

Efecto de bacterias *streptococcus*, *lactobacillus* y *levadura saccharomyces cerevisiae* en fermentación del cacao CCN-51

Effect of Streptococcus bacteria, Lactobacillus bacteria, and Saccharomyces cerevisiae yeast on the fermentation of CCN-51 cocoa

Efeito das bactérias *Streptococcus*, *Lactobacillus* e da *levadura Saccharomyces cerevisiae* na fermentação do cacau CCN-51

Camuez Canticuz Nataly Yesenia¹
Instituto Superior Tecnológico Tsa'chila
natalycamuezcanticuz@tsachila.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0003-1818-0126>



Vite Bustamante Jefferson Alejandro²
Instituto Superior Tecnológico Tsa'chila
jeffersonvitebustamante@tsachila.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0003-3253-9254>



Jiménez Delgado Ronald Ricardo³
Instituto Superior Tecnológico Tsa'chila
ronaldjimenez@tsachila.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-7853-7540>



 DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v6/nE2/1120>

Como citar:

Camuez, N, Vite, J. & Jiménez, R., (2025). Efecto de bacterias *streptococcus*, *lactobacillus* y *levadura saccharomyces cerevisiae* en fermentación del cacao CCN-51. Código Científico Revista de Investigación, 6(E2), 2201-2227.

Recibido: 20/06/2025

Aceptado: 21/07/2025

Publicado: 30/09/2025

Resumen

La presente investigación evaluó el efecto de bacterias *Streptococcus*, *Lactobacillus* y levaduras *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación del cacao CCN-51, con el objetivo de optimizar el proceso y mejorar la calidad del grano. El estudio se desarrolló en la Planta de Procesos del Instituto Superior Tecnológico Tsáchila durante el periodo I-2025, aplicando un enfoque mixto y un diseño factorial 3^2 con doce tratamientos, incluyendo un testigo, cada uno con tres repeticiones. Se realizaron análisis fisicoquímicos (pH, sólidos solubles, temperatura y humedad), sensoriales (aroma, color, textura) y de rendimiento. La muestra consistió en 12 kg de cacao fresco, tratado con cultivos microbianos antes de la fermentación controlada en cajas de laurel, con seguimiento durante cinco días. La evaluación sensorial fue realizada por un panel no entrenado de 10 docentes. Los resultados evidenciaron que la inoculación con cultivos iniciadores, especialmente el tratamiento combinado de *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Cacao Mix), mejoró significativamente los parámetros evaluados, mostrando un consumo adecuado de azúcares °Brix (0,37–0,73), pH equilibrado (3,65–3,87), temperatura óptima (30 °C) y humedad favorable para el secado (56%). Sensorialmente, destacó por aroma frutal, textura firme y color uniforme. El rendimiento alcanzó 92%, superior al testigo. Se concluye que la aplicación de microorganismos seleccionados permite una fermentación más eficiente, controlada y rentable, representando una alternativa viable para mejorar la calidad del cacao en procesos agroindustriales.

Palabras clave: Fermentación, cacao, bacterias, levadura, sensorial.

Abstract

This research evaluated the effect of *Streptococcus* bacteria, *Lactobacillus* bacteria, and *Saccharomyces cerevisiae* yeast on the fermentation of CCN-51 cocoa, with the aim of optimizing the process and improving bean quality. The study was conducted at the Tsáchila Higher Technological Institute's Processing Plant during the first half of 2025, applying a mixed approach and a 3^2 factorial design with twelve treatments, including a control, each with three replicates. Physicochemical (pH, soluble solids, temperature, and humidity), sensory (aroma, color, texture), and yield analyses were performed. The sample consisted of 12 kg of fresh cocoa, treated with microbial cultures before controlled fermentation in laurel boxes, with monitoring for five days. The sensory evaluation was performed by an untrained panel of 10 teachers. The results showed that inoculation with starter cultures, especially the combined treatment of *Streptococcus*, *Lactobacillus*, and *Saccharomyces cerevisiae* (Cacao Mix), significantly improved the parameters evaluated, showing adequate consumption of °Brix sugars (0.37–0.73), balanced pH (3.65–3.87), optimal temperature (30°C), and favorable humidity for drying (56%). Sensory evaluation highlighted a fruity aroma, firm texture, and uniform color. Yield reached 92%, higher than the control. It is concluded that the application of selected microorganisms allows for more efficient fermentation, controlled, and profitable, representing a viable alternative for improving cocoa quality in agro-industrial processes.

Keywords: Fermentation, cocoa, bacteria, yeast, sensory.

Resumo

A presente investigação avaliou o efeito das bactérias *Streptococcus*, *Lactobacillus* e leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na fermentação do cacau CCN-51, com o objetivo de otimizar o processo e melhorar a qualidade do grão. O estudo foi desenvolvido na Planta de Processos do Instituto Superior Tecnológico Tsáchila durante o período I-2025, aplicando uma abordagem mista e um desenho fatorial 3^2 com doze tratamentos, incluindo um testemunho, cada um com três repetições. Foram realizadas análises físico-químicas (pH, sólidos solúveis, temperatura e humidade), sensoriais (aroma, cor, textura) e de rendimento. A amostra consistiu em 12 kg de cacau fresco, tratado com culturas microbianas antes da fermentação controlada em caixas de louro, com acompanhamento durante cinco dias. A avaliação sensorial foi realizada por um painel não treinado de 10 professores. Os resultados evidenciaram que a inoculação com culturas iniciadoras, especialmente o tratamento combinado de *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Saccharomyces cerevisiae* (Cacao Mix), melhorou significativamente os parâmetros avaliados, mostrando um consumo adequado de açúcares °Brix (0,37–0,73), pH equilibrado (3,65–3,87), temperatura ideal (30 °C) e umidade favorável para a secagem (56%). Sensorialmente, destacou-se pelo aroma frutado, textura firme e cor uniforme. O rendimento atingiu 92%, superior ao controle. Conclui-se que a aplicação de microrganismos selecionados permite uma fermentação mais eficiente, controlada e rentável, representando uma alternativa viável para melhorar a qualidade do cacau em processos agroindustriais.

Palavras-chave: Fermentação, cacau, bactérias, levedura, sensorial.

Introducción

En el año 2024, Ecuador exportó un total de 471.157 toneladas de cacao, consolidándose como el tercer producto no petrolero más importante del país. Durante la última década, las exportaciones de cacao y sus derivados han experimentado un notable crecimiento del 168%, alcanzando un valor de USD 3.617 millones, lo que representa casi el triple en comparación con el año 2023, cuando se registraron exportaciones por USD 1.172,17 millones (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2024). No obstante, más allá del volumen de exportación, la calidad del grano sigue siendo un factor determinante en la competitividad del producto, estrechamente ligada a procesos postcosecha como la fermentación, etapa clave en el desarrollo de los precursores del sabor y aroma característicos del chocolate (Lagos et al., 2024).

Durante la fermentación, microorganismos como levaduras, bacterias lácticas y acéticas transforman los compuestos del mucílago en metabolitos esenciales para la calidad

final del grano. Sin embargo, al depender de la acción microbiana espontánea, el proceso tradicional presenta alta variabilidad en sus resultados, afectando la uniformidad del producto. En respuesta a esta problemática, se han propuesto cultivos iniciadores (starter cultures) como estrategia biotecnológica para estandarizar y optimizar la fermentación (Navia, 2012). Especies como *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Saccharomyces cerevisiae* han demostrado su eficacia para mejorar la descomposición del mucílago, acelerar la actividad enzimática y estabilizar el ambiente fermentativo, disminuyendo el tiempo del proceso sin comprometer la calidad del cacao (González & Flores, 2019).

En este contexto, fue de especial interés el estudio aplicado a variedades ampliamente cultivadas como el cacao CCN-51, muy demandado por la industria chocolatera por su alto contenido de grasa y sabor distintivo (Barrionuevo, 2023). La presente investigación se propuso evaluar la acción de microorganismos seleccionados en la fermentación del cacao, con el objetivo de optimizar su duración y estandarizar la calidad del producto final. Al controlar variables como el pH, la temperatura y la concentración de azúcares, se buscó establecer una metodología que permitió incrementar la eficiencia de este proceso clave en la cadena de valor del cacao ecuatoriano, aportando así al desarrollo sostenible y rentable del sector.

