

# Cultivos iniciadores y su efecto en la calidad de almendras y licor de cacao

Karen Jazmín Aguayo Zambrano<sup>1</sup>; María Pamela Zambrano Ureta<sup>2</sup>;  
Rosa Irina García Paredes<sup>3</sup>; Piero Cristóbal Fajardo Navarrete<sup>4</sup>

## Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de distintos cultivos iniciadores (CI) sobre la fermentación de almendras de cacao y las características sensoriales del licor. Se aplicaron cuatro tratamientos con 4 repeticiones cada uno T1= *Saccharomyces cerevisiae* ( $4,3 \times 10^8$  UFC/mL) + *Lactobacillus acidophilus* ( $1,8 \times 10^9$  UFC/mL); T2 = *S. cerevisiae* ( $4,3 \times 10^8$  UFC/mL) + *Lactiplantibacillus plantarum* ( $1,7 \times 10^9$  UFC/mL); y T3 = consorcio con los tres microorganismos; y un testigo sin inoculación. La fermentación se llevó a cabo en cajones de madera de 1 qq sin remoción, el testigo sin inoculación siguió el protocolo que establecen de remoción. Los resultados del proceso de fermentación mostraron variaciones numéricas en el porcentaje de rendimiento, siendo el tratamiento T3 el de mayor eficiencia (72,5 %) seguido de T2 (69,8 %), T1 (66 %) y el testigo (66,5 %). Sin embargo, tras la aplicación del análisis de varianza (ANOVA) y el test de Tukey ( $p=0,05$ ), se determinó que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ( $DMS = 20,47$ ) sin afectar el rendimiento de fermentación. El tratamiento T2, fue el que tuvo mayor aceptación en el análisis sensorial, indicando una alta aceptabilidad general del producto, con un valor medio (7,18%). Sin embargo, el análisis de varianza (ANOVA) reveló que no existe diferencias estadísticamente significativas ( $F(3,12) = 2,47$ ,  $p \leq 0,05$ ) entre los diferentes tratamientos, no obstante, el uso de cultivos iniciadores puede modular la fermentación y el perfil sensorial del licor de cacao, con el consorcio microbiano mostrando rendimiento absoluto más alto.

**Palabras clave:** Análisis sensorial; testigo control; fermentación; perfiles sensoriales; remoción.

## Starter cultures and their effect on the quality of almonds and cocoa liquor

## Abstract

This research aimed to evaluate the effect of different starter cultures (SCs) on the fermentation of cocoa beans and the sensory characteristics of the resulting liquor. Four treatments were applied, each with four replicates: T1 = *Saccharomyces cerevisiae* ( $4.3 \times 10^8$  CFU/mL) + *Lactobacillus acidophilus* ( $1.8 \times 10^9$  CFU/mL); T2 = *S. cerevisiae* ( $4.3 \times 10^8$  CFU/mL) + *Lactiplantibacillus plantarum* ( $1.7 \times 10^9$  CFU/mL); and T3 = a consortium with all three microorganisms; and a control without inoculation. Fermentation was carried out in 1-quintal wooden boxes without stirring, while the control without inoculation followed the established stirring protocol. The fermentation process results showed numerical variations in the percentage yield, with treatment T3 exhibiting the highest efficiency (72.5%), followed by T2 (69.8%), T1 (66%), and the control (66.5%). However, after applying analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ( $p=0.05$ ), it was determined that there were no statistically significant differences between the evaluated treatments ( $LDS = 20.47$ ), and the fermentation yield remained unaffected. Treatment T2, received the highest acceptance in the sensory analysis, indicating high overall product acceptability, with a mean value of 7.18%. However, the analysis of variance (ANOVA) revealed that there are no statistically significant differences ( $F(3,12) = 2.47$ ,  $p \leq 0.05$ ) between the different treatments; however, the use of starter cultures can modulate the fermentation and sensory profile of the cocoa liquor, with the microbial consortium showing the highest absolute yield.

