

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 551 862**

51 Int. Cl.:

|                   |                             |           |
|-------------------|-----------------------------|-----------|
| <b>C12N 1/16</b>  | (2006.01) <b>C12R 1/02</b>  | (2006.01) |
| <b>C12N 1/18</b>  | (2006.01) <b>C12R 1/865</b> | (2006.01) |
| <b>C12N 1/20</b>  | (2006.01)                   |           |
| <b>C12P 1/02</b>  | (2006.01)                   |           |
| <b>C12P 1/04</b>  | (2006.01)                   |           |
| <b>C12P 39/00</b> | (2006.01)                   |           |
| <b>A23G 1/02</b>  | (2006.01)                   |           |
| <b>A23G 1/30</b>  | (2006.01)                   |           |
| <b>C12R 1/225</b> | (2006.01)                   |           |
| <b>C12R 1/25</b>  | (2006.01)                   |           |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2010** **E 10747013 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2015** **EP 2459699**

54 Título: **Composición microbiana para la fermentación de material de cacao**

30 Prioridad:

**29.07.2009 EP 09166780**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**24.11.2015**

73 Titular/es:

**BARRY CALLEBAUT AG (100.0%)**  
**Pfingstweidstrasse 60**  
**8005 Zurich, CH**

72 Inventor/es:

**CAMU, NICHOLAS;**  
**BERNAERT, HERWIG y**  
**LOHMUELLER, TOBIAS**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 551 862 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composición microbiana para la fermentación de material de cacao

### Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la fermentación del material de cacao, tal como granos de cacao y/o pulpa de cacao. La presente invención se refiere al uso de una composición microbiana para regular la fermentación de tales materiales, en particular usando compuestos que comprenden combinaciones específicas de microorganismos incluyendo al menos tres especies de *Lactobacillus*. La presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para regular la fermentación del material de cacao, tal como granos y/o pulpa y al material de cacao fermentado obtenido de esta manera. La presente invención también se refiere al uso del material de cacao fermentado obtenido para la preparación de productos de cacao y productos derivados del mismo, incluyendo chocolate.

### Antecedentes de la invención

Los granos de cacao son la materia prima principal para la producción de chocolate. Estas semillas derivan de las vainas frutales del árbol *Theobroma cacao*, que se cultiva en plantaciones en la zona ecuatorial, por ejemplo, en Costa de Marfil, Ghana e Indonesia. Las semillas de coco están incrustadas en una pulpa mucilaginosa dentro de las vainas. Los granos de cacao sin procesar tienen un gusto y un sabor astringente y desagradable y tienen que fermentarse, secarse y tostarse para obtener el gusto y el sabor característicos deseados del cacao. El sabor del chocolate está influenciado por el origen de los granos de cacao, el cultivar del cacao, la fermentación en la granja y el procedimiento de secado y el tueste y el procesamiento adicional realizado por el fabricante de chocolate.

Después de la retirada de los granos de las vainas, la primera etapa en el procesamiento del cacao por ejemplo para la variedad de cacao Forastero es una fermentación espontánea de 6 a 10 días de los granos y la pulpa en pilas, cajas, cestas o bandejas. Durante tales procedimientos, los granos se liberan de la pulpa que se adhiere. Al final de este periodo la pulpa descompuesta se lava generalmente con agua y los granos se secan para producir los granos de cacao del comercio.

Durante la fermentación tiene lugar una sucesión microbiana de levaduras, bacterias del ácido láctico (BAL) y bacterias del ácido acético (BAA). Las levaduras despectinizan la pulpa y producen etanol a partir de azúcares y ácido cítrico en condiciones anaeróbicas en un medio ácido rico en carbohidratos. Cuanta más pulpa se drena, más etanol se produce y tato la temperatura como el pH aumentan, creando las condiciones ideales para el crecimiento de las BAL y las BAA. Las BAL convierten los azúcares y los ácidos orgánicos en ácido láctico. Cuanto más aire entra, las BAA empiezan a desarrollarse y oxidan el etanol inicialmente producido por las levaduras hasta ácido acético. El etanol y el ácido acético difunden hacia los granos y estos, en combinación con el calor producido por esta bioconversión exotérmica, provocan la muerte del embrión de la semilla. Esto a su vez inicia cambios bioquímicos en los granos dando lugar a la formación de moléculas precursoras para el desarrollo de un aroma, un sabor y un color característicos de los granos. Estas propiedades se desarrollan adicionalmente durante el secado, el tueste y el procesamiento final de los granos de cacao bien fermentados. La actividad de las levaduras, las BAL y las BAA es de esta manera esencial para la producción de cacao de alta calidad.

Sin embargo, el proceso de fermentación de cacao espontáneo no es muy homogéneo y padece grandes variaciones tanto en los recuentos microbianos como en la composición de especies y por lo tanto de metabolitos. Las variaciones parecen depender de varios factores incluyendo el país, la granja, la madurez de la vaina, la edad y el almacenamiento de la vaina después de recolectar, las enfermedades de la vaina, el tipo de cacao, las variaciones en la relación pulpa/grano, el proceso de fermentación, el tamaño del lote, la estación y las condiciones meteorológicas, la frecuencia del volteo o el no volteo, el tiempo de fermentación, etc. lo que hace la reproducibilidad de la fermentación particularmente difícil. Debido a la naturaleza descontrolada del proceso de fermentación usual, particularmente con respecto a la falta de control sobre el crecimiento y el desarrollo de microorganismos y la producción metabólica durante el procedimiento, la calidad de los granos de cacao acabados es variable.

Se han hecho intentos en la técnica anterior de controlar los parámetros de la fermentación.

Por ejemplo, el documento WO 2007/031186 desvela un procedimiento para regular la fermentación de material vegetal que consiste en granos de cacao y/o pulpa de cacao añadiendo a dicho material vegetal cultivos de bacterias específicos que contienen al menos una bacteria del ácido láctico y/o al menos una bacteria del ácido acético a diferentes puntos de tiempo durante el proceso de fermentación.

El documento GB 2 059 243 describe un procedimiento para la fermentación de granos de cacao con el uso consecutivo de una levadura pectinolítica y una bacteria del ácido acético en un medio acuoso, con agitación y aireación. El documento GB 2 241 146 se ocupa del despulpado mecánico de los granos de cacao antes de la fermentación.

Schwan (1998, Appl Environ Microbiol 64: 1477-83) y Schwan & Wheals (2004, Critical Reviews in Food Science 44: 205-221) desvelan el uso de cultivos de partida en la fermentación del grano de cacao y específicamente se refieren

a un inóculo que consiste en las cepas *Saccharomyces cerevisiae* var. *Chevalieri*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *Acetobacter aceti* y *Gluconobacter oxydans* subsp. *suboxydans*, mientras que Samah y col. (1993, Asean Food Journal, Asean Food Handling Bureau, Kuala Lumpur, MY, vol. 8, n° 1, pág.22-25) desvela el uso de *Acetobacter xylinum* como inóculo durante la fermentación de granos de cacao.

- 5 Bhumibhamon y col. (1997a, Kasertsart J. Nat. Science 31:327-341) y Bhumibhamon y col. (1997b, Kasetsart J. Nat. Science 31:419-428) se refieren ambos al uso de cultivos de partida específicos para mejorar la fermentación del cacao. Un cultivo preferido mencionado en Bhumibhamon y col. (1997a) comprende por ejemplo *Saccharomyces chevalieri*; *Saccharomyces cerevisiae* y *Acetobacter aceti*.

- 10 Sin embargo, los parámetros de fermentación se mantienen difíciles de controlar en los procedimientos de la técnica anterior y la industria debe abordar una amplia variabilidad en la composición de un lote de granos de cacao procesados. Los problemas de gusto pueden ocurrir tales como la presencia de (demasiados) ácidos, una falta de gusto a cacao y demasiado mal sabor. Por lo tanto, se mantiene una necesidad en la técnica de controlar adicionalmente los procesos de fermentación de los granos de cacao para obtener granos de cacao que tengan características más coherentes o mejoradas, tales como granos de cacao con sabor alto de calidad buena y reproducible.
- 15 También se mantiene una necesidad en la técnica de un procedimiento reproducible para fermentar materiales de cacao.

### **Sumario de la invención**

La presente invención se dirige a proporcionar composiciones microbianas mejoradas para controlar la fermentación de materiales de cacao.

- 20 En un primer aspecto, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana para regular la fermentación de un material que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, en la que dicha composición comprende al menos tres especies de *Lactobacillus* y al menos una especie de *Acetobacter*. Más en particular, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana que comprende:

- 25 - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter pasteurianus*,  
 - al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y  
 - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

- 30 En una realización preferida, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana como se define en el presente documento en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.

En otra realización, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana como se define en el presente documento, en la que dicha composición es un cultivo de partida o un cultivo de alta densidad, que comprende al menos 10<sup>2</sup> UFC (unidades formadoras de colonias) de cepas bacterianas por g de material vegetal.

- 35 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para regular la fermentación de material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, comprendiendo dicho procedimiento añadir al material vegetal una composición microbiana como se define en el presente documento.

- 40 Todavía en otro aspecto, la presente invención se refiere a un material vegetal fermentado que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao* y preferentemente granos de cacao fermentados, obtenidos o que se pueden obtener llevando a cabo el procedimiento de acuerdo con la presente invención.

- 45 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de granos de cacao fermentados de acuerdo con la presente invención para la preparación de productos de cacao seleccionados del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, polvo de cacao, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, escamas de cacao, mantequilla de cacao y pastel de cacao. La presente invención también se refiere a un producto de cacao seleccionado del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, polvo de cacao, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, mantequilla de cacao y pastel de cacao, preparados con uno o más granos de cacao fermentados de acuerdo con la presente invención.

- 50 Inesperadamente, los granos que se fermentaron usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención mostraron un efecto de rotura de luz. Esto significa que los granos fermentados obtenidos llevando a cabo el presente proceso de fermentación, tienen un color más claro que los granos de cacao fermentados convencionalmente (que son más marrones).

- 55 En una realización preferida, la presente invención por lo tanto proporciona granos de cacao fermentados y particularmente granos de cacao fermentados en la forma de un polvo o licor de cacao, que tienen un valor L\* mayor

que 14, por ejemplo, mayor que 15, preferentemente mayor que 16, por ejemplo, mayor que 17, más preferentemente mayor que 18 y por ejemplo y muy preferentemente mayor que 19 o mayor que 20, tal como por ejemplo que tenga un valor  $L^*$  entre 14 y 20, preferentemente entre 16 y 20, más preferentemente entre 17 y 20 o entre 18 y 20 tal como entre 18 y 19.

- 5 En otra realización preferida, la presente invención proporciona adicionalmente un producto de cacao como se define anteriormente y particularmente un producto de cacao en la forma de un polvo o licor de cacao, que tienen un valor  $L^*$  mayor que 14, por ejemplo, mayor que 15, preferentemente mayor que 16, por ejemplo, mayor que 17, más preferentemente mayor que 18 y por ejemplo y muy preferentemente mayor que 19 o mayor que 20, tal como por ejemplo que tenga un valor  $L^*$  entre 14 y 20, preferentemente entre 16 y 20, más preferentemente entre 17 y 20 o entre 18 y 20 tal como entre 18 y 19.

10 Como se explica en cualquier lugar en la presente memoria descriptiva, las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos descritos en el presente documento permiten obtener granos de un origen distinto de Java que cuando se fermentan tienen un color comparable a o que se aproxima al color de los granos de origen de Java, que se conocen porque tienen un color claro (por ejemplo, tienen un valor  $L^*$  mayor que 20). En consecuencia, en realizaciones los granos de cacao fermentados o los productos de cacao, particularmente en la forma de un polvo o un licor de cacao, que tienen valores  $L^*$  como se especifica anteriormente son de origen distinto de Java.

15 Más particularmente, se sabe que los granos de origen de Java se obtienen comúnmente de los clones DR2, DRC16, ICRR101 O ICRR102 de *Theobroma cacao* subsp. *cacao*. Por lo tanto, en las realizaciones los granos de cacao fermentados o los productos de cacao, particularmente en la forma de un polvo o licor de cacao, que tienen valores  $L^*$  como se especifica anteriormente no son de (es decir, son distintos de) los clones DR2, DRC16, ICRR101 O ICRR102 de *Theobroma cacao* subsp. *cacao* y opcionalmente los híbridos de los mismos.

20 En consecuencia, las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos como se desvela en el presente documento pueden ser particularmente adecuados y emplearse para producir granos de cacao fermentados o productos de cacao, particularmente en la forma de un polvo o licor de cacao, que tienen un valor  $L^*$  como se especifica anteriormente o que muestran un efecto de rotura de la luz. Por ejemplo, las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos como se desvela en el presente documento pueden emplearse para aumentar el valor  $L^*$  de los granos de cacao fermentados o los productos de cacao, particularmente en la forma de un polvo o licor de cacao.

25 Más generalmente, las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos como se desvela en el presente documento permiten controlar, modular o dirigir el valor  $L^*$  de los granos de cacao fermentados o los productos de cacao, particularmente en la forma de un polvo o licor de cacao. En particular, permitiendo producir granos más claros o de rotura de luz como un material de partida, las etapas de procesamiento corriente abajo (por ejemplo, el grado de tueste, la cantidad de agua en el tostador, etc.) pueden adaptarse para lograr un amplio intervalo de valores  $L^*$  (por ejemplo, valores  $L^*$  entre 4 y 21) de productos de cacao, tales como polvo de cacao, licor de cacao o incluso chocolate. Las presentes composiciones microbianas, los procedimientos y los usos permiten esta flexibilidad en el control del valor  $L^*$  de los granos de cacao y de los productos de cacao tales como polvo de cacao, licor o chocolate, sin tener que recurrir al uso de mezclas de grano incluyendo granos de origen de Java altamente caros.

30 Los granos de origen distinto de Java que cuando se fermentan tienen un color comparable a o que se aproxima al color de los granos de origen de Java como los obtenibles usando las composiciones de partida microbianas descritas en el presente documento y los productos de cacao derivados de los mismos tales como polvo de cacao o licor, también permiten producir chocolate o productos de chocolate que pueden tener la composición típica del chocolate "negro" pero sin embargo que tienen un color comparablemente más claro que es más deseable para muchos consumidores.

35 En consecuencia, las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos como se desvelan en el presente documento y los granos de cacao fermentados de esta manera pueden ser particularmente adecuados y empleados para aumentar el valor  $L^*$  del chocolate que comprende sólidos secos hechos de dichos granos de cacao.

40 Más generalmente, como se explica anteriormente las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos como se desvelan en el presente documento permiten controlar, modular o dirigir el valor  $L^*$  de los granos de cacao fermentados o los productos de cacao, particularmente en la forma de un polvo de cacao o licor de cacao y de esta manera permitiendo también controlar, modular o dirigir el valor  $L^*$  del chocolate que comprende sólidos secos hechos de dichos granos de cacao o productos.

45 También se proporciona chocolate de esta manera de color claro que comprende sólidos de cacao secos. Particularmente, dichos sólidos de cacao secos son de origen distinto de Java (es decir, derivan o se preparan a partir de granos de cacao de origen distinto de Java). Más particularmente, dichos sólidos de cacao secos no son de (es decir, son distintos de) los clones DR2, DRC16, ICRR101 O ICRR102 de *Theobroma cacao* subsp. *cacao* y opcionalmente los híbridos de los mismos. Preferentemente, dicho chocolate no comprende sólidos de leche secos, es decir, el chocolate es chocolate negro. También preferentemente, el chocolate comprende un 35 % p/p o más de

sólidos de cacao secos (es decir, incluyendo mantequilla de cacao y sólidos de cacao no grasos secos), por ejemplo, un 40 % p/p o más, por ejemplo, un 50 % p/p o más, más preferentemente un 60 % p/p o más, por ejemplo, un 70 % p/p o más, incluso más preferentemente un 80 % p/p o más, por ejemplo, un 85 % o un 90 % o un 95 % p/p o más de sólidos de cacao secos mientras que el chocolate puede tener un valor  $L^*$  entre 4 y 21, preferentemente y sin limitación el chocolate puede tener un valor  $L^*$  mayor que 14, por ejemplo, mayor que 15, preferentemente mayor que 16, por ejemplo, mayor que 17, más preferentemente mayor que 18 y por ejemplo y muy preferentemente mayor que 19 o mayor que 20, tal como por ejemplo que tenga un valor  $L^*$  entre 14 y 20, preferentemente entre 16 y 20, más preferentemente entre 17 y 20 o entre 18 y 20 tal como entre 18 y 19.

También se desvelan los productos de chocolate corriente abajo que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en dicho chocolate.

