



**Valorización de subproductos frutales en la fermentación del cacao:
respuestas físico-químicas y sensoriales del clon CCN51 mediante
Saccharomyces cerevisiae y extracto de mango**

*Valorization of Fruit Byproducts in Cocoa Fermentation:
Physicochemical and Sensory Responses of the CCN51 Clone Using
Saccharomyces cerevisiae and Mango Extract*

<https://doi.org/10.5281/zenodo.18421201>

Luis Humberto Vásquez Cortez¹

Universidad Nacional de Cuyo,

Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, ICAI-CONICET

Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0003-1850-0217>
lvazquezc@utb.edu.ec

Silvia Cristina Clavijo Velázquez¹

Universidad Nacional de Cuyo,

Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria,

San Rafael, Argentina

 <https://orcid.org/0009-0002-7444-9014>
scclavijo@fciai.uncu.edu.ar

Martha Viviana Uvidia Salazar Vélez²

Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0002-6715-9951>
muvidia@utb.edu.ec

Jhon Vicente Izquierdo Morán³

Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0003-4233-4597>
jizquierdo@utb.edu.ec

Juan Andrés Villamarín Barreiro⁴

Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0001-5615-0209>
jvillamarinb@utb.edu.ec

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: lvazquezc@utb.edu.ec

Fecha de recepción: 15/04/2025

Fecha de aceptación: 24/06/2025

RESUMEN

Esta investigación evaluó el efecto de la fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.), variable CCN51 con adición de *Saccharomyces cerevisiae* (0%, 0.5%, 1%) y extracto de mango Manila (0% y 3%) sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del grano, considerando dos grados de madurez (sazonas y maduras). Se aplicó un diseño completamente al azar trifactorial con 12 tratamientos y 2 repeticiones. Los resultados mostraron que el tratamiento con cacao maduro, 1% de levadura y 3% de extracto presentó el mayor incremento del pH (hasta 5.00), una reducción más pronunciada en °Brix (de 21.5° a 6.0°), y una mejor evaluación sensorial (8.2/9 en sabor y 8.5/9 en textura). En la prueba de corte, dicho tratamiento obtuvo un 81.3% de granos bien fermentados, frente a 54.6% en el testigo sin adición. Además, se registró una capacidad antioxidante del 87.6%, significativamente superior al cacao sin tratamiento (63.2%). Se concluye que la fermentación dirigida con *S. Cerevisiae* y extracto de mango en estado maduro optimiza el desarrollo bioquímico del grano, mejora los atributos sensoriales y aumenta el potencial funcional del cacao, consolidándose como una estrategia biotecnológica viable para productores que buscan estandarizar la calidad y elevar el valor agregado del cacao ecuatoriano en mercados de alta demanda.

Palabras clave: Cacao CCN51, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentación, fisicoquímico.

ABSTRACT

This research evaluated the effect of cocoa (*Theobroma cacao* L.), variety CCN51 fermentation with the addition of *Saccharomyces cerevisiae* (0%, 0.5%, 1%) and Manila mango extract (0% and 3%) on the physicochemical and sensory properties of the bean, considering two degrees of maturity (seasoned and ripe). A three-factorial completely randomized design was applied with 12 treatments and 2 replications. The results showed that the treatment with ripe cocoa, 1% yeast and 3% extract presented the greatest increase in pH (up to 5.00), a more pronounced reduction in °Brix (from 21.5° to 6.0°), and a better sensory evaluation (8.2/9 in flavor and 8.5/9 in texture). In the cutting test, this treatment obtained 81.3% of well-fermented beans, compared to 54.6% in the control without addition. Furthermore, an antioxidant capacity of 87.6% was recorded, significantly higher than that of untreated cocoa (63.2%). It is concluded that targeted fermentation with *S. cerevisiae* and ripe mango extract optimizes the biochemical development of the bean, improves sensory attributes, and increases the functional potential of cocoa,

consolidating itself as a viable biotechnological strategy for producers seeking to standardize quality and increase the added value of Ecuadorian cocoa in high-demand markets.

Keywords: Cacao CCN51, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation, physicochemical.

INTRODUCCIÓN

Ecuador constituye hoy el epicentro latinoamericano del cacao fino de aroma: en 2023 superó las 375 000 t de grano seco, cultivadas en unas 609 000 ha, y el 75 % de ese volumen está oficialmente reconocido como «fine-flavour» por el Panel de Cacao de la ICCO, condición que mantiene al país como primer proveedor mundial de este segmento de alto valor (J. Vera et al., 2014). Perú, por su parte, exportó 70 215 t de cacao y derivados en 2023 un 8,8 % más que en 2022 de las que también se clasifica un 75 % como fino de aroma, cifra que confirma su consolidación como tercer actor regional en este nicho, tras Ecuador y República Dominicana (R. Vera et al., 2025).

A pesar de estos logros comerciales, en ambas naciones persisten brechas relevantes en la adopción de buenas prácticas de cosecha y poscosecha: menos de la mitad de los productores encuestados fermentan y secan bajo protocolos estandarizados, lo que limita el potencial de calidad sensorial y la captura de precios diferenciados en el mercado internacional (J. Vera et al., 2022). Fortalecer los programas de capacitación técnica, promover la trazabilidad y expandir la asistencia crediticia resultan, por tanto, acciones prioritarias para escalar la competitividad de la cadena de valor en los dos países andinos y sostener su liderazgo en el abastecimiento global de cacao fino de aroma (J. Vera, Vásquez, Valverde, et al., 2024).

A escala global, una proporción considerable de productores aún comercializa el cacao inmediatamente después de la poscosecha, omitiendo la fase de fermentación. Esta práctica obedece, en gran medida, a la falta de asistencia técnica y a la escasa comprensión de la influencia que dicho proceso ejerce sobre la calidad del chocolate (Vásquez et al., 2024).

El desarrollo de los precursores de sabor y aroma determinantes para un chocolate de alta exigencia sensorial depende de una fermentación correctamente conducida, complementada con un secado apropiado y con buenas prácticas agroindustriales (J. Vera, Radice, Vásquez, et al., 2024). Cuando la fermentación se ejecuta de forma deficiente, la

calidad sensorial del grano disminuye y aumenta la susceptibilidad a enfermedades, evidenciando la importancia crítica de esta etapa para obtener un cacao con atributos aromáticos y gustativos superiores (Erazo et al., 2023), el objetivo general de la presente investigación Evaluar las propiedades físico química y sensoriales del cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN51 fermentado con *Saccharomyces cerevisiae* y extracto de fruta (*Mango manila*) en diferentes grados de madurez.

DESARROLLO

Localización

El estudio se desarrolló en la Ciudad de Babahoyo, ubicada en la región litoral del Ecuador, tanto la recepción de las materias primas de las mazorcas de caca y las fases analíticas de laboratorio se efectuaron en la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FACIAG) de la Universidad Técnica de Babahoyo, situada en el kilómetro 7,5 de la vía Babahoyo – Montalvo, cantón Babahoyo, provincia de Los Ríos, región litoral del Ecuador. Su localización geográfica corresponde a una latitud de -1.81667 y una longitud de -79.53333 (01° 49' 00" S; 79° 32' 00" O), con una altitud promedio de 8 m s.n.m

Diseño de investigación

La presente investigación se planteó bajo un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo bifactorial. Para ello se combinaron dos estados fisiológicos de la mazorca de cacao sazonada, que corresponde a la fase previa al clímax de madurez, y madura, en la que el grano ha alcanzado su pleno desarrollo con tres niveles de inoculación de *Saccharomyces cerevisiae* (0 %, 0,5 % y 1 %, expresados como masa de levadura por cada 2 000 g de cacao fresco). La intersección de ambos factores generó doce tratamientos independientes, cada uno de los cuales se replicó dos veces, de modo que se trabajó con veinticuatro unidades experimentales en total. Las réplicas se distribuyeron aleatoriamente para mitigar cualquier efecto derivado de la posición o de variaciones ambientales no controladas.

