

# Evaluación 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

## Physical, chemical and sensory evaluation of cocoa (*Theobroma cacao L.*) CCN51 fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and fruit extract (*Manila mango*) at different stages of ripeness

Luis Humberto VÁSQUEZ CORTEZ<sup>1,2</sup>, Elio Ariel MONTOYA RAMOS<sup>1</sup>, Leila Isabel CADENAS MORALES<sup>1</sup>, Jhoan Alfredo PLUA MONTIEL<sup>3,4</sup>, Christian Orlando CAMACHO LÓPEZ<sup>4</sup>, Fernando Javier COBOS MORA<sup>1</sup>, Sanyí Lorena RODRÍGUEZ CEVALLOS<sup>5</sup>, Álvaro Martín PAZMIÑO PÉREZ<sup>1</sup>

1 Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

2 Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, ICAI-CONICET.

3 Department of Food Science and Technology. University of Córdoba. International Campus of Excellence in the AgriFood Sector ceiA3. Córdoba. Spain.

4 Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura. Av. General Rumiñahui s/n Sangolquí, Ecuador, P.O.BOX: 171-5-231B.

5 Investigador Independiente.

Recibido: 11/julio/2025. Aceptado: 13/agosto/2025.

### RESUMEN

**Introducción:** La fermentación del cacao es una etapa determinante para desarrollar compuestos precursores de aroma, sabor y características funcionales en el grano. La incorporación de microorganismos seleccionados y extractos frutales puede potenciar la calidad sensorial y el valor funcional del producto final.

**Objetivos:** Evaluar el efecto de *Saccharomyces cerevisiae* y extracto de mango *Manila* sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del cacao variedad CCN-51) en dos estados de madurez.

**Material y Métodos:** Se aplicó un diseño completamente al azar trifactorial con dos grados de madurez (sazona y madura), tres niveles de levadura (0%, 0,5% y 1%) y dos niveles

de extracto de mango (0% y 3%), totalizando doce tratamientos con dos repeticiones. Se evaluaron pH, sólidos solubles, temperatura, acidez titulable, alcalinidad de cenizas, humedad, prueba de corte, atributos sensoriales y capacidad antioxidante. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA y prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

**Resultados:** El tratamiento con cacao maduro, 1% de levadura y 3% de extracto presentó el mayor pH (5,00;  $p = 0,0111$ ), reducción de °Brix del 72% (21,5 a 6,0;  $p = 0,0385$ ) y mejores calificaciones sensoriales (sabor 8,2/9; textura 8,5/9;  $p < 0,05$ ). En la prueba de corte, alcanzó 86% de granos bien fermentados, un 58% más que el control (54,6%;  $p < 0,05$ ). La acidez titulable disminuyó un 66% (0,32% vs. 0,93%;  $p < 0,0001$ ). La capacidad antioxidante, aunque 38% menor que el control, se mantuvo funcional (355,95  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ;  $p < 0,05$ ).

**Discusión:** La sinergia entre madurez fisiológica, levadura y extracto frutal favoreció la cinética fermentativa, mejoró la calidad física y sensorial, y conservó la funcionalidad bioactiva del grano, sin afectar su estabilidad poscosecha.

### Correspondencia:

Luis Humberto Vásquez Cortez  
lvazquezc@utb.edu.ec

**Conclusiones:** La fermentación dirigida con levaduras y extractos frutales en frutos maduros constituye una estrategia biotecnológica efectiva para optimizar la calidad integral del cacao ecuatoriano y aumentar su competitividad en mercados de alto valor.

## PALABRAS CLAVE

Fermentación controlada, atributos sensoriales, capacidad antioxidante, valor funcional, biotecnología alimentaria.

## ABSTRACT

**Introduction:** Cocoa fermentation is a decisive stage for developing precursor compounds of aroma, flavor, and functional properties in the bean. The incorporation of selected microorganisms and fruit extracts can enhance sensory quality and functional value in the final product.

**Objectives:** To evaluate the effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Manila* mango extract on the physicochemical and sensory properties of cocoa variety CCN-51 at two stages of maturity.

**Material and Methods:** A completely randomized three-factor design was applied with two maturity stages (seasoned and ripe), three yeast levels (0%, 0.5%, and 1%), and two mango extract levels (0% and 3%), totaling twelve treatments with two replications. Variables assessed included pH, soluble solids, temperature, titratable acidity, ash alkalinity, moisture, cut test, sensory attributes, and antioxidant capacity. Statistical analysis was performed using ANOVA and Tukey's test ( $\alpha = 0.05$ ).

**Results:** The combination of ripe cocoa, 1% yeast, and 3% extract achieved the highest pH (5.00), the greatest reduction in soluble solids (21.5 to 6.0°Brix), and the best sensory scores (8.2/9 for flavor and 8.5/9 for texture). It reached 86% well-fermented beans and significantly reduced physical defects. Titratable acidity was lowest (0.32%), and antioxidant capacity remained within functional levels (355.95  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ).

**Discussion:** The synergy between physiological maturity, yeast, and fruit extract favored fermentation kinetics, improved physical and sensory quality, and preserved the bean's bioactive functionality without compromising post-harvest stability.

**Conclusions:** Directed fermentation with yeasts and fruit extracts in ripe cocoa is an effective biotechnological strategy to optimize the overall quality of Ecuadorian cocoa and strengthen its position in high-value markets.