Adicionalmente, como se muestra en la sección de ejemplos y fundamentado por las Tablas 4 y 4a las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos enseñados en el presente documento permiten producir granos de cacao fermentados que tienen características particularmente ventajosas demostrables por un ensayo de corte, más específicamente que tienen ciertas fracciones comparablemente bajas de granos pizarrosos y/o defectuosos y ciertas fracciones comparablemente altas de granos morados como se determina por un ensayo de corte.

Por lo tanto, también se desvela en el presente documento granos de cacao fermentados caracterizados por que contienen:

(a) menos del 3 % de granos defectuosos, preferentemente menos del 2 % de granos defectuosos, más preferentemente un 1 % o menos de granos defectuosos, tal como entre un 0 y un 1 % de granos defectuosos; y/o

(b) menos del 3 % de granos pizarrosos, preferentemente menos del 2 % de granos pizarrosos, más preferentemente un 1 % o menos de granos pizarrosos, tal como entre un 0 y un 1 % de granos pizarrosos; y/o

(c) más del 11 % de granos morados, por ejemplo, más del 12, el 13 o el 14 % de granos morados, preferentemente el 15 % o más de granos morados, tal como el 20 % o más de granos morados, más preferentemente el 30 % de granos morados tal como el 40 % o más de granos morados y opcionalmente hasta el 45 % o hasta el 50 % o hasta el 60 % de granos morados. Los granos morados están completamente fermentados. Particularmente, los granos pueden ser de origen distinto de Java o clones distintos de Java, como se explica en cualquier lugar en la presente memoria descriptiva.

Uno deberá apreciar que cuando los granos de cacao se definen en el presente documento por la fracción de los mismos que tiene una característica dada, la recitación de los granos de cacao puede referirse particularmente a una pluralidad de granos de cacao, tal como una población, colección o conjunto de granos de cacao, tal como por ejemplo y sin limitación a una muestra o un conjunto de ensayo de entre 50 y 500 granos, o entre 100 y 300 granos.

Se desvelan particularmente granos de cacao fermentados caracterizados por al menos la característica (a) anterior o al menos la característica (c) anterior, o caracterizados por la combinación de las características (a) y (b) anteriores o preferentemente (a) y (c) o (b) y (c) o preferentemente (a) y (b) y (c).

Dichos granos de cacao fermentados pueden caracterizarse adicionalmente por que contienen:

(d) menos del 3 % de granos enmohecidos, preferentemente menos del 2 % de granos enmohecidos, más preferentemente el 1 % o menos de granos enmohecidos, tal como entre el 0 y el 1 % de granos enmohecidos; y/o

(e) menos del 3 % de granos rotos, preferentemente menos del 2 % de granos rotos, más preferentemente el 1 % o menos de granos rotos, tal como entre el 0 y el 1 % de granos rotos; y/o

(f) menos del 3 % de granos germinados, preferentemente menos del 2 % de granos germinados, más preferentemente el 1 % o menos de granos germinados, tal como entre el 0 y el 1 % de granos germinados.

Como también se explica en la sección de ejemplos, los presentes inventores se dieron cuenta de que los granos fermentados como se enseña en el presente documento permiten numerosas mejoras en el procesamiento corriente abajo de los granos. En consecuencia, las composiciones microbianas, los procedimientos y los usos como se desvela en el presente documento pueden ajustarse particularmente y emplearse para producir granos de cacao fermentados o productos de cacao que mejoren la eficacia del procesamiento de los granos o productos, tal como en particular aumentar la velocidad de micronización, aventado, mezcla, tueste, enfriamiento, molienda y/o prensado del licor.

En resumen, los presentes solicitantes han mostrado que usando los cultivos de partida particulares como se define en el presente documento en la fermentación del material de cacao tiene un efecto significativo en la velocidad de fermentación y en la calidad, la apariencia, las propiedades nutricionales y organolépticas y/o en la eficacia de

procesamiento corriente debajo de los granos fermentados y el chocolate producido a partir de los mismos. Por ejemplo, se mostró por los presentes solicitantes que usando los cultivos de partida específicos desvelados en el presente documento los niveles de polifenoles en general y la epicatequina en particular en los granos fermentados se conservaban y de esta manera se prevenía o se reducía su degradación en los productos de cacao y los productos de chocolate derivados de los mismos. Los presentes solicitantes proporcionan de esta manera una vía para regular un proceso de fermentación natural impredecible en un procedimiento bien controlado, iniciado por la adición de un cultivo de partida microbiano como se define en el presente documento, dando lugar a una fermentación más rápida y mejorada. El uso de las presentes composiciones microbianas no solamente permite acelerar el proceso de fermentación sino que también influencia la calidad, el gusto y/o la apariencia de los granos fermentados obtenidos y el producto de cacao o los productos de chocolate derivados de los mismos. Además, los procesos de fermentación más rápidos proporcionan efectos beneficiosos importantes, ya que permiten llevar a cabo la fermentación del cacao controlada en una escala mucho mayor para obtener capacidades de producción mayores, que son necesarias para cumplir con las demandas de cacao en aumento.

Otro efecto beneficioso particular de fermentar los granos usando una composición microbiana como se define en el presente documento es que permite producir granos fermentados de una calidad uniforme relativa y reproducible.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para el procesamiento corriente debajo de los granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento.

En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para producir un material derivado de cacao rojo o morado a partir de granos fermentados, que comprende las etapas de:

- a) proporcionar granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento
- b) preparar un material derivado de cacao a partir de los granos fermentados de la etapa a) y
- c) tratar el material derivado de cacao de la etapa b) con un ácido o con una solución ácida acuosa

en las que dicho material derivado de cacao se selecciona del grupo que comprende o consiste en virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate. Preferentemente, dicho material derivado de cacao son virutas de cacao o licor de cacao.

La presente invención también se refiere a material derivado de cacao rojo o morado obtenido a partir de granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento en la que dicho material derivado de cacao se selecciona del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate y preferentemente son virutas de cacao o licor de cacao. Preferentemente dicho material derivado de cacao rojo o morado se obtiene o es obtenible llevando a cabo un procedimiento como se describe en el presente documento.

La presente invención se refiere adicionalmente al uso de granos de cacao fermentados de acuerdo con la presente invención para la preparación de productos alimenticios, preferentemente productos de chocolate. En otra realización la presente invención se dirige a un producto alimenticio, preferentemente un producto de chocolate, preparado con uno o más granos de cacao fermentados de acuerdo con la presente invención y/o con uno o más productos de cacao de acuerdo con la presente invención. Deberá quedar claro que durante el procesamiento corriente debajo de los granos de cacao fermentados para productos alimenticios tales como productos de chocolate, los granos fermentados pueden someterse a etapas de tratamiento corriente abajo, tales como aquellas definidas en la presente solicitud.

Con la visión de mostrar mejor las características de la presente invención, algunas realizaciones y ejemplos preferidos se describen a continuación en el presente documento con referencia a los dibujos adjuntos.

### **Descripción de las figuras**

La **Figura 1** muestra los resultados de un experimento de panel de gusto llevado a cabo en muestras de granos de cacao que se han sometido a un proceso de fermentación natural usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención.

La **Figura 2** muestra los resultados de un experimento de panel de gusto llevado a cabo en i) chocolate preparado a partir de granos de cacao fermentados naturalmente; ii) chocolate preparado a partir de granos de cacao que se han fermentado usando un cultivo de partida de la técnica anterior; y iii) chocolate preparado a partir de granos de cacao que se han fermentado usando un cultivo de partida de acuerdo con la presente invención.

La **Figura 3** muestra los resultados de un experimento de panel de gusto llevado a cabo en muestras de granos de cacao que se han fermentado usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención en comparación con intervalos de gusto aceptables mínimos y máximos para el cacao.

La **Figura 4** muestra los resultados de un experimento de panel de gusto llevado a cabo en muestras de granos de cacao que se han fermentado usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención y obtenidos en tres pruebas diferentes.

La **Figura 5** muestra los resultados de unos niveles de polifenol y de epicatequina en granos de cacao que se han sometido a un proceso de fermentación natural en comparación con granos de cacao que se han fermentado usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención. En la Figura 5 los polifenoles se expresan en % y la epicatequina se expresa en mg/g.

La **Figura 6** muestra los resultados de los perfiles de temperatura durante la fermentación de los granos de cacao que se fermentan usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención en cuatro pruebas diferentes.

### **Descripción de la invención**

La presente invención se dirige a cultivos de partida microbianos y a usos y procedimientos para regular la fermentación de material vegetal de cacao, incluyendo granos de cacao y/o pulpa de cacao.

Los presentes cultivos de partida y procedimientos permiten controlar o manipular el desarrollo de las características deseables de los granos de cacao fermentados y los productos de cacao preparados de los mismos. A modo de ejemplos y sin limitación, el presente procedimiento de cultivos de partida puede permitir controlar el índice de fermentación de granos de cacao (ensayo de corte, coloración), apariencia y propiedades sensoriales de los granos fermentados, por ejemplo, propiedades sensoriales, ácidos orgánicos, alcoholes de azúcares, polifenol, teobromina o contenido de cafeína de los granos tostados, características organolépticas (gusto, sabor, aroma, textura, color, reología, comportamiento de cristalización, etc.), características nutricionales, propiedades tecnológicas, bienes de calidad (aroma, gusto, sabor, composición de ácidos grasos, contenido de polifenol, contenido de teobromina, contenido de cafeína, etc.) de los productos de cacao, tales como, particularmente chocolate.

Más en particular, la presente invención se dirige al uso de cultivos de partida para regular la fermentación del cacao, en la que dichos cultivos de partida comprenden una combinación de cepas específicas de microorganismos.

La frase "composición microbiana" pretende referirse a una composición de microorganismos como se define en el presente documento, que se añade al material orgánico, en particular material vegetal de cacao, preferentemente al inicio del proceso de fermentación del mismo.

Como se usa en el presente documento, el término "cepa" se refiere en general a una población cerrada de organismos de la misma especie. En consecuencia, la frase "cepa de bacterias del ácido láctico y/o de bacterias del ácido acético" se refiere generalmente a una especie de bacterias del ácido láctico y/o de bacterias del ácido acético. Más particularmente, el término "cepa" se refiere a miembros de una especie microbiana, en la que tales miembros tienen diferentes genotipos y/o fenotipos. En el presente documento, el término "genotipo" abarca tanto el contenido de ADN genómico como recombinante de un microorganismo. En el presente documento, el término "fenotipo" se refiere a las características físicas observables dependientes de la constitución genérica de un microorganismo. Como reconocerá un experto en la materia, las cepas microbianas se componen de esta manera de células microbianas individuales que tienen un genotipo y/o fenotipo común. Además, las células microbianas individuales pueden tener características específicas (por ejemplo, un patrón específico rep-PCR) que pueden identificarlas como perteneciendo a su cepa particular.

Una cepa microbiana puede comprender uno o más aislamientos de un microorganismo. Como se usa en el presente documento, el término "aislamiento" se refiere a microorganismos cultivados crecidos a partir de una única colonia tomada de una placa de aislamiento primaria. Se presupone que un aislamiento deriva de un único microorganismo.

Como se usa en el presente documento, los términos "microorganismo" o "microbiano" cubren cualquier organismo generalmente unicelular, que puede propagarse y manipularse en un laboratorio. En la presente invención, los términos se refieren preferentemente a bacterias y/o levaduras y/u hongos. En la presente invención, el término microorganismo denota típicamente un microorganismo vivo, es decir, capaz de propagarse y/o que tiene actividad metabólica.

La frase "material orgánico" como se usa en el presente documento se refiere a organismos vivos o sus restos y se refiere en particular a material vegetal. La frase "material vegetal" incluye cualquier cosa que sea o fuera vegetación viva, en particular plantas y cualquier parte de las mismas, incluyendo las últimas pero no restringidas a hojas, flores, raíces, semillas, tallos, frutas, vainas, granos, bayas, granos, pulpa y similares.

En la presente invención, el material vegetal deriva preferentemente de cualquier especie de los géneros *Theobroma* o *Herrania* o cruces inter- e intra-específicos de los mismos y más preferentemente de las especies *Theobroma cacao* y *Theobroma grandiflorum*. La especie *Theobroma cacao* como se usa en el presente documento comprende todas las variedades, particularmente todas las variedades comercialmente útiles, incluyendo pero no limitadas a Criollo, Forastero, Trinitario, Arriba y cruces e híbridos de las mismas. Los granos de cacao derivados de las vainas

frutales de *Theobroma cacao* son la materia prima principal de la producción de chocolate. Los granos de cacao están incrustados en una pulpa mucilaginosa dentro de las vainas. Después de que se recolecten las vainas, los granos de cacao (normalmente incluyendo al menos una porción de la pulpa que los rodea) se recuperan de las vainas. En consecuencia, el material vegetal usado en el procedimiento de la presente invención puede comprender preferentemente granos de cacao derivados de las vainas frutales de *Theobroma cacao* y pueden comprender adicionalmente la pulpa derivada de dichas vainas frutales. En una realización, el material vegetal puede consistir esencialmente en granos de cacao y la pulpa derivada de las vainas frutales de *Theobroma cacao*.

Obsérvese que los términos “cacao” y “cacao” como se usan en el presente documento se consideran como sinónimos.

Como se usa en el presente documento, el término “fermentación” se refiere generalmente a cualquier actividad o procedimiento que implica la descomposición (digestión) enzimática de materiales orgánicos por microorganismos. El término “fermentación” abarca tanto procedimientos anaeróbicos como aeróbicos, así como procedimientos que implican una combinación o una sucesión de una o más fases anaeróbicas y/o aeróbicas. En la presente invención, la fermentación implica preferentemente la descomposición (digestión) de material vegetal como se define anteriormente.

La frase “fermentación controlada” como se usa en el presente documento pretende por lo tanto referirse a un proceso de fermentación que se regula usando una composición microbiana como se define en el presente documento.

La frase fermentación “convencional” o “espontánea” o “natural” pretende referirse a un proceso de fermentación natural en el que no se ha añadido una composición microbiana o un cultivo de partida. Una fermentación “espontánea” o una fermentación “natural” como se usa en el presente documento es una que emplea microorganismos presentes de forma natural y/o introducidos inconscientemente en el material orgánico fermentado al inicio de o durante la fermentación. A modo de ejemplo y sin limitación, en la fermentación espontánea de granos y pulpa de cacao, los microorganismos pueden introducirse después de que los granos y la pulpa se liberen de las vainas a partir de la microbiota natural presente, por ejemplo, en las manos de los trabajadores, en herramientas (cuchillos, palas, cestas sin lavar, etc.) y en los lugares de fermentaciones previas. En consecuencia, en los procedimientos anteriores una fermentación de otra manera espontánea puede regularse mediante la adición de una composición microbiana como se define en el presente documento. Por eso, la presencia microbiana en los materiales se altera y la fermentación se regula de esta manera (se controla o se modula).

En una realización alternativa, los procedimientos pueden referirse a regular la fermentación que no se iniciaría sin dicha regulación. En un ejemplo típico, esto puede ocurrir cuando la microbiota natural (indígena) se retira o se suprime del material orgánico antes de añadir una composición microbiana como se define en el presente documento. A modo de ejemplo y sin limitación, la microbiota natural presente en la fermentación de cacao puede retirarse grandemente despulpando los granos recuperados por diversos procedimientos de la técnica, por ejemplo, como se sabe a partir del documento GB2241146.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a la fermentación de un material vegetal que comprende granos derivados de *Theobroma cacao* y/o material vegetal que consiste esencialmente en los granos y la pulpa derivados de *Theobroma cacao*. Como se describe anteriormente, en la producción de cacao después de la retirada de los granos (y la pulpa que los rodea) de las vainas, los granos y la pulpa se someten típicamente a una fermentación espontánea, que es importante para las características del cacao resultante, tales como su aroma, su sabor y su color. Es de esta manera un objeto de la presente invención proporcionar un procedimiento para regular la fermentación del material orgánico, preferentemente del material vegetal, incluso más preferentemente del material vegetal que comprende los granos derivados de *Theobroma cacao* y el material vegetal que consiste esencialmente en los granos y la pulpa derivados de *Theobroma cacao* (los dos últimos materiales vegetales se denominan colectivamente en el presente documento “granos y pulpa de cacao”).