Esquema de ANDEVA

Se visualiza en la Tabla 1 la estructura de Andeva de los tratamientos y factores de estudio, para la realización de este trabajo de investigación.

Tabla 1. *Estructura de Andeva.*

Fuente de ubicación (FV)		Grado de libertad
Tratamiento	T – 1	11
Factor total madures	(em – 1)	1
Factor levadura	(Le – 1)	2
Factor extracto	(Ex – 1)	1
In.em*Lev	(em – 1)(Le – 1)	2
In.em*Extra	(em – 1)(Ex – 1)	1
In.Lev*Extra	(Le – 1)(Ex – 1)	2
Int.em*em**Lev	(em – 1)(Le – 1)(Ex – 1)	2
Cacao experimental total	(em * Le * Ex)(r – 1)	12
Total	em * Le * Ex * r – 1	23

Arreglo de los tratamientos

Se presenta en la Tabla 2 los arreglos de los tratamientos con su respectiva descripción de las combinaciones de cada objeto de estudio, se realizó para la determinación del análisis de datos del ANDEVA análisis de varianza y las medias estas se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) se trabajó con un software Estadístico Infostat.

Tabla 2. Arreglo de los tratamientos

N	Tratamientos y repeticiones	Descripción
1	T1 R1	Estado de madurez sazona Lev 0 % sin mango
2	T2 R2	Estado de madurez sazona Lev 0 % con mango 3%
3	T3 R3	Estado de madurez sazona Lev 0,5 % sin mango
4	T4 R4	Estado de madurez sazona Lev 0,5 % con mango 3%
5	T5 R5	Estado de madurez sazona Lev 1,0 % sin mango
6	T6 R6	Estado de madurez sazona Lev 1,0 % con mango 3%
7	T7 R7	Estado de madurez madura Lev 0 % sin mango

8	T8 R8	Estado de madurez madura Lev 0 % con mango 3%
9	T9 R9	Estado de madurez madura Lev 0,5 % sin mango
10	T10 R10	Estado de madurez madura Lev 0,5 % con mango 3%
11	T11 R11	Estado de madurez madura Lev 1,0 % sin mango
12	<u>T12 R12</u>	<u>Estado de madurez madura Lev 1,0 % con mango 3%</u>

Instrumento de Investigación.

Las mazorcas seleccionadas se despulparon manualmente y se pesaron exactamente dos kilogramos de almendras frescas por tratamiento. Cada lote se depositó en un saco de yute independiente, un contenedor que reproduce la microaeración de las prácticas tradicionales y, al mismo tiempo, facilita el seguimiento técnico de las variables de proceso (Torres et al., 2023).

La inoculación se efectuó antes de iniciar la fermentación: las dosis de levadura correspondieron a 10 g y 20 g para los niveles de 0,5 % y 1 %, respectivamente, mientras que el extracto de mango se aplicó a razón de 60 mL por lote, equivalente al 3 % de la masa fermentativa (Intriago et al., 2023).

La fermentación se llevó a cabo durante cinco días, con volteos cada 24 h para homogeneizar oxígeno y temperatura. Las modificaciones térmicas fueron evidentes: los granos partieron de 23–27 °C y alcanzaron 45–47 °C al quinto día, sobre todo en los tratamientos con 1 % de levadura, reflejo de la intensidad metabólica microbiana (J. Vera et al., 2023).

A diario se registraron temperatura interna, pH y sólidos solubles (°Brix), variables esenciales para describir la cinética fermentativa y temperatura (Intriago, Alvarado, et al., 2024).

Concluida la fermentación, las almendras se secaron al sol sobre bandejas de malla durante siete días, hasta reducir la humedad por debajo del 8 %; luego se almacenaron en bolsas de papel para preservar la calidad del grano (Vásquez et al., 2022a).

Las determinaciones finales incluyeron acidez titulable, cenizas, capacidad antioxidante, humedad residual y la clásica prueba de corte para clasificar granos bien fermentados, violetas o pizarras conforme a la Norma INEN 176/177 (Intriago et al., 2022).

Los datos se sometieron a un ANOVA trifactorial; cuando la F resultó significativa se aplicó la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$) para discriminar diferencias entre tratamientos, de acuerdo con la estructura de grados de libertad establecida.

Este enfoque estadístico permitió vincular de manera robusta los efectos individuales y sinérgicos de la madurez, la levadura y el extracto de mango con los atributos fisicoquímicos, la calidad física del grano y su potencial sensorial.

RESULTADOS

En esta sección se exponen los resultados relacionados con la dinámica fermentativa del cacao, destacando la evolución de variables fisicoquímicas clave como pH, temperatura interna, concentración de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$), contenido de cenizas, acidez titulable, capacidad antioxidante y el análisis físico del grano mediante la prueba de corte, aplicadas a los cuatro tratamientos testigo seleccionados. Asimismo, se llevó a cabo una evaluación sensorial integral del chocolate obtenido, considerando atributos como aroma, sabor, apariencia, textura y nivel de aceptabilidad, con el propósito de establecer la influencia de los tratamientos en la calidad final del producto.

Variables físicos-químicas.

pH

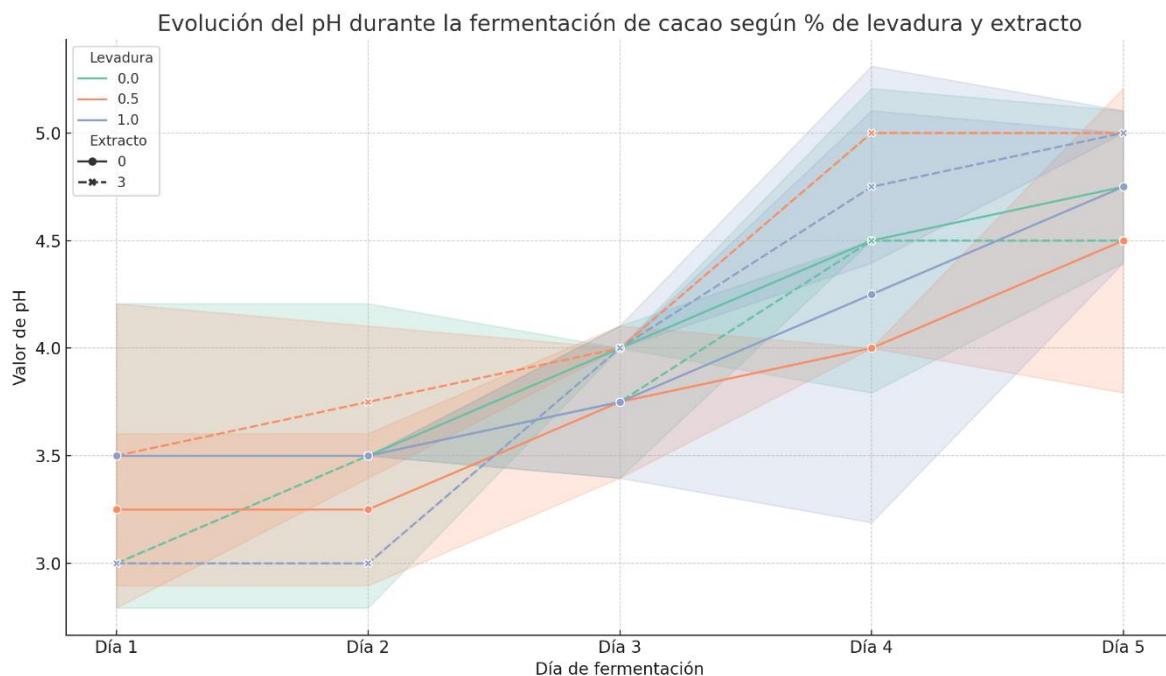
La evolución del pH, presentada en la gráfica 1, evidenció un incremento gradual a lo largo de los cinco días de fermentación, influenciado por la interacción entre el estado de madurez del grano, la concentración de *Saccharomyces cerevisiae* y la adición de extracto de mango. Inicialmente, los valores se situaron entre 3,00 y 4,00, mientras que al finalizar el proceso se registraron niveles comprendidos entre 4,00 y 5,00. El análisis de varianza indicó que el extracto de mango al 3 % generó un efecto estadísticamente significativo sobre el pH en el cuarto día de fermentación ($p = 0,0111$), lo cual se tradujo en un incremento sostenido de este parámetro en los tratamientos que incorporaron dicho componente. En contraste, los factores de madurez del fruto y la concentración de levadura no mostraron diferencias significativas por separado ($p > 0,05$), aunque se observó una tendencia más pronunciada al alza en los tratamientos con cacao maduro y levadura al 1 %.