## KEYWORDS

Controlled fermentation, sensory attributes, antioxidant capacity, functional value, food biotechnology.

## INTRODUCCIÓN

El 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 Vera 2014<sup>1</sup>.

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 Vera 2022<sup>2</sup>. 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 Vera 2024<sup>3</sup>.

A escala global, una proporción considerable de productores aún comercializa el cacao inmediatamente después de la poscosecha Vera 2025<sup>4</sup>, 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 2024<sup>5</sup>.

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 Reyes 2025<sup>6</sup>. 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 2023<sup>7</sup>, 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.

## MÉTODOS

### 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 longi-

tud de -79.53333 (01° 49' 00" S; 79° 32' 00" O), con una altitud promedio de 8 m s.n.m

### Diseño Experimental

Previo al ANOVA, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro–Wilk, mientras que la homogeneidad de varianzas se comprobó con la prueba de Levene, considerando un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ . Únicamente las variables que cumplieron ambos supuestos fueron analizadas con ANOVA. Las comparaciones múltiples de medias se realizaron mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). El análisis estadístico se efectuó con el software Infostat, versión 2023.

La presente investigación se planteó bajo un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo trifactorial. Para ello se combinaron dos estados fisiológicos de la mazorca de cacao sazónada, 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.

### 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 2023<sup>8</sup>. 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 2023<sup>9</sup>.

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

**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

la intensidad metabólica microbiana Vera 2023<sup>10</sup>. A diario se registraron temperatura interna, pH y sólidos solubles (°Brix), variables esenciales para describir la cinética fermentativa y temperatura Subroto 2023<sup>11</sup>.

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 2022<sup>12</sup>. 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 Alcívar 2025<sup>13</sup>. 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.

### Equipos y reactivos

Las mediciones y análisis se realizaron con equipos calibrados según las especificaciones del fabricante. El pH se determinó utilizando un potenciómetro digital Hanna Instruments, modelo HI98107 (Woonsocket, RI, EE.UU.), calibrado con soluciones tampón pH 4,00 y pH 7,00. La temperatura interna de la masa fermentativa se registró con un termómetro digi-

tal Testo, modelo 926 (Lenzkirch, Alemania), con sonda de penetración de acero inoxidable. El contenido de humedad se midió con balanza analítica Ohaus, modelo Pioneer PA224C (Parsippany, NJ, EE.UU.), con precisión de 0,0001 g.

Los sólidos solubles se evaluaron con un refractómetro digital Atago, modelo PAL-3 (Tokio, Japón), calibrado con agua destilada a 20 °C. La acidez titulable y la alcalinidad de cenizas se determinaron mediante titulación volumétrica utilizando soluciones estandarizadas de NaOH 0,1 N, preparadas con reactivos grado analítico (Merck, Darmstadt, Alemania). La capacidad antioxidante se cuantificó por el método ABTS, empleando un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific, modelo Genesys 150 (Waltham, MA, EE.UU.).

El almacenamiento de las almendras secas se realizó en bolsas de papel kraft en ambiente controlado ( $25 \pm 2$  °C; HR  $60 \pm 5\%$ ) para evitar reabsorción de humedad. El análisis estadístico se ejecutó con el software Infostat, versión 2023.