El término “regular” como se usa en el presente documento en relación con la fermentación del material orgánico abarca pero no se limita a iniciar un proceso de fermentación y/o iniciar una etapa particular del proceso de fermentación; acelerar un proceso de fermentación y/o acelerar una etapa particular del proceso de fermentación; iniciar y/o acelerar la transición de una etapa de un proceso de fermentación a otra etapa del proceso de fermentación (por ejemplo, la transición de la fermentación principalmente mediada por levaduras a la fermentación principalmente mediada por BAL, o de la fermentación principalmente mediada por BAL a la fermentación principalmente mediada por BAA durante el proceso de fermentación de granos y pulpa de cacao); alterar las condiciones de la fermentación, tales como, por ejemplo, la temperatura o el pH; alterar la composición del material fermentado (por ejemplo, alterar la descomposición de la producción de sustancias particulares presentes en el material fermentado); alterar la identidad y/o la cantidad de cepas microbianas presentes en y/o llevando a cabo el proceso de fermentación; potenciar o suprimir el crecimiento de microorganismos particulares etc.

Regulando los anteriores y otros aspectos de la fermentación, la presente invención permite controlar o manipular, a modo de ejemplo y sin limitación, la velocidad de la fermentación, el grado de la fermentación, la rapidez y la productividad de la fermentación, la calidad y/o la cantidad de las sustancias tanto deseables como indeseables



presentes en el material fermentado y las características del material fermentado y/o los productos obtenidos mediante el procesamiento adicional del material fermentado.

En una realización particular, usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención para la fermentación del material de cacao como se define en el presente documento puede acelerarse significativamente, por ejemplo la fermentación puede ser hasta 1,3, 1,5, 1,8, 2, 2,5 o incluso 3 veces más rápida en comparación con procesos de fermentación natural. En otra realización, usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención la fermentación del material vegetal de cacao como se define en el presente documento puede influenciar significativamente uno o más procesos/etapas de fermentación y de esta manera la productividad de la fermentación y aumentar la productividad preferentemente con al menos un 5 %, preferentemente con al menos un 10 %, al menos un 15 %, o incluso al menos un 20 % en comparación con los procesos de fermentación natural.

En una realización particular, la presente invención proporciona la incubación de una composición microbiana de acuerdo con la presente invención con material de cacao como se define en el presente documento a temperatura ambiente, que puede por ejemplo variar entre 20 y 40 °C.

Todavía en otra realización particular, la presente invención proporciona la incubación de una composición microbiana de acuerdo con la presente invención con material de cacao como se define en el presente documento durante menos de 4 días o menos de 3 días o menos de 2 días o menos de 1 día (24 horas).

En otra realización, una composición microbiana de acuerdo con la presente invención para la fermentación de material de cacao como se define en el presente documento puede modificarse significativamente la composición de los granos de cacao fermentados.

En una realización preferida, usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención para la fermentación de material de cacao como se define en el presente documento la cantidad de polifenoles que quedan puede ser al menos 2 veces mayor y por ejemplo 3, 5, 7 o 9 veces mayor en comparación con las cantidades de los mismos en granos salidos de procesos de fermentación natural. En otra realización preferida, usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención para la fermentación de material de cacao como se define en el presente documento la cantidad de epicatequina en los granos de cacao fermentados puede ser al menos 1,5 veces mayor y por ejemplo 2 veces mayor en comparación con las cantidades de la misma en granos salidos de procesos de fermentación natural.

En una realización preferida, usando una composición de acuerdo con la presente invención la cantidad y la composición de los ácidos orgánicos en los granos de cacao fermentados pueden alterarse. La cantidad de ácido orgánico por ejemplo ácido láctico puede ser el 5 %, preferentemente con al menos el 10 %, al menos el 15 % o incluso al menos el 20 % en comparación con los procesos de fermentación convencional (sin controlar).

#### Composiciones microbianas y procesos de fermentación controlada

En un aspecto, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana para regular la fermentación del material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de las vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, en la que dicha composición comprende al menos tres especies de *Lactobacillus* y al menos una especie de *Acetobacter* y al menos una especie de levadura.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para regular la fermentación de un material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de las vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, en el que dicho procedimiento comprende añadir al material vegetal una composición microbiana como se define en el presente documento.

Las realizaciones de las composiciones microbianas para usar de acuerdo con la presente invención se describirán ahora con más detalle.

Más en particular, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana que comprende:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter pasteurianus* y
- al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

Particularmente una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consiste esencialmente en o consiste en:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter pasteurianus* y

- al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*, preferentemente *Lactobacillus parafarraginis* y

- 5
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.

Más particularmente una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- 10
- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus* y *Lactobacillus parafarraginis* y
  - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.

En otra realización la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana que comprende:

- 15
- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y
  - al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y
  - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

20

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y
  - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
  - opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*.
- 25

Todavía en otra realización la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana que comprende:

- 30
- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus farraginis* y
  - al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y
  - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- 35
- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus farraginis* y
  - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
  - opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*, preferentemente *Lactobacillus parafarraginis*.
- 40

Todavía en otra realización la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana que comprende:

- 45
- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus diolivorans* y
  - al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y
  - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus diolivorans* y
- 5 - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
- opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*, preferentemente *Lactobacillus parafarraginis*.
- 10 Otra realización de una composición microbiana para usar de acuerdo con la presente invención comprende una composición que comprende:
- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus faeni* y
- al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans* y *Lactobacillus paracasei* y
- 15 - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus faeni* y
- 20 - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
- opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans* y *Lactobacillus paracasei*, preferentemente *Lactobacillus parafarraginis*.
- 25

Todavía otra realización de una composición microbiana para usar de acuerdo con la presente invención comprende una composición que comprende:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus paracasei* y
- 30 - al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans* y *Lactobacillus faeni* y
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- 35 - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus paracasei* y
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
- opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans* y *Lactobacillus faeni*, preferentemente *Lactobacillus parafarraginis*.
- 40

Todavía otra realización de una composición microbiana para usar de acuerdo con la presente invención comprende una composición que comprende:

- 45 - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y *Lactobacillus farraginis* y
- al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y *Lactobacillus farraginis* y
- 5 - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
- opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*.
- 10 Otro ejemplo de una composición microbiana para usar de acuerdo con la presente invención incluye una composición que comprende:
  - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y *Lactobacillus diolivorans* y
  - al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y
  - 15 - al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

En una realización una composición microbiana como se pretende en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- 20 - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y *Lactobacillus diolivorans* y
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en la que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* y
- 25 - opcional y preferentemente, al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*.

Otras bacterias que pueden añadirse a las composiciones microbianas de acuerdo con la presente invención incluyen pero no se limitan a *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fabifermentans*, *Lactobacillus cacaonum* y *Lactobacillus hilgardii*.

- 30 Como se indica anteriormente, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana como se define en el presente documento. La presente composición microbiana comprende al menos una cepa de levadura. Como se usa en el presente documento, el término "levadura" se refiere a un grupo de hongos unicelulares, la mayoría de los cuales están en la clase Ascomycetes, aunque otros en la clase Basidiomycetes.

- 35 En una realización, la al menos una cepa de levadura pertenece a una especie de un género elegido del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.

- 40 En una realización preferida, la al menos una cepa de levadura pertenece a una especie elegida a partir del grupo que comprende o que consiste en *Candida bombi*, *Candida pelliculosa*, *Candida rugopelliculosa*, *Candida rugosa*, *Candida intermedia*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida quercitrusa*, *Candida silvicola*, *Candida stellimalicola*, *Candida boidinii*, *Candida cacaoi*, *Candida guilliermondii*, *Candida reukauffii*, *Candida amapae*, *Candida diddensiae*, *Candida friedrichii*, *Candida humicola*, *Candida mycoderma*, *Candida neodendra*, *Candida tammaniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida valida*, *Candida zemplinina*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri* y preferentemente *Candida bombi*, *Candida pelliculosa*, *Candida rugosa*, *Candida intermedia*, *Candida krusei*, *Candida cacaoi*, *Candida guilliermondii* y *Saccharomyces cerevisiae* y más preferentemente *Saccharomyces cerevisiae*.

- 45 En otra realización, la presente composición microbiana comprende adicionalmente al menos otra cepa de levadura, diferente de una especie de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida* como se indica anteriormente. Por ejemplo, en una realización, tal como al menos otra cepa de levadura puede pertenecer a una especie de un género elegido a partir del grupo que comprende o que consiste en *Brettanomyces*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Issatchenkia*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Lodderomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomycopsis*, *Schizosaccharomyces*, *Scytaladium*, *Torulaspora*, *Torulopsis* o *Trichosporon* y preferentemente *Cryptococcus*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, o *Pichia* y más preferentemente *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, o *Pichia*. Los ejemplos adicionales de géneros de levaduras pueden incluir pero no se limitan a *Arxiozyma*, *Citeromyces*, *Dekkera*, *Holleya*, *Kodameae*, *Saturnispora*, *Starmera*, *Tetrapisispora*, *Williopsis* o *Zygosaccharomyces*.
- 50

En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *L. farraginis*, *L. diolivorans*, *L. faeni*, *L. paracasei*, *L. casei*, *L. hilgardii*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus*, *Saccharomyces cerevisiae*.

- En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *L. casei*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana A). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. farraginis*, *L. hilgardii*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana B). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. diolivorans*, *L. hilgardii*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana C). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. faeni*, *L. casei*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana D). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. casei*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana E). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *L. farraginis*, *L. hilgardii*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana F). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. farraginis*, *L. diolivorans*, *L. casei*, *L. hilgardii*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana G). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. diolivorans*, *L. faeni*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana H). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. faeni*, *L. paracasei*, *L. hilgardii*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana I). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *L. diolivorans*, *L. casei*, *L. hilgardii*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana J). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. farraginis*, *L. faeni*, *L. casei*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana K). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. diolivorans*, *L. paracasei*, *L. hilgardii*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana L). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *L. diolivorans*, *L. paracasei*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus*, *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana M). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *L. farraginis*, *L. diolivorans*, *L. faeni*, *L. paracasei*, *L. casei*, *L. hilgardii*, *L. buchneri*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana N). En otra realización, la presente composición microbiana consiste esencialmente en *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. parafarraginis*, *Acetobacter pasteurianus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Composición microbiana O).

La Tabla 1 proporciona ejemplos no limitantes adicionales de composiciones microbianas que son adecuadas para usar en la presente invención.

**Tabla 1**

| Composición microbiana | <i>L. fermentum</i> | <i>L. plantarum</i> | <i>L. parafarraginis</i> | <i>L. farraginis</i> | <i>L. diolivorans</i> | <i>L. faeni</i> | <i>L. paracasei</i> | <i>L. casei</i> | <i>L. hilgardii</i> | <i>L. buchneri</i> | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
|------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| A                      | +                   | +                   | +                        |                      |                       |                 |                     | +               |                     | +                  | +                               | +                               |
| B                      | +                   | +                   |                          | +                    |                       |                 |                     |                 | +                   |                    | +                               | +                               |
| C                      | +                   | +                   |                          |                      | +                     |                 |                     |                 | +                   |                    | +                               | +                               |
| D                      | +                   | +                   |                          |                      |                       | +               |                     | +               |                     | +                  | +                               | +                               |
| E                      | +                   | +                   |                          |                      |                       |                 | +                   | +               |                     |                    | +                               | +                               |
| F                      | +                   | +                   | +                        | +                    |                       |                 |                     |                 | +                   |                    | +                               | +                               |
| G                      | +                   | +                   |                          | +                    | +                     |                 |                     | +               | +                   | +                  | +                               | +                               |
| H                      | +                   | +                   |                          |                      | +                     | +               |                     |                 |                     |                    | +                               | +                               |
| I                      | +                   | +                   |                          |                      |                       | +               | +                   |                 | +                   |                    | +                               | +                               |
| J                      | +                   | +                   | +                        |                      | +                     |                 |                     | +               | +                   | +                  | +                               | +                               |
| K                      | +                   | +                   |                          | +                    |                       | +               |                     | +               |                     |                    | +                               | +                               |
| L                      | +                   | +                   |                          |                      | +                     |                 | +                   |                 | +                   |                    | +                               | +                               |
| M                      | +                   | +                   | +                        |                      | +                     |                 | +                   |                 |                     | +                  | +                               | +                               |
| N                      | +                   | +                   | +                        | +                    | +                     | +               | +                   | +               | +                   | +                  | +                               | +                               |
| O                      | +                   | +                   | +                        |                      |                       |                 |                     |                 |                     |                    | +                               | +                               |

En otra realización de la presente invención, la fermentación del material vegetal que comprende granos derivados de *Theobroma cacao* y/o el material vegetal que consiste, con preferencia esencialmente, en los granos y la pulpa derivados de *Theobroma cacao* (colectivamente “granos y pulpa de cacao”) puede llevarse a cabo en pilas, cajas (por ejemplo, cajas de madera o de acero), cestas, bandejas y otros medios, tales como los generalmente usados en la técnica. En una realización preferida, la dicha fermentación puede llevarse a cabo en pilas o cajas.

En otra realización, la presente invención se refiere al uso de una composición microbiana como se define anteriormente en etapas tempranas de un proceso de fermentación, durante las primeras 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 15, 18, 20, 22 o 24 horas de la fermentación. En una otra realización, la presente invención por lo tanto proporciona un procedimiento para regular la fermentación del material orgánico, más particularmente del material vegetal, incluso más particularmente el material vegetal, incluso más particularmente los granos y la pulpa del cacao, comprende añadir a los mismos una composición como se define anteriormente al inicio y/o en etapas tempranas de la fermentación, por ejemplo, al inicio y/o durante las primeras 24 horas de la fermentación y por ejemplo durante las primeras 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 15, 18, 20 o 22 horas de la fermentación, una composición como se ha definido anteriormente en el presente documento.

En una realización, las composiciones microbianas de la presente invención pueden ser un cultivo de partida. El término “cultivo” se refiere a cualquier muestra o espécimen que se sabe que contiene o se sospecha que puede contener uno o más microorganismos. El término como se usa en el presente documento también abarca un cultivo de partida y un co-cultivo. La frase “cultivo de partida” se refiere a una composición que contiene microorganismos vivos que son capaces de iniciar o efectuar la fermentación de un material orgánico, opcionalmente después de cultivarse en n medio de partida separado para obtener un cultivo de alta densidad. En consecuencia, en una realización, las composiciones microbianas de la presente invención pueden ser un cultivo de alta densidad obtenido propagando un cultivo de partida en un medio adecuado.

Un cultivo de partida puede ser, por ejemplo, un cultivo líquido, un cultivo prensado líquido, en forma congelada o seca, incluyendo, por ejemplo, una forma secada por congelación y una forma secada por pulverización/en lecho fluido o un concentrado congelado o secado por congelación. El cultivo puede envasarse al vacío o en una atmósfera de, por ejemplo, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y similares. Por ejemplo, un cultivo de partida puede producirse y distribuirse en recintos sellados, preferentemente apirógenos, que pueden fabricarse con un plástico rígido, no flexible o flexible adecuado u otro material, para el lugar de fermentación y pueden añadirse al material orgánico a fermentarse u opcionalmente cultivarse primero en un medio de partida separado para obtener un cultivo de alta densidad.

Un cultivo de partida puede contener también, además de los microorganismos, agentes tamponantes y nutrientes estimulantes del crecimiento (por ejemplo, una fuente de carbohidratos o una de nitrógeno asimilables) o conservantes (por ejemplo, compuestos crioprotectores) u otros vehículos, si se desea, tales como leche en polvo o azúcares.

Puede preferirse que un cultivo de partida o un cultivo de alta densidad contenga al menos 10<sup>2</sup> unidades formadoras de colonias (UFC) de cepas bacterianas y opcionalmente de una o más cepas de levaduras de la presente invención, tales como al menos 10<sup>3</sup> UFC/g, al menos 10<sup>4</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>5</sup> UFC/g, al menos 10<sup>6</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>7</sup> UFC/g, al menos 10<sup>8</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>9</sup> UFC/g, al menos 10<sup>10</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>11</sup> UFC/g, al menos 10<sup>11</sup> UFC/g, al menos 10<sup>12</sup> UFC/g o al menos 10<sup>13</sup> UFC/g.

En una realización, una composición microbiana como se define anteriormente puede ser un cultivo de partida o un cultivo de alta densidad, que comprende al menos 10<sup>2</sup> unidades formadoras de colonias (UFC) de cepas bacterianas por g de material vegetal y por ejemplo al menos 10<sup>3</sup> UFC/g, al menos 10<sup>4</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>5</sup> UFC/g, al menos 10<sup>6</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>7</sup> UFC/g, al menos 10<sup>8</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>9</sup> UFC/g, al menos 10<sup>10</sup> UFC/g, por ejemplo, al menos 10<sup>11</sup> UFC/g, al menos 10<sup>11</sup> UFC/g, al menos 10<sup>12</sup> UFC/g o al menos 10<sup>13</sup> UFC/g del material orgánico.

