



Año de las Universidades Públicas
por la conectividad como
derecho humano universal

BICENTENARIO DE LA
INDEPENDENCIA DE COSTA RICA

Informe de Avance

Estado de las comunidades cacaoteras de la Región Brunca
para futuras investigaciones de la UNA-SRB

Alejandra Mencía Guevara

Julio, 2021

Tabla de contenido

Introducción.....	4
Resultados.....	5
Ubicación de fincas de personas encuestadas.....	5
Plantaciones	6
Productores	9
Prácticas agronómicas.....	10
Material genético	10
Fertilizantes.....	10
Estudios en suelo.....	13
Transformación.....	14
Organizaciones	16
Golfito.....	17
Corredores	18
Buenos Aires.....	18
Osa.....	19
Coto Brus	19
Pérez Zeledón.....	19
Otras actividades.....	20
Conclusiones	24
Referencias	26

Listado de Figuras

Figura 1. Ubicación de fincas de productores	5
Figura 2. Fincas de cacao en la Región Brunca	8
Figura 3. Rangos de edad de los productores	9
Figura 4. Tipo de fertilizantes empleado en la plantación de cacao.....	12
Figura 5. Tipo de control de malezas empleado en la plantación de cacao.....	12
Figura 6. Tipo de insecticida que emplea en la plantación de cacao.....	12
Figura 7. Tipo de fungicida que emplea en la plantación de cacao.....	12
Figura 8. Productores que realizan estudios en suelos.....	13
Figura 9. Presentación en la que venden el cacao	15
Figura 10. Presentación en la que vende el cacao	15
Figura 11. Organización de productores.....	16
Figura 12. Limitantes para el procesamiento de cacao.....	21

Listado de Tablas

Tabla 1 Resumen de plantaciones de cacao a nivel nacional	6
Tabla 2. Promedio de producción en baba y seco por año.....	7
Tabla 3. Área y productores por cantón de la Región Brunca	8
Tabla 4. Organizaciones de productores en la Región Brunca	17
Tabla 5. Resumen de retos en el sector cacaotero	24

Introducción

El presente informe reúne información de diferentes bases de datos (publicadas, no publicadas y próximas a publicar), encuestas a productores de cacao, comunicación directa con diferentes actores de la cadena productiva y de transformación de cacao.

La necesidad de sistematizar esta información nace con el objetivo de tener un punto de partida y delimitación de grupos meta para el proyecto “Caracterización de los territorios productores de cacao, sus entornos y transformaciones como parte de la riqueza biológica y potencial económico de la Región Brunca”, presentado ante la Vicerrectoría de Investigación en la convocatoria FIDA 2022. Esto porque la Región Brunca representa el 15% de la producción nacional de cacao, lo que se aproxima a un total de 244 productores, lo que vendrían a sobrepasar la capacidad en recursos tanto humano como económico con los que contaría el proyecto.

Uno de nuestros acercamientos con distintos grupos de productores fue a través de una encuesta que se elaboró tomando en cuenta aspectos que nos permitirían separar las comunidades tanto por tipo de material utilizado, área sembrada, afiliación a cooperativas, necesidades productivas, entre otras. La encuesta fue compartida con distintos actores a través de correo electrónico y mensajes de texto a dispositivos móviles. De igual forma se indagó con más personas relacionadas a la cadena de valor de cacao, a través de llamadas telefónicas. El acercamiento a las comunidades de manera presencial se vio afectado por los lineamientos de salud establecidos ante la situación pandémica.

El trabajo realizado por el Ministerio de Agricultura (MAG) en el Censo de Cacao 2021, Hidalgo (2021), para publicar en los próximos meses, nos permitió hacer una comparación de las tendencias detectadas en las respuestas de la encuesta aplicada en este trabajo ($n=21$) y darnos cuenta si ese grupo podría ser un punto de partida representativo para los futuros estudios tanto del proyecto presentado como los futuros proyectos por parte de la Sede Regional Brunca en el marco de la carrera de Calidad e Innovación Agroalimentaria (ICIAGRO) y el Centro de Investigación, Docencia, Extensión y producción de la Región Brunca (CIDEP)

Resultados

Se presentan datos de la encuesta elaborada, validada y divulgada por la académica Alejandra Mencía a diferentes actores de la cadena de valor de cacao (agentes del MAG, académicos, productores, cooperativas).

Los resultados discutidos a continuación son una comparación de diferentes fuentes de información de entidades gubernamentales, algunos de los datos han sido publicados oficialmente y otros están por serlo. Por lo que hasta el momento se solicita mantener la información para fines del informe de avance.

Ubicación de fincas de personas encuestadas

El grupo de productores ($n=21$) que participaron en la encuesta elaborada indicaron distintas ubicaciones para sus fincas (Figura 1). Se recibieron 10 respuestas del cantón de Pérez Zeledón, 6 de Golfito, 3 de Coto Brus, 1 Corredores y 1 de Osa. Del cantón de Buenos Aires no recibimos respuestas, pero se hará un esfuerzo por caracterizar esta área.

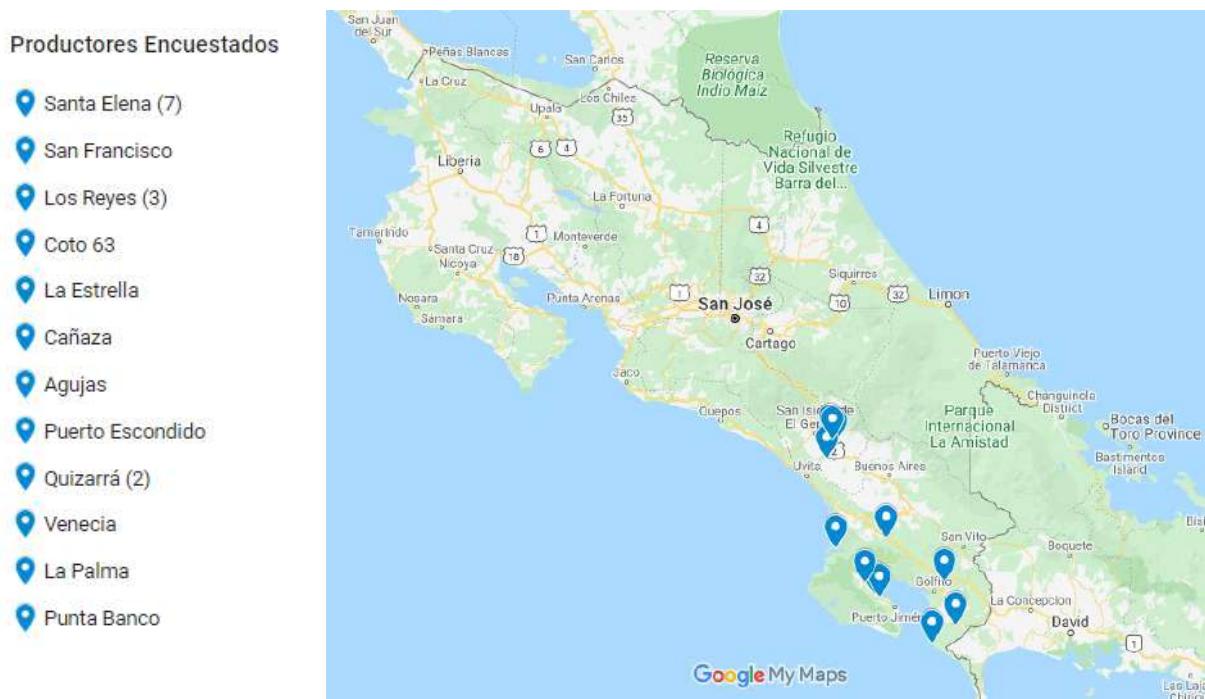


Figura 1. Ubicación de fincas de productores

Plantaciones

El censo de cacao que se está llevando a cabo durante este año 2021 en manos del MAG, que posee un 95% de la consulta meta establecida, ha determinado que a nivel nacional existen un total de 3,032.6 hectáreas de cacao en mano de 1,514 productores. La producción está distribuida en 3 principales zonas, Huetar Caribe, Huetar Norte y Brunca, con 827, 443 y 244 productores, respectivamente. La Tabla 1, muestra la distribución del área de producción de cacao, donde la Región Brunca, igual que en censos pasados (CENAGRO, 2014), ocupa el menor porcentaje a nivel nacional (15%). Un dato relevante es que a nivel nacional, para el año 2014 se reportaban 3,170 ha, lo cual indica una disminución de área sembrada, en las regiones Brunca (118 ha).

Tabla 1 Resumen de plantaciones de cacao a nivel nacional

Región	Área de cacao (ha)	%	Productores	%	Densidad de plantas/ha	Promedio de área/productor
Huetar Caribe	1,591.7	52	827	55	761	1.9
Huetar Norte	985.5	33	443	29	967	2.2
Brunca	455.4	15	244	16	764	1.8
TOTAL	3032.6	100	1514	100		2

Fuente: Hidalgo (2021)

El promedio de área por productor en la Región Brunca, que se obtuvo con la muestra que ha podido ser entrevistada con nuestra encuesta, también coincide con el reportado en el censo 2021 (1.7 ha por productor).