La fermentación es un proceso fundamental en la transformación del cacao (*Theobroma cacao*), ya que permite reducir el amargor natural de los granos, al tiempo que favorece la generación de compuestos precursores del sabor y aroma característicos del chocolate. Este proceso, aunque necesario, suele ser lento debido a que implica una compleja degradación enzimática de azúcares y proteínas, inicialmente en la pulpa y posteriormente en la semilla. Dicha transformación es llevada a cabo por la acción de levaduras, bacterias ácido-lácticas (BAL) y bacterias ácido-acéticas, cuyo equilibrio y dinámica influyen directamente en la calidad del producto final (Palacios, 2021).

En Ecuador, y particularmente en zonas productoras como Santo Domingo de los Tsáchilas, la fermentación aún se realiza de manera artesanal, sin control técnico ni microbiológico adecuado. Esta falta de estandarización da lugar a fermentaciones incompletas o desiguales, con efectos negativos en la calidad organoléptica del grano, reduciendo su valor en el mercado y aumentando el riesgo de pérdidas económicas. Además, el tiempo prolongado del proceso tradicional, que puede durar entre 5 y 7 días, representa un obstáculo para la eficiencia productiva y la competitividad de los pequeños y medianos productores, quienes en muchos casos carecen del acceso a tecnologías de mejora postcosecha (García et al., 2019).

Ante esta problemática, la presente investigación se enfocó en controlar y acelerar el proceso de fermentación mediante la inoculación de microorganismos específicos, como las bacterias *Streptococcus* y *Lactobacillus*, reconocidas por su capacidad de producir ácido láctico, y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, clave en la generación de compuestos aromáticos y etanol. El uso de cultivos iniciadores, como estos, ha demostrado mejorar el control del proceso fermentativo, reducir su duración y elevar la calidad organoléptica del grano de cacao (Zambrano, 2020).

Peñaherrera (2021) señala que la fermentación del cacao, la cual dura entre tres y cinco días, es un procedimiento microbiológico fundamental, caracterizado por la acción secuencial de levaduras y bacterias. Las levaduras transforman los azúcares del mucílago en etanol, lo que favorece la degradación de pectinas y la reducción de acidez, mientras crean un entorno anaeróbico que estimula la proliferación de bacterias lácticas.

Condori (2023) profundiza en el papel de *Saccharomyces cerevisiae*, que inicia la fermentación alcohólica bajo condiciones anaeróbicas, generando metabolitos secundarios como ácidos orgánicos, alcoholes y ésteres, que enriquecen el perfil aromático del cacao. Además, esta levadura tiene actividad pectinolítica y contribuye al control microbiológico, promoviendo una fermentación de alta calidad. En la etapa aeróbica, la presencia de oxígeno

favorece el crecimiento de bacterias como *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter spp.*, las cuales aumentan la temperatura y modifican la química del grano, aunque un manejo inadecuado del *L. fermentum* puede intensificar sabores amargos y astringentes (Solis, 2019).

Finalmente, Quiza (2024) reporta que la inoculación controlada con *S. cerevisiae* y *Acetobacter aceti* no solo acelera el proceso de fermentación, sino que también mejora la uniformidad y las propiedades organolépticas del cacao. Este enfoque biotecnológico permite obtener granos de mayor calidad, con menor porcentaje de defectos, haciendo del proceso una práctica más eficiente y predecible.

El interés por investigar este proceso radica en la necesidad de comprender los mecanismos mediante los cuales estos microorganismos aceleran la fermentación. Un conocimiento detallado sobre sus funciones específicas, sus interacciones y las condiciones que optimizan su actividad microbiana podría contribuir al desarrollo de estrategias más eficientes, controladas y reproducibles para la fermentación del cacao. Desde una perspectiva teórica, la investigación aporta a la comprensión de la ecología microbiana en alimentos fermentados, explorando la dinámica poblacional y las vías metabólicas de microorganismos clave en la transformación del producto.

Metodología

El trabajo de investigación se desarrolló en Planta de Procesos y el Laboratorio de Química del Instituto Superior Tecnológico Tsa'chila, ubicado en la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, parroquia Chigüilpe, avenida Galo Luzuriaga y Franklin Pallo, en el periodo lectivo I-2025 durante 4 meses.

La modalidad de la presente investigación es de carácter mixto, ya que combina un enfoque cualitativo y cuantitativo. No solo se diagnosticó la problemática de la fermentación del cacao, sino que también se propusieron soluciones prácticas para optimizar este proceso. En el aspecto cualitativo, se investigó la inoculación controlada de microorganismos

específicos (*Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Saccharomyces*) para acelerar la fermentación y mejorar las características sensoriales del cacao. Por otro lado, el enfoque cuantitativo se centró en medir variables físicas y químicas del proceso, con el objetivo de obtener resultados que validen la eficacia de las intervenciones y permitan mejorar los tiempos de fermentación y la calidad final del cacao.

En la presente investigación, la modalidad de investigación fue:

Investigación de campo: Esta modalidad se aplicó mediante la recolección directa de datos en entornos reales de fermentación del cacao, específicamente en fincas o centros de acopio donde se lleva a cabo el proceso postcosecha. Permitió observar y registrar las condiciones actuales de fermentación y aplicar los tratamientos experimentales con cultivos iniciadores en un contexto práctico.

Investigación documental: Se empleó para fundamentar teóricamente el estudio a partir del análisis de libros, artículos científicos, publicaciones académicas y documentos oficiales. A través de esta modalidad se recopiló información sobre los microorganismos involucrados en la fermentación del cacao, sus mecanismos de acción y antecedentes sobre el uso de consorcios microbianos.

Investigación Experimental: Es la modalidad central del estudio, ya que se diseñaron y ejecutaron ensayos controlados en los que se aplicaron cultivos iniciadores compuestos por *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Saccharomyces cerevisiae*. Se evaluó su efecto en variables fisicoquímicas y sensoriales del grano, lo que permitió comprobar la hipótesis y proponer mejoras técnicas al proceso.

El tipo de investigación fue:

- **Descriptiva**, se recolectaron, organizaron y presentaron datos cuantificables sobre los procesos fermentativos (días de fermentación y tipo de microorganismos involucrados), así como los parámetros físico-químicos y sensoriales del grano.

- **Explicativa**, porque se pretendió establecer relaciones causales entre las variables independientes y los resultados obtenidos en términos de calidad físico-química y sensorial del grano, buscando explicar cómo y por qué determinados factores afectan el resultado final del proceso fermentativo.

La población y muestra de esta investigación estuvo conformada las 12kg de pepas de cacao CCN-51 fresco, adquirida del cantón Santo Domingo, que cumplió con las normas sanitarias vigentes. Cada muestra de cacao constará de 3000g, según su tratamiento correspondiente. La población para la evaluación sensorial estuvo conformada por un panel no entrenado de 10 docentes de la carrera de Tecnología en Agroindustria.

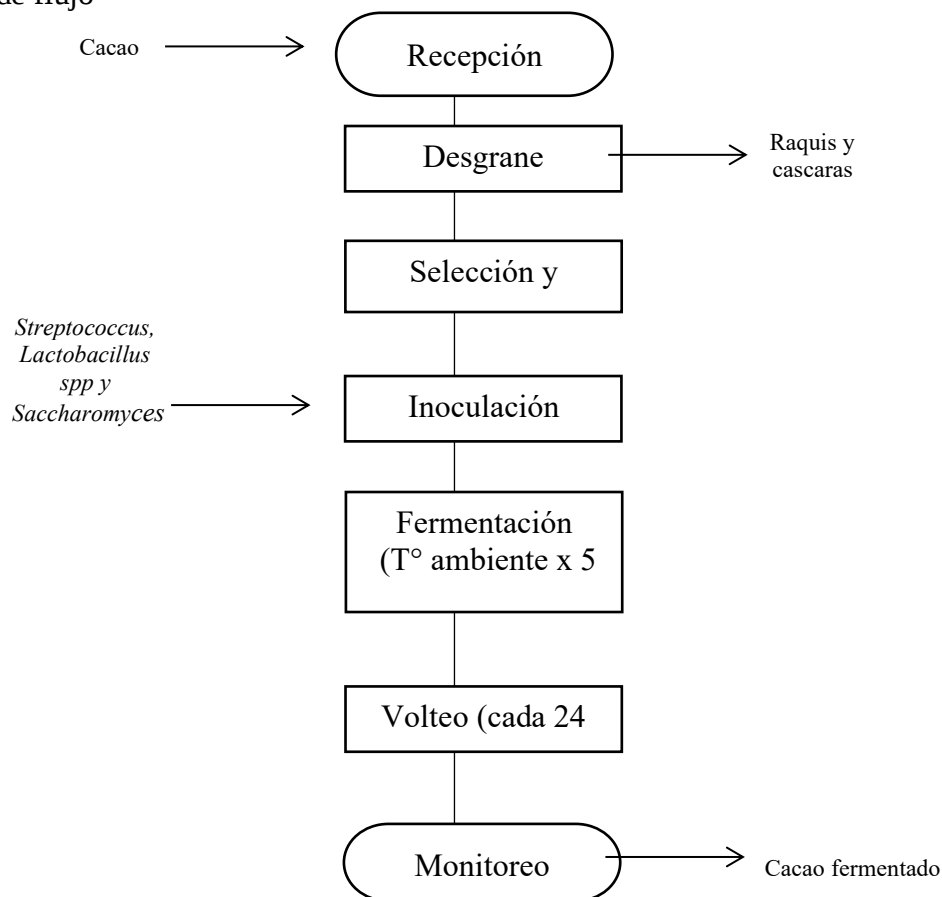
Para la parte experimental relacionada con los parámetros fisicoquímico, se aplicó un diseño factorial completo 3^2 , complementado con un tratamiento adicional tipo testigo, lo que resultó en 4 niveles en el factor A (incluyendo el testigo) y 3 niveles de días de fermentación, generando un total de 12 tratamientos, lo que resultó en 36 unidades experimentales. Para comparar las medias se utilizó la prueba de Tukey con un 0.05% de error. Se detalla a continuación los tratamientos. Se aplicó un arreglo factorial 3^2 como se detalla en la tabla 1.