## RESULTADOS

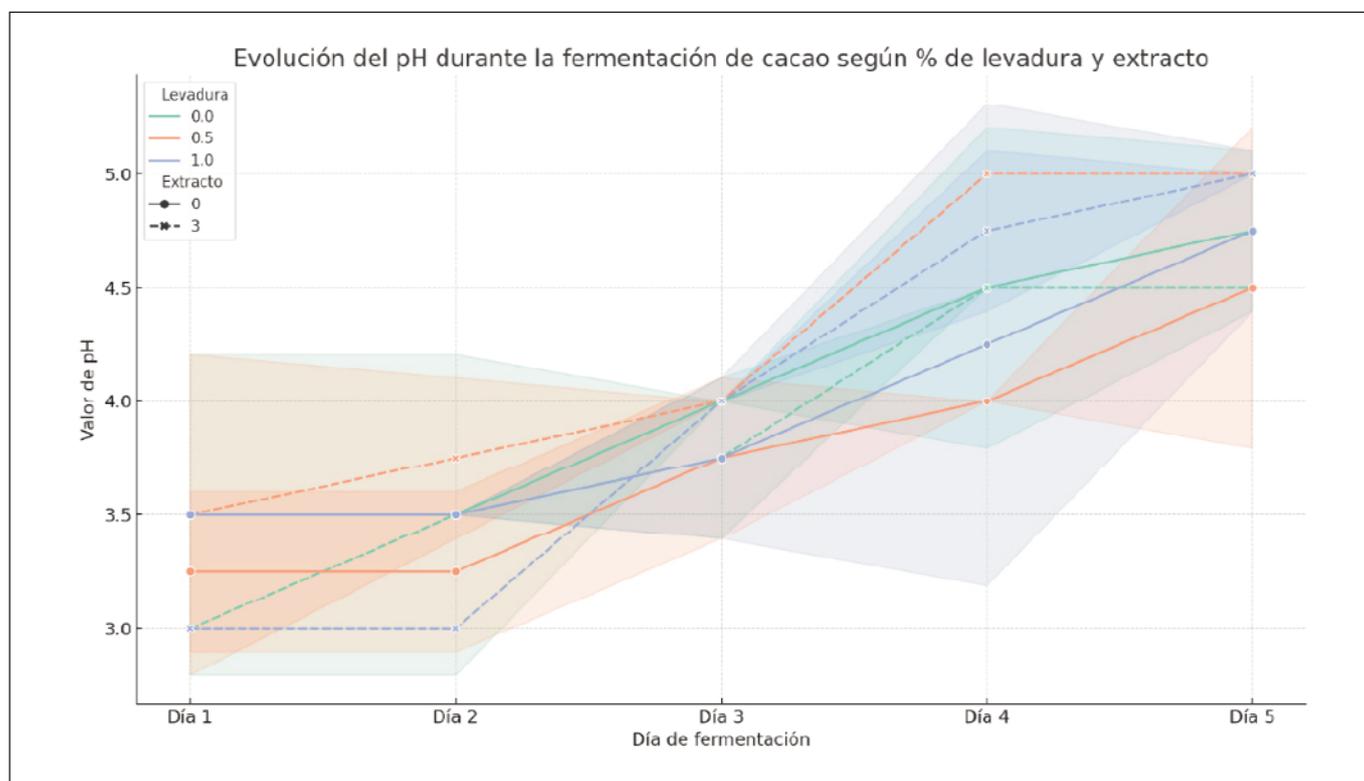
### Variables físicos-químicas

#### pH

La evolución del pH, presentada en la figura 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 es-



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

tándar de la media se mantuvo estable entre  $\pm 0,25$  y  $\pm 0,35$ , asegurando la fiabilidad de los datos obtenidos.

### Sólidos Solubles

Los resultados presentados en la figura 2, muestran una disminución progresiva en los valores de sólidos solubles ( $^{\circ}$ Brix) durante los cinco días de fermentación, con registros iniciales entre 21,00 y 23,00  $^{\circ}$ Brix, que descendieron hasta un rango final de 6,00 a 8,00  $^{\circ}$ 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 ( $p > 0,05$ ).

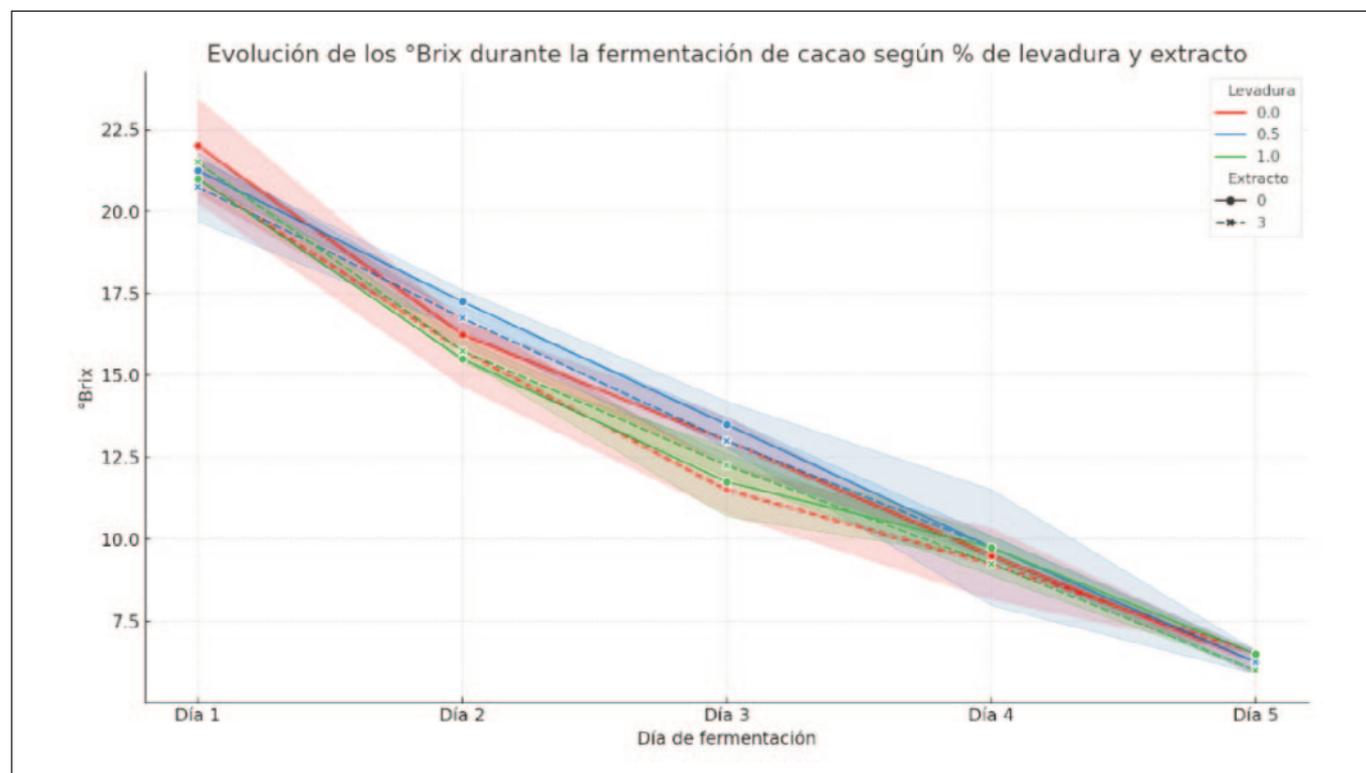
Los tratamientos que incorporaron levadura al 1 % mostraron una mayor eficiencia en la reducción de los  $^{\circ}$ Brix al final del proceso, alcanzando mínimos de hasta 6,00, lo que sugiere una fermentación más intensa y activa. En particular, el tratamiento que combinó cacao maduro con levadura al 1 %

y extracto de mango evidenció una disminución sostenida, pasando de 21,50  $^{\circ}$ Brix en el primer día a 6,50  $^{\circ}$ 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  $^{\circ}$ 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  $^{\circ}$ Brix ratifica la dinámica esperada del proceso fermentativo y su relación directa con la degradación del mucílago azucarado.