Tomando en cuenta que los rendimientos de transformación de grano en pulpa a grano seco en promedio son de 33% (dependiendo de condiciones de tiempo), es decir, 1,000 g de cacao en baba se convierten en 330 g de cacao seco. Tenemos que la Región Brunca en promedio apenas llega a 215 kg de cacao seco por hectárea por año.

(59.9 TM grano seco) esto en 151 fincas que se reportaron en producción, en la Región Norte se reporta el promedio más alto con 341 kg de cacao seco por hectárea por año (255.27 TM grano seco) en 364 fincas en producción y la Huetar Caribe 261 kg de cacao seco por hectárea por año (235.27 TM seco) con 584 fincas en producción (Tabla 2). Esto resulta en un promedio de 275 kg de cacao seco/hectárea/año en el país, y es un promedio muy bajo comparado con otros países como Ecuador con 532 kg/ha/año y Perú con 420 kg/ha/año (SEPSA, 2017). Con los materiales nuevos del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), las variedades que se están manejando y con las debidas recomendaciones agronómicas para cada variedad, se deberían de estar registrando promedios por encima o muy cerca de 2,000 kg de cacao seco/ha/año para hacer que la actividad sea completamente rentable.

Tabla 2. Promedio de producción en baba y seco por año

Área			
Región	(ha)	Kg/baba/año	TM en grano seco
Huetar Caribe	1 102,85	705 809,00	235,27
Huetar Norte	854,42	765 806,00	255,27
Brunca	314,63	179 703,00	59,9
TOTAL	2271.90	1,651,318.00	550,44

Fuente: Hidalgo (2021)

La zona de producción de la Región Brunca, que abarca cantones de las provincias de San José y Puntarenas, contabiliza un total de 244 productores. Los cantones que presentan mayor producción son los de Corredores, Golfito y Osa (Tabla 3). La península de Osa fue una zona altamente productiva antes de la infestación con el hongo Monilla (*Moniliophthora roreri*) en los años de 1980, que resultó en una disminución de un 85% de la producción a nivel nacional, pero ha sido a partir de los años 2,000 que han vuelto a surgir datos de producción de la zona, lo que demuestra como la actividad se ha venido recuperando con el interés de los productores de retomarla con la introducción de nuevas variedades tolerantes a plagas y enfermedades.

Tabla 3. Área y productores por cantón de la Región Brunca

Provincia	Cantón	Productores	Área (ha)
Puntarenas	Buenos Aires	18	32,1
	Corredores	57	123,8
	Coto Brus	43	75,3
	Golfito	55	75,3
	Osa	47	105,7
San José	Pérez Zeledón	24	42,7
Total		244	455,4

Fuente: Hidalgo (2021)

De las fincas contabilizadas, 96% muestran actividad, 2% se encuentra en abandonadas o no realizan prácticas al cacao para su producción, un 1% de las fincas registradas (4 fincas) simplemente no dieron información del estado de las plantaciones (Figura 2). Es importante mencionar que el 74% de las fincas están en manos de hombres y el 26% en manos de mujeres.

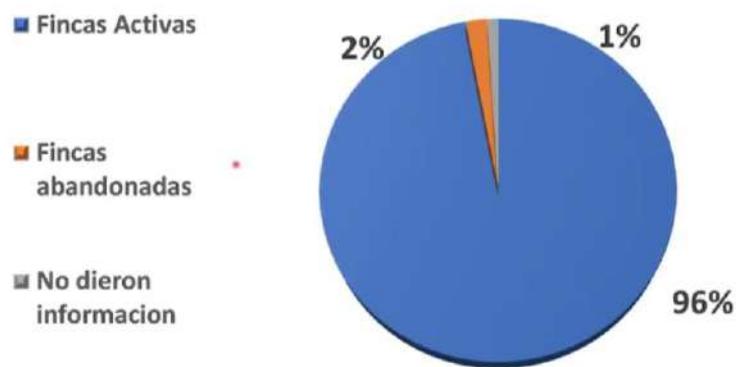


Figura 2. Fincas de cacao en la Región Brunca

Fuente: Hidalgo (2021)

Productores

Estas plantaciones censadas por el MAG, se encuentran en manos en su mayoría (63%) de personas con edades mayores a los 50 años, seguido por el grupo de 36-50 años (29%) y tan solo un 8% a personas de 18-35 años (Figura 3). El hecho de que las plantaciones estén en manos de personas mayores repercute de alguna forma en la apertura para a adopción de nuevas prácticas agronómicas, por el apego a costumbres arraigadas por muchas generaciones, de hasta 30 o 40 años atrás. Lo cual podría ser una de las razones por la cuales las densidades de siembra (764 plantas/ha) y rendimiento de 250 kg/anuales, no reflejan las recomendaciones que actualmente se sugieren, como ser la distancia entre plantas, manejo de sombra, planes de fertilización, podas, entre otros. Lo positivo de este dato, es que la actividad cacaotera se presta para que personas mayores participen de las actividades agronómicas involucradas en este cultivo (los árboles y frutos son pequeños, por ejemplo), ya que en otros casos podría presentar un riesgo físico para ello.

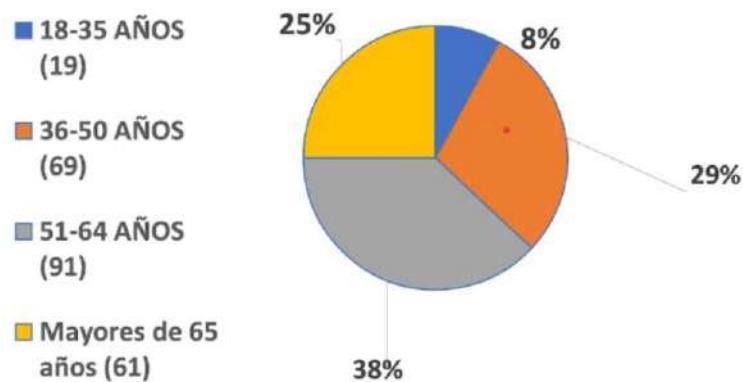


Figura 3. Rangos de edad de los productores

Fuente: Hidalgo (2021)

Prácticas agronómicas

La principal característica que se busca cuando se diseña un plan agronómico para cultivo es el de aumentar los rendimientos de la plantación, lo cual está determinado por diferentes factores. Entre estos factores predominan: material genético, condiciones climáticas, podas, control de enfermedades, malezas, planes de fertilización, estructura y química del suelo (pH, conductividad), entre otros.

Material genético

De los materiales genéticos mencionados por nuestro grupo encuestado, predominan las variedades criollas y los clones del CATIE (IMC67, CATIE R4, CATIER1, CATIE R6, CC167 ICS 95, PMCT 58). Los cuales obtuvieron por parte del Instituto de Desarrollo Rural (INDER), CATIE, COOPEAGRI, viveros de la zona o por reproducción en las mismas fincas.

Fertilizantes

La fertilidad del suelo se logra a través de prácticas como la aplicación de fertilizantes ya sean químicos u orgánicos, y también por características nativas del suelo, puesto que hay suelos que son ricos en nutrientes y hay suelos que presentan deficiencias de nutrientes esenciales para los cultivos.

Los nutrientes cumplen una función importante en la producción y en el suelo, están separados en dos grandes grupos; macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes son los elementos que se requieren en grandes cantidades donde los principales son el nitrógeno fósforo y potasio.

El nitrógeno tiene una participación importante, es esencial para el crecimiento vegetativo de las plantas, desarrollo de las ramas y hojas, es por esto que cuando viene a deficiencia las hojas se caen o se marchitan y hay un crecimiento mucho más lento de las plantas. El fósforo tiene un papel importante en el desarrollo de raíces, por eso es importante su aplicación principalmente en las primeras etapas de la plantación, para facilitar la adaptación y el desarrollo de nuevas raíces en el suelo. Una deficiencia de fósforo también está marcada por caída de hojas y un menor desarrollo radical.

El potasio tiene un impacto importante en la floración y principalmente en el desarrollo y la maduración de frutos, este nutriente es una de las principales limitantes de la producción de cacao, por el papel fundamental que juega en la

maduración de los frutos. Cuando existen deficiencias de potasio las hojas se caen y puede provocar una muerte regresiva del árbol.

El calcio, el magnesio y el azufre son otros de los 3 macronutrientes que se requieren en grandes cantidades, tienen funciones tanto a nivel estructural como a nivel fisiológico, como el magnesio en el proceso de fotosíntesis y el azufre en la conversión de nitrato amonio (componentes de nitrógeno). Por lo que el azufre viene a facilitar la eficiencia del nitrógeno presente en el suelo, la deficiencia de azufre va a producir un crecimiento lento de la planta.