Tabla 1.
Formulaciones

Materia prima	Gramos de MO/L
Cacao CCN-51	A1: <i>Lactobacillus</i> (3g/1kg)
	A2: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (5g/1kg)
	A3: <i>Lactobacillus</i> (3g/1kg)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (5g/1kg)
	A4: Muestra testigo

Para el procedimiento del presente experimento se lo realizó siguiendo las siguientes etapas de la figura 1.

Figura 1
Diagrama de flujo



Se recolectaron manualmente mazorcas maduras de cacao variedad CCN-51, identificadas por el cambio de color de la cáscara y la facilidad para desprender los granos, y se desgranaron el mismo día para evitar fermentaciones espontáneas, seleccionando únicamente los granos sanos con mucílago bien desarrollado, que fueron pesados y distribuidos en los diferentes tratamientos experimentales. Posteriormente, se inocularon con cepas de *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* y *Saccharomyces cerevisiae* en condiciones controladas para iniciar la fermentación dirigida, colocándose en cajas durante 3 a 5 días a temperatura ambiente, con volteos diarios para asegurar la aireación y el desarrollo microbiano deseado, mientras se monitoreaban parámetros como temperatura, pH, humedad y sólidos solubles para evaluar la eficacia de los microorganismos.

- ❖ **Análisis fisicoquímicos:** Los análisis fisicoquímicos que se desarrollaron para caracterizar el producto fueron: temperatura, pH, humedad y sólidos solubles totales.
- **Temperatura de fermentación:** Se utilizó un termómetro de alta precisión o termobalanza para medir la temperatura en diferentes puntos del proceso de fermentación. Este parámetro fue clave, ya que la temperatura influyó directamente en la actividad de los microorganismos y en la calidad del cacao final. Las mediciones se realizaron de forma continua durante todo el proceso fermentativo.
 - **pH (concentración de iones de hidrógeno):** Se midió el pH utilizando un potenciómetro, instrumento que permitió determinar la acidez o alcalinidad del cacao en cada etapa del proceso. El pH fue fundamental para garantizar un ambiente adecuado para la actividad microbiana y las reacciones químicas que ocurrieron durante la fermentación.
 - **Sólidos solubles:** Se utilizó un refractómetro para medir la concentración de sólidos solubles en el cacao. Este instrumento midió la densidad óptica de la solución y permitió calcular la cantidad de sólidos disueltos, lo cual fue esencial para evaluar el sabor y la calidad del producto final.
 - **Humedad del grano:** Se midió el contenido de humedad en los granos de cacao utilizando una estufa, termobalanza o balanza de humedad. Este equipo permitió obtener una lectura precisa del porcentaje de agua presente en el grano, lo cual fue importante para garantizar la correcta conservación del cacao durante el almacenamiento y evitar su deterioro.
- ❖ **Análisis de rendimiento:** El rendimiento del cacao fermentado se calculó como la relación entre el peso del producto final y el peso inicial del cacao antes de la fermentación, expresado en porcentaje (%). Este análisis permitió medir la eficiencia del proceso y su viabilidad a nivel productivo.

Fórmula:

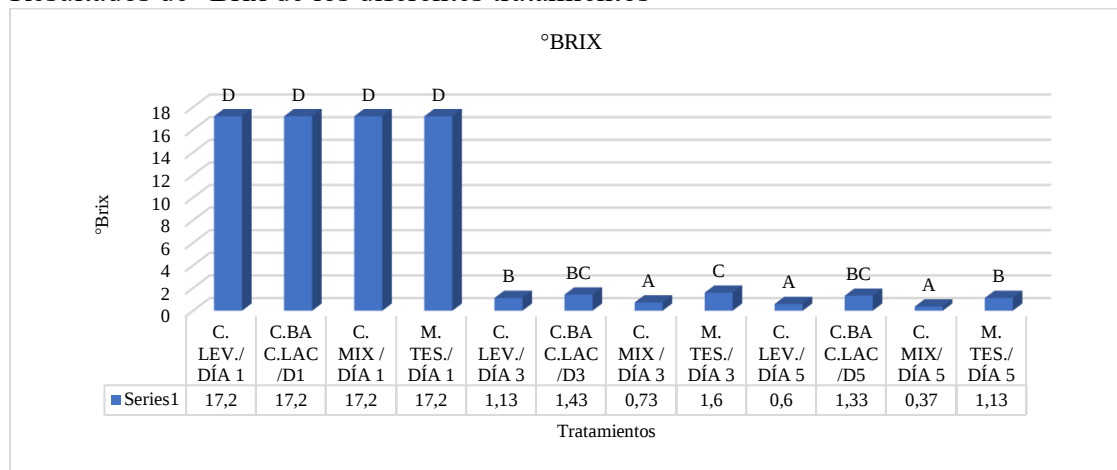
$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso final del cacao}}{\text{Peso inicial del cacao}} * (100)$$

Análisis sensorial: La evaluación sensorial del cacao fermentado se llevó a cabo mediante un panel compuesto por 10 catadores no entrenados, quienes fueron responsables de evaluar las características organolépticas del grano de cacao. Las características que se evaluaron incluyeron la calidad visual, el color, el aroma, la firmeza y la impresión global de las muestras. A cada panelista se le presentaron tres muestras de cada tratamiento, las cuales estuvieron codificadas con números al azar de tres dígitos, con el fin de garantizar la objetividad y evitar sesgos durante la evaluación. Para los atributos sensoriales, se aplicó una escala de puntuación de 1 a 5, donde la puntuación más alta (5) correspondió a la mejor calidad percibida por los catadores. Una vez que los catadores realizaron las evaluaciones, las fichas de cata y las escalas de puntuación correspondientes fueron registradas para cada atributo. Estos datos fueron presentados detalladamente después de la descripción.

Resultados**Análisis fisicoquímico****Sólido solubles (°Brix)**

En la **figura 2** se puede observar los resultados obtenidos respecto a los sólidos solubles de los diferentes tratamientos con bacterias *streptococcus*, *lactobacillus* y levadura *saccharomyces cerevisiae*.