Sin limitación, una composición microbiana preferida como se enseña en el presente documento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en:

- entre 10<sup>3</sup> y 10<sup>7</sup> UFC/g del material vegetal, preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>6</sup>, más preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>5</sup>, tal como muy preferentemente entre 5x10<sup>4</sup> y 5x10<sup>5</sup>, UFC/g de *Lactobacillus plantarum* del material vegetal;
- entre 10<sup>3</sup> y 10<sup>7</sup> UFC/g del material vegetal, preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>6</sup>, más preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>5</sup>, tal como muy preferentemente entre 5x10<sup>4</sup> y 5x10<sup>5</sup>, UFC/g de *Lactobacillus fermentum* del material vegetal;
- entre 10<sup>3</sup> y 10<sup>7</sup> UFC/g del material vegetal, preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>6</sup>, más preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>5</sup>, tal como muy preferentemente entre 5x10<sup>4</sup> y 5x10<sup>5</sup>, UFC/g de *Acetobacter pasteurianus* del material vegetal;
- entre 10<sup>3</sup> y 10<sup>7</sup> UFC/g del material vegetal, preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>6</sup>, más preferentemente entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>5</sup>, tal como muy preferentemente entre 5x10<sup>4</sup> y 5x10<sup>5</sup>, UFC/g del material vegetal de al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*, preferentemente *Lactobacillus parafarraginis* y

- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g del material vegetal de al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en el que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.

Se desvela adicionalmente el uso de una composición microbiana para regular la fermentación del material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, en el que dicha composición comprende, consiste esencialmente en o consiste en:

- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g de *Lactobacillus plantarum* del material vegetal;
- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g de *Lactobacillus fermentum* del material vegetal;
- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g de *Acetobacter pasteurianus* del material vegetal;
- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g del material vegetal de al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*, preferentemente *Saccharomyces*, más preferentemente en el que dicha especie de levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.

Se desvela adicionalmente el uso de una composición microbiana para regular la fermentación del material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, en el que dicha composición comprende, consiste esencialmente en o consiste en:

- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g de *Lactobacillus plantarum* del material vegetal;
- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g de *Lactobacillus fermentum* del material vegetal;
- entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/g del material vegetal, preferentemente entre  $10^4$  y  $10^6$ , más preferentemente entre  $10^4$  y  $10^5$ , tal como muy preferentemente entre  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$ , UFC/g de *Acetobacter pasteurianus* del material vegetal.

De acuerdo con la presente invención, el uso de cualquiera de las composiciones como se define en el presente documento durante la fermentación de los granos de cacao tiene efectos en las propiedades físicas (por ejemplo la apariencia incluyendo el color), las propiedades organolépticas (por ejemplo el sabor) y la composición (bio)química de los granos de cacao fermentados.

En una realización, el uso de las presentes composiciones permite obtener un número mayor de granos de cacao fermentados que tienen propiedades cualitativas buenas en comparación con los procesos de fermentación natural, por ejemplo hasta un 10 % y preferentemente hasta un 20 % más de granos de cacao fermentados que tienen propiedades cualitativas buenas, por ejemplo que no están infectados y/o rotos y que tienen un color y una apariencia satisfactorios. Las propiedades cualitativas de los granos pueden evaluarse usando procedimientos convencionales tales como ensayos de apariencia y de corte (véase la sección de ejemplos a continuación).

En otra realización, el uso de las presentes composiciones permite obtener granos de cacao fermentados que tienen niveles óptimos de componentes (bio)químicos tales como pero no limitados a moléculas orgánicas, incluyendo ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico, alcoholes incluyendo etanol, alcoholes de azúcares incluyendo manitol y eritritol, ésteres, polifenoles, incluyendo epicatequina, alcaloides (teobromina, cafeína) etc... o niveles más bajos o sin niveles de micotoxinas.

#### Material vegetal fermentado

En otro aspecto, la presente invención también se refiere a granos de cacao obtenidos u obtenibles llevando a cabo los procedimientos de la presente invención y los usos de los mismos, por ejemplo para preparar productos de cacao y/o para preparar productos alimenticios. Los granos de cacao obtenidos u obtenibles de acuerdo con los presentes procedimientos son sorprendentemente fáciles de procesar, por ejemplo los granos pueden secarse fácilmente.

La presente invención proporciona granos de cacao fermentados que tienen una o más de las siguientes características.

Los granos de cacao de acuerdo con la presente invención son productos de cacao con alto sabor que tienen calidad, sabor y/o propiedades organolépticas reproducibles. Además, los granos de cacao obtenidos u obtenibles de acuerdo con el presente procedimiento retienen su sabor y sus propiedades organolépticas durante un tiempo prolongado.

- 5 En otra realización, las presentes composiciones permiten obtener granos fermentados que tienen cantidades elevadas de polifenoles. En otra realización preferida, la presente invención se refiere a granos de cacao fermentados que tienen una cantidad total de polifenoles que es al menos 1,5 veces y por ejemplo al menos 2 veces mayor que las cantidades medidas en granos que se han sometido a un proceso de fermentación natural.

- 10 En otra realización preferida la presente invención se refiere a granos de cacao fermentados que tienen una cantidad de epicatequina que es al menos 2 veces y por ejemplo al menos 3, 5 o 7 veces mayor que las cantidades medidas en granos que se han sometido a un proceso de fermentación natural. Por ejemplo los granos de cacao fermentados se proporcionan de acuerdo con la presente invención teniendo una cantidad de epicatequina que es mayor que 1000 ppm y preferentemente mayor que 2000 ppm.

- 15 En una realización, la presente invención se refiere a granos de cacao que tienen una cantidad de aminoácidos libres (AAL) seleccionados del grupo que comprende o que consiste en alanina, fenilalanina, triptófano, leucina y valina y preferentemente seleccionados del grupo que comprende o que consiste en alanina, fenilalanina y triptófano, que es al menos un 10 % menor que en los granos de cacao que se han sometido a un proceso de fermentación espontánea. El término "libre" en este contexto se refiere a los aminoácidos que no están unidos covalentemente a otro resto.

- 20 En otra realización, el uso de la presente composición microbiana para fermentar granos de cacao tiene el efecto de inducir cambios de color particulares en los granos.

- 25 En particular, en una realización, la presente invención proporciona granos de cacao (y polvos o licor) que son particularmente claros. Se conoce un número de procedimientos objetivos para medir el color de los polvos, tales como cacao en polvo o licor. En un procedimiento, el sistema de color Hunter o CIE 1976 (CIELAB) y los sistemas similares, el color puede describirse en términos de coordenadas L, "a\*" y "b\*". La coordenada L es coherente con el Valor de Luminosidad, y a partir de las coordenadas a\* y b\*, pueden calcularse el Croma y la Tonalidad. Cuanto menor sea el valor, más oscuro aparecerá el cacao en polvo; Croma (C)-la intensidad de un color por el que uno distingue un color claro o gris, donde cuanto mayor sea el valor C, más claro será el polvo; y Tonalidad (T) en referencia al color en el lenguaje cotidiano, tal como rojo, amarillo o azul.

- 30 Más en detalle, el sistema de color Hunter es un procedimiento bien conocido para definir el color de un material dado. Puede encontrarse una descripción técnica completa del sistema en un artículo por Hunter, "Photoelectric Color Difference Meter", Journal of the Optical Society of America, 1958, vol. 48, 985-95. Por medio de una explicación adicional, el sistema de color Hunter puede describirse en términos de un sólido de color tridimensional. Este sólido contiene todos los colores posibles y tiene tres ejes perpendiculares que pasan a través de su centro geométrico. La localización de cualquier punto dentro de la figura puede determinarse haciendo referencia a sus coordenadas en los tres ejes. Por lo tanto, cualquier color puede definirse en términos de las tres coordenadas. En el sistema de color Hunter la escala "L" contiene 100 unidades iguales de división. El negro absoluto está en el fondo de la escala (L=0) y el blanco absoluto está en lo alto de la escala (L=100). De esta manera, midiendo los valores de color Hunter cuanto menor sea el valor de la escala "L" más oscuro será el color. En el sistema de color Hunter la escala "a\*" mide la tonalidad del color y el croma entre rojo y verde. La escala "b\*" mide la tonalidad del color y el croma entre azul y amarillo. La tonalidad es análoga a la longitud de onda dominante, mientras que el croma se refiere a la pureza del color. Por lo tanto, el uso del sistema de color Hunter proporciona un medio preciso y reproducible de medida del color. Se han desarrollado técnicas que permiten el uso de este sistema de medida del color en materiales de prácticamente todas las formas, tamaños y composiciones. Los dispositivos diseñados específicamente para la medida del color en las escalas de color Hunter se describen entre otros en la Patente de EE.UU. nº 3.003.388.

- 35 Los polvos de cacao o el licor de cacao preparado a partir de granos fermentados de acuerdo con la presente invención tienen preferentemente un valor de coordenada de color L que es mayor que 14, por ejemplo, mayor que 15, preferentemente mayor que 16, por ejemplo, mayor que 17, más preferentemente mayor que 18 y por ejemplo y muy preferentemente mayor que 19 o 20 o mayor, tal como por ejemplo un valor de coordenada de color L entre 14 y 20, preferentemente entre 16 y 20, más preferentemente entre 17 y 20 o entre 18 y 20 tal como entre 18 y 19. Sorprendentemente, este color más ligero no se observa con granos fermentados convencionalmente o con granos que se han fermentado usando una composición microbiana de la técnica anterior (véase también los ejemplos 1 y 5).

- 55 De acuerdo con la presente invención, el color de los granos de cacao o de los productos de cacao derivados de los mismos puede medirse como sigue. Los granos de cacao o los productos de cacao se desgrasan preferentemente para producir menos del 5 % en peso de grasa seguido de lavado y centrifugación. En una realización preferida se forma un polvo o un licor del producto. Después de secar por ejemplo a temperatura ambiente, se coloca una muestra en una placa Petri y se mide a través del fondo de la placa usando un colorímetro con la escala L\*, a\*, b\*



Hunter bien conocida. El colorímetro adecuado es por ejemplo un espectrofotómetro Minolta CM-2002. Las condiciones son como sigue: CIELAB III: D65, Obs: 10°, 3 destellos, SCE y color externo a 20 °C.

Inesperadamente, los granos que se habían fermentado usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención mostraron un efecto de rotura de la luz. Los granos fermentados usando una composición microbiana como se proporciona en el presente documento tenían un color más claro que los granos fermentados convencionalmente y en particular son marrón claro. El color de los granos fermentados de acuerdo con la presente invención está por lo tanto menos influenciado por el color del cacao marrón natural. El color de los granos fermentados de acuerdo con la presente invención es de hecho comparable con el color de los granos e Java, que son conocidos por tener un color claro. La presente invención permite de esta manera proporcionar granos de un origen distinto de Java que cuando se fermentan tienen un color comparable al color de los granos de Java (véase por ejemplo el ejemplo 5).

Una ventaja particular de los granos de cacao fermentados de color claro obtenidos de acuerdo con la presente invención es que tales granos pueden usarse para fabricar chocolate negro, es decir chocolate que tenga una cantidad relativamente alta de sólidos de cacao, pero que muestren un color más claro que el chocolate convencionalmente negro (véase más adelante).

#### Procesamiento corriente abajo de granos de cacao fermentados de acuerdo con la invención

En una realización, los granos de cacao fermentados obtenidos con el procedimiento de fermentación controlada descrito en el presente documento pueden someterse a tratamientos adicionales, antes de y/o bien después de añadir una composición microbiana como se define en el presente documento.

La presente invención proporciona en otro aspecto un procedimiento para procesar los granos de cacao que se han fermentado de acuerdo con la presente invención en productos de cacao y los productos de cacao o el material derivado de cacao corriente debajo obtenidos de este modo. Las frases "*productos de cacao*" y "*materiales derivados de cacao*" como se usan en el presente documento son sinónimos y se refieren a productos que se preparan usando granos de cacao. Los productos o los materiales pretenden referirse a los materiales preparados partiendo de granos de cacao que se han sometido a una fermentación controlada como se describe en el presente documento. Los productos de cacao pueden estar en una forma líquida o en una forma seca o liofilizada, tal como en la forma de gránulos, sedimentos o un polvo.

En una realización preferida dichos "*productos de cacao*" y "*materiales derivados de cacao*" incluyen virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate, incluyendo chocolate negro, chocolate con leche o chocolate blanco. Estos términos son bien conocidos por un experto en la materia pero por lo tanto se explican solo brevemente en lo sucesivo.

La frase "*viruta de cacao*" se refiere al grano de cacao sin la cáscara.

La frase "*licor de cacao*" se refiere a virutas de cacao molidos. El licor de cacao se prepara moliendo virutas de cacao en una conocida pasta negra. Al enfriar, el licor de cacao produce la masa de cacao. Cuando los virutas se muelen en una pasta uniforme gruesa, forman lo que se conoce como "copos de cacao". La frase "*copos de cacao*" se refiere de esta manera a licor de cacao en la forma de escamas sólidas.

El licor de cacao puede procesarse en dos componentes diferentes: polvo de cacao y mantequilla de cacao. El licor de cacao se prensa en pastel de cacao retirando la mayoría de la mantequilla de cacao. El término "*pastel de cacao*" se refiere a los sólidos de cacao o la masa de cacao que quedan después de la extracción de la grasa (mantequilla de cacao) prensando. Las escamas de cacao pueden romperse y molerse en un polvo de cacao fino. "*Polvo de cacao*" se refiere a los sólidos de cacao.

"*Mantequilla de cacao*" es el componente graso del licor de chocolate, mientras que la parte que queda del licor de chocolate son los sólidos de cacao o la masa de cacao. Por ejemplo, para producir el chocolate negro, se mezclan virutas de cacao o masa de cacao con azúcar y suficiente mantequilla de cacao para permitir que el chocolate se molde. Para producir el chocolate con leche, la masa de cacao y la mantequilla de cacao se mezclan con azúcar y leche en polvo, mientras que para el chocolate blanco la mantequilla de cacao (sin masa de cacao) se mezcla con azúcar y leche en polvo.

En otro aspecto, la presente invención abarca un procedimiento para producir productos de cacao rojo o morado. Para ese fin, la presente invención proporciona un procedimiento en el que los productos de cacao derivados de los granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento se tratan adicionalmente con un ácido o una solución ácida acuosa.

Los presentes solicitantes han mostrado inesperadamente que la fermentación controlada de los granos de cacao usando una composición microbiana como se define en el presente documento y el posterior tratamiento ácido de los materiales derivados de cacao preparados a partir de estos granos fermentados da como resultado materiales derivados de cacao coloreados, tales como virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, licor de cacao, polvo de cacao o productos de chocolate coloreados. Más particularmente, los presentes solicitantes han

demostrado que la fermentación controlada de los granos de cacao usando una composición microbiana como se define en el presente documento y el posterior tratamiento ácido de los materiales derivados de cacao preparados a partir de estos granos fermentados da como resultado materiales derivados de cacao rojos o morados como se da anteriormente. Además, si las condiciones ácidas usadas para producir los materiales derivados de cacao rojos o morados se controlan, en particular si por ejemplo se controla el pH, el contenido de agua, la temperatura y la longitud de la reacción, entonces el nivel de polifenoles presente en los productos puede conservarse y pueden producirse materiales derivados de cacao de color rojo o morado.

Los presentes solicitantes han demostrado que al final del proceso de fermentación como se describe en el presente documento, los granos de cacao eran más claros y mostraron un efecto de rotura de la luz. Sin embargo, se demostró además que el tratamiento ácido de los materiales de cacao (tales como virutas de cacao o licor de cacao) obtenidos a partir de estos granos fermentados dieron como resultado materiales rojos/morados. Sorprendentemente, a pesar del hecho de que los granos de cacao fermentados no tenían un color marrón oscuro, podían procesarse en materiales de cacao corriente abajo mostrando un excelente color rojo/morado cuando se les aplica una etapa de tratamiento ácido como se define en el presente documento.

Otro efecto inesperado es que el uso de materiales de cacao derivados de los granos fermentados como se define en el presente documento permitió reducir o incluso enmascarar sustancialmente el sabor ácido que se obtiene como resultado del tratamiento ácido de los materiales de cacao. Usando granos bien fermentados como material de partida para producir productos de cacao rojos o morados, sorprendentemente pueden obtenerse productos de una excelente calidad que no tienen el inconveniente del sabor (demasiado) ácido.

Otro efecto beneficioso importante de usar granos que se han fermentado de acuerdo con la presente invención para producir productos de cacao rojo o morado es que el material de partida estandarizado, es decir, los granos bien fermentados de una cualidad y una composición reproducibles, pueden usarse para preparar los productos de cacao rojos o morados.