El tratamiento que combinó cacao en estado maduro con 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango alcanzó el mayor valor de pH (5,00) al día cinco, seguido de las formulaciones con 0,5 % de levadura sin extracto, cuyos valores oscilaron entre 4,50 y 4,80. En contraste, los tratamientos sin adición de levadura ni extracto mantuvieron valores inferiores, en el rango de 4,00 a 4,50. Aunque las interacciones múltiples entre factores no resultaron estadísticamente significativas, el comportamiento fermentativo mostró un patrón fisiológico favorable en presencia de biocomponentes. Los coeficientes de variación se mantuvieron dentro de rangos metodológicamente aceptables (CV: 8,59 – 14,63), y el error estándar de la media se mantuvo estable entre $\pm 0,25$ y $\pm 0,35$, asegurando la fiabilidad de los datos obtenidos.

Durante el proceso fermentativo del cacao, se observó una tendencia ascendente en los valores de pH, consistente con la dinámica microbiana característica de esta etapa poscosecha. Inicialmente, los valores oscilaron entre 3.00 y 4.00, incrementándose hasta un rango de 4.00 a 5.00 al quinto día. Este patrón coincide con lo descrito por Morales et al., (2024), quienes atribuyen dicho aumento a la producción de metabolitos alcalinos generados por levaduras y bacterias ácido-lácticas durante su metabolismo. De forma particular, la adición de extracto de mango al 3 % resultó determinante en el incremento significativo del pH al cuarto día ($p = 0.0111$), efecto posiblemente vinculado a su composición rica en azúcares fermentables y compuestos fenólicos, que actúan como sustratos energéticos y amortiguadores fisiológicos, tal como lo sugieren (Intriago, Cedeño, et al., 2024).

Aunque los factores madurez y concentración de levadura no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$), se evidenció una tendencia hacia valores más elevados de pH en tratamientos que combinaron cacao maduro con 1 % de *Saccharomyces cerevisiae*. Esta observación está respaldada por Medina et al., (2020), quienes reportaron que la inoculación con levaduras incrementa la tasa de metabolismo de azúcares y la producción de compuestos básicos, elevando el pH del sistema. Esta sinergia entre microorganismos y extractos frutales parece favorecer una fermentación más estable, promoviendo condiciones microambientales óptimas para el desarrollo de compuestos precursores de aroma y sabor, como también lo destacan (Vásquez et al., 2022b).

Grafica 1. Evolución del pH durante la fermentación de almendras de cacao según el % de levadura y extractos.



Solidos Solubles

Los resultados presentados en la gráfica 2, muestran una disminución progresiva en los valores de sólidos solubles (°Brix) durante los cinco días de fermentación, con registros iniciales entre 21,00 y 23,00 °Brix, que descendieron hasta un rango final de 6,00 a 8,00 °Brix. Este comportamiento decreciente fue común a todos los tratamientos, evidenciando el consumo gradual de azúcares por parte de la microbiota activa durante el proceso fermentativo.

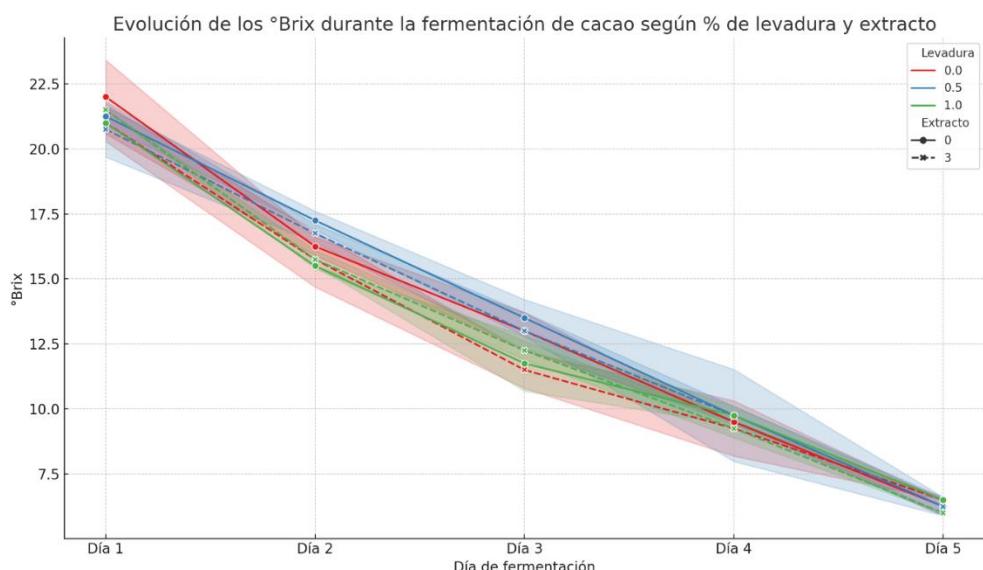
El análisis estadístico indicó que la adición de *Saccharomyces cerevisiae* tuvo un efecto significativo en el día 3 ($p = 0,0124$), mientras que la inclusión de extracto de mango generó diferencias significativas en el día 4 ($p = 0,0385$). En contraste, el estado de madurez de las mazorcas no presentó influencia estadísticamente relevante sobre la variable, al igual que las interacciones entre factores ($p > 0,05$).

Los tratamientos que incorporaron levadura al 1 % mostraron una mayor eficiencia en la reducción de los °Brix al final del proceso, alcanzando mínimos de hasta 6,00, lo que sugiere una fermentación más intensa y activa. En particular, el tratamiento que combinó cacao maduro con levadura al 1 % y extracto de mango evidenció una disminución sostenida, pasando de 21,50 °Brix en el primer día a 6,50 °Brix en el quinto. En contraste,

los tratamientos sin adición de levadura ni extracto conservaron valores más elevados, con promedios finales cercanos a 8,00 °Brix.

Los coeficientes de variación (CV) oscilaron entre 4,88 y 8,29, y el error estándar de la media (EEM) se mantuvo entre $\pm 0,35$ y $\pm 0,56$, reflejando una adecuada homogeneidad en las mediciones. La tendencia descendente generalizada en los °Brix ratifica la dinámica esperada del proceso fermentativo y su relación directa con la degradación del mucílago azucarado.

Gráfico 2. Variación del contenido de sólidos solubles (°Brix) durante la fermentación de almendras de cacao en función del % de levadura y los extractos



Temperatura

Los resultados consignados en la gráfica 3, reflejan una tendencia ascendente en la variable temperatura a lo largo de los cinco días de fermentación, con incrementos determinados principalmente por la aplicación de *Saccharomyces cerevisiae*. En el primer día, las temperaturas iniciales fluctuaron entre 23,0 °C y 27,0 °C, mientras que hacia el quinto día se alcanzaron valores máximos entre 45,0 °C y 47,5 °C, indicando una actividad microbiana sostenida y eficiente en los tratamientos más activos.