Figura 2
Resultados de °Brix de los diferentes tratamientos



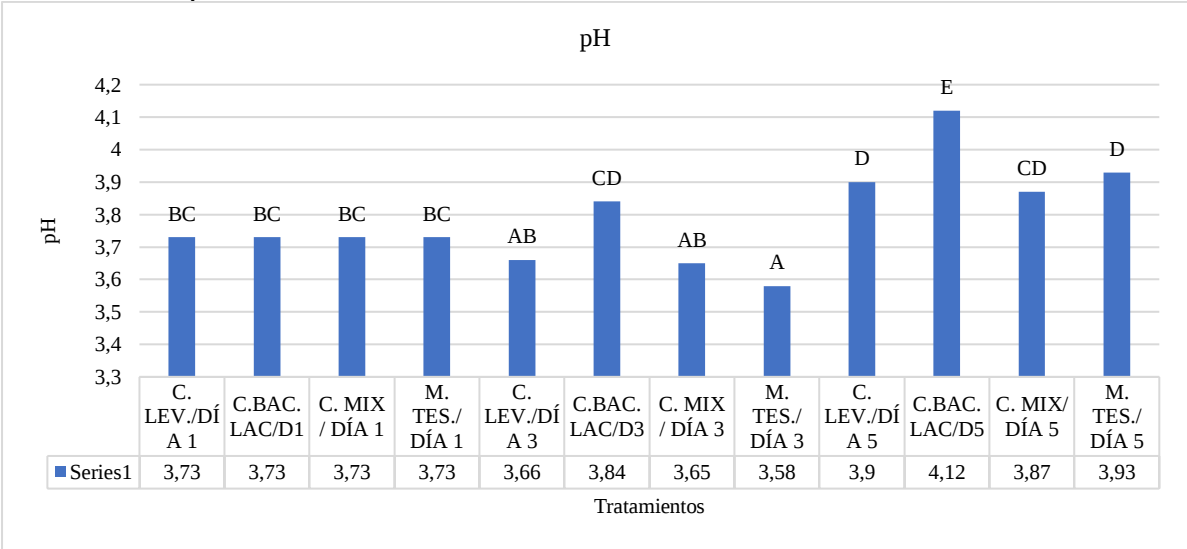
Nota. C.=Cacao; Lev.= *levadura Saccharomyces cerevisiae*; C.BAC.LAC.= Cacao con *lactobacillus*; C.Mix= Cacao con *levadura Saccharomyces cerevisiae* y con *lactobacillus*; M.Tes.= Muestra Testigo

En la fermentación del cacao CCN-51, los tratamientos iniciaron con altos niveles de azúcares (17–18 °Brix), los cuales disminuyeron notablemente hacia el día 5 debido a la actividad microbiana. Se observaron diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre tratamientos, con un bajo coeficiente de variación (1,94%), lo que evidencia precisión experimental. Los tratamientos con mezcla de *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* y *Saccharomyces cerevisiae* (A3) presentaron los valores más bajos de °Brix (0,37–0,73), indicando una fermentación más eficiente, mientras que el testigo y los microorganismos individuales mostraron menor actividad fermentativa.

pH

En la **figura 3** se puede observar los resultados obtenidos respecto al pH de los diferentes tratamientos con bacterias *streptococcus*, *lactobacillus* y *levadura saccharomyces cerevisiae*.

Figura 3
Resultados de pH de los diferentes tratamientos



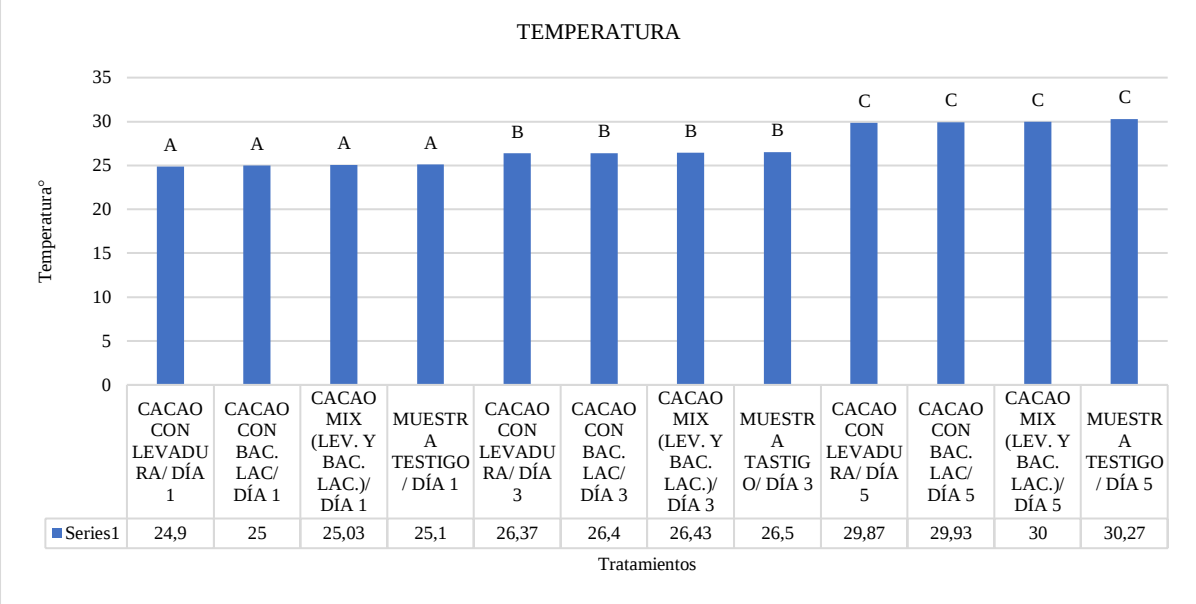
Nota. C.=Cacao; Lev.= levadura *Saccharomyces cerevisiae*; C.BAC.LAC.= Cacao con *lactobacillus*; C.Mix= Cacao con levadura *Saccharomyces cerevisiae* y con *lactobacillus*; M.Tes.= Muestra Testigo

Los resultados del pH en la fermentación del cacao CCN-51 mostraron el patrón típico del proceso fermentativo. Al inicio, todos los tratamientos presentaron un pH de 3,73, que disminuyó hacia el día 3 por la producción de ácidos orgánicos. La mayor acidificación se observó en la muestra testigo (3,58) y el tratamiento mixto (3,65), mientras que el tratamiento con bacterias lácticas mostró una reducción menor (3,84). Para el día 5, el pH aumentó en todos los casos, alcanzando su punto más alto con bacterias lácticas (4,12), lo que refleja la pérdida de acidez por evaporación y escurrimiento del mucílago. El análisis estadístico confirmó diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$) y un bajo coeficiente de variación (1,13%), demostrando la influencia de los microorganismos en la acidificación y la precisión de los datos.

Temperatura

En la **figura 4** se puede observar los resultados obtenidos respecto a la temperatura de los diferentes tratamientos con bacterias *streptococcus*, *lactobacillus* y levadura *saccharomyces cerevisiae*.

Figura 4
Resultados de temperatura de los diferentes tratamientos



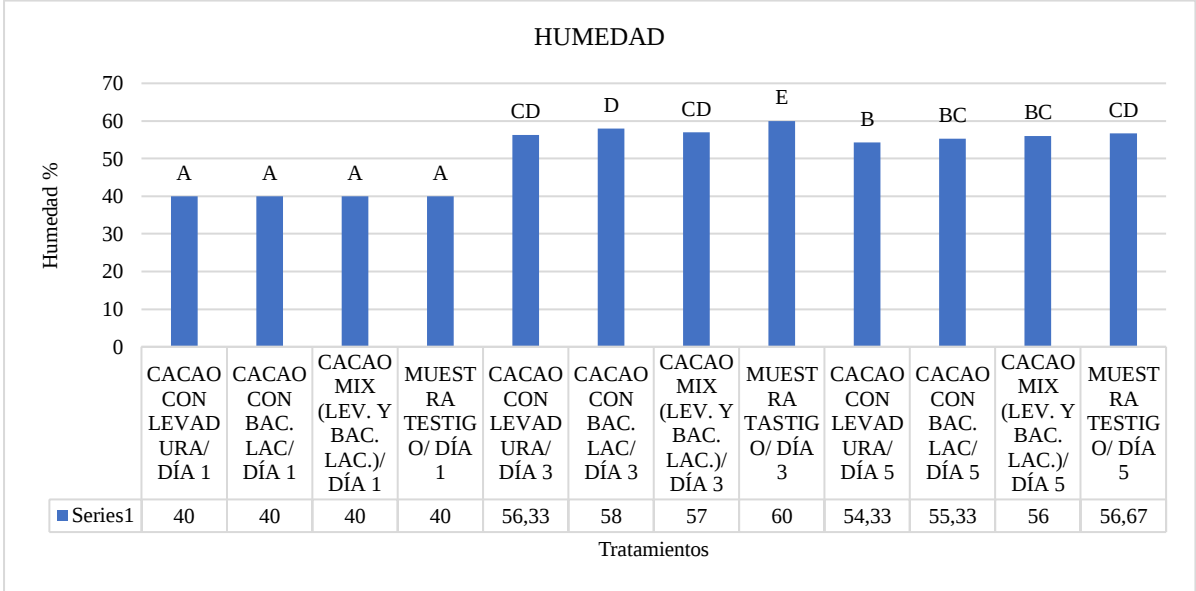
Nota. C.=Cacao; Lev.= levadura *Saccharomyces cerevisiae*; C.BAC.LAC.= Cacao con *lactobacillus*; C.Mix= Cacao con levadura *Saccharomyces cerevisiae* y con *lactobacillus*; M.Tes.= Muestra Testigo

Los resultados de la temperatura interna del cacao CCN-51 mostraron un aumento progresivo durante la fermentación. En el día 1, todas las muestras registraron valores similares (24,9 °C–25,1 °C), reflejando una baja actividad microbiana inicial. Para el día 3, la temperatura se elevó moderadamente (26,4 °C–26,5 °C) debido al inicio del metabolismo de levaduras y bacterias. Al día 5, se alcanzaron los valores más altos (29,87 °C–30,27 °C), indicando una fermentación activa con intensa producción de calor por reacciones bioquímicas. El análisis estadístico evidenció diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$) y un coeficiente de variación extremadamente bajo ($CV = 1,2E-07$), confirmando la influencia microbiana en la evolución térmica y la alta precisión de los datos.