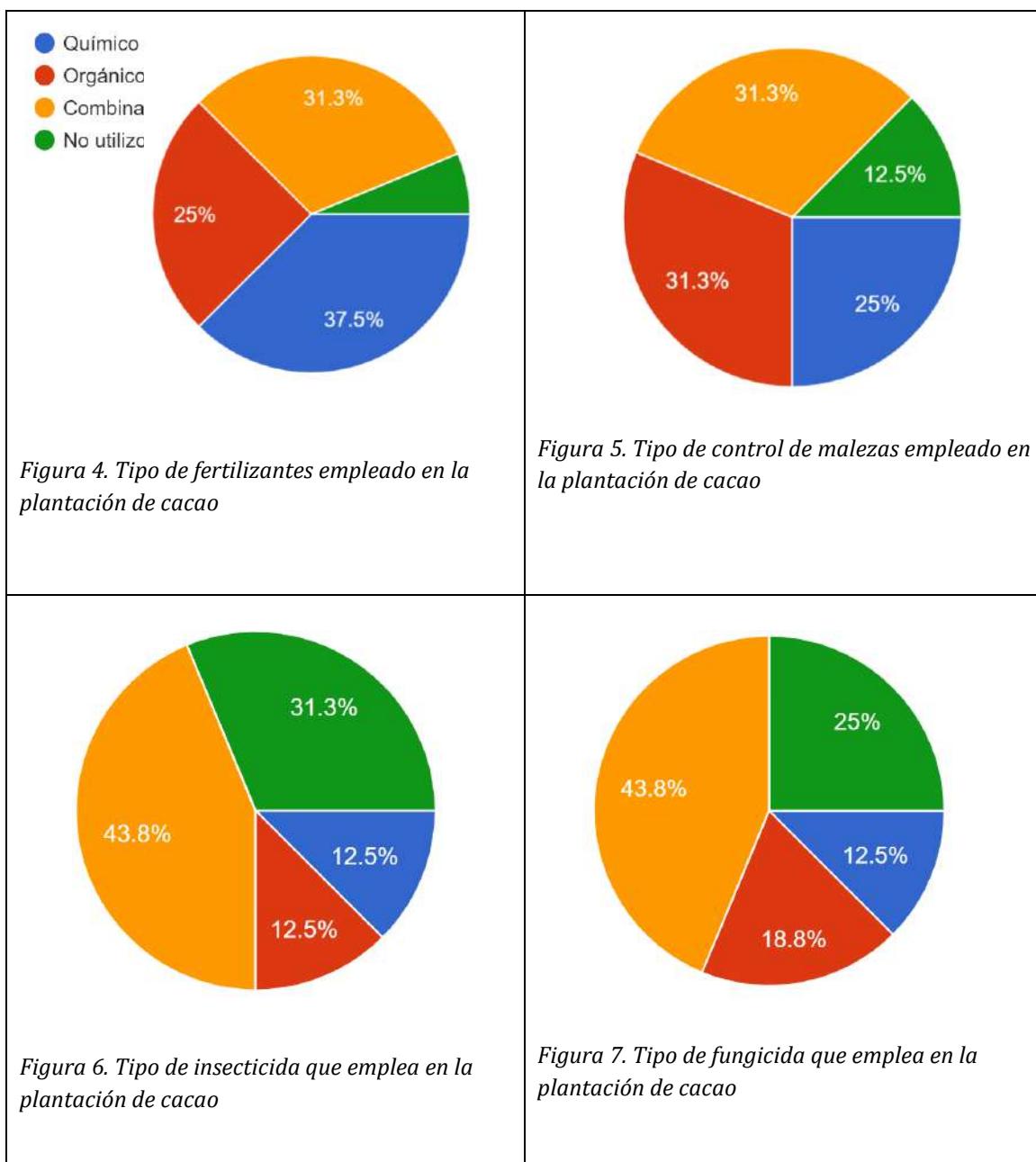
Los micronutrientes son los elementos que se requieren en cantidades muy pequeñas pero que también tienen un papel importante en la producción y en el desarrollo de las plantas, entre ellos están el boro, hierro, zinc, manganeso, cobre, aluminio y molibdeno. Sus aportes van a funciones estructurales, crecimiento, fotosíntesis, producción de clorofila, regulación de procesos bioquímicos a través de regulación de enzimas, intercambio de nitrógeno, entre otros (Mata-Quirós, 2021).

Tomando en cuenta la importancia que tienen estos nutrientes en los rendimientos de las plantaciones, otro aspecto que se toma en cuenta en el censo y en nuestra pequeña encuesta (Figura 4), es el porcentaje de productores que aplican fertilización a su cacao. Los datos arrojados por el censo de cacao demuestran que aproximadamente el 70% de los productores encuestados no fertilizan el cacao, lo cual es lamentable debido a que no se le está aportando a la planta el recurso nutricional para producir con todo su potencial. Lo que también puede ser la causa de la dificultad de llegar apenas a los 215 kg de grano seco/ha/año. Para el 32% de los productores que aseguraron que aplican una fertilización, se tendría que entrar a detalles para saber si lo realizan basado en estudios de suelo o en identificación de deficiencias en el material vegetal, es decir, con un adecuado paquete tecnológico que tome en cuenta el estado general de la finca.

En lo que respecta a la muestra de nuestra encuesta, se interrogó la naturaleza de distintas prácticas, donde los productores tuvieron que señalar entre la no aplicación, aplicaciones químicas, orgánicas o combinaciones de estas. En este caso, el 94% de los productores utilizan fertilizantes, donde la mayoría son de naturaleza química o combinación de orgánico y químico.

Malezas y plagas

De igual forma se obtuvo datos del tipo de control de malezas, donde predominan lo orgánico y combinaciones, ambos con 31.3% (Figura 5). En lo que respecta a aplicación de fungicidas y plaguicidas, son las prácticas donde 25-30% no lo aplica, o 44% utiliza combinaciones (Figuras 6 y 7).



Estudios en suelo

Para darnos una idea del conocimiento o atención que se dan a las prácticas agronómicas mencionadas anteriormente, desde un acercamiento a las necesidades del terreno, también se indagó en los encuestados el porcentaje de ellos que realizan estudios en los suelos. El 76.5% mencionan que, si realizan estudios (Figura 8), estos los solicitan en instituciones como el Ministerio de Agricultura, ICAFE, UCR y el INTA. Dentro de los resultados que reciben de estos laboratorios se enlistan “pH”, “nutrientes”, “calcio”, “composición física y química”, sin mayor detalle de descripción por parte de los encuestados.

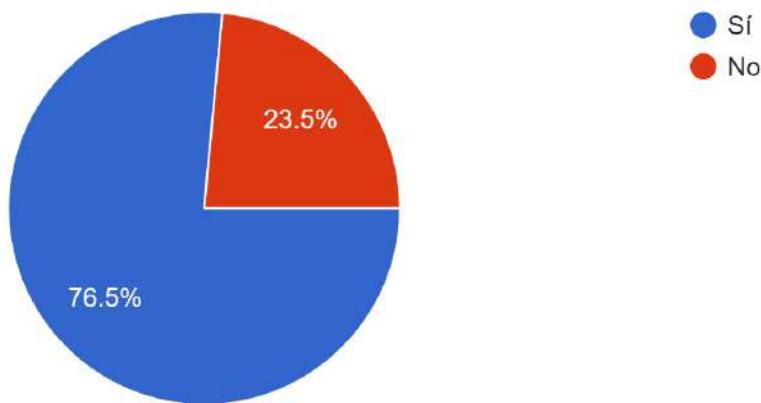


Figura 8. Productores que realizan estudios en suelos

Otro de los aspectos biológicos en suelo que consideramos importantes de analizar, es la población de nemátodos y su debida caracterización, sin embargo, ninguno de los productores encuestados ha realizado este tipo de análisis. En Costa Rica en general son escasos los estudios en este tipo de microorganismos asociados a cacao (Fernández y Quesada, 2013), a pesar de que se ha demostrado la importancia de identificar las especies de estos. Es necesario determinar densidad de poblaciones y zonas de afectación, para su control adecuado, ya que, dependiendo de sus características, pueden ser benéficos o dañinos para suelo y sistemas radicular, que es la puerta de entrada para otros patógenos que afectan aún más el cultivo.

Cadmio

Debido a las restricciones en los niveles del metal pesado, cadmio, que se puede detectar en cacao, varios países europeos han dictado restricciones que ponen alerta a los países productores. En nuestra encuesta, se pudo determinar que el 46.2% han realizado estudios en cadmio en alguna parte de su plantación (suelo, hojas, frutos). El estudio de Furcal-Beriguete, 2019 en sus resultados de un estudio de la presencia de cadmio en raíces, hojas y granos de cacao, reporta que el porcentaje de muestras positivas en granos fue mayor en la Región Brunca (89.47%), al compararlo con las Regiones Caribe y Norte que presentaron 36.36% y 33.33%. Con respecto a la presencia de cadmio en suelo, se encontró solo en la Región Brunca en 3 de un total de 19 muestras. Pero las razones de la incidencia de este metal aún son inconclusas, son muy pocos los laboratorios que se han dedicado a esta clase de estudios.

