31].



Figura 2. Procesos de fermentación de los granos de cacao. A) Volteado de semillas de cacao; B) Mezcla homogénea de los granos de cacao; C) Secado de los granos de cacao y D) Secado de los granos de cacao de diferentes días.

Diversidad microbiana asociada a la fermentación del cacao

Levaduras: Se ha demostrado que la diversidad microbiana de las fermentaciones del grano de cacao varía con la ubicación y los parámetros del proceso como la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, el pH y la tensión de oxígeno [35]. Las levaduras proliferan en las primeras etapas de la fermentación y disminuye su desarrollo debido a una prolongada fermentación, al agotamiento de las fuentes de energía apropiadas, a la producción de etanol y su conversión en ácido acético y a un aumento de temperatura de hasta 50 °C, debido a reacciones de oxidación aeróbica (Figura 3) [34]. Las levaduras producen una gran variedad de compuestos aromáticos, principalmente alcoholes, ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos. Se han estudiado individualmente cinco

levaduras principales que producen estos compuestos volátiles (*Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae* var. *chevalieri*, *Candida* sp. y *Kluyveromyces marxianus*). *Kloeckera apiculata* y *S. cerevisiae* var. *chevalieri* fueron las especies principales productoras de compuestos volátiles tales como acetato de isopropilo, acetato de etilo, metanol, 1-propanol, alcohol isoamílico, 2-3 butanodiol, succinato de dietilo y 2-feniletanol [34]. Dentro de las levaduras que se encuentran en la primera etapa de la fermentación alcohólica son: *Hanseniaspora guilliermondii* o *Hanseniaspora opuntiae*, dominan generalmente la parte temprana de la fermentación, después están *S. cerevisiae*, *K. marxianus*, *Pichia membranifaciens*, *Pichia kudriavzevii* y algunas especies de *Candida* son dominantes con mayor frecuencia [34,36,37].

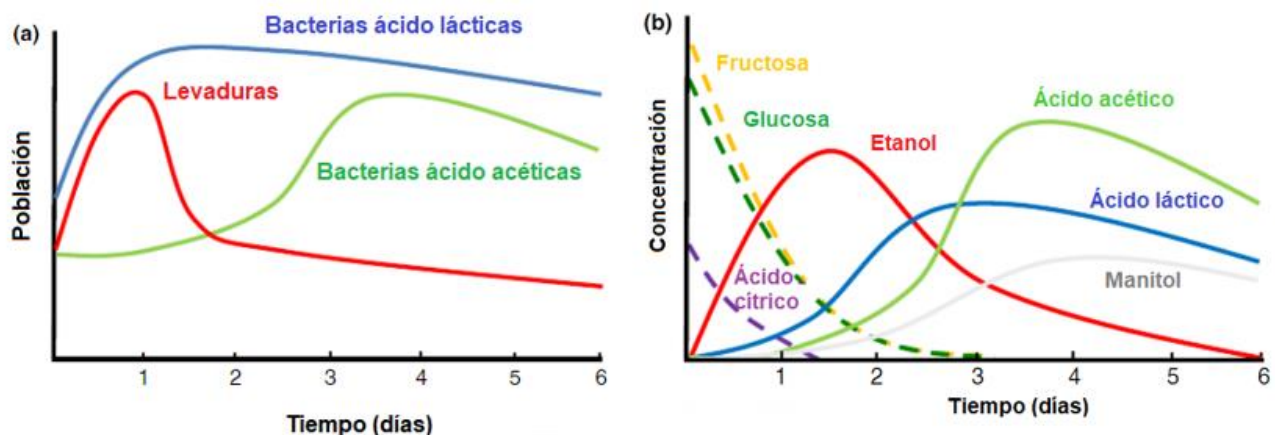


Figura 3. Proceso de fermentación en granos de cacao de las diferentes comunidades microbianas. a) Dinámica de las diferentes poblaciones de microorganismos relacionados al proceso de fermentación de los granos de cacao. b) Degradación del sustrato y cinética de producción de metabolitos de un proceso espontáneo de la fermentación del grano de cacao [34].