El análisis estadístico reveló un efecto significativo del factor levadura sobre la temperatura registrada en el segundo día del proceso fermentativo ($p = 0,0029$), lo que sugiere que la incorporación de *S. cerevisiae* estimuló una mayor producción de calor

metabólico en las fases iniciales. En contraste, ni el grado de madurez de la mazorca ni la adición del extracto de mango mostraron efectos significativos sobre esta variable ($p > 0,05$) en ninguno de los días evaluados. Asimismo, no se detectaron diferencias estadísticas relevantes en las interacciones dobles ni triples entre los factores estudiados. Los tratamientos que contenían levadura al 1 % presentaron los mayores aumentos de temperatura, siendo particularmente destacado el tratamiento que combinó cacao maduro, 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango, el cual alcanzó la temperatura más elevada al día 5 (47,5 °C). Por el contrario, los tratamientos control, sin adición de levadura ni extracto, mostraron un comportamiento térmico más moderado, con temperaturas finales que oscilaron entre 43,0 °C y 45,0 °C.

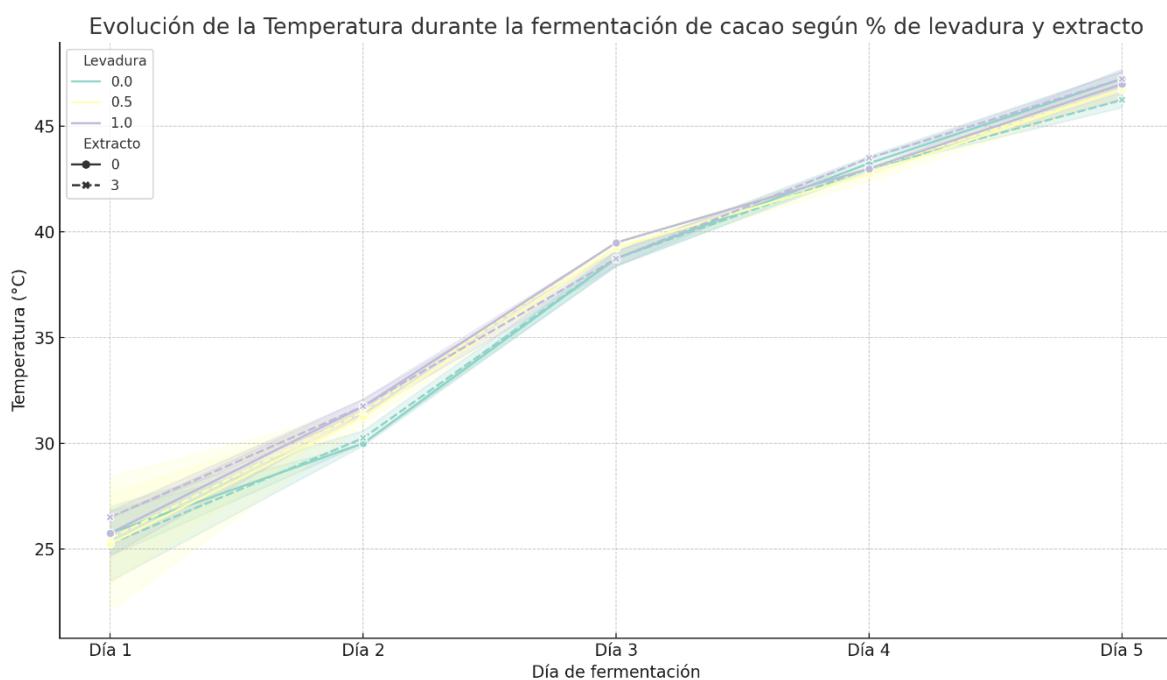
El coeficiente de variación (CV) fue bajo en todas las jornadas del experimento, situándose entre 1,81 % y 7,54 %, mientras que el error estándar de la media (EEM) se mantuvo dentro de márgenes aceptables ($\pm 0,50$ a $\pm 1,37$), lo que refleja una alta precisión y confiabilidad en los registros térmicos obtenidos durante el desarrollo del estudio. Estos resultados respaldan el efecto termogénico inducido por la levadura como factor clave en la dinámica fermentativa del cacao.

En paralelo, la reducción de los sólidos solubles (°Brix) mostró una tendencia descendente sostenida, evidenciando una intensa actividad fermentativa por parte de la microbiota involucrada. Los valores iniciales entre 21.00 y 23.00 °Brix disminuyeron hasta 6.00–8.00 hacia el final del proceso, comportamiento que concuerda con lo documentado por Morales et al., (2024). El análisis estadístico indicó un efecto significativo de la levadura en el día 3 ($p = 0.0124$) y del extracto de mango en el día 4 ($p = 0.0385$), confirmando su papel en la aceleración del consumo de azúcares fermentables. Estos resultados se alinean con los hallazgos Intriago, Cedeño, et al., (2024), quienes señalaron que tanto *Saccharomyces cerevisiae* como los extractos frutales enriquecen el medio fermentativo, promoviendo la hidrólisis del mucílago y facilitando una reducción más eficaz del contenido de azúcares solubles.

La evolución térmica del sistema fermentativo mostró un ascenso progresivo, alcanzando temperaturas finales entre 45.0 y 47.5 °C, coherente con los procesos exotérmicos típicos de la fermentación microbiana. Se observó un efecto significativo de la levadura en el

segundo día ($p = 0.0029$), lo que sugiere que su inclusión estimuló una rápida activación metabólica. Aunque los factores de madurez y extracto de mango no tuvieron un impacto estadísticamente significativo sobre esta variable, los tratamientos combinados con ambos elementos y levadura alcanzaron los valores térmicos más elevados. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de Intriago, Cedeño, et al., (2024), quienes destacan que una mayor temperatura optimiza la descomposición del mucílago y favorece la transformación de compuestos aromáticos precursores.

Grafica 3. Evolución de la temperatura durante la fermentación de almendras de cacao según % de levadura y extractos.



Prueba de corte

La evaluación física del grano, presentada en la gráfica 4, reveló diferencias significativas influenciadas por los factores de madurez del fruto, aplicación de *Saccharomyces cerevisiae* y adición de extracto de mango. El análisis estadístico mostró que el estado de madurez tuvo un efecto significativo sobre el peso seco de las almendras ($p = 0,0002$), el índice de semilla ($p = 0,0176$) y, en menor grado, sobre el porcentaje de granos bien fermentados ($p = 0,0827$). Asimismo, el factor levadura generó diferencias altamente significativas en el peso seco ($p < 0,0001$), lo que indica una influencia directa de la actividad microbiana sobre la pérdida de humedad y la concentración de masa seca. En

contraste, el extracto de mango no mostró efectos estadísticamente relevantes sobre estas variables ($p > 0,05$).

El tratamiento que combinó cacao maduro con 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango obtuvo el mayor peso seco registrado (845,50 g), así como el valor más alto en el índice de semilla (1,80). Este mismo tratamiento presentó también el porcentaje más elevado de granos correctamente fermentados (86,0 %) y la menor incidencia de defectos, con sólo 3,00 % de granos violetas, 0,50 % de pizarrosos y ausencia total de mohosos.

En contraposición, los tratamientos testigo, sin adición de levadura ni extracto, reportaron los niveles más bajos en cuanto a calidad física: los granos fermentados oscilaron entre 36,0 % y 54,0 %, con alta proporción de violetas (hasta 45,50 %) y una mayor frecuencia de defectos pizarrosos (1,5 %).