Transformación

En cuanto al tipo de producto comercializado por las personas productoras de cacao, en el Censo 2021 (Figura 9), se encontró que un 73% de las fincas lo venden en presentación seca, lo que nos indica que ellos mismo realizan el proceso para llegar a un gano seco. Este proceso va desde la cosecha, fermentación, secado y acondicionamiento para almacenamiento y distribución a intermediarios o clientes finales. La segunda presentación de productos viene a ser la venta de cacao en baba (semilla con pulpa), con un 18% del total de producción que se comercializa. Lo que nos indican estos porcentajes son dos posibles panoramas; el primero, que los productores poseen la iniciativa y conocimiento para el procesamiento poscosecha de su producción, con niveles de conocimiento técnico baste distintos, por lo tanto, calidades menos homogéneas; o una segunda realidad, que es el hecho de no contar con centros de acopio cercanos a sus comunidades que permiten procesar mayores volúmenes con calidades más homogéneas. Por parte de las instituciones gubernamentales, se ha incentivado a la segunda práctica, donde los productores puedan organizarse para procesar sus cacaos en centros de acopio que permitan recibir el grano en baba y darle seguimiento al resto del proceso son prácticas mejor establecidas, que permitan calidades y niveles de inocuidad atractivas para los compradores tanto nacionales como internacionales.

Del grupo encuestado, 7% expresó vender su cosecha con un valor agregado, donde algunos de ellos comercializan granos tostados y caramelizados, nibs, barras, helados, brownies, bebidas fermentadas, entre otros.

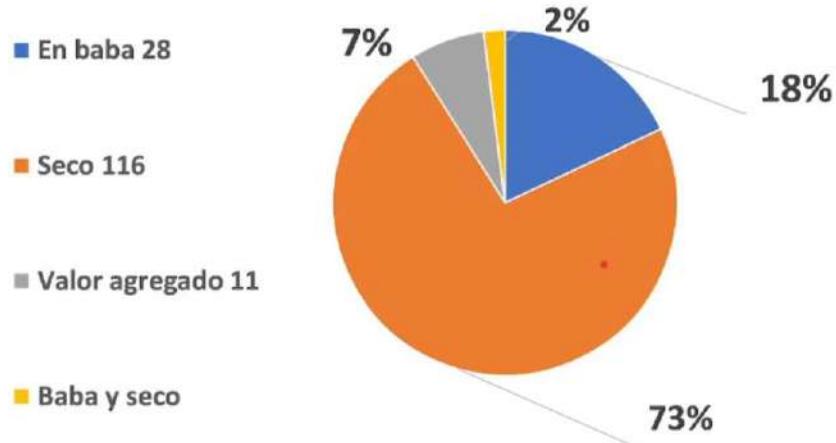


Figura 9. Presentación en la que venden el cacao

Fuente: Hidalgo (2021)

Del grupo encuestado por nuestra parte, también notamos que más del 56% de los productores venden su cacao en presentación seca, seguido de 31% que venden el cacao en baba y un 12% en otras presentaciones como los productos con valor agregado mencionados anteriormente (Figura 10).

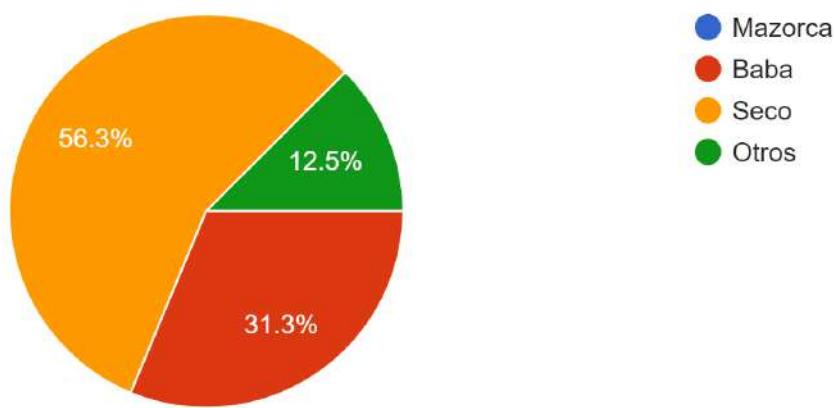


Figura 10. Presentación en la que vende el cacao

A este grupo se le solicitó describir los procesos que aplican al cacao, y en su mayoría no entraron en detalle de la descripción del proceso y se limitaron a mencionar que se realiza una cosecha, fermentación (cajas de madera por 6 días) y secado, a continuación, la lista generada:

Tipos de procesos que se aplican

- Acopio, fermento, secado y almacenamiento
- El mantenimiento mínimo, solo *deshija* y recolección del fruto
- Cosechar, fermentar y secar
- Se fermenta por 6 días en cajones de madera se revuelve cada 2 días
- Fermentado, secado, y elaborado
- Poda, *deshija*, recolección y limpieza
- Siembra, podas, cosecha, secado
- Pre-almacenado de 24h sobre cemento y bajo techo, luego se abren las mazorcas y se fermentan los granos por 6 días, realizando volteos cada 48+24+24+24+24

Organizaciones

En seguimiento al tema de organización de productores para fines de acopio del grano para su proceso y comercialización, se indagó en el tipo de organizaciones ya existentes en la Región Brunca y algunas de actividades. De los encuestados por el MAG, solo el 31% pertenecen a una organización (Figura 11).

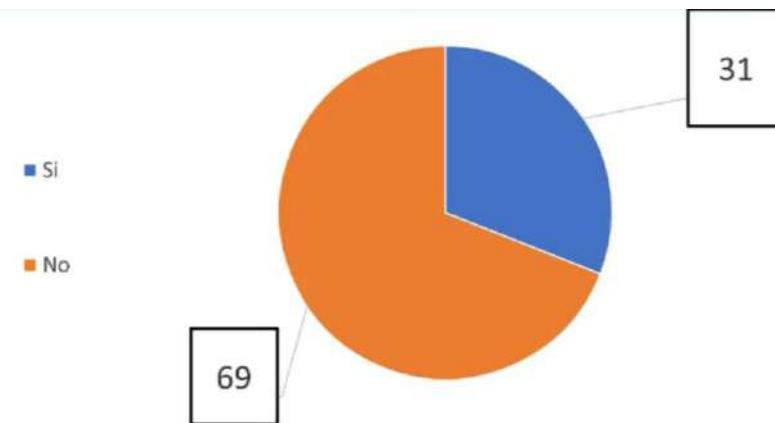


Figura 11. Organización de productores

Fuente: Hidalgo (2021)

Muchas de las organizaciones de la zona no nacieron estrictamente para atender las necesidades de la actividad cacaotera, sino que, en su lugar, ven este cultivo como una alternativa a las principales actividades que más delante de describirán (Tabla 4).

Tabla 4. Organizaciones de productores en la Región Brunca

Cantón	Organización
Golfito	OSACOOP
	Cooperativa de Servicios Múltiples de Coto (SERMUCOOP)
Corredores	ASOMUN
	Agua Vida
	Campesinos del Sur
Buenos Aires	ASOPROLA
	Asoc. Santa Marta
Osa	AGRICOOP
Coto Brus	Asentamiento Los Reyes
	Asentamiento Sansi
	ASPROCACOB
Pérez Zeledón	ASOCUENCA
	COOPEAGRI
	COOPEASA
	La Asociación de Mujeres Activas del Corredor Biológico Alexander Skutch (AMACOBAS)

Fuente: Nils Hidalgo, Censo 2021 (datos no publicados) y encuesta

Golfito

En este cantón se encuentra la Cooperativa de Comercialización de los Productores de Palma Aceitera de la Península de Osa R.L (OSACOOP R.L), quienes iniciaron alrededor de los años 2000 e introducen cacao hasta el año 2015 con la siembra de 9 hectáreas, con apoyo de la Fundación Aliarse. Actualmente ejecutan un proyecto de siembra de 25 ha de cacao clonal, gracias al apoyo financiero del INDER en coordinación con las oficinas del MAG, dicho proyecto contempla las etapas de siembra, acopio, fermentación y secado. Además, se impulsa la comercialización de las plantas que acompañan alguna de las etapas de cacao, en este caso, el plátano que se utiliza como

sombra temporal. OSACOOP contabiliza en totalidad de área de cacao alrededor de 44 ha, unas de ellas como resultado de esfuerzo por individual de algunos productores.

Corredores

En esta zona se ejecuta desde hace alrededor de 3 años, el proyecto ASOMUN. Esta iniciativa se encuentra en manos de un grupo de mujeres indígenas de Bajo los Indios. Ellas cuentan con un pequeño centro de acopio, fermentación y secado el cual han logrado construir gracias al apoyo de instituciones como el IMAS. Algunas de ellas realizan transformaciones al cacao seco y están desarrollando productos a base de cacao (chocolates).

Otro de los proyectos en ejecución y análisis de esta zona es la Asociación Agua Vida Campesinos del Sur, que nacen con el propósito de solicitar tierras al INDER. El grupo de mujeres de esta organización se han esforzados por acelerar las actividades de cacao y gracias al Grupo de Acción Territorial (GAT) Sur Bajo, han logrado obtener una parte de los fondos para establecer un pequeño proyecto de valor agregado. Su fin es el montar la línea completa de proceso que va desde el acopio hasta una pequeña fábrica de derivados de cacao, pero siguen en búsqueda de fondos para culminarlo.

Buenos Aires

En Buenos Aires, comunidad de Altamira, Biolley encontramos la Asociación de Productores La Amistad (AsoProLA). Esta asociación nace con el fin de afrontar los retos por factores internos y externos, a los que la comunidad cafetalera aledaña al Parque Nacional La Amistad (PILA) se ve amenazada, buscando alternativas en otros cultivos como cacao, miel de abeja y otros frutos locales. Durante los últimos 4 años y con sus propios recursos, establecieron un vivero y se han capacitado en siembra directa e injertos. Actualmente se encuentran en ejecución un proyecto de siembra de 12 hectáreas de cacao clonal en manos de 12 productores.