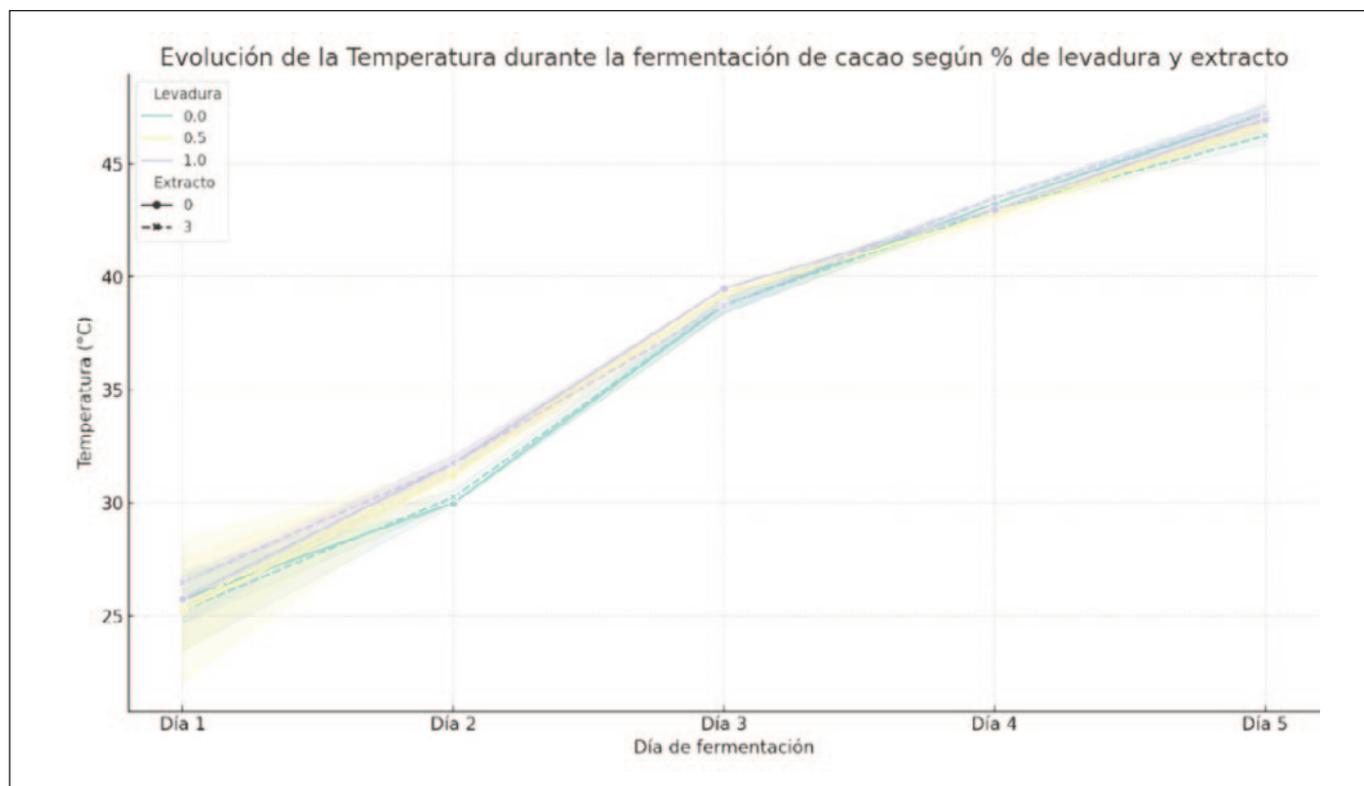
### Temperatura

Los resultados consignados en la figura 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  $^{\circ}$ C y 27,0  $^{\circ}$ C, mientras que hacia el quinto día se alcanzaron valores máximos entre 45,0  $^{\circ}$ C y 47,5  $^{\circ}$ 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 in-



**Figura 2.** Variación del contenido de sólidos solubles ( $^{\circ}$ Brix) durante la fermentación de almendras de cacao en función del % de levadura y los extractos



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

corporación 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.