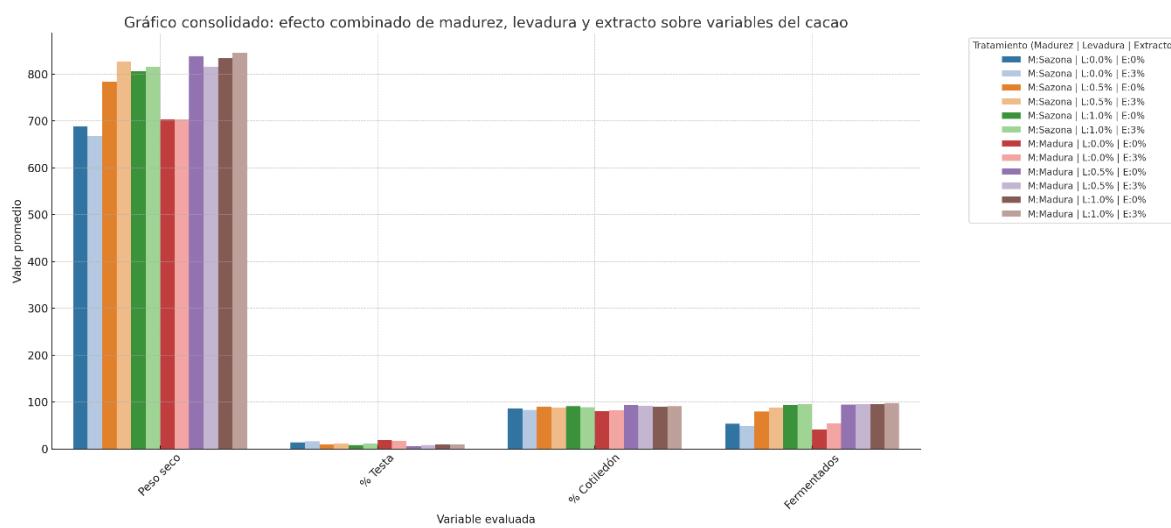
Respecto a la proporción de cotiledón y de testa, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$), aunque sí se observaron variaciones fisiológicas acordes al estado de madurez y al uso de levadura, registrándose mayor desarrollo de cotiledón en frutos maduros fermentados con inóculo.

Los coeficientes de variación fueron bajos en las variables más relevantes (CV: 0,63 % – 4,57 %), y los errores estándar de la media se mantuvieron dentro de rangos controlados, lo que respalda la solidez y la consistencia del experimento. Estos resultados confirman que la aplicación de levadura, en interacción con el estado de madurez, tiene un efecto positivo en los parámetros físicos clave del grano de cacao.

En cuanto a los parámetros físicos del grano, se registraron mejoras notables en peso seco, índice de semilla y porcentaje de granos fermentados bajo la influencia conjunta de madurez fisiológica, levadura y extracto de mango. El tratamiento más eficaz alcanzó un peso seco de 845.50 g y un índice de semilla de 1.80, indicando un desarrollo fisiológico avanzado y una fermentación más eficiente. Asimismo, el porcentaje de granos fermentados alcanzó hasta un 86.0 %, contrastando con los valores más bajos (36.0–54.0 %) observados en los tratamientos testigo. Estos resultados corroboran lo planteado por Intriago, Cedeño, et al., (2024) y Medina et al., (2020), quienes evidenciaron que los biocomponentes aplicados durante la fermentación optimizan el ambiente bioquímico del grano.

En relación con los defectos físicos, se registraron reducciones significativas en la presencia de granos violetas, pizarrosos y mohosos en los tratamientos con intervención biotecnológica, cumpliendo con los estándares de calidad internacional. Estos resultados refuerzan las conclusiones de J. Vera et al., (2023), sobre el impacto positivo de las fermentaciones dirigidas en la apariencia estructural del grano.

Grafica 4. Comparación consolidada de variables de la prueba de corte en almendras de cacao fermentadas y secas según el % de levadura y extracto de mango.



Efecto de la concentración de levadura y extractos en las pruebas químicas

Los resultados obtenidos para la variable acidez titulable, detallados en la gráfica 5, evidenciaron diferencias marcadas entre tratamientos, con valores que fluctuaron entre 0,93 % y 0,32 %. El análisis estadístico reveló un efecto altamente significativo ($p < 0,0001$) de los tres factores evaluados—estado de madurez, concentración de *Saccharomyces cerevisiae* y aplicación de extracto de mango—además de la existencia de interacciones estadísticamente significativas entre todos ellos. El tratamiento más eficiente en la reducción de acidez fue aquel que combinó cacao maduro con 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango, alcanzando el valor mínimo registrado (0,32 %), lo que refleja una depuración efectiva de los ácidos orgánicos al finalizar la fermentación. En contraposición, la acidez más elevada (0,93 %) se observó en frutos en estado sazonado sin inoculación ni adición de extracto, situación que evidencia una fermentación incompleta o menos eficiente.

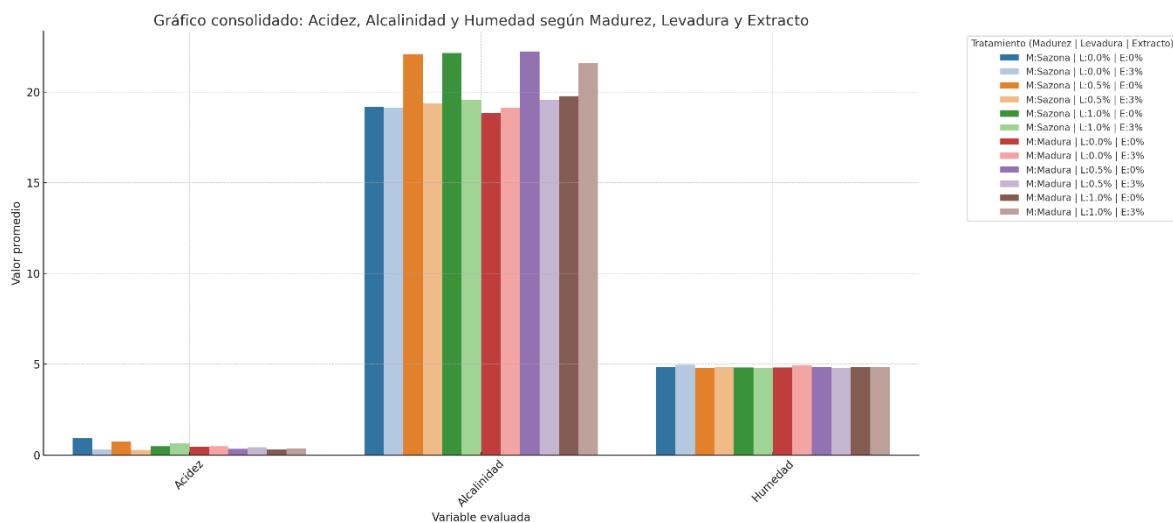
En relación con la alcalinidad de cenizas, los valores se situaron entre 18,85 % y 22,44 %. El análisis de varianza mostró que únicamente el factor madurez ejerció un efecto significativo sobre esta variable ($p = 0,0312$), mientras que ni la levadura, ni el extracto, ni sus interacciones presentaron efectos estadísticamente relevantes ($p > 0,05$). Los niveles más altos de ceniza se asociaron con tratamientos aplicados a frutos maduros, independientemente del resto de los factores, lo que sugiere una mayor concentración mineral residual en este grupo.