En Buenos Aires también se encuentra un grupo de productores de la Asociación Santa Marta, que al igual que el grupo de Agua Vida Campesinos del Sur, están solicitando al INDER, tierras para cultivar. Esta gestión se está ejecutando por medio de una comisión donde interviene la municipalidad, MAG e INDER. Entre otras iniciativas de este grupo, han sido las múltiples actividades en torno a capacitaciones y giras para adquirir conocimiento técnico en el cultivo.

Osa

En el cantón de Osa se encuentra AGRICOOP, que nace con el propósito de reactivar el CEPROMA de Piedras Blancas. Se han propuesto establecer un centro de acopio de cacao para recibo, fermentado y secado, con uso de energías limpias, que venga a apoyar no solo la zona de Piedras Blancas sino de los catones aledaños. Este proyecto de igual forma fue presentado al INDER para un posible apoyo financiero.

Coto Brus

En Coto Brus existen varios grupos dedicados al cacao, entre ellos están dos asentamientos del INDER, Asentamiento Bajo Los Reyes y Asentamiento Sansi. A estos grupos se les ha apoyado con parcelas de cacao, e incluso en el Asentamiento de Bajo Los Reyes, se está implementando un pequeño centro de acopio, fermentación y secado, además que están interesados en dedicarse a la comercialización de productos derivados.

Otro grupo trabajando en el rubro de cacao es la Asociación de Productores Cacaoteros de Coto Brus (ASPROCACOB), que nace como una alternativa de diversificación del cantón de Coto Brus. Ellos están interesados en la parte organizativa, siembra de 2000 ha de cacao a largo plazo, acopio, poscosecha y transformación en planta procesadora.

Pérez Zeledón

En Pérez Zeledón existen varias asociaciones igualmente dedicadas a este cultivo. Una de ellas es la Asociación de Productores para el Desarrollo Integral de la Microrcuencia del Río de Peñas Blancas de Pérez Zeledón (ASOCUENCA), que promueve entre sus asociados la siembra de cacao en condiciones orgánicas, ya que se han dedicado a otros rubros como banano y piña bajo esas mismas condiciones. Poseen un área de 10 hectáreas de cacao y un vivero con materiales del CATIE. Además, cuentan con un módulo de acopio, fermentación y secado.

Se cuenta en esta zona con COOPEAGRI, quienes tienen directamente 25 hectáreas de cacao en su propiedad. También apoyan en el acopio, fermentación y secado, y sobre todo, un aspecto que resalta mucho es el valor agregado y comercialización de los productos derivados del cacao. Esto debido a un equipo muy bien establecido dedicado a la investigación y desarrollo de nuevos productos.

En la parte de producción tenemos a la Cooperativa Agroindustrial y Servicios Múltiples de San Antonio de Pejibaye (COOPEASA) quienes desde 2014 poseen tierras certificadas por el MAG para la producción orgánica de cultivos como café, banano, cacao y jengibre.

Otras actividades

Acompañando a su cacao, los productores también se dedican a actividades como las siguientes:

- Café
- Caña
- Plantas medicinales
- Hortalizas
- Palma aceitera
- Cúrcuma
- Jengibre
- Pimienta
- Chan
- Abacá
- Cítricos
- Granos básicos
- Sagú
- Alimento para aves
- Vacas de leche
- Ganado
- Cerdo
- Gallinas ponedoras
- Árboles forestales
- Ornamentales

Se pretendió indagar con respecto a los procesos que ya se aplican a los productos diferentes al cacao, entre ellos mencionaron:

- Artesanalmente procesamos, cacao, pimienta, cúrcuma achiote, yuca, jengibre, sagú,
- Solo reincorporación de la materia orgánica remanente hacia el cultivo
- Elaboró mis propios abonos e insecticidas para la huerta libre de químicos.
- Siembra, recolección, secado.
- Lavado, secado
- Ordeño y entrego a domicilio
- Despulpado, deshidratado

La siguiente lista refleja el tipo de presentación en que venden sus productos:

- Tenemos los productos, procesados y empacados (ninguno con registro sanitario ,pero elaborados bajo las normas de manipulación de alimentos): cúrcuma en polvo ,achiote en polvo , pimenta molida y en polvo ,cacao molido puro ,harinas de tubérculos,
- Grano seco en grado menor al 7% de humedad
- Secar plantas medicinales para infusiones
- Café se entrega al recibidor
- Granos
- Semillas de cacao, NIBS, tabletas de cacao 100% puro, tabletas de cacao de sabores 70% cacao y 30% tapa dulce.
- Queso, huevos
- Conservas en frasco de vidrio
- Empacado artesanal en bolsita plástica.
- Artesanal
- Queso natilla leche agria y leche cruda
- Granos secos
- Empacados

Cuando se consulta acerca de las limitantes para el procesamiento del cacao, los productores mencionan que 81% representa un problema económico, lo que nos indica que aparte de las necesidades técnicas (47.6%) y dificultades burocráticas (28.6), ellos también están en busca de proyectos que aporten una ayuda monetaria a sus iniciativas. Y esto tiene mucha relación con lo mencionado anteriormente acerca de la importancia de la organización; siempre y cuando se tenga un objetivo de mejora a la actividad, puede contemplarse en sus actividades, la búsqueda de apoyo económico de diferentes instancias a través de la participación en proyectos.

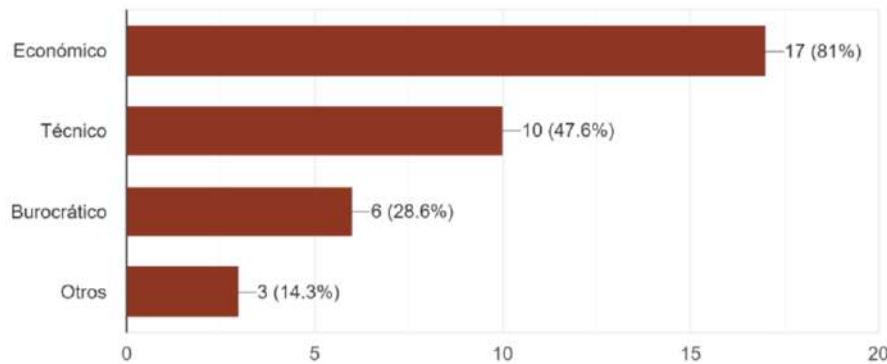


Figura 12. Limitantes para el procesamiento de cacao

A continuación, se enlista las necesidades expresadas por los productores que enfrentan a la hora de dar valor agregado:

- Capital, semilla, riego, patentes, registro de productos, normas técnicas de permisos, cargas sociales, comercialización, logista distribución
- Desarrollo de marcas, centros de acopio, homogeneización, del proceso pos cosecha
- Económico por la falta de infraestructura para darle un mejor manejo, y la cantidad de cosecha que es poca.
- Una fábrica
- La limitación es infraestructura idónea y tecnología apropiada para procesar el cacao.
- Asesoría técnica, sobre cómo mejorar los procesos del secado, fermentación, para conseguir calidad en el producto. Además de puntos de venta o de acopio para entregar la materia prima
- Falta mucho y acompañamiento por parte de las instituciones encargadas desde la productividad, infraestructura para el procesamiento, seguridad en el mercado, para determinar qué se debe o no sembrar y estas capacitaciones que vayan enfocadas y lograr ser más competitivos y definir hacia dónde va su comercialización
- La venta
- Mano de obra
- Simplificación de trámites, apoyo técnico
- Económico y capacitación
- La falta de mercado, y las máquinas que se necesitan para los procesos del cacao.
- Mercadeo
- Como formar un proyecto para darle el valor a nuestros productos
- Tener un cuarto de inocuidad y algunas máquinas de procesar
- Necesidad de empaques adecuados
- Máquina procesadora
- Se necesitan centros de acopio que ofrezcan un mejor precio. Se necesita más acompañamiento para poder generar valor a los productos
- Conocimientos en mercadeo
- Problemas con el secado, en la época lluviosa

También se solicitó una lista de temas para futuras charlas, a lo que contestaron lo siguiente:

- Sería, con tecnólogos de alimentos para desarrollar productos, nuevos saludables que le brinden al consumidor bienestar, creados artesanalmente con materias primas ,que permitan, diversificar las fincas (ojalá bajo el concepto, nutracéutico)
- Asesoramiento en el proceso del cacao, ayuda en como darle el valor agregado al producto.
- Abonos
- Chocolatería, cosmetología y mercadeo
- Productos derivados del cacao. Como generar ingresos con la venta de chocolate.
- El proceso de la preparación del chocolate como producto terminado.
- En procesos que nos ayuden a dar de manera efectiva valor agregado a distintos productos.
- En el proceso del cacao
- Fertilización
- Fertilización economía y mantenimiento del cultivo
- En valor agregado para desarrollarcnuevos productos
- Proseso y fabricacion
- Mercadeo y elaborado de cacao.
- Mercadeo y proceso
- Empaque y etiquetado, código de barras
- Marca, mercadeo, compradores
- Mercadeo, redes sociales, ventas
- Transformacion de cacao en chocolate: from tree to bar
- Prácticas agronómicas orgánicas para poder optar por la certificación de orgánico
- Gestión de alianzas estratégicas para poder articular esfuerzos entre todos los miembros del sector y potenciar el alcance de las iniciativas.
- Técnica de manejo en tasas y etiquetado
- Mejoras en la fermentación y secado. Diseño de secadora a gas, electrónica y solar

Conclusiones

Los retos que presenta la actividad cacaotera pueden dividirse en dos sectores, tanto los que presentan los productores en sus prácticas y también los que enfrentan las organizaciones (Tabla 5).