Humedad

En la **figura 5** se puede observar los resultados obtenidos respecto a la humedad de los diferentes tratamientos con bacterias *streptococcus*, *lactobacillus* y levadura *saccharomyces cerevisiae*.

Figura 5
Resultados de humedad de los diferentes tratamientos



Nota. C.=Cacao; Lev.= levadura *Saccharomyces cerevisiae*; C.BAC.LAC.= Cacao con *lactobacillus*; C.Mix= Cacao con levadura *Saccharomyces cerevisiae* y con *lactobacillus*; M.Tes.= Muestra Testigo

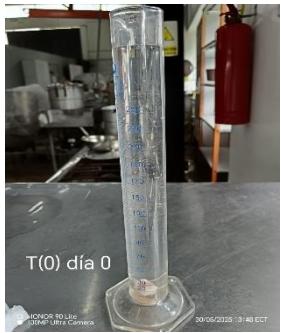
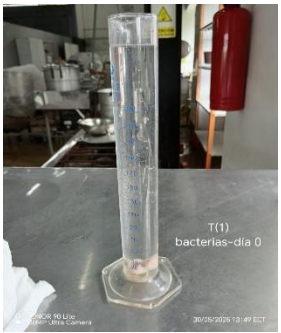
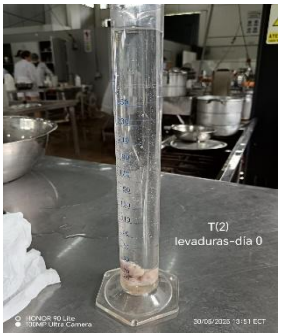
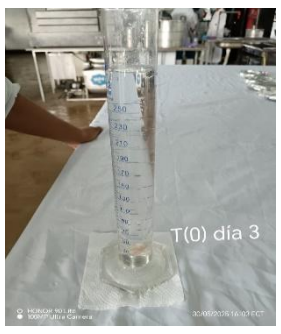
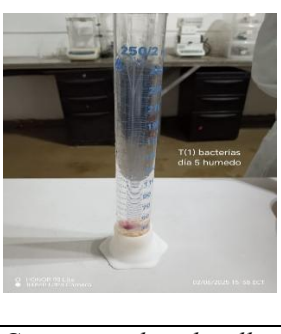
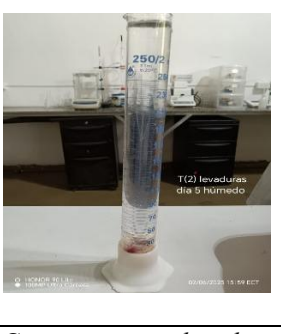
Los resultados mostraron que el contenido de humedad del cacao CCN-51 varió significativamente durante la fermentación. En el día 1, todos los tratamientos iniciaron con un 40% de humedad, propio del estado fresco del grano. Para el día 3, la humedad aumentó hasta un 60% en la muestra testigo, debido a la liberación de agua y la degradación del mucílago por acción microbiana. Hacia el día 5, se observó una ligera reducción, más marcada en el tratamiento con levaduras (54,33%), asociada a la evaporación del agua por el calor generado y el volteo del material. El ANOVA evidenció diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$), confirmando que los microorganismos inoculados influyeron directamente en la dinámica de humedad durante la fermentación del cacao.

Análisis de fermentado por el método de inmersión en agua

En la tabla 2 se puede observar los resultados obtenidos respecto al rendimiento del grano de cacao de los diferentes tratamientos y días de fermentación.

Tabla 2.

Análisis de fermentado por el método de inmersión de los tratamientos

			
Muestra testigo sin adición de bacterias <i>streptococcus</i> en el día 0	Cacao con <i>lactobacillus</i> en el día 0	Cacao con <i>levadura saccharomyces cerevisiae</i> en el día 0	Cacao con <i>lactobacillus</i> y <i>levadura saccharomyces cerevisiae</i> en el día 0
			
Muestra testigo sin adición de bacterias <i>streptococcus</i> en el día 3	Cacao con <i>lactobacillus</i> en el día 3	Cacao con <i>levadura saccharomyces cerevisiae</i> en el día 3	Cacao con <i>lactobacillus</i> y <i>levadura saccharomyces cerevisiae</i> en el día 3
			
Muestra testigo sin adición de bacterias <i>streptococcus</i> en el día 5	Cacao con <i>lactobacillus</i> en el día 5	Cacao con <i>levadura saccharomyces cerevisiae</i> en el día 5	Cacao con <i>lactobacillus</i> y <i>levadura saccharomyces cerevisiae</i> en el día 5

En los resultados de la tabla 2 se observa que en granos recién cosechados o sin fermentar, el contenido de mucílago es elevado, y el interior del grano mantiene una estructura compacta con baja porosidad. Esto hace que su densidad sea mayor que la del agua, por lo que los granos tienden a hundirse al ser sumergidos. En cambio, cuando los granos han pasado por

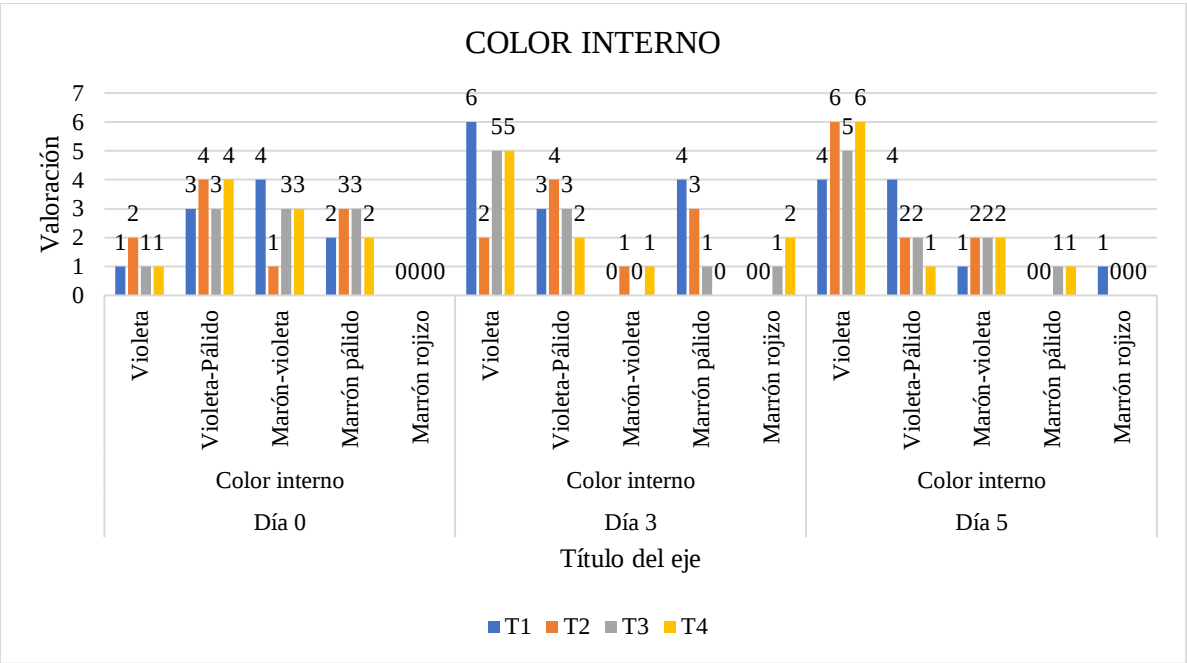
un proceso de fermentación adecuado, las enzimas y microorganismos han degradado parcialmente los compuestos del mucílago y del interior del grano. Esto genera una estructura más porosa y ligera, junto con la evaporación de humedad durante el secado. Como resultado, los granos secos tienden a flotar al ser colocados en agua (Peñuela-Martínez et al., 2021). granos secos ascienden a la superficie.