En una realización particular, la presente invención proporciona de esta manera materiales derivados de cacao rojos o morados seleccionados del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, escamas de cacao, licor de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao o productos alimenticios tales como productos de chocolate preparados con uno o más de estos productos de cacao.

En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para producir un material derivado de cacao rojo o morado que comprende las etapas de:

- a) proporcionar granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento,
- b) preparar un material derivado de cacao a partir de los granos de cacao fermentados de la etapa a) y
- c) tratar el material derivado de cacao de la etapa b) con un ácido o con una solución ácida acuosa.

El material derivado de cacao puede seleccionarse a partir del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate. En una realización preferida dicho material derivado de cacao se refiere a virutas de cacao o licor de cacao.

Deberá estar claro que donde los virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate se preparan en la etapa b) del procedimiento anterior, se implicarán etapas adicionales distintas de aquellas dadas en el procedimiento anterior para obtener el producto específico. Las técnicas a aplicarse para preparar productos derivados de los granos de cacao se conocen bien en la técnica y no se explicarán con detalle en el presente documento. Sin embargo, a modo de ejemplo, se proporcionan unas pocas realizaciones a continuación.

En una realización, el material derivado de cacao son virutas de cacao y el procedimiento anterior comprende adicionalmente la etapa de descascarar los granos de cacao fermentados.

En otra realización, el material derivado de cacao son escamas de cacao y el procedimiento anterior comprende adicionalmente la etapa de romper los virutas para formar escamas.

En otra realización del procedimiento, el material derivado de cacao es licor de cacao y el procedimiento anterior comprende adicionalmente la etapa de moler los virutas para formar un licor de cacao.

Todavía en otra realización, el material derivado de cacao es un producto de chocolate rojo o morado y el procedimiento anterior comprende adicionalmente las etapas de: (i) moler los virutas para formar un licor de cacao; y (ii) combinar el licor de cacao con mantequilla de cacao o una grasa de reemplazamiento para formar un producto de chocolate rojo o morado. Adicionalmente el procedimiento para producir chocolate rojo o morado puede comprender adicionalmente las etapas de conchado, templado y moldeado.

A continuación, se explicará con detalles primero cómo se lleva a cabo el tratamiento ácido en los virutas de cacao derivados de granos de cacao fermentados que se han fermentado con el procedimiento de fermentación desvelado

en el presente documento. A partir de entonces, se describirá el tratamiento ácido de los materiales derivados de cacao tales como licor de cacao.

En una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir virutas de cacao rojos o morados, que comprende las etapas de:

- 5 a) proporcionar granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento,  
b) preparar virutas de cacao a partir de los granos fermentados de la etapa a),  
c) tratar los virutas de cacao de la etapa b) con un ácido o con una solución ácida acuosa.

10 Los virutas de cacao obtenidos en la etapa c) pueden lavarse opcionalmente y/o secarse antes de que se procesen adicionalmente. Las técnicas que pueden usarse para preparar virutas de cacao a partir de granos de cacao se conocen bien en la técnica y por lo tanto no se explicarán con detalle en el presente documento.

15 En una realización, los virutas de cacao usados en el procedimiento anterior no se tuestan o se tratan con una base antes del tratamiento ácido. Los virutas de cacao usados para obtener virutas de cacao rojos o morados se fermentan como se define en el presente documento y pueden lavarse opcionalmente con agua, secarse (por ejemplo al sol) y/o pueden someterse a una reducción de tamaño, antes del tratamiento con un ácido como se explica en el presente documento. En una realización particularmente preferida, el procedimiento no comprende ninguna etapa de alcalinización o de tueste antes de y/o bien después del tratamiento ácido como se describe en el presente documento.

20 El tratamiento de los virutas de cacao con una solución ácida acuosa abarca la etapa de poner un ácido o una solución ácida acuosa en contacto con dichos virutas de cacao. Esto puede hacerse por medio de cualquier procedimiento, por ejemplo remojando, sumergiendo o lavando los virutas de cacao con la solución ácida acuosa y/o pulverizando una solución ácida acuosa sobre dichos virutas.

25 Opcionalmente, los virutas de cacao pueden secarse antes de que se pongan en contacto con una solución ácida acuosa como se proporciona en el presente documento. El secado de los virutas de cacao puede hacerse por medio de técnicas de secado convencionales tales como por ejemplo el sol, aire caliente de microondas, comúnmente conocidos en la técnica. Preferentemente, en tal caso los virutas de cacao se secan hasta que se alcance un contenido de humedad de la mezcla de menos del 10 %, especialmente hasta un contenido de humedad del 9, el 8, el 7, el 6 o el 5 %.

30 El ácido que puede usarse para tratar los virutas de cacao de acuerdo con la presente invención puede ser un ácido mineral, por ejemplo, seleccionado del grupo que comprende o que consiste en ácido clorhídrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico. En otra realización, el ácido que puede usarse para tratar los virutas de cacao de acuerdo con la presente invención puede ser un ácido orgánico, por ejemplo seleccionado del grupo que comprende o que consiste en ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido ascórbico y ácido acético. En una realización preferida de la presente invención, el ácido es un ácido de calidad alimenticia aceptable. Cuando se seleccionan los ácidos, deberá tenerse en mente que no deben poner en peligro el sabor de los granos de cacao pero deben penetrar rápidamente en los granos de cacao. En una realización preferida de la presente invención, el ácido es ácido fosfórico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido ascórbico o ácido acético y preferentemente ácido fosfórico.

En una realización, el ácido puede añadirse a los virutas de cacao en la forma de un sólido, tal como, por ejemplo, un polvo. En un ejemplo, el ácido puede añadirse como un polvo de ácido cítrico o de ácido tartárico.

40 En otra realización, el ácido puede añadirse a los virutas de cacao en la forma de una solución ácida acuosa, es decir obtenida combinando el ácido con agua. Preferentemente, la solución ácida acuosa es una solución que tiene un pH menor que 6, preferentemente menor que 5 y preferentemente menor que 4 y por ejemplo tiene un pH de entre 1 y 4 o de entre 2 y 3.

45 El ácido o la solución ácida pueden comprender preferentemente del 0,5 % en peso al 20 % en peso de ácido, más preferentemente del 1 al 10 % en peso de ácido, más preferentemente del 2 al 5 % en peso de ácido a base del peso de la solución.

Los virutas de cacao pueden tratarse con el ácido/solución ácida en agitación, por ejemplo usando un agitador magnético o una varilla.

50 El tratamiento ácido de los virutas de cacao debe ser lo suficientemente largo para llevar suficiente penetración del ácido al material. En otra realización el procedimiento comprende por lo tanto tratar los virutas de cacao con el ácido o una solución ácida acuosa durante un periodo de tiempo de hasta 24 horas y por ejemplo hasta 12 horas. En un ejemplo, los virutas de cacao pueden tratarse con el ácido o la solución ácida acuosa durante un periodo de tiempo desde aproximadamente 2 a 8 horas, preferentemente desde aproximadamente 3 a 6 horas. En un ejemplo particularmente preferido, los virutas de cacao pueden tratarse con el ácido o con la solución ácida acuosa durante un periodo de aproximadamente 4 a 5 horas. En otra realización preferida el periodo de contacto y el de reacción es de 20 a 60 minutos.

En otra realización, la temperatura durante el tratamiento ácido es inferior a 50 °C y preferentemente está comprendido entre 5 y 30 °C.

En una realización particularmente preferida, los virutas de cacao se tratan con una solución acuosa ácida, que tiene preferentemente un pH comprendido entre 1 y 3, durante un periodo comprendido entre 3 y 6 horas y una temperatura comprendida entre 5 y 30 °C.

Se ha encontrado inesperadamente que controlar las condiciones de reacción de esta manera produce virutas de cacao coloreados (rojo/morado) y permite conservar sustancialmente el nivel de polifenoles presente en los virutas de cacao. Los virutas de cacao obtenidos pueden procesarse adicionalmente como se explica anteriormente. Los colores en los virutas de cacao se mantienen sustancialmente de ese modo, de tal manera que cuando los virutas se procesan adicionalmente por ejemplo en escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y/o chocolate, los virutas de cacao rojos/morados obtenidos pueden producir escamas de cacao rojas/moradas, pastel de cacao rojo/morado, polvo de cacao rojo/morado, licor de cacao rojo/morado y/o chocolate rojo/morado.

En otra realización, la presente invención proporciona un procedimiento para producir un licor de cacao rojo o morado que comprende las etapas de:

- a) proporcionar granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento,
- b) preparar un licor de cacao a partir de los granos de cacao fermentados de la etapa a),
- c) tratar el licor de cacao de la etapa b) o una composición que comprende el licor de cacao de la etapa b) con un ácido o con una solución ácida acuosa.

En un ejemplo, el licor de cacao derivado de granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se proporciona en el presente documento y que no se ha tratado previamente con un ácido puede tratarse con un ácido o una solución ácida como se describe en el presente documento. Preferentemente se produce de este modo licor de cacao rojo o morado. El licor de cacao que se ha tratado con dicho ácido puede usarse después en la producción de chocolate, en particular chocolate rojo o morado.

El licor de cacao puede tratarse directamente con un ácido o una solución ácida acuosa. De manera alternativa, una composición que comprende un licor de cacao tal como licor de chocolate, chocolate o un producto parecido al chocolate, puede tratarse con ácido. En una realización preferida, una composición que comprende el licor de cacao se trata con ácido después de la etapa de refinado y preferentemente antes, durante o después del proceso de conchado.

El tratamiento con ácido puede ser como se define en cualquiera de las reivindicaciones dadas anteriormente para los virutas de cacao. Cuando se aplica el tratamiento ácido en el licor de cacao, se aplican condiciones similares como por ejemplo concentración de ácido, condiciones de pH, tipos de ácidos, periodos de tratamiento, temperaturas, etc. como se describe anteriormente para los virutas de cacao.

Los granos de cacao fermentados de acuerdo con el presente procedimiento o los materiales de cacao derivados de los mismos, pueden someterse adicionalmente a tratamiento o tratamientos adicionales, junto al tratamiento ácido descrito anteriormente. Por ejemplo, en una realización, los granos de cacao pueden someterse a un pre-secado y/o calentamiento, antes del tratamiento ácido descrito en el presente documento. Preferentemente el pre-secado y/o las condiciones de calentamiento se controlan para evitar dañar los polifenoles naturales en los materiales tratados. Por ejemplo, el calentamiento y/o el pre-secado puede ayudar a aventar, es decir, retirar las cáscaras de los granos de cacao.

En otra realización, puede llevarse a cabo una etapa adicional que comprende reducir el tamaño de los virutas de cacao por medios mecánicos antes del tratamiento con el ácido o la solución ácida acuosa. Las técnicas y los aparatos que pueden aplicarse para ese fin se conocen bien en la técnica. Esta etapa adicional tiene el beneficio de agilizar el procesamiento y/o el secado de los virutas.

La presente invención también se refiere a material derivado de cacao rojo o morado obtenido a partir de granos de cacao que se han fermentado con una composición microbiana como se define en el presente documento en el que dicho material derivado de cacao se selecciona del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate y preferentemente son virutas de cacao o licor de cacao.

El color del material derivado de cacao tal como virutas de cacao o licor de cacao obtenido de acuerdo con la presente invención puede medirse o determinarse usando técnicas bien conocidas. Una técnica adecuada se ha descrito anteriormente.

Por ejemplo, el color de los polvos de cacao puede especificarse por medio de coordenadas de color. Un sistema frecuentemente usado se ha desarrollado por R. S. Hunter (véase Hunter, R. S., The Measurement of Appearance, John Wiley and Sons, Nueva York, 1975). En este sistema, el color puede describirse en términos de coordenadas L\*, a\* y b\*, C\* y t°. La coordenada L es coherente con el Valor de Luminosidad y pueden calcularse el Croma y la

Tonalidad a partir de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ . La coordenada  $L^*$  puede asumir valores entre 0 (negro) y 100 (blanco). Cuanto menor es el valor  $L$ , cuanto más cerca de cero está  $L^*$ , más oscuro parecerá el polvo de cacao. Un valor alto de la coordenada  $a^*$  indica un componente rojo pronunciado en el color del polvo de cacao; un valor alto de la coordenada  $b^*$  señala la presencia de un montón de amarillo. Con respecto al color rojo, cuanto mayor es la relación  $a^*:b^*$ , más rojo será el color del cacao.  $C^*$  se refiere a la saturación de color y  $t^\circ = \arctg b^*/a^*$  es el valor de la tonalidad.

Los sistemas y aparatos de medida apropiados conocidos en la técnica pueden usarse para determinar los valores de las coordenadas de color. Los valores  $L$ -,  $a$ - y  $b$ - del polvo de cacao pueden determinarse por ejemplo, con el Metro de Diferencia de Color Digital Hunterlab, tipo D 25 D2 A.

El término “rojo”, como se define en el presente documento, significa preferentemente que el material derivado de cacao, como se define anteriormente, cuando está en la forma de un polvo (opcionalmente después de haberse desgrasado), tiene:

- un valor  $L^*$  comprendido entre 39 y 48, preferentemente entre 40 y 45, más preferentemente entre 40 y 43, lo más preferentemente entre 40 y 42,
- una relación  $a^*$  a  $b^*$  mayor que 1,6, tal como mayor que 1,8, más preferentemente mayor que 2,0 y por ejemplo comprendida entre 2,2 y 3,2 o entre 2,4 y 3,1,
- un valor  $C^*$  mayor que 22, preferentemente mayor que 25 y por ejemplo comprendido entre 25 y 34 o entre 28 y 33 o entre 30 y 33 y
- un valor  $t^\circ$  comprendido entre 16 y 32 y por ejemplo entre 17 y 30 o entre 17 y 25,

como se mide de acuerdo con el procedimiento anterior.

De manera alternativa, el término “rojo” significa preferentemente que

- el valor  $L^*$  está comprendido entre 40 y 57, preferentemente entre 42 y 52 más preferentemente entre 44 y 48,
- el valor  $C^*$  está comprendido entre 18 y 40, preferentemente entre 25 y 35, más preferentemente entre 18 y 30,
- un valor  $t^\circ$  comprendido entre 7 y 40, preferentemente comprendido entre 10 y 35, más preferentemente mayor que 7 y
- opcionalmente, una relación  $a^*$  a  $b^*$  comprendida entre 1 y 8, preferentemente comprendida entre 3 y 6, más preferentemente de 4 a 5,

como se mide de acuerdo con el procedimiento anterior.

El término “morado”, como se define en el presente documento, significa preferentemente que el material derivado de cacao, como se define anteriormente, cuando está en la forma de un polvo (opcionalmente después de haber sido desgrasado), tiene:

- un valor  $L^*$  mayor que 46, preferentemente comprendido entre 47 y 57, más preferentemente comprendido entre 48 y 56, lo más preferentemente comprendido entre 50 y 56, tal como de 52 a 56,
- opcionalmente una relación  $a^*$  a  $b^*$  menor que 2,3, tal como menor que 1,8, más preferentemente comprendida entre 1 y 2,1, tal como de 1,5 a 2,1,
- un valor  $C^*$  menor que 18, preferentemente comprendido entre 10 y 17, tal como de 11 a 15 y
- un valor  $t^\circ$  comprendido entre 20 y 50, preferentemente comprendido entre 25 y 40 o entre 25 y 30,

como se mide de acuerdo con el procedimiento anterior.

Debe estar claro que los términos “rojo” y “morado” pueden considerarse que abarcan otras sombras de estos colores en sustancialmente la misma longitud de onda, tal como por ejemplo rosa, malva, violeta y parda.

La presente invención proporciona de esta manera un material derivado de cacao como se define anteriormente en la forma de un polvo y que tiene un valor  $L^*$ , un valor  $C^*$ , un valor  $t^\circ$  y opcionalmente una relación  $a^*$  a  $b^*$  como se define anteriormente. En un ejemplo la presente invención proporciona licor de cacao desgrasado en la forma de polvo que tiene los valores de coordenadas como se dan en la tabla 2.

**TABLA 2**

| Coordenadas                       | Material derivado de cacao (licor de cacao desgrasado) |               |               |               |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
|                                   | Ejemplo 1                                              | Ejemplo 2     | Ejemplo 3     | Ejemplo 4     |
| Valor $L^*$                       | Entre 40 y 45                                          | Entre 40 y 57 | Entre 47 y 57 | Entre 47 y 57 |
| Valor $C^*$                       | Entre 28 y 33                                          | Entre 18 y 40 | Entre 10 y 17 | Menos de 18   |
| Valor $t^\circ$                   | Entre 17 y 25                                          | Entre 7 y 40  | Entre 20 y 50 | Entre 25 y 40 |
| Relación $a^*$ a $b^*$ (opcional) | Entre 2,2 y 3,1                                        | Entre 1 y 8   | Menos de 2,3  | Entre 1 y 2,1 |

Productos corriente abajo

Los productos de cacao o los materiales derivados de cacao como se definen en el presente documento y obtenidos de acuerdo con los procedimientos de la presente invención pueden introducirse en productos alimenticios. Los granos de cacao de alto sabor de acuerdo con la presente invención son particularmente adecuados para la producción de productos alimenticios de alto sabor.