Tabla 5. Resumen de retos en el sector cacaotero

Productor	Organizaciones
Producción <ul style="list-style-type: none"> • Mejor genética • Manejar densidades de siembra mayores de 1000 plantas por ha • Mejorar manejo (sombra, podas, fertilización, control de plagas y enfermedades) 	<ul style="list-style-type: none"> • Promover alianzas con el sector agropecuario • Especialización de las organizaciones • Centros de acopio, fermentación y secado • Generar valor agregado
Transformación <ul style="list-style-type: none"> • Mejorar manejo poscosecha 	
Promover la organización	<ul style="list-style-type: none"> • Agroindustria, comercialización y exportación

El principal reto al que se enfrentan los productores es el de la genética, es preciso renovar las plantaciones a las que por más de 40 años se les ha aprovechado, ya que, por los datos antes analizados, ya no cumplen con su cuota de rendimiento. El país cuenta con material mejorado que pueden llegar a producirse en densidades, de hasta 1,000 árboles por hectárea, que permiten alcanzar rendimientos altos, a diferencia del promedio de 700 árboles por hectárea actual.

Al adoptar este nivel de densidades con nuevas variedades, hay que tomar en cuenta que esto resulta rentable sólo si se implementa también un paquete tecnológico, que viene con un mejor manejo de sombra, podas, planes de fertilización de acuerdo con necesidades del suelo, plagas, enfermedades, malezas y otros microorganismos en el suelo.

El segundo reto más grande es la parte de manejo poscosecha, donde se busca un cacao más homogéneo como resultado de las debidas prácticas de cosecha, fermentación y secado. Y es acá donde se busca, un mejor entrenamiento para los productores, o en el caso ideal, centros de acopio donde se puedan manejar volúmenes más altos y prácticas más estandarizadas que permitan un mejor manejo poscosecha. lo cual se convierte en un tercer gran reto; la organización.

Es urgente que se promueva la organización entre productores, o en el caso de que ya existan grupos organizados, difundir esa información para abrir puertas a un mayor número de productores. El acceso a capacitaciones técnicas por diferentes entidades se facilita cuando se imparte a grupos organizados, de la misma forma se vuelve más accesible el aplicar a proyectos de financiamiento. Con la debida formación del personal que asiste las distintas prácticas en los centros de acopio (fermentación, secado, valor agregado), se adquieran herramientas que les permiten especializarse en procesos más elaborados (fermentaciones innovadoras, secados óptimos, barras de chocolate, bombonería, cosmética, entre otros). Lo cual amplía volúmenes de producción y una cartera de productos que se pueden comercializar local e internacionalmente.

También es importante que las instituciones académicas conozcan sobre estas necesidades expresadas por los productores, para que el diseño y contextualización de las charlas impartidas, sean realmente en atención a esas barreras detectadas.

Consideramos que el grupo encuestado, es una muestra representativa de la realidad de la zona y que podríamos tomarlo como punto de partida para las actividades propuestas en el proyecto “Caracterización de los territorios productores de cacao, sus entornos y transformaciones como parte de la riqueza biológica y potencial económico de la Región Brunca”. Además de que se hará un esfuerzo por obtener la participación del cantón de Buenos Aires.

Referencias

CENAGRO, 20214 Instituto Nacional de Estadística y Censos VI Censo Nacional Agropecuario: Resultados Generale. Instituto Nacional de Estadística y Censos.1 ed. San José. C.R.: INEC, 2015. 146 p

Furcal-Beriguete, P., & Torres-Morales, J. L. (2020). Determinación de concentraciones de cadmio en plantaciones de Theobroma cacao L. en Costa Rica. Revista Tecnología En Marcha, 33(1), Pág. 122-137.

Fernández-Solano, OM; Quesada-Solís, AS. 2009. Nemátodos asociados a los cultivos de Costa Rica. MAG. San José, Costa Rica. 49 p.

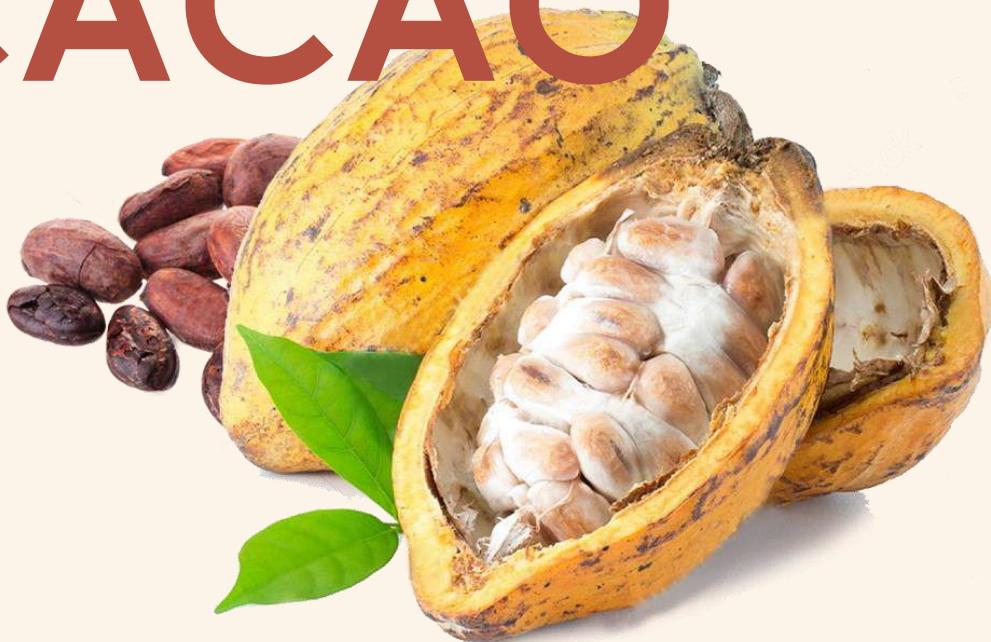
Hidalgo, N. (2021). Situación del sector cacaotero en la Región Brunca. BrunCACAO. MAG Región de Desarrollo Brunca.

Mata-Quirós, A. (2021). Fertilización del cacao. BrunCACAO. MAG Región de Desarrollo Brunca.

SEPSA (2017). Análisis de la actividad cacaotera costarricense y perspectivas de su reactivación. San José, C.R.
SEPSA

Manual de ensayos

CACAO



Laboratorio de Calidad e Innovación Agroalimentaria
Universidad Nacional

Ensayos

3 Desgrasado

5 Liofilizado

7 pH

9 Índice de fermentación

11 Ácidos grasos libres

14 Metilxantinas y epicatequinas

16 Azúcares, ácidos orgánicos y alcoholes

18 Aislamiento de microorganismos

Desgrasado de cacao

Introducción

Para la preparación de muestras de cacao que serán utilizadas en diferentes análisis, es necesario remover la matriz lipídica (grasa), así mantendremos nuestra muestra más estable durante almacenamiento y estable a los diferentes reactivos a los que será expuesta.

Herramientas y materiales

- Tubo cónico
- Gotero

Reactivos

- Éter de petróleo o hexano

Equipo

- Centrífuga
- Baño ultrasónico
- Campana de gases

Procedimiento

- 1 Remover la cáscara de los granos de cacao secos (15 aprox.)
- 2 Macerar los granos con el mortero y pistilo
- 3 Pesar 10 g de cacao macerado en tubo cónico
- 4 Agregar 20 mL de éter de petróleo o hexano
- 5 Llevar a baño ultrasónico a 25 ° C por 20 min
- 6 Centrifugar a 7830 rpm a 25° C por 10 min
- 7 Recolectar todo el sobrenadante posible en un tubo nuevo
- 8 Repetir pasos 4, 5, 6 y 7, por 2 veces más
- 9 Evaporar el éter de petroleo o hexano de los precipitados dentro de la campana de gases por 16 horas
- 10 El precipitado seco será nuestra muestra desgrasada de cacao que se utilizará para la mayoría de análisis

Liofilización de cacao

Introducción

La remoción de humedad en las muestras de cacao permitirá realizar análisis en una matriz más estable. De esta manera también evitamos menor deterioro de muestra durante el almacenamiento, crecimiento de microorganismos e inicio de reacciones no deseadas.