Análisis sensorial

Color interno

En la figura 6 se puede observar los resultados obtenidos respecto al color interno del grano de cacao de los diferentes tratamientos y días de fermentación.

Figura 6
Resultados del color interno de los diferentes tratamientos

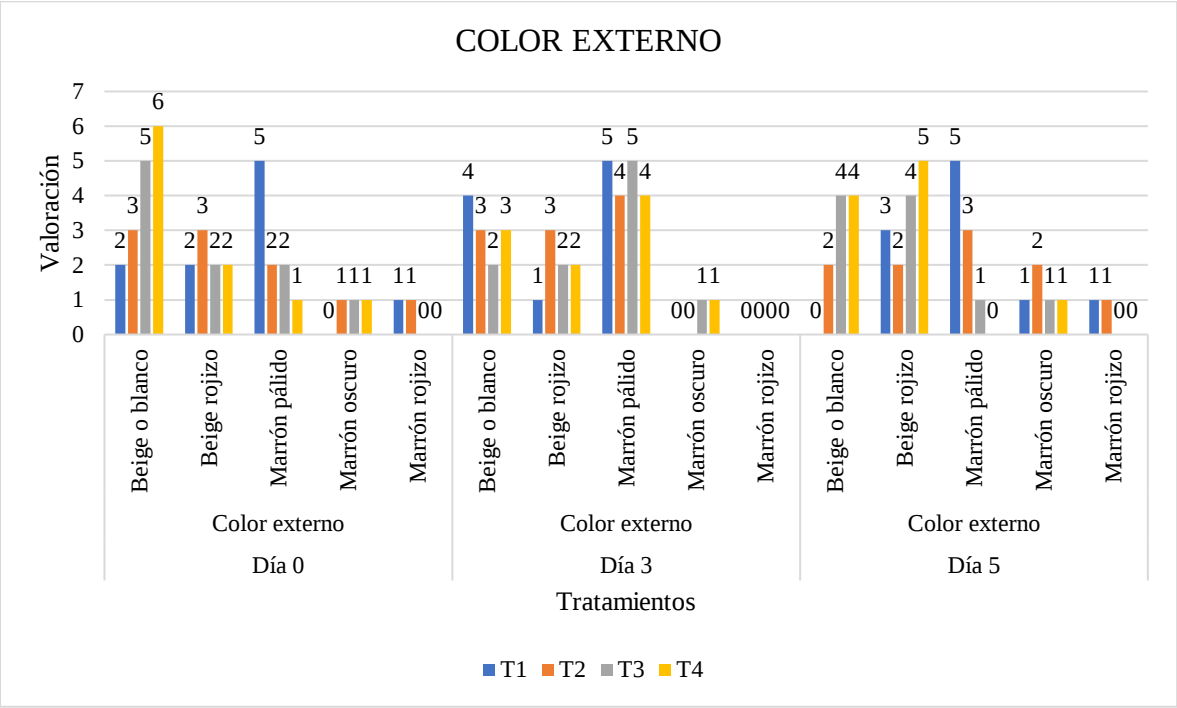


Al inicio (día 0) predominan tonos violetas propios de granos no fermentados; al día 3 se observa una transición parcial, y al día 5 se alcanzan tonalidades marrón pálido y rojizo, indicativas de una fermentación completa. Este cambio está asociado con la desnaturalización de proteínas y la oxidación de polifenoles, procesos esenciales para el desarrollo del sabor característico del chocolate.

Color externo

En la **figura 7**. se puede observar los resultados obtenidos respecto al color externo del grano de cacao de los diferentes tratamientos y días de fermentación.

Figura 7
Resultados del color externo de los diferentes tratamientos

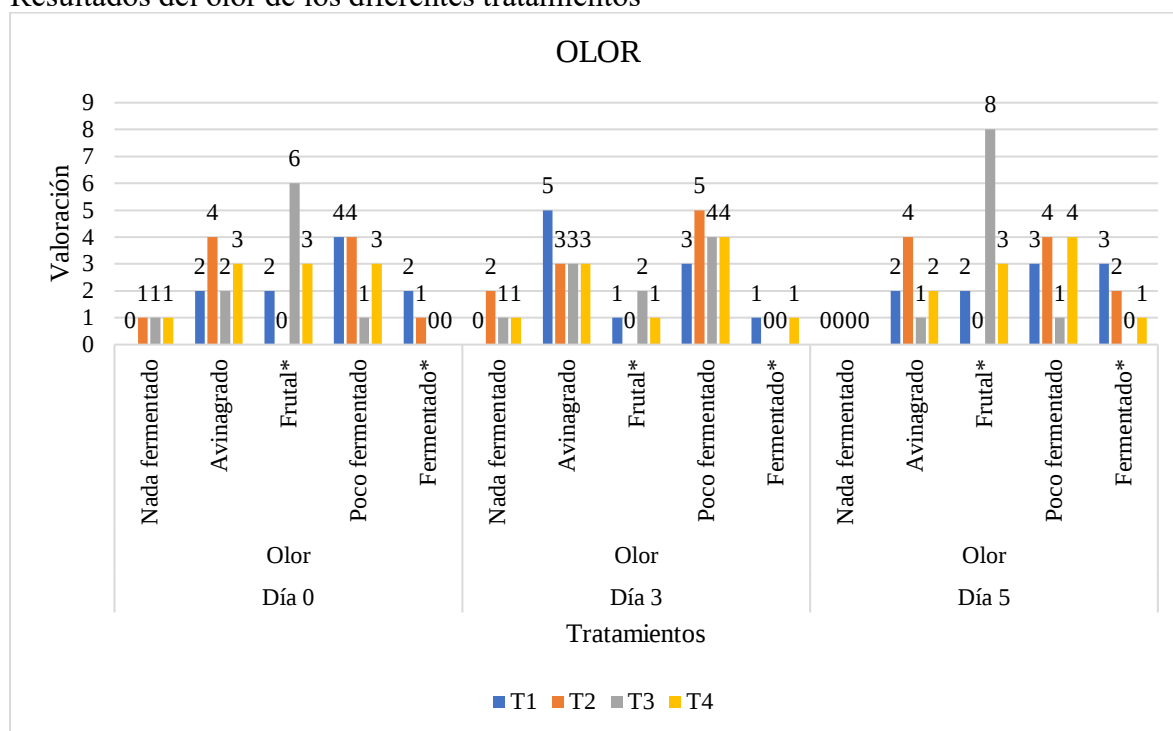


La figura 7 muestra que el color externo del grano de cacao varía a lo largo de la fermentación, evidenciando el avance del proceso por la descomposición de la pulpa y la oxidación de compuestos fenólicos. Aunque entre el día 0 y el día 3 se observa un cambio progresivo, al día 5 no se alcanzan tonalidades marrones oscuras o rojizas, lo que sugiere una fermentación externa incompleta o poco homogénea. Esto podría deberse a factores como temperatura inadecuada, volteo insuficiente o compactación de los granos durante la fermentación.

Olor del grano

En la **figura 8** se puede observar los resultados obtenidos respecto al olor del grano de cacao de los diferentes tratamientos y días de fermentación.