Bacterias ácido lácticas (BAL): Las BAL se asocian consistentemente con las fermentaciones de granos de cacao y generalmente crecen a poblaciones de 10^7 a 10^8 UFC/g durante las primeras 36 a 48 h del proceso [38]. Se considera que las BAL llevan a cabo principalmente tres actividades durante la fermentación de la semilla de cacao: 1) fermentan azúcares de la pulpa específicamente glucosa y fructosa, teniendo como productos ácido láctico y cantidades menores de etanol y ácido acético; 2) utilizan ácido cítrico de la pulpa para producir principalmente ácido láctico, ácido acético, acetaldehído, diacetilo, acetoína y 2,3-butanodiol; 3) algunas especies pueden reducir la fructosa de la pulpa a manitol [39]. En distintos estudios de biodiversidad se han encontrado como especies dominantes a *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus fermentum* [31,40], seguidas de *Fructobacillus pseudoficulneus* [38], *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc fallax*, *Lactobacillus mesenteroides* [40], *Weisella cibaria*, *Weisella fabaria*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus saccharolyticus* [37].

Bacterias ácido-acéticas (BAC): Las BAC son responsables de la oxidación de etanol a ácido acético y la posterior oxidación de este último a dióxido de carbono y agua. Las reacciones exotérmicas de las bacterias del ácido acético elevan la temperatura de la masa fermentadora a veces hasta 50 °C o más [41]. La acidez de los granos de cacao, la alta temperatura en la masa de la fermentación y la difusión e hidrólisis de las proteínas en los cotiledones se ha atribuido

al metabolismo de estos microorganismos. Se han encontrado concentraciones de un máximo de 6 g/L de ácido acético en la pulpa de cacao después de 88 h de fermentación [33]. En general, los miembros del género *Acetobacter* se han encontrado con mayor frecuencia que los de *Gluconobacter*. Las especies de *Acetobacter* que destacan son *A. pasteurianus*, *A. ghanaensis*, *A. senegalensis* [31,37] y de *Gluconobacter* es *G.oxydans* [37].

Bacterias aerobias formadoras de esporas:

El aumento de la aireación, del valor de pH (3.5 a 5) de la pulpa de cacao y de la temperatura aproximadamente a 45 °C en la masa de cacao en las últimas etapas de la fermentación se asocian con el desarrollo de bacterias aerobias formadoras de esporas del género *Bacillus* [36,42]. Muchos *Bacillus* spp. son termotolerantes y otros crecen bien a temperaturas elevadas, por ejemplo *B. stearothermophilus*, *B. coagulans* y *B. circulans* [43] se aislaron de granos de cacao que se habían sometido a temperaturas de secado y tostado (150°C) [42]. Las bacterias aerobias formadoras de esporas producen una variedad de compuestos químicos en condiciones fermentativas. Estos pueden contribuir a la acidez y quizás a veces a los sabores desagradables de los granos de cacao fermentados [33]. De hecho, se ha sugerido que los ácidos grasos libres que se encuentran durante la fase aeróbica de la fermentación y que se consideran responsables de los sabores desagradables del chocolate son producidos por *B. subtilis*, *B. cereus* y *B. megaterium* [44]. Otras sustancias como el ácido acético y láctico,

el 2,3-butanodiol y la tetrametilpirazina son perjudiciales para el sabor del chocolate, también son producidas por *Bacillus* spp. [33].

Otras especies bacterianas: Se han aislado especies bacterianas distintas a las de BAL, BAC y *Bacillus* de las fermentaciones de granos de cacao y se han identificado en los géneros de *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Tatumella*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Frateria*, *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, *Brevundimomonas* y *Xanthomonas* [35,45,46]. Generalmente, estas bacterias se detectan en semillas recién colectadas y se considera que provienen de la superficie de las mazorcas, manos de los agricultores, procesos de división de las mazorcas, superficies de los recipientes de fermentación y del suelo [45]. Algunas especies de *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Tatumella* y *Pantoea* son fitopatógenos bien conocidos de varias plantas y frutos [47,48]. Estas bacterias no toleran la acidez de la pulpa y los metabolitos etanólicos, acéticos y lácticos de las levaduras, BAL, BAC y en consecuencia mueren durante las primeras horas de fermentación. Sus poblaciones rara vez superan las 10⁴ UFC/g y representan menos del 10% de la población bacteriana total [45]. Sin embargo, algunas de estas bacterias pueden comenzar a crecer y se vuelven más frecuentes si los tiempos de fermentación se extienden de 6 a 8 días y cuando el pH de la pulpa del cacao está en un valor superior a 5.0 [45]. Algunas de las especies aisladas y descritas incluyen *Micrococcus luteus*, *Micrococcus flavus*, *Xanthomonas citri*, *Arthrobacter insolita*,

Brevibacterium amoniagenes, *Corynebacterium xerosis*, *Zymomonas mobilis* [42,45], *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis* y *Micrococcus kristinae* [36].