Herramientas y materiales

- Tubo cónico
- Frascos de vidrio para liofilizador

Equipo

- Congelador
- Liofilizador

Procedimiento

- Colocar la cantidad deseada de muestra dentro del frasco de vidrio especial para liofilizador (1). Los granos pueden ir enteros. Si la muestra es poco, colocarla dentro de tubos cónicos que luego se colocarán dentro de los frascos de vidrio.
- 1 Congelar los frascos de vidrio con muestra a -20°C por un mínimo de 12 horas
- 2 Transferir los tubos al liofilizador que alcanzó -80°C y 0.00 atm (2) (2)
- 3 Abrir las válvulas de vacío (3) y liofilizar por 48 horas.
- 4 Despresurizar el liofilizador y remover tubos con muestra para su uso



pH

Introducción

El pH es un indicador de la presencia de ácidos en el grano de cacao. Esto es importante debido a que los ácidos, principalmente el acético, reducen el pH del cotiledón y provocan la ruptura de sus membranas celulares permitiendo el contacto entre sustancias almacenadas (proteínas, carbohidratos, polifenoles), lo cual provocará el desarrollo de precursores de sabor.

Herramientas y materiales Reactivos

- Papel toalla
- Piseta con agua
- Mortero y pistilo
- Soluciones buffer pH 4.0 y pH 7.0

Equipo

- pH metro
- Centrífuga

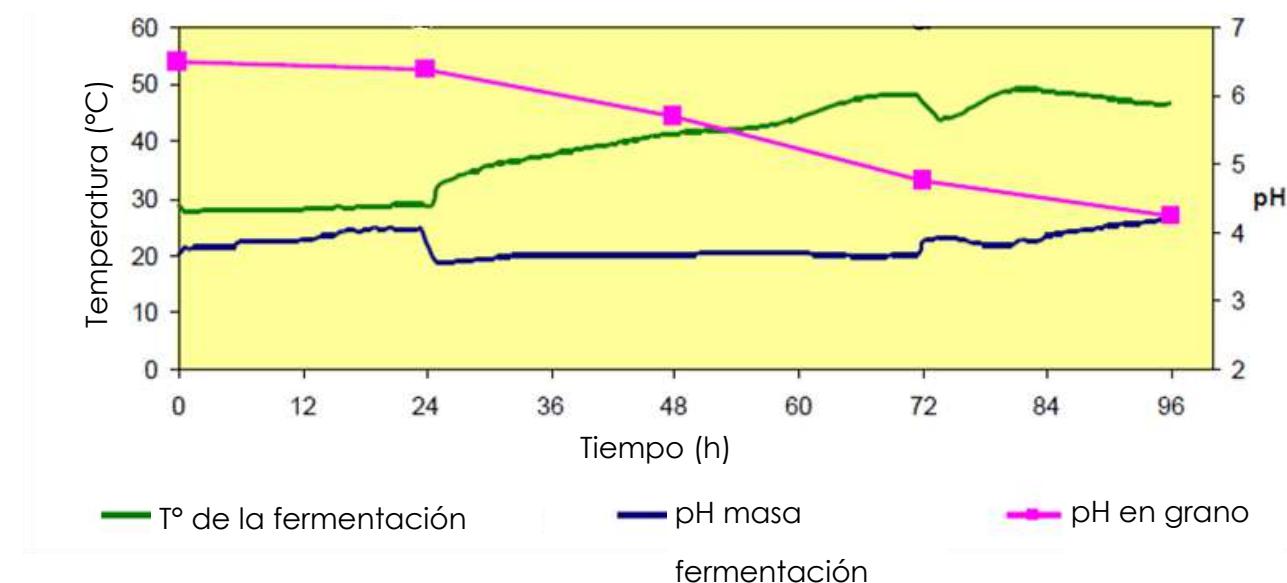
Procedimiento (interior del grano)

- 1 Remover la cáscara de los granos (4 aprox.)
- 2 Macerar los granos con el mortero y pistilo
- 3 Pesar 2.5 g de cacao macerado en tubo cónico
- 4 Agregar 22.5 mL de agua destilada por 5 min
- 5 Centrifugar a 5000 rpm por 10 min
- 6 Transferir sobrenadante a un tubo nuevo
- 7 Determinar pH en sobrenadante

Para determinar pH en cacao con pulpa, simplemente inserte el electrodo en 3 diferentes puntos de la muestra

Resultados

La siguiente figura muestra la tendencia de pH de cacao durante fermentación:



Índice de fermentación

Introducción

La teoría detrás de este método se deriva de los cambios de color que se producen en los granos de cacao durante el proceso de fermentación. Mientras que el cotiledón tiene un color violeta intenso al principio debido al contenido de polifenoles, la degradación de antocianinas provoca la coloración café oscuro más tarde, lo que aumenta el valor de absorbancia a 460 nm. Esta prueba es una alternativa a la prueba de corte y así evitar el sesgo de subjetividad causado por el comportamiento humano (vista).

Herramientas y materiales Reactivos

- Recipiente vertical de cuarzo o desechable
- Gotero
- Papel toalla
- Tubo cónico
- Gotero
- Metanol-Ácido clorhídrico (97:3)

Equipo

- Espectrofotómetro
- Bomba de vacío

Procedimiento

- 1 Macerar 5 granos de cacao liofilizado (hacer duplicados)
- 2 Pesar 0.5 g en tubo cónico
- 3 Agregar 50 mL de la solución MeOH-HCl
- 4 Dejar en reposo por 16-19 horas entre 4°C—5°C
- 5 Filtrar con apoyo de bomba de vacío
- 6 Llevar a un volumen de 50 mL con MeOH-HCl
- 7 Transferir la muestra con un gotero a los viales para espectrofotómetro
- 8 Determinar valores de absorbancia en 460 nm y 530 nm

Cálculo:

FI: A 460 nm

A 530 nm

9

FI = Fermentation Index, A460 = absorbance at 460nm and
A530 = absorbance at 530nm

Resultados

Estudios realizados por Romero-Cortes et al, (2013) y Racine K.C. et al, (2019) han demostrado que la masa de cacao puede considerarse adecuadamente fermentada cuando las mediciones de FI son > 1.

Ácidos grasos libres

Introducción

Los ácidos grasos libres se consideran ampliamente una métrica muy importante para la industria, ya que pueden tener un impacto en la calidad de procesamiento de la manteca de cacao, específicamente en sus propiedades de cristalización. Se ha demostrado que la manteca de cacao con un alto porcentaje de ácidos grasos libres se ve afectada negativamente en términos de sabor.

Herramientas y materiales Reactivos

- Piseta
- Papel toalla
- Beaker de 50 mL
- Éter de petróleo o hexano
- 0.1 mol/L Hidróxido de potasio en alcohol isopropílico (NaOH-IPA)
- Solución eter de petróleo:etanol (1:1)
- Fenoftaleína (indicador)

Equipo

- Titulador automático o bureta
- Campana de gases

Procedimiento

- 1 Remover la cáscara de los granos de cacao secos (15 aprox.) (hacer duplicados)
- 2 Macerar los granos con el mortero y pistilo
- 3 Pesar 10 g de cacao macerado en tubo cónico
- 4 Agregar 20 mL de éter de petróleo o hexano
- 5 Llevar a baño ultrasónico a 25 ° C por 20 min
- 6 Centrifugar a 7830 rpm a 25° C por 10 min
- 7 Recolectar el sobrenadante en un tubo nuevo
- 8 Repetir pasos 4, 5, 6 y 7, por 2 veces más
- Evaporar el éter de petroleo de los sobrenadantes recolectados con el apoyo de un rotavapor, hasta obtener la grasa pura (manteca)
- 10 Pesar 5 g de manteca de cacao en beaker de 100 mL
- 11 Disolverla en 50 mL de la solución de eter de petróleo:etanol (1:1) y agregar 3 gotas de fenoftaleína
Titular con 0.1 mol/L de NaOH-IPA, hasta notar un cambio a color rosa pálido (tomar nota del **volumen (V)** utilizado).
- 12 Si se usa un titulador automático, el programa en el equipo es el E1 FFA.

Procedimiento



Cálculo:

Fuente:Shutterstock

$$\text{Ácidos grasos libres (\% ácido oléico)}: \frac{28.2 \times V \times N}{M}$$

13

V: volumen de titulador

N: normalidad de titulador (0.1)

M: peso inicial de muestra (5 g)

28.2: peso molecular ácido oléico

Resultados

La grasa de los granos enteros y sanos que han sido fermentados y secados completamente sin demora, almacenados adecuadamente y exportados rápidamente desde el origen, generalmente tendrán un contenido de ácidos grasos libres de menos del 1% y ciertamente menos del 1.3%. Un contenido de 1,75%, es el límite legal para la manteca de cacao dentro de la UE y en la Norma del Codex.

Fenólicos y Metilxantinas

(Epicatequina, cafeína y teobromina)

Introducción

Las semillas de cacao, se consideran estimulantes debido a la presencia de metilxantinas (alcaloides purínicos) como la teobromina y la cafeína. Además, sus propiedades antioxidantes se deben a la presencia de compuestos fenólicos como las epicatequinas.