Usando una composición microbiana bien definida, se hace posible obtener granos de cacao fermentados y materiales derivados de cacao que tienen un gusto, un sabor, unas características nutricionales y/u organolépticas particulares.

Por ejemplo, en una realización, la presente invención permite proporcionar granos de cacao fermentados y materiales derivados de cacao que son menos astringentes y menos amargos.

También, la presente invención permite proporcionar granos de cacao fermentados y materiales derivados de cacao que tienen un gusto aromático fuerte. Por lo tanto los granos de cacao y los materiales derivados de cacao son particularmente adecuados para mezclarse con materiales de cacao de gusto "aburrido".

En otra realización, usando una composición microbiana bien definida de acuerdo con la presente invención, se hace posible producir granos de cacao y materiales derivados de cacao con un sabor frutal, por ejemplo, con un sabor de cerveza, plátano, cítrico, frambuesa, etc..., sin tener que añadir en ninguna etapa de procesamiento aditivos de sabor sintéticos o naturales y/o materiales vegetales/frutales o extractos vegetales/frutales.

Todavía en otra realización, usando cepas microbianas bien definidas en las composiciones microbianas usadas para fermentar los granos, la fermentación del cacao permite en algunos casos aumentar el contenido vitamínico de los granos fermentados, por ejemplo de la vitamina B12.

Todavía en otra realización, usando cepas microbianas bien definidas en las composiciones microbianas usadas para fermentar; los granos de cacao pueden proporcionarse a los que la cáscara se ha degradado al menos parcialmente. Ventajosamente, tales granos de cacao son más fáciles de procesar y por lo tanto proporcionan rendimientos mayores de licor de cacao. Es inesperado que tal característica pueda lograrse usando una composición microbiana bien definida para fermentar los granos.

La presente invención proporciona adicionalmente un producto alimenticio, preferentemente un producto de chocolate, preparado con uno o más granos de cacao y/o con uno o más productos de cacao o materiales derivados de cacao como se define en el presente documento y varios usos de tal producto alimenticio.

Los productos alimenticios, por ejemplo chocolate o productos de chocolate, que comprenden granos de cacao o productos de cacao o materiales derivados de cacao derivados de los mismos como se define en el presente documento tienen características mejoradas, incluyendo por ejemplo estabilidad de almacenamiento mejorada, propiedades organolépticas tales como por ejemplo un mejor perfil de sabor, una mejor liberación del sabor, una retención del sabor prolongada y una apariencia mejorada, que los productos equivalentes hechos a partir de granos de cacao que no se han pre-tratado de acuerdo con la presente invención. El término "chocolate" como se usa en el presente documento pretende incluir chocolate negro, chocolate con leche o chocolate blanco. La frase "productos de chocolate" se refiere a un producto que contiene chocolate como se define en el presente documento.

Por ejemplo, usar los presentes granos fermentados en la preparación de productos de chocolate tiene beneficios particulares y proporciona efectos inesperados.

Por ejemplo, en una realización, partiendo de granos fermentados de acuerdo con la presente invención, puede producirse un chocolate con leche rico en flavanoles altos con un gusto bueno. De acuerdo con la presente invención, los polifenoles se conservan mucho mejor en los granos de cacao cuando se aplica un procedimiento de fermentación controlado como se define en el presente documento. La cantidad de flavanoles puede ser incluso 1,5 a 2 veces mayor que en el chocolate con leche convencional. Los polifenoles se conocen por dar un gusto astringente. Sin embargo, sorprendentemente, cuando se usan granos fermentados de acuerdo con la presente invención, que son muy sabrosos y aromáticos, la astringencia debida al alto contenido en polifenoles puede enmascararse suficientemente mediante el sabor agradable de los granos.

En otra realización, la presente invención permite proporcionar chocolate negro con un color claro y alto gusto del cacao. Este tipo de chocolate puede obtenerse gracias al efecto de rotura de la luz de los granos que se han fermentado usando una composición microbiana como se describe en el presente documento, es decir debido a que los granos tienen una apariencia marrón clara. La presente invención permite proporcionar granos de cacao de un origen distinto de Java, que sin embargo tienen valores de coordenadas de color L y a/b (como se ha explicado anteriormente) que son similares a los granos de cacao de origen de Java. Los granos de Java tienen generalmente un genotipo de coloración más clara.

El polvo de cacao que se ha preparado a partir de los granos fermentados de acuerdo con la presente invención es un polvo de buen gusto que sin embargo es más claro en el color que un polvo de cacao convencional. Este tipo de

polvo “más claro” puede mezclarse ventajosamente con polvo de cacao de color oscuro que típicamente también tiene un alto contenido de polifenoles. La mezcla de polvo de cacao obtenida puede usarse después para preparar productos alimenticios, en particular refrescos o bebidas, que a pesar de tener un color más claro tienen un alto contenido de polifenoles.

Todavía en otra realización, puede prepararse una mantequilla de cacao de gusto bueno y natural a partir de granos fermentados de acuerdo con la presente invención. Típicamente la mantequilla de cacao se desodoriza durante su procesamiento. La desodorización sin embargo tiene la desventaja de inducir pérdidas de mantequilla de cacao. Sorprendentemente, se mostró que cuando se usan granos de cacao fermentados de acuerdo con la presente invención para preparar mantequilla de cacao se requiere significativamente menos desodorización de la mantequilla de cacao.

En otra realización, la presente invención permite proporcionar un chocolate de sabor fino aromático reproducible en vista de la calidad reproducible y constante de los granos fermentados. Además, incluso cuando se inicia desde un material fermentado relativamente uniforme y reproducible para producir chocolate, puede obtenerse un amplio espectro de sabores. De hecho, como una consecuencia de las condiciones de fermentación excelentes y controladas como se describe en el presente documento, están presentes un montón de precursores en los granos de cacao fermentados. Estos precursores pueden usarse de manera óptima ajustando las condiciones del tueste de los granos. En otras palabras, la presente invención permite obtener un amplio espectro de diferentes gustos esencialmente ajustando las condiciones de tueste de los granos fermentados.

Un mismo efecto se aplica cuando se consideran los licores de cacao. Incluso cuando se inicia desde un material fermentado relativamente uniforme y reproducible para producir licor de cacao, pueden producirse muchos gustos diferentes de licor.

Obsérvese también que la presente invención proporciona mantequilla de cacao de alta calidad, que tiene cantidades inferiores de AGL de otros componentes grasos en comparación con las mantequillas de cacao conocidas hasta el momento.

La presente invención se describirá ahora con mayor detalle a continuación con la ayuda de los ejemplos que siguen. No hace falta decir, sin embargo, que estos ejemplos se dan a modo de ilustración de la presente invención y que no constituyen de ninguna manera una limitación de la misma.

## Ejemplos

### **Ejemplo 1: Uso de una composición microbiana de acuerdo con la invención para fermentar granos de cacao**

El presente ejemplo ilustra un procedimiento para fermentar granos de cacao usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención en comparación con un proceso de fermentación natural. La composición microbiana de acuerdo con la presente invención usada en el presente experimento comprendía las siguientes cepas bacterianas: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Para los granos fermentados con una composición microbiana de acuerdo con la presente invención, se mezclaron granos de Costa de Marfil sin fermentar (por ejemplo 100 kg) con 100 ml de composición microbiana y después de 2 días, se dieron la vuelta y se dejaron fermentar durante otros 2 días. Otras condiciones experimentales aplicadas en el experimento se representan en la **tabla 3**.

**Tabla 3** Condiciones experimentales

| Condiciones                                   | Fermentación usando un cultivo de partida de la técnica anterior que comprende                                                             | Fermentación usando un cultivo de partida de acuerdo con la presente invención que comprende                                                                                        | Fermentación convencional Sin cultivo de partida |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Composición microbiana                        | <i>Lactobacillus plantarum</i> ,<br><i>Lactobacillus fermentum</i> ,<br><i>Acetobacter pasteurianus</i><br><i>Saccharomyces cerevisiae</i> | <i>Lactobacillus plantarum</i> ,<br><i>Lactobacillus fermentum</i> ,<br><i>Acetobacter pasteurianus</i> ,<br><i>Lactobacillus parafarraginis</i><br><i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Na (*)                                           |
| Origen de los granos de cacao                 | Costa de Marfil (Forastero)                                                                                                                | Costa de Marfil (Forastero)                                                                                                                                                         | Costa de Marfil (Forastero)                      |
| Cantidad de inóculo añadida (UFC/g de granos) | 10 <sup>6</sup> /g de granos                                                                                                               | 10 <sup>6</sup> /g de granos                                                                                                                                                        | Na (*)                                           |
| Tiempo necesario para fermentar               | 4 a 5 días                                                                                                                                 | 4 días                                                                                                                                                                              | 6 días                                           |

(continuación)

| Condiciones                                                                                                                                                                | Fermentación usando un cultivo de partida de la técnica anterior que comprende | Fermentación usando un cultivo de partida de acuerdo con la presente invención que comprende | Fermentación convencional Sin cultivo de partida |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Cantidades de polifenoles en los granos fermentados                                                                                                                        | Folin = +/- 3 %                                                                | Folin = +/- 4,5 %                                                                            | Folin = +/- 1 %                                  |
| Fructosa                                                                                                                                                                   | +/- 1,8 mg/g                                                                   | +/- 5,9 mg/g                                                                                 | +/- 3,5 mg/g                                     |
| Glucosa                                                                                                                                                                    | +/- 12 mg/g                                                                    | +/- 1,9 mg/g                                                                                 | +/- 1,25 mg/g                                    |
| Manitol                                                                                                                                                                    | +/- 8 mg/g                                                                     | +/- 0,7 mg/g                                                                                 | +/- 0,17 mg/g                                    |
| Ácido láctico                                                                                                                                                              | +/- 5 mg/g                                                                     | +/- 1 mg/g                                                                                   | +/- 1,32 mg/g                                    |
| Ácido cítrico                                                                                                                                                              | +/- 5 mg/g                                                                     | +/- 4,9 mg/g                                                                                 | +/- 6,21 mg/g                                    |
| Ácido acético                                                                                                                                                              | +/- 10 mg/g                                                                    | +/- 6,1 mg/g                                                                                 | +/- 11,55 mg/g                                   |
| Etanol                                                                                                                                                                     | +/- 10 mg/g                                                                    | +/- 0,1 mg/g                                                                                 | No detectado                                     |
| Recuento microbiano                                                                                                                                                        | +/- 10 <sup>6</sup> mg/g                                                       | +/- 10 <sup>4</sup> mg/g                                                                     | +/- 10 <sup>9</sup> mg/g                         |
| (*) na : no aplicable<br>En un ejemplo preferido, la composición microbiana de acuerdo con la presente invención comprendía 10 <sup>5</sup> UFC/g de cada cepa microbiana. |                                                                                |                                                                                              |                                                  |

Composición del grano

5 Los resultados de este ejemplo ilustran que la fermentación de los granos de cacao con el uso de una composición microbiana como se define en el presente documento es mucho más rápida que un proceso de fermentación convencional y que inesperadamente a pesar de esta fermentación más rápida, la cantidad de componentes de los granos fermentados incluyendo sus cantidades de azúcares, ácidos, etc., se mantiene satisfactoria y comparable con aquella encontrada en los granos fermentados convencionalmente (véase tabla 3).

10 Además, los resultados indican que los granos fermentados con una composición microbiana de acuerdo con la presente invención tienen una cantidad mucho mayor de polifenoles en comparación con los granos fermentados convencionalmente o en comparación con los granos que se han fermentado usando un cultivo de partida de la técnica anterior.

Apariencia y calidad del grano

15 Con respecto a la apariencia de los granos obtenidos se observó lo siguiente. Sorprendentemente, los granos que se fermentaron usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención mostraron un efecto de rotura de la luz. Uno habla sobre un efecto de rotura de la luz en particular cuando el valor de L del color es 18 o mayor y preferentemente alrededor de 20 o mayor. Sorprendentemente, este efecto de rotura de la luz no se observó con los granos fermentados convencionalmente o con los granos que se han fermentado usando un cultivo de partida de la técnica anterior. Otro efecto particularmente beneficioso de usar una composición microbiana de acuerdo con la presente invención para fermentar granos de cacao es que se obtiene un recuento microbiano inferior en comparación con los granos fermentados convencionalmente o con los granos que se han fermentado usando un cultivo de partida de la técnica anterior. En otras palabras la cantidad de bacterias que quedan en los granos de cacao que se fermentaron de acuerdo con la presente invención era menor que en los granos de cacao fermentados convencionalmente (fermentados durante 6 días) o en los granos que se han fermentado usando una composición microbiana de la técnica anterior durante 4 días. Esto es ventajoso, ya que en tal caso los granos fermentados de acuerdo con la presente invención necesitan someterse a menos desbacterización para retirar la contaminación bacteriana antes de procesarse adicionalmente y/o puede tostarse menos severamente.

30 Además, se realizaron los siguientes análisis de calidad: apariencia de los granos, ensayo de corte (índice de fermentación) y análisis sensorial. El nivel de fermentación en el grano de cacao seco se determina típicamente por el "ensayo de corte". El ensayo de corte, que es un índice de fermentación y se basa en los cambios en el color, es el ensayo convencional que se usa para evaluar la lo adecuados que son los granos de cacao para la fabricación de chocolate. Se cortó un total de 300 g de granos longitudinalmente a través de la mitad para exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones. Ambas mitades se examinaron a plena luz del día y se colocaron en una de las siguientes categorías: completamente marrón (fermentado); parcialmente marrón, parcialmente morado (parcialmente fermentado); morado (no fermentado, sin embargo, véase a continuación); pizarroso (sobre-fermentado); dañado por insectos; mohoso; o germinado.



Los resultados del ensayo de corte realizado en los tres tipos de granos se resumen en la **Tabla 4** y mostraron que los granos que se fermentaron usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención mostraron menos defectos y eran mucho más uniformes que los otros dos tipos de granos. En la tabla 4, pizarroso se refiere a granos con un color grisáceo y otros defectos incluyen entre otros esporas o insectos o infestación de gusanos y el recuento de granos se refiere al número de granos en una muestra de 300 g.

**Tabla 4**

| Observación        | Fermentación usando un cultivo de partida de la técnica anterior | Fermentación usando un cultivo de partida de acuerdo con la presente invención | Fermentación convencional sin cultivo de partida |
|--------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Mohoso             | 0                                                                | 0                                                                              | 3                                                |
| Germinado          | 0                                                                | 0                                                                              | 1                                                |
| Pizarroso          | 3                                                                | 0                                                                              | 3                                                |
| Morado             | 1                                                                | 15                                                                             | 10                                               |
| Otros defectos     | 2                                                                | 0                                                                              | 5                                                |
| Recuento de granos | 95                                                               | 95                                                                             | 95                                               |

Los resultados de un ensayo de corte realizado en los granos de cacao fermentados en otro ejemplo usando el presente cultivo de partida se resumen en la **Tabla 4a**, junto con los criterios seleccionados aplicables para los denominados granos “de Grado 1”. Obsérvese que los granos de Grado 1 son altamente deseables y escasos (por ejemplo, pueden constituir normalmente solo aproximadamente el 0,4 % de la recolección de grano total). Ventajosamente, en un número de parámetros de calidad relevantes, tales como la fracción de granos defectuosos, con hongos o pizarrosos, los granos fermentados como se enseña en el presente documento son claramente superiores incluso que los granos de Grado 1. Con respecto a esto, uno entenderá que el recuento de grano puede influenciarse menos por la fermentación que por la estación.

También en particular, como sigue a partir de las Tablas 4 y 4a los granos fermentados como se enseña en el presente documento pueden contener una fracción considerablemente mayor de granos morados que los granos fermentados convencionalmente. Aunque el parámetro “morado” puede sugerir normalmente granos que no están fermentados adecuadamente, este no es el caso aquí. En particular como se explica anteriormente el color de los granos obtenidos por fermentación como se enseña en el presente documento es más claro (más pálido) que el de los granos fermentados convencionalmente. De hecho, los granos calificados como “morados” en el ensayo de corte de la Tabla 4a están bien fermentados, como se determina por la examinación de su estructura o su textura (no mostrado). Por lo tanto, la calificación “morado” aumentada refleja la coloración clara ventajosa de los presentes granos.