Hongos filamentosos: Los hongos filamentosos no se consideran una parte importante de la sucesión microbiana de la fermentación del cacao. Sin embargo, estos hongos se han encontrado con mayor frecuencia en las partes bien aireadas de la masa fermentativa y durante el proceso de secado, lo cual puede causar la hidrólisis de parte de la pulpa e incluso la testa de las semillas; también pueden producir ácidos o impartir sabores desagradables a otras semillas como los frijoles [49]. La prevalencia de los hongos filamentosos se correlacionó con su capacidad para tolerar las temperaturas más altas que se desarrollaron durante la fermentación y su potencial para penetrar en la testa de la semilla de cacao. Se han encontrado con bastante frecuencia en las partes con mayor aireación de la fermentación los géneros *Rhizopus* y *Penicillium* [50], estos géneros están presentes en mayor abundancia durante el comienzo y el final de la fermentación [33]. Sin embargo, la baja presencia de algunos hongos filamentosos durante la fermentación del grano de cacao puede explicarse por diversos factores como son la competencia entre bacterias y levaduras, producción de alcohol y ácidos orgánicos, temperatura restrictiva, es decir, arriba de los 45°C después de 48 h. En las primeras etapas de la fermentación se han aislado *Aspergillus fumigatus*, *Mortierella spinosa* y *Paecilomyces*

varioti [51]) En las últimas etapas más frías, los aislados predominantes fueron *Penicillium citrinum* y *Aspergillus glaucus* [52]. Durante el proceso de secado de los granos de cacao se han obtenido *Penicillium* spp., *A. fumigatus* y *Geotrichum candidum* [53]. En Brasil se aislaron durante las primeras 44 h de fermentación del cacao los siguientes hongos: *A. fumigatus*, *A. niger* [41], *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Mucor racemosus*, *Mucor* sp., *Paecilomyces varioti*, *Penicillium citillium*, *Thielaviopsis ethacetica* y *Trichoderma viridae*, y tres aislados diferentes de *Mycelia sterilia* [45].

CONCLUSIÓN

El cacao es uno de los cultivos tropicales más importantes en el mundo y responsable de un intercambio económico de millones de dólares. La fermentación se considera como el paso más importante en el proceso de transformación del cacao a chocolate en donde los microorganismos juegan un papel fundamental. El conocimiento de los microorganismos y sus actividades, así como las características del cultivo de cacao pueden permitir un mejor manejo del proceso para obtener productos de mayor calidad.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

FINANCIAMIENTO

El presente trabajo fue apoyado por el proyecto SAGARPA-CONACYT 2017-2-291417 y por la Secretaría de Investigación y Posgrado con los Proyectos de Innovación SIP 20200918 y SIP 20212080.

AGRADECIMIENTOS

NDRV e IGC agradecen el apoyo de la beca CONACYT (CVU 1007036 y CVU 882956, respectivamente) y de la beca BEIFI derivada de la Secretaría de Investigación y Posgrado Proyecto SIP 20210392. BCR, MSVM y PES agradecen el apoyo del Sistema Nacional de Investigadores. MSVM y PES agradecen el apoyo de EDI y COFAA.

REFERENCIAS

- [1]. Díaz-Valderrama JR, Leiva-Espinoza T y Aime MC. The history of cacao and its diseases in the Americas. *Phytopathol.* 2020;110(10):1604-1619.
- [2]. Motamayor JC, Lachenaud P, da Sivla e Mota JW, Llor R, Kuhn DN, Brown S, *et al.* Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). 2008;3(10):e3311.
- [3]. Osorio-Guzman J, Berdugo-Cley J, Coronado RA, Zapata YP, Quintero C, Gallego-Sánchez G *et al.* Colombian a source of cacao genetic diversity as revealed by the population structure analysis of germplasm bank of *Theobroma cacao* L. *Front Plant Sci.* 2017;8:1994.