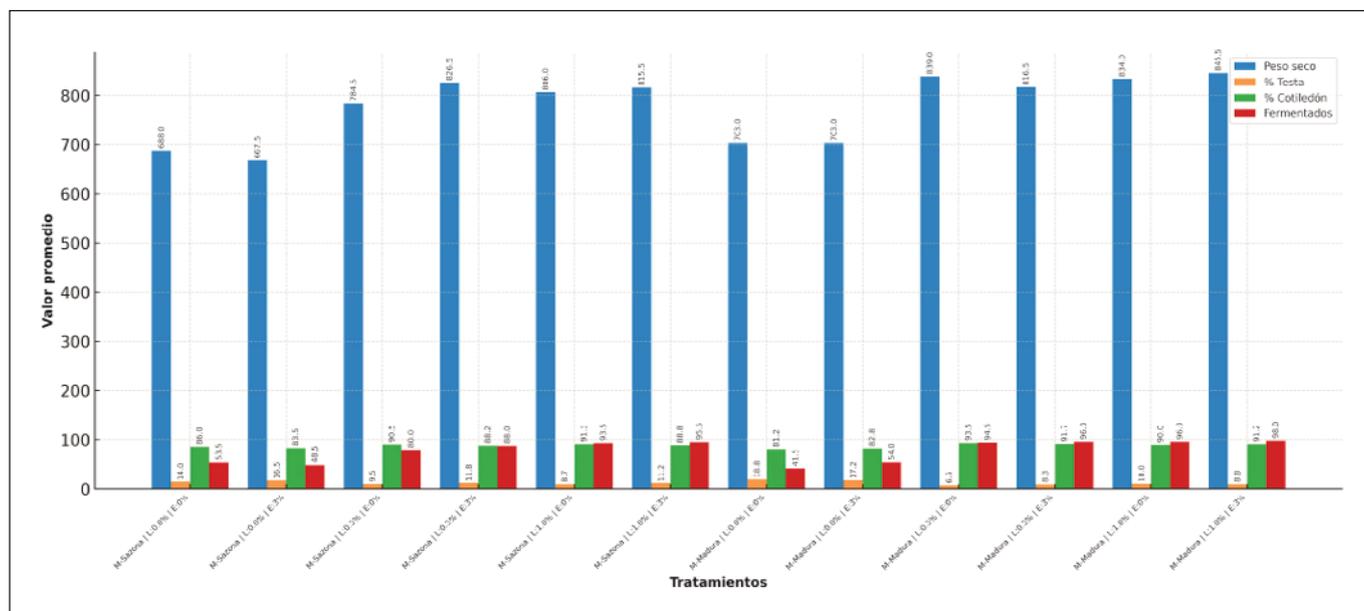
El coeficiente de variación (CV) fue bajo en todas las jornadas del experimento, situándose entre 1,81 % y 7,54 %, mientras que el error estándar de la media (EEM) se mantuvo dentro de márgenes aceptables ( $\pm 0,50$  a  $\pm 1,37$ ), lo que refleja una alta precisión y confiabilidad en los registros 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.

### Prueba de corte

La evaluación física del grano, presentada en la figura 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



**Figura 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

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.

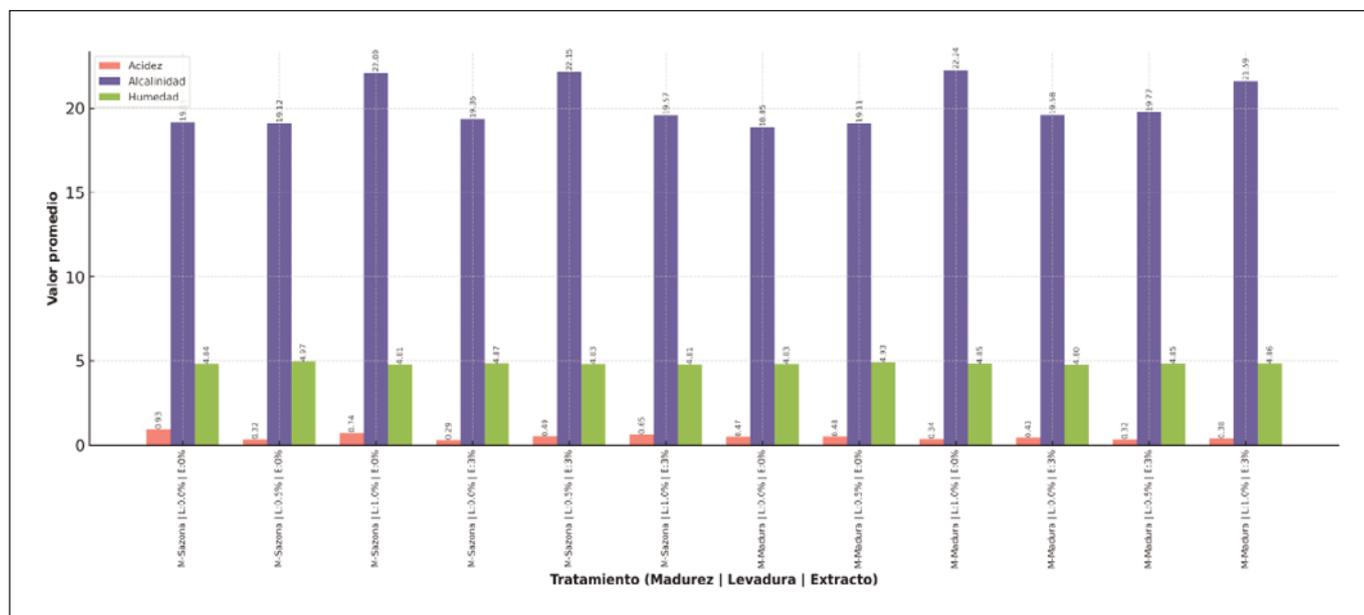
### **Efecto de la concentración de levadura y extractos en las pruebas químicas**

Los resultados obtenidos para la variable acidez titulable, detallados en la figura 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 sazón 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.