Herramientas y materiales Reactivos

- Tubo cónico
- Gotero
- Solución metanol: agua Milli Q (2.5:1)
- Agua Milli Q acidificada con 1 % ácido acético
- Acetonitrilo

Equipo

- Centrífuga
- Baño ultrasónico
- HPLC (Columna C-18, Detector DAD)
- Campana de gases

Procedimiento

- 1 Pesar 10 g de cacao liofilizado en tubo cónico (hacer duplicados)
- 2 Agregar 10 mL de solución MeOH:Agua Milli Q
- 3 Llevar a baño ultrasónico a 25 ° C por 20 min
- 4 Centrifugar a 7830 rpm a 25 °C por 10 min
- 5 Recolectar el sobrenadante (**extracto**) en un tubo nuevo, con ayuda de un gotero
- 6 Repetir pasos 2, 3, 4 y 5, por 2 veces más
- 7 Llevar a un volumen total de 30 mL al tubo con sobrenadantes recolectados
- 8 Filtrar 2 mL con filtros de 0.45 µm
- 9 Transferir a vial ambar para HPLC y utilizar el método para cacao determinado en el programa.

Resultados

Algunos de los datos reportados se muestran a continuación:

Grano seco

Teobromina: 2.75—4.30 mg/g

Cafeína: 0.40—3.50 mg/g

Epicatequina: 3.14—10.20 mg/g

Bustamante et al. (2015)

Azúcares, ácidos orgánicos y alcoholes (pulpa)

Introducción

La determinación de compuestos químicos pertenecientes al cacao por naturaleza y los metabolitos productos de las transformaciones durante la fermentación, juegan un papel importante como precursores de sabor. Es por esto que un debido monitoreo se vuelve esencial para determinar mejores prácticas poscosecha.

Al inicio de la fermentación se espera un buen desarrollo de etanol que se convertirá en ácido acético, además que buscamos cacaos con menores porcentajes de ácidos no deseados (láctico) y mayores cantidades de azúcares simples.

Herramientas y materiales Reactivos

- Tubo cónico
- Gotero
- Agua Milli Q (2.5:1)
- Agua Milli Q acidificada con 1 % ácido acético (HPLC)
- Acetonitrilo (HPLC)

Equipo

- Centrífuga
- Baño ultrasónico
- HPLC (Columna Hiplex, Detector IR)

Procedimiento

- 1 Pesar 2 g de cascara + pulpa de cacao (hacer duplicados)
- 2 Agregar 20 mL de agua Milli Q
- 3 Agitar en cámara de incubación a 300 rpm por 30 min a 25 °C
- 4 Centrifugar a 7830 rpm a 5 °C por 20 min
- 5 Recolectar el sobrenadante (**extracto**) en un tubo nuevo, con ayuda de un gotero
- 6 Repetir pasos 4, 5, 6 y 7, por 1 veces más
- 7 Llevar a un volumen total de 50 mL al tubo con sobrantes recolectados
- 8 Filtrar con ayuda de bomba de vacío usando un filtro No. 1, porosidad 6 µm
- 9 Filtrar una vez más, esta vez con filtros de 0.45 µm
- 10 Transferir a vial ambar para HPLC y utilizar el método para cacao determinado en el programa.

Resultados

Algunos de los datos reportados se muestran a continuación:

Pulpa

Glucosa: 50—42.8 mg/g

Fructosa: 60—50.5 mg/g

Etanol: 8.4—20.0 mg/g (durante fermentación)

Ácido acético: 1.0-2.9 mg/g

Aislamiento de microorganismos (en fermentaciones)

Introducción

Este método lo aplicamos para conocer la microbiología nativa que participa en las transformaciones de fermentación de cacao. Por medio de una inoculación en medios adecuados para su crecimiento y así separarlas de acuerdo a su tipo (levaduras o bacterias).

Herramientas y materiales Reactivos

- Platos Petri
- Mechero
- Espátula L
- Pipeta
- Puntas
- Agua peptonada al 0,1% y NaCl al 0.8%
- Extracto de levadura
- Extracto de malta
- Bactopeptona
- Glucosa
- Agar
- Cloranfenicol

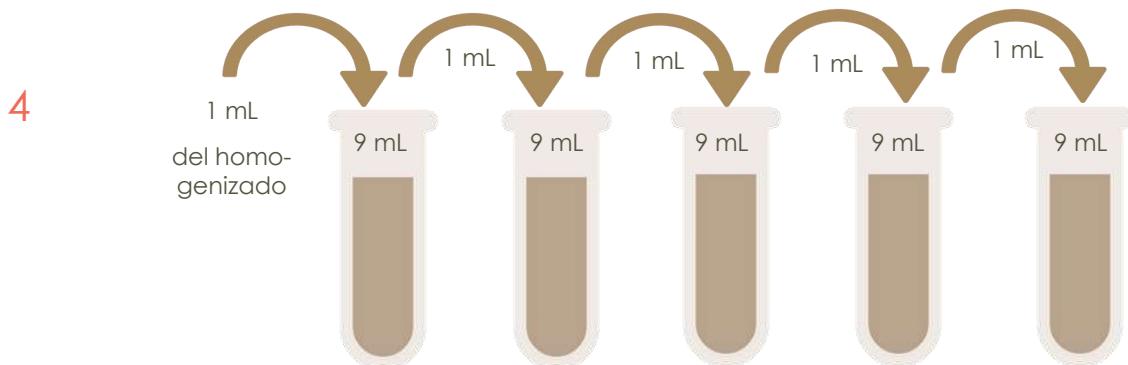
Equipo

- Agitador
- Autoclave
- Incubadora
- Cámara de flujo laminar

Procedimiento

- 1 Tomar asépticamente muestras de fermento de 250 g
- 2 Suspender cada muestra en 250 ml de solución salina esterilizada (agua peptonada al 0.1% y NaCl al 0.8%) en frascos
- 3 Agitar en agitador orbital al menos a 300 rpm por 30 min a 25 °C

Tomar muestras (1.0 ml) del homogeneizado y realizar diluciones seriadas en agua con peptona al 0,1% hasta la concentración de 10^{-5}



- 5 Inocular por extensión alícuotas (0.1 ml) por duplicado sobre la superficie de placas sobre agar MYGP (3 g / L de extracto de levadura; 3 g / L de extracto de malta, 5 g / L de bactopeptona; glucosa 10 g / L y agar 15 g / L) al que se le adiciona cloranfenicol.

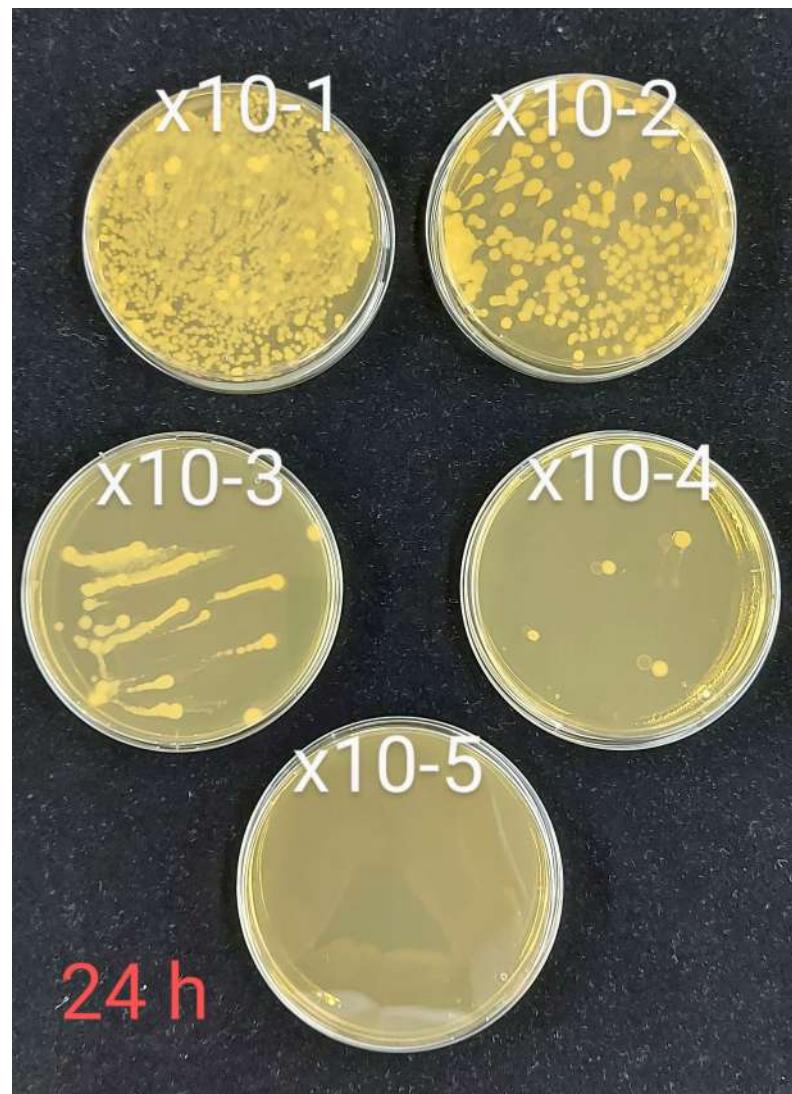
- 6 Incubar por 4 días a una temperatura ambiente (25 °C) y en oscuridad

Realizar conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Las colonias que no se utilicen a corto plazo pueden ser almacenados en glicerol al 20% a - 20°C

Procedimiento

Resultados

Los platos incubados tendrán el siguiente aspecto:



Se aislarán las colonias mejor formadas o aspecto diferente entre ellas, como las de la dilución $x10^{-4}$ y $x10^{-3}$