Figura 8
Resultados del olor de los diferentes tratamientos

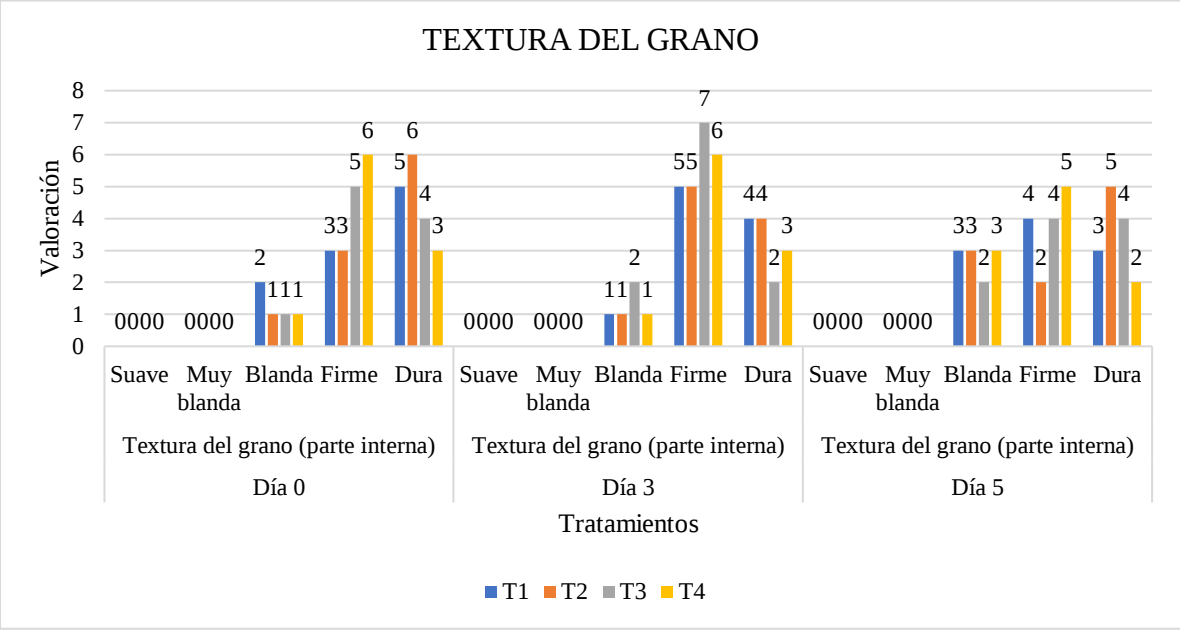


La evolución del olor durante la fermentación del cacao, pasando de aromas frescos o neutros (día 0) a notas ácidas, frutales y fermentadas. Este cambio se debe a la actividad microbiana que transforma los azúcares de la pulpa en compuestos volátiles. Aunque desde el inicio ya se perciben olores fermentativos, lo ideal es que estos se intensifiquen a partir del día 5, siendo el tratamiento T1 el que mostró mayor intensidad de olor a fermentado. El aumento de aromas frutales indica un proceso adecuado, pero la presencia de notas avinagradas sugiere una fermentación irregular o mal controlada. De acuerdo con Afoakwa (2014), la evolución del olor es un indicador sensorial clave de la calidad aromática del cacao. Además, los granos analizados cumplen con la Norma INEN 176, que exige ausencia de olores a moho, ácido butírico, agroquímicos o cualquier olor objetable.

Textura del grano

En la **figura 9**, se puede observar los resultados obtenidos respecto a la textura del grano de cacao de los diferentes tratamientos y días de fermentación.

Figura 9
Resultados de la textura del grano de los diferentes tratamientos



La figura 9 evidencia que la textura interna del grano de cacao es un parámetro físico clave para evaluar el avance de la fermentación. En las etapas iniciales, los granos presentan una consistencia firme o dura debido a la integridad de su estructura celular. Conforme el proceso avanza, el calor, la acidez y la actividad enzimática degradan los tejidos, generando un ablandamiento progresivo. En este estudio, se observa que, aunque los granos se vuelven más blandos con el tiempo, la mayoría conserva una textura firme o ligeramente dura al día 5, lo cual es favorable. El aumento de granos blandos podría asociarse con una fermentación excesiva, alta humedad o deficiente volteo.

Análisis de rendimiento

En la tabla 3 se puede observar los resultados obtenidos respecto al rendimiento del grano de cacao de los diferentes tratamientos y días de fermentación.

Tabla 3.

Análisis de rendimiento de los tratamientos

Tratamiento	Peso Inicial (kg)	Peso Final (kg)	Rendimiento (%)
T1 (<i>Lactobacillus</i>)	3	2,76	92%
T2 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	3	2,78	92%
T3 (<i>Lactobacillus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	3	2,77	92%
T4 (Muestra Testigo)	3	2,75	91%

Los tratamientos con inoculación microbiana (T1, T2 y T3) alcanzaron un rendimiento del 92%, lo que evidencia una fermentación más eficiente y controlada. En cambio, el tratamiento testigo (T4), sin inoculación, presentó un rendimiento ligeramente menor (91%). Aunque la diferencia es de solo un 1%, a gran escala esta variación puede representar pérdidas importantes en términos de masa final y eficiencia del proceso. Esta mejora en los tratamientos inoculados se atribuye a una mayor uniformidad en la degradación del mucílago y a una evaporación controlada del agua, lo cual limita las pérdidas sin afectar la calidad del grano.

Discusión

Los resultados obtenidos demuestran que la inoculación combinada de *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* y *Saccharomyces cerevisiae* (tratamiento A3) generó una fermentación más eficiente en el cacao CCN-51, evidenciada por el menor contenido de °Brix (0,37–0,73), lo que indica una rápida transformación de azúcares en ácidos y alcoholes. Este comportamiento confirma la sinergia microbiana entre bacterias lácticas y levaduras, donde las primeras crean condiciones favorables de acidez y las segundas potencian el metabolismo fermentativo (García et al., 2021). En contraste, los tratamientos control y aquellos con microorganismos individuales presentaron mayor contenido de azúcares residuales, reflejando menor eficiencia metabólica y un proceso fermentativo más lento. Este resultado coincide con lo reportado por González y Flores (2019), quienes destacan que la coinoculación microbiana acelera la degradación de carbohidratos y mejora los atributos sensoriales del cacao.

En cuanto al pH, se observó un comportamiento típico del proceso fermentativo: una disminución inicial producto de la formación de ácidos orgánicos y un aumento posterior asociado a la pérdida de acidez por evaporación y drenaje del mucílago. El incremento final del pH en el tratamiento con bacterias lácticas (4,12) sugiere una acidificación controlada y favorable para el desarrollo de aromas y sabores equilibrados. La significancia estadística ($p < 0,0001$) confirma que la inoculación microbiana influye directamente sobre la dinámica de acidificación, en concordancia con Afoakwa (2014) y Ardhana y Fleet (2003), quienes señalan que las fluctuaciones del pH son indicadores críticos del avance fermentativo y del metabolismo bacteriano.

El aumento progresivo de la temperatura hasta valores cercanos a 30 °C al quinto día refleja una fermentación activa, donde la actividad metabólica de las levaduras y bacterias genera calor como subproducto. Esta elevación térmica fue más notable en los tratamientos con inoculación, evidenciando una fermentación vigorosa. Estudios de Lagos et al. (2024) y González y Flores (2019) explican que la producción de calor favorece la ruptura de células del mucílago, permitiendo la penetración de metabolitos en los cotiledones y el desarrollo de precursores del sabor característicos del cacao de buena calidad. Sin embargo, el control de la temperatura es esencial, ya que un exceso puede afectar negativamente la integridad del grano.

Respecto al contenido de humedad, los resultados mostraron un incremento inicial hasta el día 3 (57–60%), seguido de una disminución hacia el día 5 (54–56%), lo cual responde al equilibrio entre la liberación de agua por degradación del mucílago y su posterior evaporación por efecto del calor y del volteo. Los tratamientos con cultivos mixtos favorecieron una mayor pérdida de humedad, lo que facilita el secado y reduce riesgos de defectos posteriores. Este comportamiento concuerda con Zambrano (2020) y Condori (2023), quienes reportan que la combinación de levaduras y bacterias ácido-lácticas acelera la degradación pectinolítica del mucílago, promoviendo la deshidratación progresiva del grano.

El análisis de densidad permitió corroborar visualmente el avance de la fermentación: los granos frescos se hundieron al ser sumergidos en agua debido a su estructura compacta y menor porosidad, mientras que los granos fermentados flotaron, producto de la degradación interna y la reducción de humedad. Este cambio físico es coherente con lo descrito por Peñuela-Martínez et al. (2021), quienes destacan que la flotabilidad es un indicador práctico y confiable del grado de fermentación.

En el análisis sensorial, la evolución del color interno de violeta a marrón rojizo hacia el día 5 evidencia la transformación de los compuestos fenólicos y la desnaturalización de proteínas, procesos esenciales para el desarrollo del sabor del chocolate (Afoakwa, 2014). No obstante, el color externo no alcanzó tonalidades marrones oscuras, lo que sugiere una fermentación heterogénea o insuficiente aireación, factores que podrían mejorarse mediante una gestión más precisa de la temperatura y los volteos (Ardhana & Fleet, 2003). En cuanto al olor, se observó una evolución adecuada hacia aromas fermentados y frutales, con predominio en el tratamiento T1, aunque la presencia de notas avinagradas indica la necesidad de optimizar las condiciones ambientales para evitar fermentaciones desequilibradas. De acuerdo con la Norma INEN 176, los granos evaluados cumplen los criterios de calidad al no presentar olores objetables.

Finalmente, la textura interna mostró una transición de firme a ligeramente blanda, sin llegar a estados de putrefacción o reblandecimiento excesivo, lo que indica una fermentación controlada y compatible con los estándares de calidad física establecidos (INEN 176). Este comportamiento concuerda con las observaciones de Afoakwa (2014), quien señala que los granos con textura firme al final de la fermentación presentan mejores características en el tostado y en la formación del sabor final del cacao.