**Tabla 4a**

| Observación        | Fermentación usando un cultivo de partida de acuerdo con la presente invención | Criterios de grado 1 |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Recuento de granos | 93                                                                             | 100                  |
| Defectos           | 1,43                                                                           | 3,00                 |
| Mohoso             | 0,48                                                                           | 3,00                 |
| Pizarroso          | 0,93                                                                           | 3,00                 |
| Germinado          | 0,25                                                                           |                      |
| Roto               | 1,72                                                                           | <3                   |
| AGL                | 0,56                                                                           |                      |
| Morado             | 42,54                                                                          |                      |
| Humedad            | 8,13                                                                           | 8                    |

### **Ejemplo 2: Experimentos de gusto en granos de cacao**

Los granos que se fermentaron usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención y los granos fermentados convencionalmente como se describe en el ejemplo 1 se sometieron a análisis de gusto.

Los granos preparados como se describe en la Tabla 3 anterior, se secaron después por evaporación del agua al vacío durante calentamiento suave, a una temperatura por debajo de 60 °C, hasta que el contenido de humedad era

menor del 10 %. Los granos se tostaron en un horno a 120 °C durante 30 min. Los sabores generados tostando se evaluaron después mediante un panel de al menos 5 individuos usados para evaluar tales sabores. Las puntuaciones se evaluaron en un sistema de puntos de 0 a 5. Una alta puntuación en una categoría indica una intensidad fuerte de un sabor particular. Cada muestra se evaluó para las siguientes sensaciones: "acidez"; "astringencia"; "amargor"; "chocolate"; "frutal"; "Aromático"; "vino"; "terroso"; "mohoso"; "ahumado"; "flojo" (es decir, mal sabor). La **Tabla 5** y la **Figura 1** muestran los resultados de un panel de sabor para los granos preparados de acuerdo con el presente ejemplo.

De acuerdo con el panel de gusto objetivo, los granos fermentados de acuerdo con un procedimiento de la presente invención tenían una calidad reproducible y buena, por ejemplo comparable con las características de origen de "JAVA". Los resultados indican que inesperadamente podría obtenerse un gusto y una calidad aceptables si los granos se obtuvieran fácil y rápidamente, es decir en aproximadamente 4 días, que es considerablemente más rápido que cuando se aplica un proceso de fermentación convencional. Además, en comparación con los granos convencionales, los granos fermentados de acuerdo con el procedimiento de la presente invención tenían menores puntuaciones para los malos, tales como "terroso"; "mohoso"; "ahumado"; "flojo".

**Tabla 5**

|                      | Fermentación usando un cultivo de partida de acuerdo con la presente invención | Fermentación convencional sin cultivo de partida |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Descriptores/Juicios | Media                                                                          | Media                                            |
| Acidez               | 1,5                                                                            | 1                                                |
| Astringencia         | 1,75                                                                           | 2                                                |
| Amargor              | 2,25                                                                           | 2,25                                             |
| Chocolate            | 0,75                                                                           | 0,25                                             |
| Frutal               | 0,5                                                                            | 0                                                |
| Aromático            | 0,25                                                                           | 0                                                |
| vino                 | 0                                                                              | 0                                                |
| Terroso              | 0                                                                              | 1                                                |
| Mohoso               | 0                                                                              | 1                                                |
| Ahumado              | 0                                                                              | 0                                                |
| flojo                | 0                                                                              | 1                                                |

### **Ejemplo 3: Experimentos de sabor en chocolate**

Los granos descritos en el ejemplo 1 se usaron para preparar chocolate. El chocolate obtenido contenía un 52 % de sólidos de cacao y se sometió a un panel de sabor de al menos 5 individuos que evaluaron el chocolate obtenido en una escala del 0 al 100 para las siguientes sensaciones: "intensidad"; "amargor"; "sabor a cacao"; "frutal"; "agrio"; "floral"; "intensidad del regusto". La **Figura 2** muestra los resultados de este experimento de gusto.

Como también puede derivarse de la **Figura 2** y como se informó mediante el panel de gusto, el chocolate preparado con los granos que se fermentaron usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención tenía un sabor muy homogéneo y no se percibían malos sabores y tenían un gusto frutal y floral mejorado.

En contraste con esto, el chocolate preparado con los granos fermentados convencionalmente o con los granos fermentados con la composición microbiana indicada tenía gusto menos frutal y menos floral. Además, el chocolate preparado con los granos fermentados con la composición microbiana indicada tenía un gusto más agrio.

Además, el chocolate preparado con los granos que se fermentaron usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención también se informó que tenía altas cantidades de polifenoles.

### **Ejemplo 4: Granos de cacao fermentados usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención**

En este ejemplo, los granos se fermentaron en cajas. Se mezclaron 100 kg de granos de cacao sin fermentar de Costa de Marfil (variedad Forastero) con 100 ml de mezcla de composición microbiana que comprende las siguientes cepas bacterianas: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus* y *Lactobacillus parafarraginis*; y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y se dejaron fermentar durante 2 días. Después de 2 días, los granos se dieron la vuelta y se dejaron fermentar adicionalmente durante otros 2 días.

Durante la fermentación se siguieron en línea el pH y la temperatura y los granos fermentados secos se recogieron después de 4 días. El pH y las temperaturas pueden medirse usando un sensor digital (por ejemplo sensor de pH

340i, WTW Gmbl, Weilheim, Alemania) que se colocó en el medio de la biomasa fermentante en las cajas.

Los granos se secaron después (por ejemplo por secado al sol). Después los granos secos se tostaron de 2 a 120 °C durante 30 min.

5 Para comparar, se fermentaron convencionalmente granos de cacao sin fermentar de Costa de Marfil (variedad Forastero) durante 6 días y se secaron y se tostaron de la misma manera que se ha descrito anteriormente. Se midieron las siguientes características: pH final, contenido de polifenoles total, contenido de grasas, contenido de ácidos grasos libres (AGL), ensayo de corte, color y gusto de la masa de cacao.

10 Los presentes solicitantes determinaron que los granos de cacao fermentados usando una composición microbiana como se define en el presente documento tenían el efecto beneficioso de mejorar el procesamiento de los granos. Los granos obtenidos requerían entre otros menos mano de obra intensiva de secado. Además, no había crecimiento de mohos durante el secado y se obtuvieron granos limpios después del secado. Además, los granos obtenidos tenían un bonito color marrón, indicando que se habían fermentado adecuadamente.

15 La **Figura 3** muestra los resultados del experimento del panel de gusto e indica que los granos de cacao que se habían sometido a fermentación con una composición microbiana como se define en el presente documento durante 4 días obtuvieron un buen gusto, que estaba comprendido dentro de los intervalos de gusto del cacao mínimo y máximo aceptables. Como se ilustra en la **Figura 3** y de acuerdo con un panel de gusto objetivo, los granos obtenidos tenían un buen sabor sin ningún gusto malo presente, incluso si los granos podían obtenerse en un tiempo de fermentación acortado (por ejemplo 4 días).

20 La **Figura 4** compara los resultados del experimento del panel de gusto llevado a cabo en tres muestras diferentes de granos que se habían fermentado cada una con una composición microbiana como se define en el presente documento durante 4 días. Como puede verse, cada prueba produjo granos de cacao con un buen gusto, que cayeron dentro de los intervalos de gusto del cacao mínimo y máximo aceptables. Con referencia a la Figura 4, puede concluirse que el presente procedimiento y el gusto de los intervalos de gusto del cacao mínimo y máximo aceptables.

25 Las Figuras 3 y 4 también ilustran que el uso de una composición microbiana como se define en el presente documento proporciona granos de una calidad reproducible y buena y que la masa de cacao de buen gusto puede obtenerse después de solamente 4 días de fermentación y que en el presente ejemplo no se detectaron sabores sustancialmente malos en tres pruebas separadas.

30 Adicionalmente, los presentes solicitantes han mostrado que el contenido de AGL era mucho menor en los granos que se habían fermentado usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención en comparación con granos fermentados convencionalmente. En granos fermentados espontáneamente se midieron valores de AGL de más del 8 %, mientras que en los granos fermentados usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención se midieron niveles de AGL entre el 0,3 y el 0,6 % ( $\pm 0,3$  %).

35 Además, con respecto a los defectos, los presentes solicitantes han determinado que en la fermentación espontánea se detectaron más del 4 % de defectos, por ejemplo granos planos, granos infectados, etc., mientras que en los granos secos fermentados usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención se detectaron menos del 0,5 % de defectos.

40 Además, la **Figura 5** muestra que se midieron cantidades mucho mayores de polifenoles en general (expresadas en %) y de epicatequina en particular (expresadas en mg/g) en granos que se habían fermentado usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención en comparación con granos fermentados convencionalmente. En particular, como se muestra en la **Figura 5** había una conservación dos veces mayor del contenido de polifenoles natural y un alto aumento en el contenido de epicatequina en los granos secos fermentados usando una composición de acuerdo con la presente invención en comparación con los granos fermentados y secos convencionalmente.

45 Finalmente, los presentes solicitantes mostraron que podrían obtenerse resultados similares independientemente del procedimiento de fermentación aplicado (por ejemplo en caja, pila, cesta). Todos los procedimientos dieron lugar a los mismos resultados y calidad finales. No hubo defectos sustanciales de los granos y los granos eran de excelente calidad, cualquiera que fuera el procedimiento de fermentación adecuado. Además, como se indica en la **Figura 6** para una fermentación en pilas en cesta, cuando se llevan a cabo cuatro pruebas diferentes, los perfiles de temperatura y pH de la fermentación eran altamente reproducibles.

50 Resumido, usando una composición microbiana como se define en el presente documento para dirigir la fermentación de los granos de cacao, pueden obtenerse granos fermentados que tienen las siguientes características:

- 55 - granos que están limpios y son más fáciles de almacenar; sin defectos sustanciales; no se detecta crecimiento fúngico sustancial; sin germinación significativa;
- Contienen pocos ácidos grasos libres (valores de AGL por debajo del 0,5 % en peso);

- Granos de alta calidad con buena capacidad de procesamiento de los granos;
- Gusto aromático reproducible sin sabores malos significativos.

**Ejemplo 5: Apariencia de los granos de cacao fermentados usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención**

Los granos de cacao se fermentaron en condiciones similares como se explica en el Ejemplo 1. Los granos fermentados obtenidos mostraron un efecto de rotura de la luz. Sorprendentemente, este efecto de rotura de la luz no se observó con los granos fermentados convencionalmente. La **Tabla 6** ilustra los valores de coordenadas de acuerdo con el sistema de color Hunter para una muestra de granos de cacao fermentados de acuerdo con la presente invención en comparación con una muestra de granos de cacao que se ha fermentado convencionalmente, sin usar una composición microbiana como se define en el presente documento.

**TABLA 6**

| Granos de cacao                                                                   | % de grasas | % de AGL | L*    | a*    | b*    | C*    | t°    | pH   | Viscosidad |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------------|
| Fermentados usando la composición microbiana de acuerdo con la presente invención | 56,13       | 0,45     | 19,97 | 13,54 | 13,74 | 19,29 | 45,42 | 5,34 | 41,5       |
| Fermentados convencionalmente                                                     | 55,56       | 1,35     | 14,63 | 13,03 | 13,77 | 18,96 | 46,58 | 5,84 | 67,8       |

A partir de estos resultados está claro que el valor L es significativamente diferente y mayor para los granos fermentados de acuerdo con la presente invención en comparación con los granos fermentados convencionalmente. El procesamiento de los granos fermentados de acuerdo con la presente invención en chocolate puede de esta manera dar lugar a chocolate más claro, del que hay una alta demanda en la industria del chocolate y por los consumidores. Por comparación, los valores L obtenidos para los granos fermentados de acuerdo con la presente invención son comparables con aquellos de los granos de Java, que se conocen tradicionalmente porque tienen un color más claro y están alrededor de 20. En un ejemplo típico, los valores de los granos de Java son los siguientes: L = 20, a = 17, b = 20.

**Ejemplo 6. Capacidad de procesamiento de los granos de cacao fermentados usando una composición microbiana de acuerdo con la presente invención**

Los presentes inventores se han dado cuenta adicionalmente de que los granos fermentados como se ha enseñado en el presente documento permiten numerosas mejoras en el procesamiento corriente debajo de los granos, tales como cuando se usan líneas de Bühler o Barth convencionales. En una prueba piloto usando una línea de Barth la eficacia global del procedimiento podría aumentarse hasta un 30 a un 50 % en comparación con los granos fermentados convencionalmente, con reducciones conjuntas de los costes de energía y de mantenimiento. Esta elevación global de la eficacia del procedimiento comprende mejoras en las fases individuales del procesamiento corriente abajo. Por ejemplo, la velocidad del procedimiento para micronizar y para aventar podría aumentarse un 28 %, la velocidad del procedimiento para mezclar y tostar podría mejorarse cada una aproximadamente un 100 % con espacio para una optimización adicional, mientras que la velocidad del procedimiento de enfriado podría mejorarse aproximadamente un 200 %. En esta prueba, la molienda podría mejorarse aproximadamente un 30-40 %.

Además, los granos fermentados como se enseña en el presente documento pueden proporcionar también un prensado del licor más rápido. Adicionalmente, los granos fermentados como se enseña en el presente documento pueden proporcionar una reología del chocolate mejorada, que a su vez permite reducir la cantidad de mantequilla de cacao en los productos de chocolate, de esta manera reduciendo el coste.

Los presentes inventores también han observado mejoras considerables en la producción del procedimiento de molienda como se muestra en las Tablas 7 y 8 (véase valores de producción medios y máximos) respectivamente para líneas de Barth y de Bühler.

**Tabla 7**

| Relleno (granos de fermentación convencional sin cultivo de partida) | Producción media | Finura  | Producción máxima |
|----------------------------------------------------------------------|------------------|---------|-------------------|
| 130936                                                               | 1933             | 99,81 % | 1933              |
| 140939                                                               | 1785             | 99,86 % | 1827              |
| 130942                                                               | 1490             | 99,80 % | 1762              |
| 140944                                                               | 1230             | 99,90 % | 1768              |

(continuación)

| <b>Relleno (granos de fermentación convencional sin cultivo de partida)</b> | <b>Producción media</b> | <b>Finura</b>  | <b>Producción máxima</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------|--------------------------|
| 130945                                                                      | 1802                    | 99,80 %        | 1802                     |
| 140947                                                                      | 1801                    | 99,80 %        | 1887                     |
| 130948                                                                      | 1500                    | 99,84 %        | 1886                     |
| 140951                                                                      | 1365                    | 99,82 %        | 1782                     |
| 130953                                                                      | 1400                    | 99,81 %        | 1665                     |
| <b>Media</b>                                                                | <b>1590</b>             | <b>99,83 %</b> | <b>1812</b>              |
|                                                                             |                         |                |                          |
| <b>Relleno (granos de fermentación convencional sin cultivo de partida)</b> | <b>Producción media</b> | <b>Finura</b>  | <b>Producción máxima</b> |
| 130930                                                                      | 1423                    | 99,83 %        | 2385                     |
| 130926                                                                      | 2097                    | 99,83 %        | 2270                     |
| 130923                                                                      | 1459                    | 99,83 %        | 1772                     |
| 140933                                                                      | 1486                    | 99,80 %        | 2402                     |
| 140928                                                                      | 1713                    | 99,79 %        | 2543                     |
| 140925                                                                      | 1715                    | 99,81 %        | 2461                     |

Tabla 8

| <b>Relleno (granos de fermentación convencional sin cultivo de partida)</b> | <b>Producción media</b> | <b>Finura</b>  | <b>Producción máxima</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------|--------------------------|
| 320831                                                                      | 3281                    | 99,12 %        | 3659                     |
| 320828                                                                      | 2868                    | 99,06 %        | 3405                     |
| 320825                                                                      | 3493                    | 98,64 %        | 3493                     |
| 310830                                                                      | 2953                    | 99,16 %        | 3442                     |
| 310827                                                                      | 3170                    | 99,26 %        | 3170                     |
| 330829                                                                      | 3386                    | 98,89 %        | 3412                     |
| 330826                                                                      | 3398                    | 98,98 %        | 3398                     |
| 330824                                                                      | 2560                    | 98,58 %        | 3468                     |
| 330832                                                                      | 3209                    | 99,05 %        | 3542                     |
| <b>Media</b>                                                                | <b>3146</b>             | <b>98,97 %</b> | <b>3443</b>              |
|                                                                             |                         |                |                          |
| <b>Relleno (granos de fermentación convencional sin cultivo de partida)</b> | <b>Producción media</b> | <b>Finura</b>  | <b>Producción máxima</b> |
| 310847                                                                      | 3600                    | 98,71 %        | 4350                     |
| 330848                                                                      | 3290                    | 99,22 %        | 3990                     |
| 320849                                                                      | 3785                    | 98,94 %        | 4525                     |
| 310850                                                                      | 4365                    | 99,29 %        | 4630                     |
| 330851                                                                      | 4270                    | 99,48 %        | 4270                     |
| 320852                                                                      | 4245                    | 99,52 %        | 4455                     |
| 310853                                                                      | 4285                    | 99,25 %        | 4420                     |
| 320854                                                                      |                         | 99,52 %        |                          |
| 330855                                                                      | 4450                    | 99,16 %        | 4450                     |
| 310856                                                                      | 4280                    | 918 %          | 4280                     |
| 320857                                                                      | 3630                    | 98,98 %        | 3770                     |
| <b>Media</b>                                                                | <b>4020</b>             | <b>99,20 %</b> | <b>4314</b>              |

Ejemplo 7: Experimentos usando otras composiciones microbianas de la invención

La fermentación del cacao se lleva a cabo en las condiciones generales del Ejemplo 1, salvo que los cultivos microbianos que se emplean comprenden las siguientes cepas bacterianas y de levaduras.