**Figura 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 figura 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.

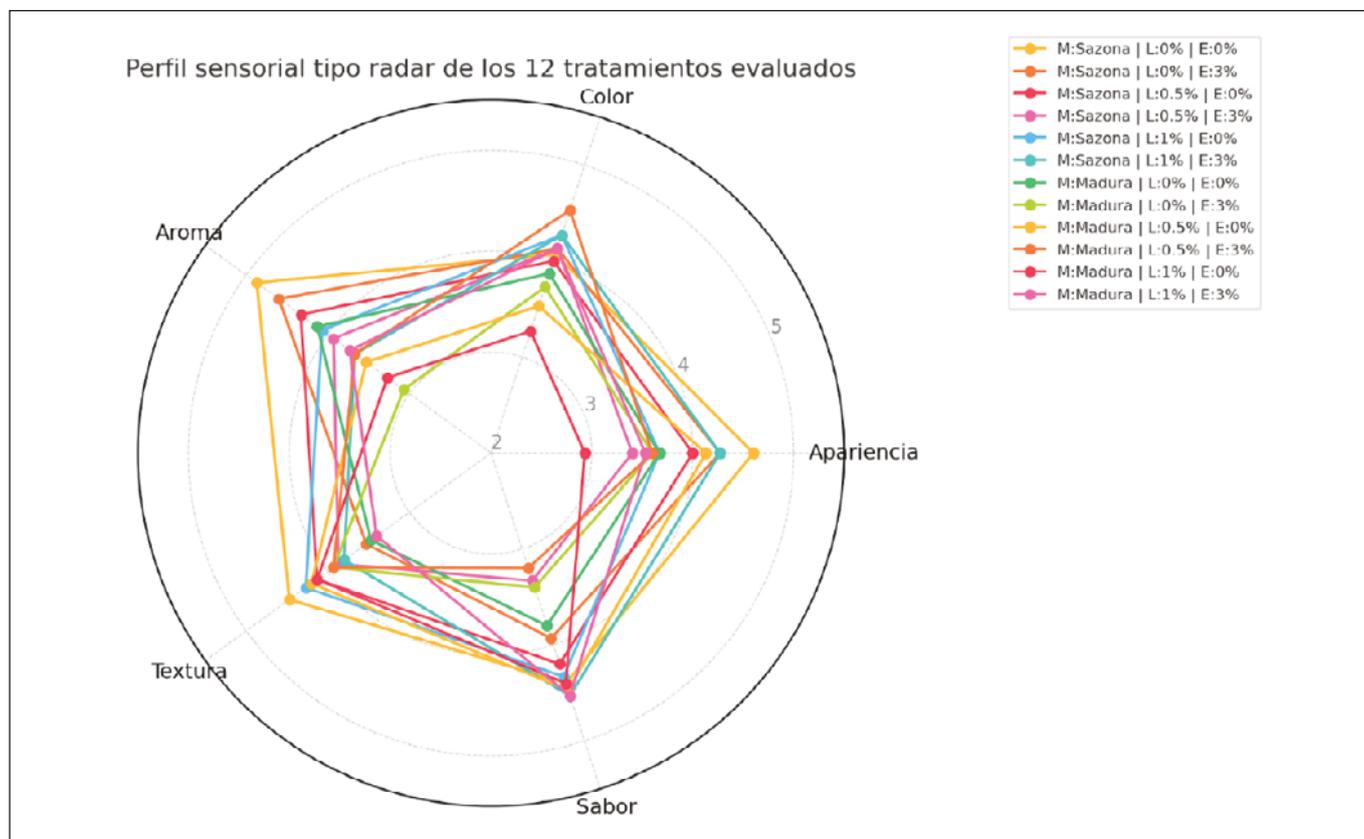
En relación con el color, se detectaron diferencias significativas para los factores madurez ( $p = 0,0189$ ) y extracto ( $p = 0,0118$ ), con calificaciones que variaron entre 3,27 y 4,53. La adición de extracto de mango se asoció con una mayor estabilidad y apreciación del color, sugiriendo su efecto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