- [4]. Thomas E, van Zonneveld M, Loo J, Hodgkin T, Galluzzi G y van Etten J. Present spatial diversity patterns of *Theobroma cacao* L. in the neotropics reflect genetic differentiation in Pleistocene refugia followed by human-influenced dispersal. PLoS One. 2012;7:e47676.
- [5]. Cuatrecasas J. Cacao and its allies: A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contrib US Natl Herb. 1964;35:379-614.
- [6]. Powis TG, Valdez F, Hester TR, Hurst WJ y Tarka SM. Spouted vessels and cacao use among the preclassic Maya. Lat Am Antiq. 2002;13(1):85-106.
- [7]. Powis TG, Cyphers A, Gaikwad NW, Grivetty L y Genong K. Cacao use and the San Lorenzo Olmec. Proc Natl Acad Sci. 2011;108(21):8595-8600.
- [8]. Zarrillo S, Gaikwad N, Lanaud C, Powis TG, Viot C, Lesur I, *et al.* The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. Nat Ecol Evol. 2018;2:1879-1888.
- [9]. Mendoza-López A. El mundo del cacao (*Theobroma cacao* L.) kakaw (Maya); cacahuatl (Náhuatl). Agro Productividad. 2011;4(2):18-26.
- [10]. Doster N, Roque J, Cano A, La-Torre M y Weigend M. Hoja botánica: Cacao. *Theobroma cacao* L. Lima: Giacomotti Comunicación Gráfica S.A.C. 2012; 1-20.
- [11]. Martínez de la Parte E, Pérez-Vicente L. Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. Rev Protección Veg. 2015; 30(2): 87–96.
- [12]. Wood GAR y Lass RA. Cocoa. 4th ed. Longman. London; 1985.
- [13]. SAGARPA. Agrícola Nacional. Planeación agrícola Nacional 2017-2030. 2017;1: 1–14.
- [14]. Avendaño-Arrazate CH, Villarreal-Fuentes JM, Campos-Rojas E, Gallardo-Méndez RA, Mendoza-López A, Aguirre-Medina JF, *et al.* Diagnóstico del cacao en México. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México 2011.
- [15]. Curtis H, Barnes NS, Schnek A y Massarini A. Biología. 7ma ed. Médica Panamericana: Buenos Aires 2008.
- [16]. Enríquez GA. Curso sobre el cultivo de cacao. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica; 1985.
- [17]. Paul EA. Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry. 4th ed. Elsevier. 2014.
- [18]. Sánchez-Gutiérrez F, Pérez-Flores J, Obrador-Olan JJ, Sol-Sánchez Á y Ruiz-Rosado O. Árboles maderables en el sistema agroforestal de cacao en Cárdenas, Tabasco, México. Rev Mex Cienc Agríc 2017; (14):2711-2723
- [19]. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura). Top 10 Country Production of Cacao, en grano. 2018. Available at: http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries_by_commodity. (Accessed on: February 10, 2021).

- [20]. ICCO (Organización Internacional del Cacao). Informe anual 2014/2015. 2015. Available at: https://ditjenppi.kemendag.go.id/assets/files/publikasi/doc_20180626_annual-report-2014-2015.pdf (Accessed on: January 20, 2021).
- [21]. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Panorama agroalimentario 2019. Secr Agric y Desarro Soc. 2019; Available at: <https://www.gob.mx/fira/documentos/panorama-agroalimentario>. (Accessed on: January 15, 2021).
- [22]. Wollgast J y Anklam E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res Int.* 2000;33(6):423–47.
- [23]. Tuteja N y Sopory SK. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant Signal Behav.* 2008;3(8):525–36.
- [24]. Jalil AMM e Ismail A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: Is there a link between antioxidant properties and health? *Molecules.* 2008;13(9):2190–219.
- [25]. Arunkumar K y Jegadeeswari V. Evaluating the processed beans of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) accessions for quality parameters. *J Phytol.* 2019;11:1–4.
- [26]. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M y Ryan A. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2008;48(9):840–57.
- [27]. Barišić V, Kopjar M, Jozinović A, Flanjak I, Ačkar Đ, Miličević B, *et al.* The chemistry behind chocolate production. *Molecules.* 2019;24(17): 3163.
- [28]. Rodríguez-Campos J, Escalona-Buendía HB, Contreras-Ramos SM, Orozco-Avila I, Jaramillo-Flores E y Lugo-Cervantes E. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chem* 2012;132(1):277–88.
- [29]. Sirbu D, Grimbs A, Corno M, Ullrich MS y Kuhnert N. Variation of triacylglycerol profiles in unfermented and dried fermented cocoa beans of different origins. *Food Res Int.* 2018;111:361–370.
- [30]. Caligiani A, Marseglia A y Palla G. Cocoa: Production, Chemistry, and Use. 1st ed. *Encyclopedia of Food and Health.* Elsevier; 2015.
- [31]. Camu N, De Winter T, Verbrugge K, Cleenwerck I, Vandamme P, Takrama JS, *et al.* Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(6):1809–24.
- [32]. Moreira IM da V, Vilela L de F, Santos C, Lima N y Schwan RF. Volatile compounds and protein profiles analyses of fermented cocoa beans and chocolates from different hybrids cultivated in Brazil. *Food Res Int.* 2018;109:196–203.
- [33]. Schwan RF y Wheals AE. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004;44(4):205–21.
- [34]. De Vuyst L y Weckx S. The cocoa bean

fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *J Appl Microbiol.* 2016;121(1):5–17.