Por otro lado, el contenido de humedad final del grano mostró una alta uniformidad entre tratamientos, con valores estrechos que oscilaron entre 4,80 % y 4,86 %, sin diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$). El coeficiente de variación fue bajo (1,26 %) y el error estándar de la media se mantuvo en $\pm 0,04$, lo que indica un secado homogéneo posterior a la fermentación y una adecuada estandarización del proceso en todas las unidades experimentales. Estos resultados, en conjunto, destacan el papel determinante de los tratamientos combinados sobre la reducción de acidez, manteniendo a su vez la integridad fisicoquímica del grano.

Los parámetros químicos también reflejaron efectos relevantes de los tratamientos. La acidez titulable fue significativamente menor en el tratamiento con cacao maduro, 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango (0.32 %), frente a valores de hasta 0.93 % en frutos sazona sin intervención. El análisis estadístico evidenció significancia en todos los factores y sus interacciones ($p < 0.0001$), confirmando una sinergia funcional en la reducción de compuestos ácidos. Este comportamiento coincide con lo descrito por Morales et al., (2024).

En el caso de la alcalinidad de cenizas, se identificó influencia significativa únicamente del estado de madurez ($p = 0.0312$), con mayores valores en frutos maduros, hecho que refleja una mayor concentración de minerales básicos, tal como lo destacan (Intriago et al., 2022). La humedad final del grano fue homogénea entre tratamientos (4.80 % – 4.86 %), sin diferencias significativas, lo que indica un secado posfermentativo uniforme y adecuado, condición esencial para la estabilidad del producto final (Intriago, Cedeño, et al., 2024).

Gráfica 5. Efecto de la interacción de los dos estados de madurez (Sazona y Madura), en base a la inducción de levadura (0 %, 0.5 % y 1.0 %), Bajo la aplicación de extractos de mango sobre las variables de la prueba químicas.



Interacción entre los estados de madurez, la inducción de levadura y la adición de extractos de mango en el análisis organoléptico

Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial, expuestos en la gráfica 6, revelaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las variables de apariencia, color, aroma, textura y sabor, influenciadas por el grado de madurez del fruto, la concentración de *Saccharomyces cerevisiae* y la adición de extracto de mango.

La variable apariencia presentó efectos significativos ($p < 0,05$) para todos los factores evaluados, así como para las interacciones madurez \times levadura y levadura \times extracto. Los puntajes oscilaron entre 3,53 y 4,60, siendo este último registrado en los tratamientos que incluyeron frutos maduros fermentados con 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango, destacándose por su uniformidad visual y atractivo superficial.

En relación con el color, se detectaron diferencias significativas para los factores madurez ($p = 0,0189$) y extracto ($p = 0,0118$), con calificaciones que variaron entre 3,27 y 4,53. La adición de extracto de mango se asoció con una mayor estabilidad y apreciación del color, sugiriendo su efecto positivo en la conservación de pigmentos y compuestos relacionados con la tonalidad del chocolate.

El aroma fue modulado significativamente por todos los factores analizados ($p < 0,05$), con valores que oscilaron entre 3,27 y 4,87. El tratamiento con mazorca madura, 1 % de levadura y 3 % de extracto de mango obtuvo el puntaje más alto, evidenciando una mayor generación de compuestos volátiles deseables. Por el contrario, las muestras sin adición de biocomponentes mostraron puntuaciones aromáticas inferiores.

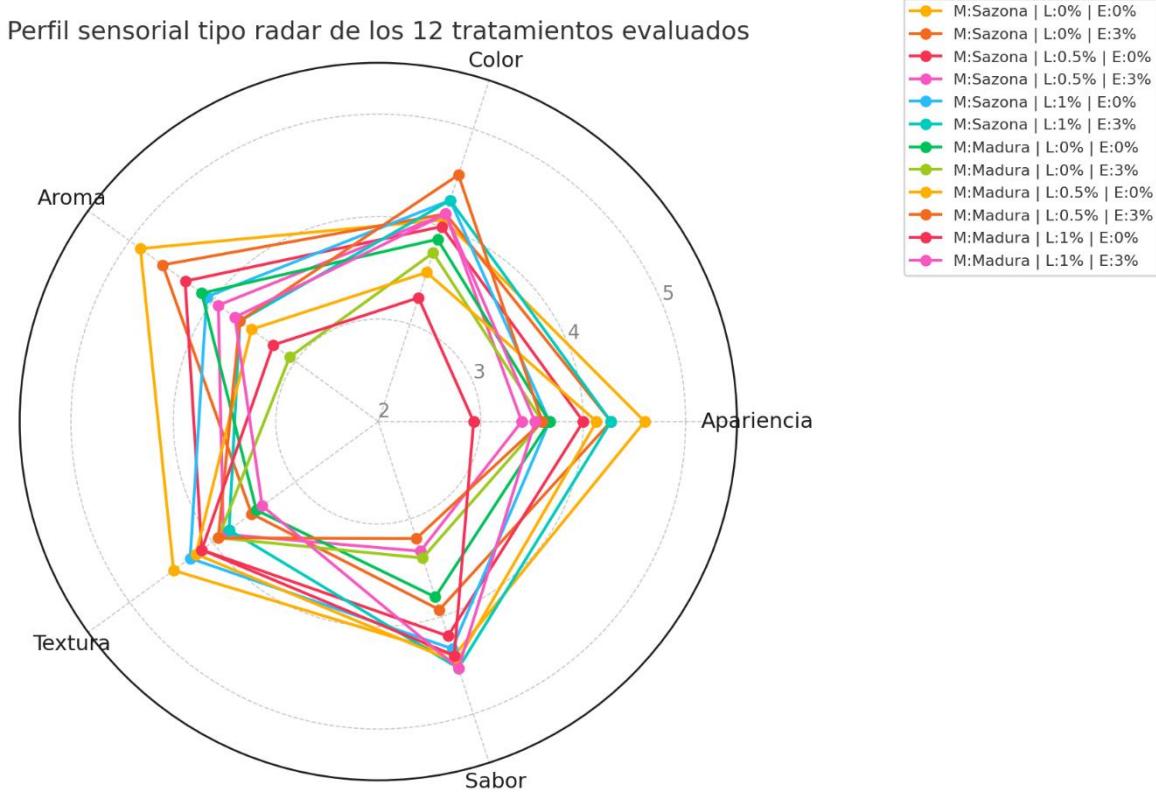
En cuanto a la textura, se observaron diferencias significativas asociadas al uso de levadura ($p = 0,0043$) y al extracto de mango ($p = 0,0487$). Las calificaciones oscilaron entre 3,13 y 4,47, con mejores resultados en los tratamientos inoculados con levadura al 1 %, lo cual sugiere una estructura más homogénea y agradable del producto final.

Respecto al sabor, se identificaron efectos significativos tanto del extracto de mango ($p = 0,0002$) como de la interacción madurez \times levadura ($p = 0,0498$). Los puntajes variaron entre 3,20 y 4,53, siendo estos últimos correspondientes a tratamientos con frutos maduros combinados con extracto, que lograron un perfil gustativo más complejo y armónico.

Los coeficientes de variación se mantuvieron dentro de los límites aceptables para análisis sensoriales con paneles semientrenados, fluctuando entre 19,53 % y 22,33 %, mientras que el error estándar de la media se situó entre $\pm 0,20$ y $\pm 0,22$, garantizando la confiabilidad y precisión de las valoraciones. Estos hallazgos respaldan que la aplicación conjunta de levadura y extracto de mango, especialmente en frutos maduros, mejora de forma integral la calidad sensorial del chocolate elaborado.

Desde el punto de vista sensorial, los tratamientos combinados mejoraron significativamente los atributos evaluados (apariencia, color, aroma, textura y sabor). El tratamiento con cacao maduro, 1 % de levadura y 3 % de extracto obtuvo los puntajes más altos en todas las variables, destacándose por su perfil aromático y gustativo más dulce, redondo y con menor astringencia. Estos resultados son consistentes con los estudios de (J. Vera, Vásquez, Alvarado, et al., 2024), quienes demostraron que los metabolitos generados por la fermentación dirigida pueden modular favorablemente las características sensoriales del cacao.