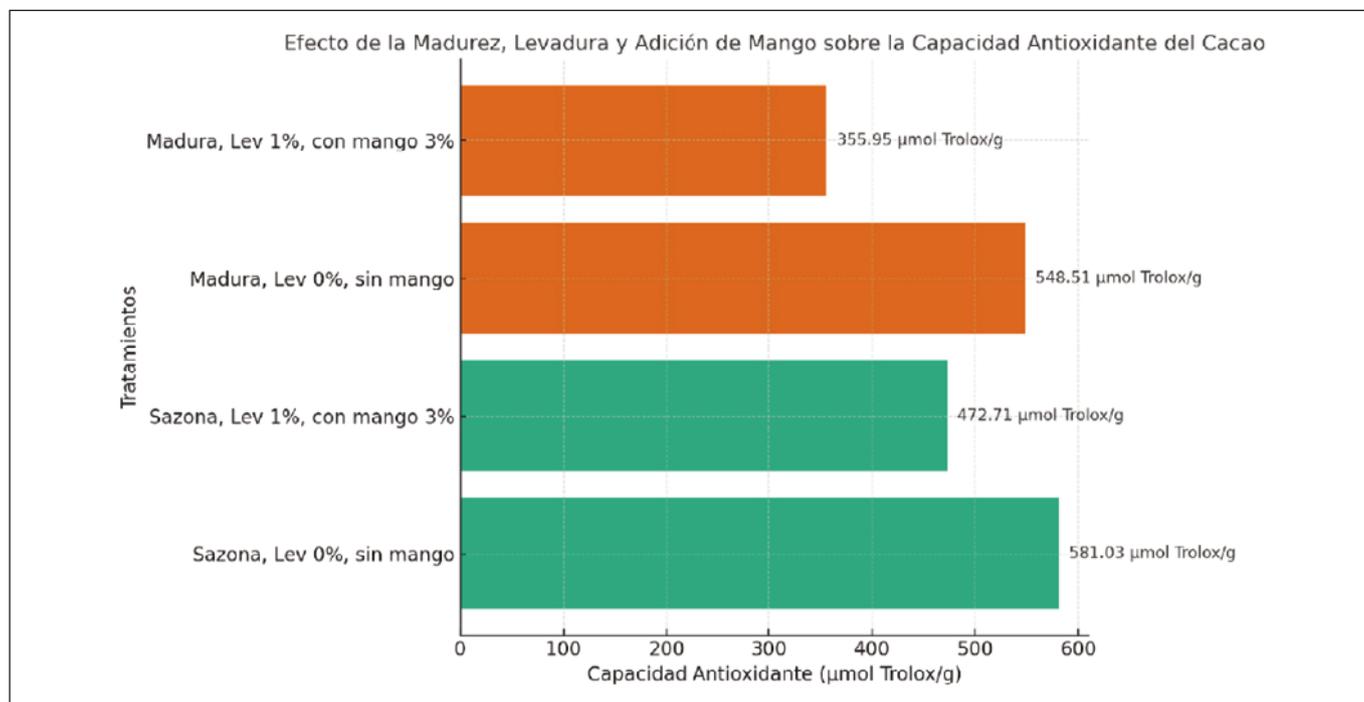
### **Interacción del estado de madurez del grano, la inoculación de levaduras y la adición de extracto de mango (*Mangifera indica L.*) sobre la capacidad antioxidante del cacao (*Theobroma cacao L.*) durante la fermentación**

La capacidad antioxidante del cacao fermentado de la figura 7, medida en  $\mu\text{mol Trolox/g}$ , 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  $\mu\text{mol Trolox/g}$ , 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



**Figura 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



**Figura 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

cacao sazona sin levadura ni mango (581.03  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) 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 nutraceuticas del cacao.

## DISCUSIÓN

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 2024<sup>14</sup>, 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 2024<sup>15</sup>.

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 2025<sup>16</sup>, 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 2022<sup>12</sup>.

En paralelo, la reducción de los sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) 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  $^{\circ}\text{Brix}$  disminuyeron hasta 6.00–8.00 hacia el final del proceso, comportamiento que concuerda con lo documentado por Morales

2024<sup>14</sup>. 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 Guzmán 2025<sup>17</sup>, 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  $^{\circ}\text{C}$ , 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 Campus 2025<sup>18</sup>, quienes destacan que una mayor temperatura optimiza la descomposición del mucílago y favorece la transformación de compuestos aromáticos precursores.

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 2024<sup>15</sup> y, quienes evidenciaron que los bio-componentes 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 Vera 2023<sup>10</sup>, sobre el impacto positivo de las fermentaciones dirigidas en la apariencia estructural 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 2024<sup>14</sup>.

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 Cedeño 2024<sup>15</sup>, 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.

Desde el punto de vista sensorial, los tratamientos combinados mejoraron significativamente los atributos evaluados (apariciencia, 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 Vera 2024<sup>19</sup>, quienes demostraron que los metabolitos generados por la fermentación dirigida pueden modular favorablemente las características sensoriales 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 Vera 2024<sup>20</sup>. 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.