[35]. Daniel HM, Vrancken G, Takrama JF, Camu N, De Vos P y De Vuyst L. Yeast diversity of Ghanaian cocoa bean heap fermentations. *FEMS Yeast Res.* 2009;9(5):774–83.

[36]. Ardhana MM y Fleet GH. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *Int J Food Microbiol.* 2003;86(1–2):87–99.

[37]. Papalexandratou Z, Falony G, Romanens E, Jimenez JC, Amores F, Daniel HM, *et al.* Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of the microbiota associated with traditional ecuadorian spontaneous cocoa bean fermentations. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(21):7698–714.

[38]. Lefeber T, Gobert W, Vrancken G, Camu N y De Vuyst L. Dynamics and species diversity of communities of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria during spontaneous cocoa bean fermentation in vessels. *Food Microbiol* 2011;28(3):457–64.

[39]. Ho VTT, Zhao J y Fleet G. The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. *Int J Food Microbiol.* 2015;205:54–67.

[40]. Kostinek M, Ban-Koffi L, Ottah-Atikpo M, Teniola D, Schillinger U, Holzapfel WH, *et al.* Diversity of predominant lactic acid bacteria associated with cocoa fermentation in Nigeria. *Curr Microbiol.* 2008;56(4):306–14.

[41]. Schwan RF. Cocoa fermentations

conducted with a defined microbial cocktail inoculum. *Appl Environ Microbiol.* 1998;64(4):1477–83.

[42]. Ostovar K y Keeney PG. Isolation and Characterization in the Fermentation O F Trinidad. *J Food Sci.* 1973;38(7973):611–6117.

[43]. Ouattara HG, Reverchon S, Niamke SL, Nasser W. Molecular identification and pectate lyase production by *Bacillus* strains involved in cocoa fermentation. *Food Microbiol.* 2011;28(1):1–8.

[44]. Zak DL, Ostovar K y Keeney PG. Implication of *Bacillus subtilis* in the synthesis of tetramethylpyrazine during fermentation of cocoa beans. *J. Food Sci* 1972;37:967-968.

[45]. Schwan RF, Pereira GDM y Fleet GH. Microbial activities during cocoa fermentation. *Cocoa and coffee fermentations* 2014;13:129–192.

[46]. Papalexandratou Z, Lefeber T, Bahrim B, Lee OS, Daniel HM y De Vuyst L. *Hanseniaspora opuntiae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, and *Acetobacter pasteurianus* predominate during well-performed Malaysian cocoa bean box fermentations, underlining the importance of these microbial species for a successful cocoa. *Food Microbiol.* 2013;35(2):73–85.

[47]. de Melo Pereira GV, Magalhães KT, de Almeida EG, da Silva Coelho I y Schwan RF. Spontaneous cocoa bean fermentation carried out in a novel-design stainless steel tank: Influence on the dynamics of microbial populations and physical-chemical properties. *Int J Food Microbiol.* 2013;161(2):121–33.

[48]. Garcia-Armisen T, Papalexandratou Z, Hendryckx H, Camu N, Vrancken G, De Vuyst L, *et al.* Diversity of the total bacterial community associated with Ghanaian and Brazilian cocoa bean fermentation samples as revealed by a 16S rRNA gene clone library. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010;87(6):2281–92.

[49]. Copetti M V., Iamanaka BT, Mororó RC, Pereira JL, Frisvad JC y Taniwaki MH. The effect of cocoa fermentation and weak organic acids on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus species*. *Int J Food Microbiol* 2012;155(3):158–64.

[50]. Ribeiro NDA, Bezerra JL y López A. Micobiota na fermentação do cacau no estado

da Bahia, Brasil. *Rev Theobroma.* 1986;16(1):47–55.

[51]. Mounjouenpou P, Gueule D, Fontana-Tachon A, Guyot B, Tondje PR y Guiraud JP. Filamentous fungi producing ochratoxin a during cocoa processing in Cameroon. *Int J Food Microbiol.* 2008;121(2):234–41.

[52]. Copetti M V., Iamanaka BT, Pitt JI y Taniwaki MH. Fungi and mycotoxins in cocoa: From farm to chocolate. *Int J Food Microbiol* 2014;178:13–20.

[53]. Copetti M V., Iamanaka BT, Frisvad JC, Pereira JL y Taniwaki MH. Mycobiota of cocoa: From farm to chocolate. *Food Microbiol* 2011;28(8):1499–504.