Gráfica 6. Efecto de la interacción de los dos estados de madurez (Sazona y Madura), en base a la inducción de levadura (0 %, 0.5 % y 1.0 %), Bajo la aplicación de extractos de mango sobre las variables sensoriales.



Interacción del estado de madurez del grano, la inoculación de levaduras y la adición de extracto de mango (*Mangifera indica* L.) sobre la capacidad antioxidante del cacao (*Theobroma cacao* L.) durante la fermentación

La capacidad antioxidante del cacao fermentado de la gráfica 7, medida en μmol Trolox/g, reflejó variaciones relevantes asociadas a la interacción entre el estado de madurez del fruto, la inoculación con *Saccharomyces cerevisiae*. los tratamientos requieren, y la adición de extracto de mango. Todos los tratamientos mantuvieron niveles notables de actividad antioxidante, con valores que oscilaron entre 355.95 y 581.03 μmol Trolox/g, confirmando que el cacao CCN - 51 posee un alto potencial bioactivo incluso tras el proceso fermentativo.

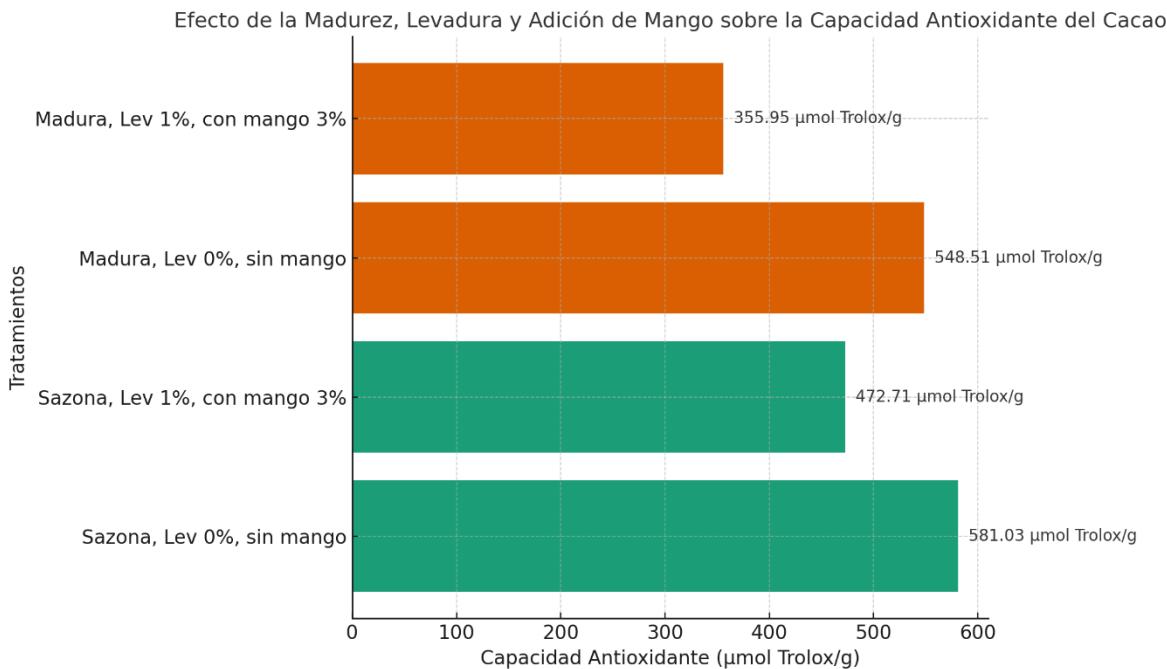
Los tratamientos sin adición de biocomponentes conservaron los niveles más elevados de antioxidantes, destacando el cacao sazona sin levadura ni mango (581.03 μmol Trolox/g)

y el cacao maduro en iguales condiciones (548.51 $\mu\text{mol Trolox/g}$ adecuada). Sin embargo, la aplicación combinada de tecnologías fermentativas también preserva valores antioxidantes considerables, lo que evidencia una adecuada compatibilidad del uso de levadura y extracto de mango con la integridad funcional del grano.

En particular, el tratamiento con levadura al 1 % y extracto de mango al 3 % aplicado sobre cacao sazona mantuvo una capacidad antioxidante de 472.71 $\mu\text{mol Trolox/g}$, mientras que en el caso del cacao maduro valor fue, este valor fue de 355,95 $\mu\text{mol Trolox/g}$ resultados. Estos resultados confirman que, si bien se presenta una ligera reducción, la bioactividad antioxidante se conserva en niveles funcionales, permitiendo el desarrollo de protocolos fermentativos con valor agregado, sin comprometer las propiedades nutracéuticas del cacao.

Por último, la capacidad antioxidante del cacao fermentado se mantuvo funcionalmente activa en todos los tratamientos, aunque se observó una ligera disminución en aquellos que incluyeron biocomponentes, alcanzando valores de 355.95 a 472.71 $\mu\text{mol Trolox/g}$, frente a los 548.51–581.03 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de los controles. Esta reducción, sin embargo, no compromete la funcionalidad nutracéutica del grano y podría estar vinculada a la transformación de compuestos fenólicos en precursores aromáticos, como lo afirman (J. Vera, Vasquez, Zapata, et al., 2024). La triple interacción madurez \times levadura \times extracto mostró una compatibilidad tecnológica favorable, permitiendo conservar la bioactividad dentro de parámetros aceptables y sentando las bases para protocolos de fermentación dirigida con valor agregado, tanto para el cacao de especialidad como para su aplicación industrial.

Grafica 7. Efecto de la interacción de los dos estados de madurez (Sazona y Madura), en base a la inducción de levadura (0 %, 0.5 % y 1.0 %), Bajo la aplicación de extractos de mango sobre la variable capacidad antioxidante



CONCLUSIONES

La caracterización del estado de madurez fisiológica del cacao como variable clave en la eficiencia fermentativa reveló que los frutos completamente maduros constituyen el sustrato más favorable para la implementación de estrategias fermentativas dirigidas. Particularmente, la sinergia entre frutos maduros, una inoculación de *Saccharomyces cerevisiae* al 1 % y la aplicación de extracto de mango al 3 % promovió una fermentación más vigorosa, evidenciada por una mayor generación de calor metabólico (47.5 °C), una reducción acelerada de azúcares solubles (6.0 °Brix), y un incremento progresivo del pH (hasta 5.00), lo cual indica una bioactividad microbiana más intensa y un entorno fermentativo más estable en comparación con frutos en estado intermedio de madurez. El análisis de la calidad físico-química del grano fermentado bajo estas condiciones permitió identificar mejoras significativas en variables críticas, incluyendo un incremento en el peso seco (845.5 g), un mayor índice de semilla (1.80) y un elevado porcentaje de granos completamente fermentados (86.0 %), junto con una marcada reducción en los defectos estructurales como granos violetas, pizarrosos y mohosos. A nivel composicional, se observó una reducción significativa en la acidez titulable (hasta 0.32 %), sin comprometer la estabilidad del contenido de humedad ni la alcalinidad de cenizas. Asimismo, se mantuvieron niveles funcionales relevantes de actividad antioxidante (355.95–581.03 $\mu\text{mol Trolox/g}$), lo que sugiere que la intervención biotecnológica no afecta negativamente las propiedades bioactivas del grano.