Conclusiones

La aplicación de bacterias como *Streptococcus* y *Lactobacillus*, junto con levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, en el cacao CCN-51 antes de su fermentación, resultó ser una estrategia útil para mejorar y dirigir el proceso de manera más controlada. El análisis físico-químico realizado durante la fermentación del cacao CCN-51 evidenció que los distintos tratamientos microbianos influyen significativamente en variables como sólidos solubles, pH, temperatura y humedad. El tratamiento combinado con bacterias ácido-lácticas y levaduras (Cacao Mix) fue el más eficaz, al presentar los valores más bajos de °Brix al Día 5 (0,37–0,73), lo que refleja un consumo óptimo de azúcares. Su evolución del pH fue equilibrada (de 3,73 a 3,65 y luego a 3,87), indicando una buena actividad microbiana sin exceso de acidez. La temperatura alcanzó los 30 °C, adecuada para la acción enzimática sin afectar el grano, y la humedad 56%, facilitando un secado más eficiente.

El análisis sensorial del cacao CCN-51 permitió evaluar de forma integral el comportamiento del grano durante la fermentación, en cuanto al olor, los tratamientos evidenciaron notas frutales y fermentadas hacia el final del proceso, reflejo de una adecuada transformación microbiológica. La textura se mantuvo en su mayoría firme, sin signos de fermentación excesiva, lo que se ajusta a los estándares de calidad establecidos por la norma INEN 176. Entre todos los tratamientos evaluados, el tratamiento Cacao Mix (*Lactobacillus* y *Saccharomyces cerevisiae*) fue el que mostró un desempeño sensorial superior, destacándose por su color interno más desarrollado, aroma equilibrado y textura ideal.

Referencias bibliográficas

- Afoakwa, E. O. (2014). *Cocoa Production and Processing Technology*. CRC Press.
- AnzulesToala, V., Borjas Ventura, R., Alvarado Huamán, L., Castro-Cepero, V., & Julca-Otiniano, A. (2019). Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN-51'. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 511-520. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.08>
- Ardhana, M. M., & Fleet, G. H. (2003). The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1-2), 87-99.

[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00081-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00081-3)

- Barazarte, H., Sangronis, E., & Unai, E. (2008). La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): Una posible fuente comercial de pectinas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(1), 64-70.
- Bocanegra Huamán, V. (2023). *Tratamiento osmótico con diferentes concentraciones de zumo de cacao de azúcar (Saccharum officinarum L.) en cacao (Theobroma cacao L.) baba CCN-51, previo a la fermentación y su efecto en la calidad del grano seco*. <https://hdl.handle.net/20.500.14621/6807>
- Chávez Cruz, G. J., Olaya Cum, R. L., Maza Iñiguez, J. V., Chávez Cruz, G. J., Olaya Cum, R. L., & Maza Iñiguez, J. V. (2018). Costo de producción de cacao clonal ccn-51 en la Parroquia Bellamaria, Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 10(4), 179-185.
- Chávez-Salazar, A., Guevara-Pérez, A., Encina-Zelada, C., Vidaurre-Rojas, P., & Muñoz-Delgado, V. (2023). Condiciones de fermentación y secado en las características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) Cultivar CCN 51. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 3(2), Article 2. <https://doi.org/10.51252/raa.v3i2.555>
- Espín, S., & Samaniego, I. (2016). *Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao*. Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Nutrición y Calidad, 2016. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4072>
- García, E., Serna A., Cordoba D., Marin J., Montalvo C., Ordoñez G. (2019). Estudio de la fermentación espontánea de cacao (*Theobroma Cacao* 1.) y evaluación de la calidad de los granos en una unidad productiva a pequeña escala. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 41-50.
- Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertorelli, L., Alvarez, N., & Trujillo de Leal, A. (2003). Fermentación del cacao en dos diseños de cajas de madera. *Agronomía Tropical*, 53(2), 175-188.
- Guevara, J. (2018a, marzo 6). Explicación Paso a Paso: La Cosecha y El Procesamiento del Cacao. *Perfect Daily Grind Español*. <https://perfectdailygrind.com/es/2018/03/06/explicacion-paso-paso-la-cosecha-y-el-procesamiento-del-cacao/>
- Guevara, J. (2018b, marzo 29). El Fruto del Chocolate: Viendo de Cerca una Vaina de Cacao. *Perfect Daily Grind Español*. <https://perfectdailygrind.com/es/2018/03/30/el-fruto-del-chocolate-viendo-de-cerca-una-vaina-de-cacao/>
- HerbaZest. (2025). *Cacao*. HerbaZest. <https://www.herbazest.com/es/hierbas/cacao>
- Huayama Sopla, P. M., & Siche Jara, R. (2020). Efecto de la variedad, frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en el rendimiento y calidad de granos de cacao, evaluado mediante visión computacional. *Agroindustrial Science*, 10(3 (septiembre-diciembre)), 287-292.

- Inti. (2020). *Cacao Orgánico CCN51 – Inti Heights*. <https://intiheights.com/producto/cacao-organico-ccn51/>
- Kouacou, A. E. E. (2018). *Elaboración de un encabezado a partir de la fermentación del mucilago de cacao y aplicaciones gastronómicas*. <http://repositorio.uniagustiniana.edu.co/handle/123456789/313>
- Lagos Quispe, T. M., Vásquez Montenegro, E. E., Rojas Yauri, G., Huamani Urpe, I. L., Sosa Choque, J. C., Lagos Quispe, T. M., Vásquez Montenegro, E. E., Rojas Yauri, G., Huamani Urpe, I. L., & Sosa Choque, J. C. (2024). Fermentación de Cacao Criollo y CCN-51: Bacteria Lactobacillus Fermentum y levadura Saccharomyces Cerevisiae. *Revista Universidad y Sociedad*, 16(4), 52-63.
- Loo Miranda, J. L. M. (2019). Variación de la conductividad eléctrica del medio acuoso por inmersión de granos de cacao CCN-51 con diferentes índices de fermentación. *Universidad Nacional Agraria La Molina*. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3844>
- Lucero Álvarez, M. G. (2015). *Caracterización de la manteca de cacao de tres variedades trinitario (CCN-51), nacional (EET-103) y forastero (IMC-67), Quevedo – Ecuador*. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/78>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2024). *Rendimientos de cacao 2024—Caracterización Producción*. <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/rendimientos-de-cacao-2024-cp>
- Morales Rodriguez, W., Vallejo Torres, C., Sinche Bósquez, P. D., Torres Navarrete, Y., Vera Chang, J., & Anzules Cedeño, E. D. (2016). Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 5(2), 169-181.
- Moreno, E., & Gavanzo, O. (2024). Evaluación de las características físicas y sensoriales de licor de cacao asociadas a modelos de siembra. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/335036890_Evaluacion_de_las_caracteristicas_fisicas_y_sensoriales_de_licor_de_cacao_asociadas_a_modelos_de_siembra
- Nogales, J. (2018). *PRUEBA DE CORTE EN CACAO, ANÁLISIS PARA LA COMPROBACIÓN DE CALIDAD, DEFECTOS Y GRADO DE FERMENTACIÓN. - Poscosecha Cacao*. <https://poscosechacacao.com/2019/07/prueba-de-corte-cacao-comprobacion-calidad-defectos-fermentacion/>
- Pallares Pallares, A., Perea Villamil, A., & López Giraldo, L. J. (2016). Impacto de las condiciones de beneficio sobre los compuestos precursores de aroma en granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) del clon CCN-51. *Respuestas*, 21(1), 120-133.
- Peñuela-Martínez, A.-E., Tibaduiza-Vianchá, C.-A., Morcillo, C.-A., Restrepo-Rivera, M.-V., (2021). Degradación enzimática de mucílago de *Coffea arábica* L., para la producción de café suave lavado. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(2), 170-183. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1848>
- Portillo, E., Labarca, M., Grazziani, L., Cros, E., Assemat, S., Davrieux, F., Boulanger, R., &

- Marcano, M. (2009). Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2), 458-468.
- Quintana, L., Gómez, S., García, A., & Martínez, N. (2015). Perfil sensorial del Clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN51 (primera cosecha de 2015). *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.24054/limentech.v13i1.1610>
- Rios-Jara, J., & Lévano-Rodríguez, D. (2022). Importancia de los dispositivos usados en la fermentación de Cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.51252/raa.v2i1.281>
- Vera-Chang, J., Cabrera-Verdezoto, R., Morán-Morán, J., Neira-Rengifo, K., Haz-Burgos, R.,