- 5 Composición I: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus farraginis*, *Saccharomyces cerevisiae*.
- Composición II: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus diolivorans*, *Saccharomyces cerevisiae*.
- Composición III: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus faeni*, *Saccharomyces cerevisiae*.
- 10 Composición IV: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus paracasei*, *Saccharomyces cerevisiae*.
- Composición V: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Saccharomyces cerevisiae*.
- 15 Composición VI: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Los granos fermentados usando las composiciones I a VI de partida se examinan y se observan ventajas comparables con aquellas vistas usando la composición microbiana del Ejemplo 1 como se ilustra en los Ejemplos 2 a 6. En particular, los granos fermentados usando las composiciones I a VI de partida también permiten controlar el índice de fermentación de los granos de cacao (criterios del ensayo de corte, coloración), apariencia y/o propiedades sensoriales de los granos fermentados, por ejemplo, propiedades sensoriales, contenido de ácidos orgánicos, de alcoholes de azúcares, de polifenol, de teobromina o de cafeína de los granos tostados y/o características organolépticas (gusto, sabor, aroma, textura, color, reología, comportamiento de cristalización, etc.), características nutricionales, propiedades tecnológicas, bienes de calidad (aroma, gusto, sabor, composición de ácidos grasos, contenido de polifenoles, contenido de teobromina, contenido de cafeína, etc.) de los productos de cacao, tales como, particularmente chocolate. Los granos fermentados usando las composiciones I a IV de partida también muestran un efecto de rotura de la luz comparable con el expuesto en el Ejemplo 5 y un procesamiento mejorado análogo al que se enseña en el ejemplo 6.

20

25

## REIVINDICACIONES

1. Uso de una composición microbiana para regular la fermentación de material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, en el que dicha composición comprende:
  - 5       - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter pasteurianus*,  
- al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus parafarraginis*, *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei* y  
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.
- 10      2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha composición comprende:
  - *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus parafarraginis* y  
- al menos una cepa de una especie de levadura de un género elegido a partir del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Candida*.
- 15      3. Uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicha composición comprende adicionalmente al menos una especie adicional de *Lactobacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus farraginis*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus faeni* y *Lactobacillus paracasei*.
4. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicha levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.
- 20      5. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha composición es cualquiera de las composiciones A a O indicadas en la Tabla 1.
6. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha composición es un cultivo de partida o un cultivo de alta densidad, que comprende al menos  $10^2$  UFC (unidades formadoras de colonias) de cepas bacterianas por g de material vegetal.
- 25      7. Procedimiento para regular la fermentación de material vegetal que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao*, comprendiendo dicho procedimiento añadir al material vegetal una composición microbiana como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
8. Material vegetal fermentado que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao* y preferentemente granos de cacao fermentados, obtenidos llevando a cabo el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7.
- 30      9. Material vegetal fermentado que consiste esencialmente en granos y/o pulpa derivados de vainas frutales de la especie *Theobroma cacao* y preferentemente granos de cacao fermentados, obtenibles llevando a cabo el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7.
10. Un producto de cacao seleccionado del grupo que comprende o que consiste en virutas de cacao, polvo de cacao, extracto de cacao, licor de cacao, masa de cacao, mantequilla de cacao y pastel de cacao, preparado con  
35      material de cacao fermentado como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9.
11. Chocolate o producto de chocolate preparado con material de cacao fermentado como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9 o preparado con el producto de cacao como se define en la reivindicación 10.
- 40      12. Procedimiento para producir un material derivado de cacao rojo o morado a partir de granos fermentados, que comprende las etapas de:
  - a) proporcionar granos de cacao que han sido fermentados con una composición microbiana como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,
  - b) preparar un material derivado de cacao a partir de los granos fermentados de la etapa a) y
  - c) tratar el material derivado de cacao de la etapa b) con un ácido o con una solución ácida acuosa
- 45      en el que dicho material derivado de cacao se selecciona del grupo que comprende virutas de cacao, escamas de cacao, pastel de cacao, polvo de cacao, licor de cacao y chocolate y preferentemente virutas de cacao o licor de cacao.

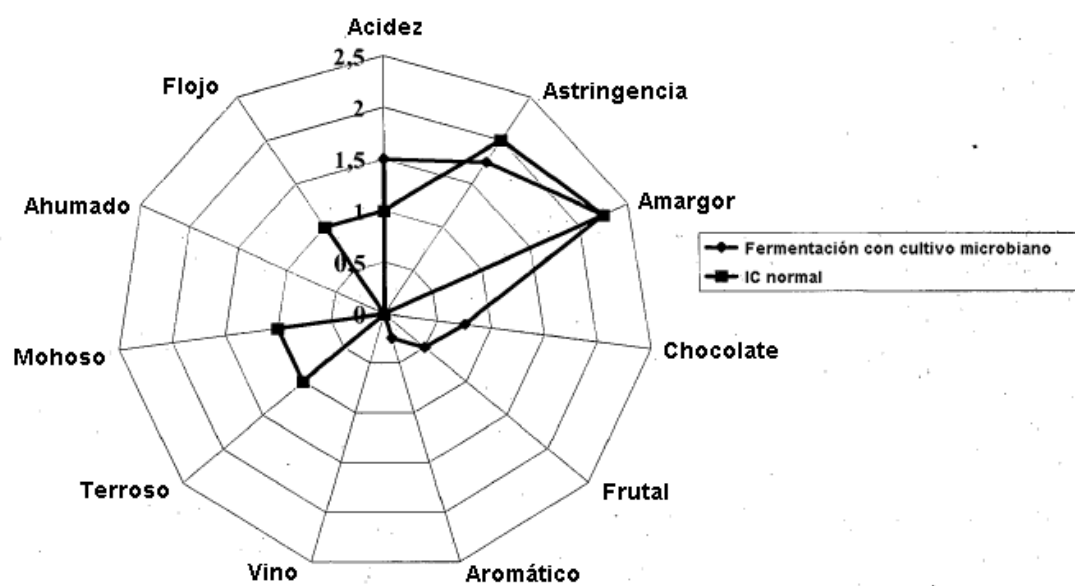


FIG. 1

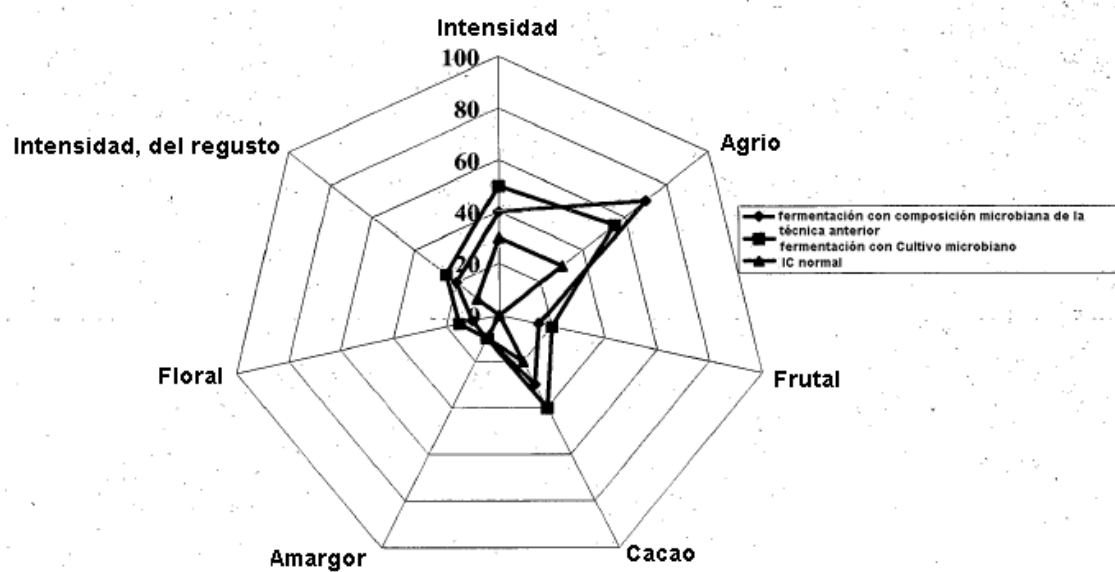
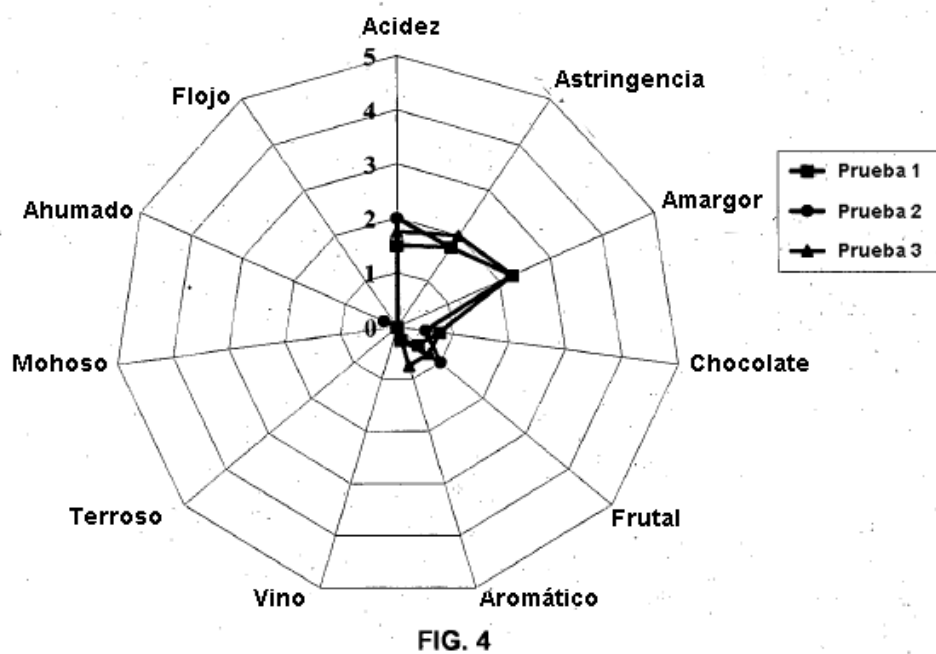
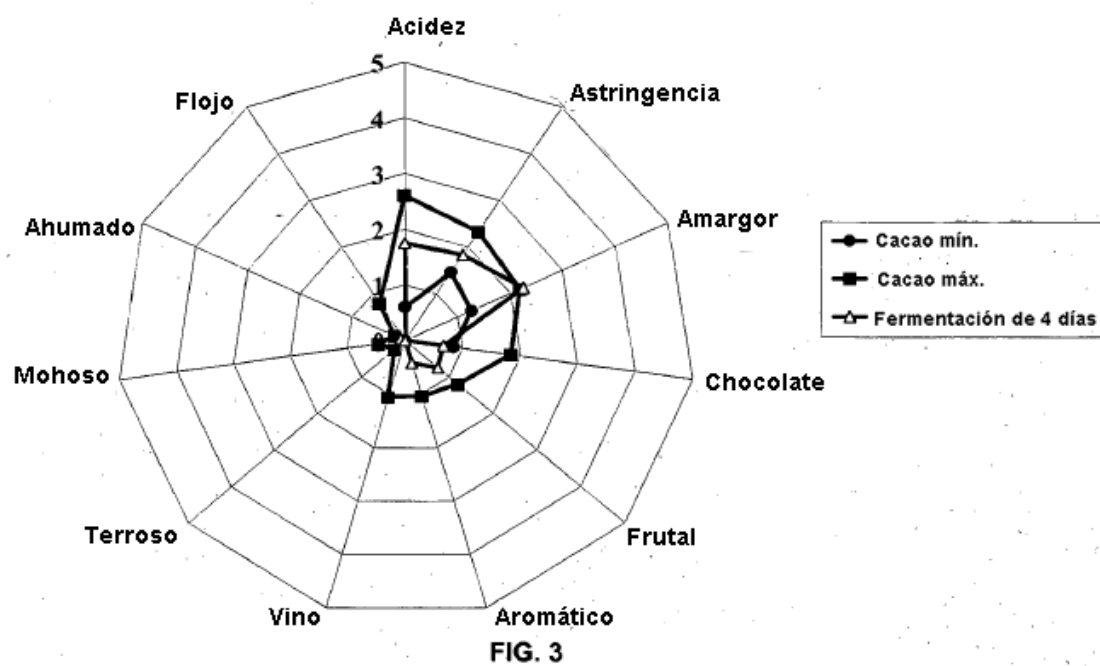


FIG. 2





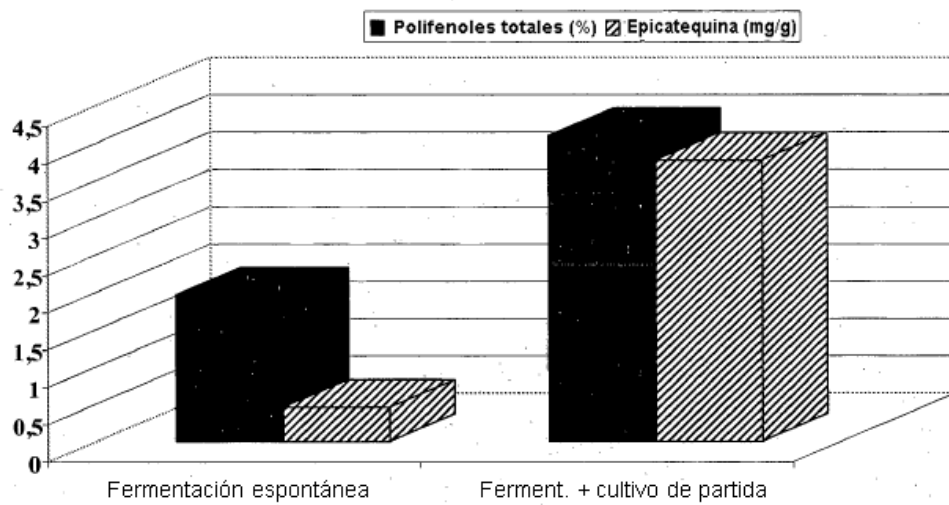


FIG. 5

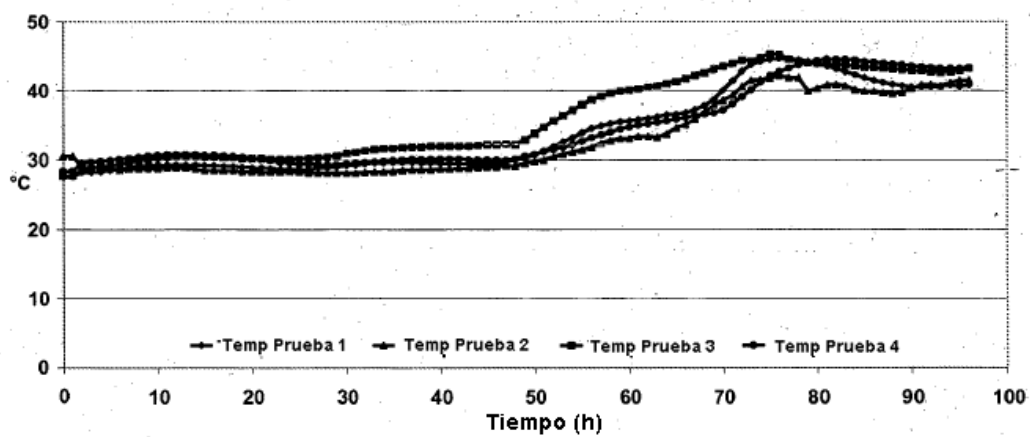


FIG. 6