Desde el enfoque normativo, la aplicación de este protocolo fermentativo en frutos maduros permitió cumplir con los estándares establecidos por la norma INEN 176:2018 para cacao fermentado, alcanzando más del 85 % de granos bien fermentados, humedad inferior al 5 %, y una disminución significativa de defectos físicos. En paralelo, la evaluación sensorial reveló mejoras sustanciales en atributos organolépticos como apariencia, aroma, textura y sabor, particularmente en los tratamientos que incluyeron microorganismos y extractos frutales, resaltando así la valorización sensorial del producto final.

En conjunto, los resultados obtenidos respaldan la efectividad del uso combinado de levaduras seleccionadas y extractos frutales como herramienta biotecnológica para mejorar integralmente la calidad del grano de cacao (*Theobroma cacao L.*) variedad CCN-51. Esta aproximación no solo optimiza parámetros físico-químicos y sensoriales, sino que también preserva su funcionalidad bioactiva, fortaleciendo el posicionamiento del cacao ecuatoriano en mercados diferenciados de alto valor y calidad premium.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Erazo, Vera, J., Tuarez, D., Vásquez, L., Alvarado, K., Zambrano, C., Mindiola, V., Mora, R., & Revilla, K. (2023). Caracterización fenotípica en flores de cacao (*theobroma cacao l.*) en 40 híbridos experimentales en la finca experimental La Represa. *Revista Bionatura*, 8(3), 1–9. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.11>
- Intriago, Alvarado, K., Vera, J., Vásquez, L., Tigselema, S., & Verduga, C. (2024). Post-harvest quality of cacao (*Theobroma cacao L.*) for the chocolate industry. In García, M. Naga, F. Zambrano, & D. Aguilar (Eds.), *Sustainable Cacao Cultivation in Latin America* (1st ed., pp. 270–291). Routledge. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.4324/9781003381761-17/post-harvest-quality-cacao-theobroma-cacao-chocolate-industry-frank-intriago-flor-kerly-alvarado-v%C3%A1lsquez-jaime-vera-chang-luis-v%C3%A1lsquez-cortez-solanyi-tigselema-zambrano-cristhian-verduga-1%C3%B3pez?context=ubx&refId=66c90aef-fa25-4662-821f-687e31dc2bf2>
- Intriago, Cedeño, J., Parraga, C., Alvarado, K., Vásquez, L., Revilla, K., & Aldas, J. (2024). Induction of effective microorganisms (EM) in the fermenting mass of cacao (*Theobroma cacao L.*) and their impact on physicochemical and antioxidant characteristics. *Biotecnia*, 26(2422), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.18633/biotecnia.v26.2422>
- Intriago, Chávez, G., Vásquez, L., Alvarado, K., Escobar, R., Vera, J., Radice, M., & Raju, M. (2023). Evaluación del contenido de cadmio y caracterización fisicoquímica de almendras y pasta de cacao (*Theobroma cacao*). *Innovaciencia*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.15649/2346075X.3411>
- Intriago, Vera, J., Vásquez, L., & Alvarado, K. (2022). Inducción anaeróbica de *Bradyrhizobium japonicum* en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa. *Journal of Science and Research UTB*, 7(2), 19–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.7723254>

Medina, Zuñiga, M., Segobia, S., Cadme, M., & Rojas, L. (2020). Modificación bioquímica de las almendras de cacao en la etapa de postcosecha con la adición de levadura (*saccharomyces cerevisiae*) y melaza, para mejorar su calidad. *Revista Ingeniería e Innovación*, 8(1), 1–14. <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/rii/article/view/2313>

Morales, Morante, J., Herrera, R., Ayuso, M., & Bernalte, M. (2024). Efecto de la adición de levaduras y enzimas durante la fermentación sobre la calidad fisicoquímica de los granos de cacao fino de aroma. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16(101126), 1–43. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101126>

Torres, Vásquez, L., Vera, J., Alvarado, K., & Intriago, F. (2023). Extraction of cocoa powder for the preparation of a drink by adding mucilage and guava. *Sarhad Journal of Agriculture*, 39(2), 1–10. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2023/39/s2.10.18>

Vásquez, Alvarado, K., Intriago, F., Raju, N., & Prasad, R. (2024). Banana and apple extracts with efficient microorganisms and their effect on cadmium reduction in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Discover Food*, 4(163), 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s44187-024-00205-5>

Vásquez, Vera, J., Erazo, C., & Intriago, F. (2022a). Induction of *rhizobium japonicum* in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao L.*) as a strategy for the decrease of cadmium. *International Journal Od Health Sciences*, 6(3), 11354–11371. <https://doi.org/https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672>
Induction

Vásquez, Vera, J., Erazo, C., & Intriago, F. (2022b). Induction of *rhizobium japonicum* in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao L.*) as a strategy for the decrease of cadmium. *International Journal of Health Sciences*, 3(April), 11354–11371. <https://doi.org/https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672>
Induction

Vera, J., Benavides, J., Vásquez, L., Alvarado, K., Reyes, J., Intriago, F., Naga, M., & Castro, V. (2023). Effects of two fermentative methods on cacao (*Theobroma cacao*

L.) Trinitario, induced with Rhizobium japonicum to reduce cadmium. *Revista Colombiana de Investigación Agroindustriales*, 10(1), 95–106. <https://doi.org/https://doi.org/10.23850/24220582.5460>

Vera, J., Intriago, F., Alvarado, K., & Vasquez, L. (2022). Inducción anaeróbica de bradyrhizobium japonicum en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa. *Journal of Science and Research*, 7(2), 50–69. <https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.7723254> AUTORES:

Vera, J., Radice, M., Vásquez, L., & Intriago, F. (2024). Peril químico de 12 clones tipo Nacional de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Universidad Y Sociedad*, 16(1), 126–136. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/4311>

Vera, J., Vallejo, C., Párraga, D., Morales, W., Macias, J., & Ramos, R. (2014). Physical-chemical and sensory attributes of the cocoa Nacional (*Theobroma cacao* L.)n fifteen clones beans in Ecuador. *Science and Technology Magazine*, 7(2), 21–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.18779/cyt.v7i2.139>

Vera, J., Vásquez, L., Alvarado, K., Intriago, F., Raju, M., & Radice, M. (2024). Physical and Organoleptic Evaluation of 12 Cocoa Clones (*Theobroma Cacao* L.) of National Type, in Cocoa Liquor—a Study from Ecuador. *Systems, Smart Technologies and Innovation for Society*, 870, 199–211. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-031-51982-6_18

Vera, J., Vásquez, L., Valverde, E., Rodriguez, S., Uvidia, M., Palacios, J., & Intriago, F. (2024). Elaboración de barras de chocolate a partir de almendras de cacao de montaña (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl L.) con adición de pasta de frutas deshidratadas de naranja (*Citrus x sinensis*) y mango (*Mangifera indica*). *Revista Agrosilvicultura y Medioambiente*, 2(1), 71–90. <https://doi.org/https://doi.org/10.47230/agrosilvicultura.medioambiente.v2.n1.2024.71-90>

Vera, J., Vasquez, L., Zapata, K., & Cevallos, R. (2024). Caracterización morfológica , fisicoquímica y microbiológica del cacao Macambo (*Theobroma bicolor* Humb &



Bonpl .) en Ecuador. *Revista Agrotecnología Amazónica*, 4(2), 1–17.
<https://doi.org/https://doi.org/10.51252/raa.v4i2.657>

Vera, R., Vera, J., Vásquez, L., Cobos, F., Rodriguez, S., Pazmiño, Á., & Villamarín, J. (2025). Efecto del mucilago de cacao adicionando con tres niveles de vinagre y melaza como herbicida en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Sociedad Científica Del Paraguay*, 30(1), 1–13.
<https://doi.org/https://doi.org/10.32480/rscp.2025.30.1.0113>