## 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.

## AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Universidad Técnica de Babahoyo y al Rector el Dr. Marcos Oviedo Rodríguez por el apoyo para que se pueda realizar esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vera J, Vallejo C, Párraga D, Morales W, Macías J, Ramos R. Physical-chemical and sensory attributes of the cocoa Nacional (*Theobroma cacao* L.) fifteen clones beans in Ecuador. *Sci Technol Mag* [Internet]. 2014;7(2):21–34. Available from: <https://doi.org/10.18779/cyt.v7i2.139>
2. Vera J, Intriago F, Alvarado K, Vasquez L. Inducción anaeróbica de *bradyrhizobium japonicum* en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa. *J Sci Res* [Internet]. 2022;7(2):50–69. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7723254>
3. Vera J, Vásquez L, Valverde E, Rodríguez S, Uvidía M, Palacios J, et al. 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*). *Rev Agrosilvicultura y Medioambiente* [Internet]. 2024;2(1):71–90. Available from: <https://doi.org/10.47230/agrosilvicultura.medioambiente.v2.n1.2024.71-90>
4. Vera R, Vera J, Vásquez L, Cobos F, Rodríguez S, Pazmiño Á, et al. Efecto del mucilago de cacao adicionando con tres niveles de vinagre y melaza como herbicida en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao L.*). *Rev Soc Científica del Paraguay* [Internet]. 2025;30(1):1–13. Available from: <https://doi.org/10.32480/rscp.2025.30.1.0113>
  5. Vásquez L, Alvarado K, Intriago F, Raju N, Prasad R. Banana and apple extracts with efficient microorganisms and their effect on cadmium reduction in cocoa beans (*Theobroma cacao L.*). *Discov Food* [Internet]. 2024;4(163):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00205-5>
  6. Reyes J, Rivas T, Llerena L, Ramos R, Vásquez L, Preciado P, et al. Selenium Nanoparticles Improve Morpho-Physiological and Fruit Quality Parameters of Tomato. *Horticulture*. 2025;11(8):1–15. Available from: <https://doi.org/10.3390/horticulturae11080876>
  7. Erazo C, Vera J, Tuarez D, Vásquez L, Alvarado K, Zambrano C, et al. Caracterización fenotípica en flores de cacao (*theobroma cacao l.*) en 40 híbridos experimentales en la finca experimental La Represa. *Rev Bionatura* [Internet]. 2023;8(3):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.11>
  8. Torres A, Vera J, Vásquez L, Alvarado K, Intriago F. Extraction of Cocoa Powder for the Preparation of a Drink by Adding Mucilage and Guava. *Sarhad J Agric* [Internet]. 2023;39(2):10–8. Available from: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2023/39/s2.10.18>
  9. Intriago F, Chávez G, Vásquez L, Alvarado K, Escobar R, Vera J, et al. Evaluación del contenido de cadmio y caracterización fisicoquímica de almendras y pasta de cacao (*Theobroma cacao*). *Innovaciencia* [Internet]. 2023;11(1):1–11. Available from: <https://doi.org/10.15649/2346075X.3411>
  10. Vera J, Benavides J, Vásquez L, Alvarado K, Reyes J, Intriago F, et al. Effects of two fermentative methods on cacao (*Theobroma cacao L.*) Trinitario, induced with *Rhizobium japonicum* to reduce cadmium. *Rev Colomb Investig Agroindustriales* [Internet]. 2023;10(1):95–106. Available from: <https://doi.org/10.23850/24220582.5460>
  11. Subroto E, Djali M, Indiarito R, Lembong E, Baiti N. Microbiological Activity Affects Post-Harvest Quality of Cocoa (*Theobroma cacao L.*) Beans. *Horticulturae* [Internet]. 2023;9(7). Available from: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9070805>
  12. Vásquez L, Erazo C, Vera J, Intriago F. Induction of *rhizobium japonicum* in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao L.*) as a strategy for the decrease of cadmium. *Int J od Heal Sci* [Internet]. 2022;6(3):11354–71. Available from: <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672>
  13. Alcívar L, Julca A, Quiroz J, Vásquez L, Oviedo M, Soto D. Caracterización química del cacao Nacional y CCN-51 en Los Ríos, Ecuador. *Rev Investig en Ciencias Agroindustriales y Vet* [Internet]. 2025;9(26):582–606. Available from: <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v9i26.367>
  14. Morales W, Morante J, Robinson H, Ayuso M, Bernalte M. Effect of addition of yeasts and enzymes during fermentation on physicochemical quality of fine aroma cocoa beans. *J Agric Food Res* [Internet]. 2024;16:1–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101126>
  15. Intriago F, Cedeño J, Parraga C, Alvarado K, Vásquez L, Revilla K, et al. Induction of effective microorganisms (EM) in the fermenting mass of cacao (*Theobroma cacao L.*) and their impact on physicochemical and antioxidant characteristics. *Biotecnia* [Internet]. 2024;26(2422):1–8. Available from: <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v26.2422>
  16. Medina J, Vásquez L, Mendoza E, Pazmiño Á, Plua J. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogen compounds on the fermentation of banana pulp (*Musa spp.*). *Rev la Fac Agron la Univ del Zulia* [Internet]. 2025;42(3):1–7. Available from: [https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v42.n3.VI](https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v42.n3.VI)
  17. Guzmán T, Santiago L, Ruales J, Ramos L. Ecuadorian Cacao Mucilage as a Novel Culture Medium Ingredient: Unveiling Its Potential for Microbial Growth and Biotechnological Applications. *Foods*. 2025;14(2):1–19. Available from: <https://doi.org/10.3390/foods14020261>
  18. Campos S, Martínez W, Reis G, Ocán D, Santos G, Rosas F, et al. The Role of Microbial Dynamics, Sensorial Compounds, and Producing Regions in Cocoa Fermentation. *Microbiol Res (Pavia)* [Internet]. 2025;16(4):1–34. Available from: <https://doi.org/10.3390/microbiolres16040075>
  19. Vera J, Vásquez L, Alvarado K, Intriago F, Raju M, Radice M. Physical and Organoleptic Evaluation of 12 Cocoa Clones (*Theobroma Cacao L.*) of National Type, in Cocoa Liquor—a Study from Ecuador. *Syst Smart Technol Innov Soc* [Internet]. 2024;870:199–211. Available from: [https://doi.org/10.1007/978-3-031-51982-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-031-51982-6_18)
  20. Vera J, Vasquez L, Zapata K, Cevallos R. Caracterización morfológica, fisicoquímica y microbiológica del cacao Macambo (*Theobroma bicolor* Humb & Bonpl.) en Ecuador. *Rev Agrotecnología Amaz* [Internet]. 2024;4(2):1–17. Available from: <https://doi.org/10.51252/raa.v4i2.657>