**Keywords:** Sensory analysis; control sample; fermentation; sensory profiles; removal.

**Recibido:** 21 de agosto 2025

**Aceptado:** 03 de diciembre 2025

<sup>1</sup> Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, 5RF7+CF3, Calceta, Ecuador, karen.aguayo@espm.edu.ec, <https://orcid.org/0009-0006-6971-4943>

<sup>2</sup> Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, 5RF7+CF3, Calceta, Ecuador, maria.zambranour@espm.edu.ec, <https://orcid.org/0009-0000-9897-2112>

<sup>3</sup> Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, 5RF7+CF3, Calceta, Ecuador, rosa.garcia@espm.edu.ec, <https://orcid.org/0000-0002-0310-3676>

<sup>4</sup> Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, 5RF7+CF3, Calceta, Ecuador, piero.fajardo@espm.edu.ec, <https://orcid.org/0000-0002-1286-0716>

## I. INTRODUCCIÓN

Se estima que entre 5 y 6 millones de agricultores cultivan cacao en todo el mundo, con América Latina aportando el 18,4 % (0,9 millones de toneladas) de la producción global de 4,7 millones de toneladas en el año 2019 y 2020 (Garcia-Briones, 2021). Los granos de cacao (*Theobroma cacao L.*) son esenciales para la elaboración de chocolate. Los granos frescos no contienen los precursores necesarios para la formación del sabor del chocolate y pueden caracterizarse por un desagradable sabor amargo y astringente (Salazar, 2017). La calidad del producto final depende de múltiples factores, incluida la variedad agrícola (Cocomun, 2021). La postcosecha influye significativamente en el sabor del chocolate, siendo la fermentación y el secado las etapas más críticas (Angulo D. , 2022). Por otro lado, Angulo (2019), destaca la importancia del procesamiento postcosecha del cacao para minimizar efectos físicos y químicos. (Rojas-Rojas, 2020), revelan que la fermentación, el secado y el tostado son cruciales para la calidad y composición bioquímica del cacao, ya que estos procesos garantizan la calidad y la vida útil del producto. La fermentación es un proceso fundamental, donde se define el color marrón característico de excelente apariencia, garantizando un cacao de calidad que da como resultado final un chocolate con sabor agradable y un aroma distintivo (Hidalgo, 2025). La fermentación es un paso vital para el desarrollo del sabor y la acidez del cacao. Sin ella, el cacao carecería de sabor. Es importante destacar que no son los granos los que se fermentan directamente, sino la pulpa jugosa que los rodea. Las levaduras, las bacterias y enzimas actúan sobre esta pulpa, y el calor, el ácido y las enzimas que se liberan transforman los granos tanto por dentro como por fuera, dándoles su sabor característico (Cadby J. F., 2019). Las fermentaciones muy largas, son las responsables de provocar pérdidas del sabor a cacao, malos olores, desarrollo de bacterias putrefactas y granos muy oscuros (Nogales, 2021). Los métodos de fermentación varían considerablemente de un país a otro e incluso muchas empresas pueden manejar sus prácticas de procesamiento (Casco Toapanta et al., 2023). El proceso de fermentación y secado es crucial para el desarrollo del sabor del cacao. Los granos bien fermentados y secos tienen un agradable aroma a chocolate con notas afrutadas. Por el contrario, los granos sin fermentar son amargos, astringentes

y carecen de aroma a cacao (Zapata & Lizarazo, 2023). Las características organolépticas son fundamentales en el chocolate, ya que determinan cómo los consumidores perciben y disfrutan el producto. Entender cómo la fermentación del cacao y la aplicación de cultivos iniciadores influyen en estas propiedades es crucial para garantizar la calidad y mejorar la comercialización del chocolate. Los conocimientos durante la fermentación han permitido optimizar el proceso y obtener productos de mayor calidad (Steinau-Dueñas, 2017). El cacao es la materia prima para la fabricación de una gran variedad de chocolates; y su sabor y calidad depende del proceso de fermentación y secado, son primordiales para la obtención de granos secos de gran calidad, que le permite tener buenas propiedades organolépticas; es decir color, sabor y aroma (Peñaherrera González, 2021). La evaluación sensorial es la única prueba confiable para determinar si se puede utilizar determinado cacao para la elaboración de productos. Esta prueba permite medir, analizar e interpretar reacciones de las características de los alimentos, los cuales son percibidos por los sentidos del olfato, la vista, sabor y aroma (Jiménez Barragán, 2003).

Los cultivos de bioprotección BDF proporcionan una alternativa natural y efectiva para superar estos problemas. Formados por bacterias lácticas seleccionadas con atención, estos cultivos controlan el microbiota y generan sustancias antimicrobianas como ácidos orgánicos, bacteriocinas y peróxido de hidrógeno, estableciendo un entorno hostil para los microorganismos que causan el daño (BDF NATURAL , 2025). Cada productor aplica su propio procedimiento para fermentar los granos de cacao, aunque las transformaciones bioquímicas son prácticamente idénticas, pues intervienen levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas que degradan la pulpa azucarada y generan metabolitos responsables de disminuir el amargor y desarrollar notas ácidas, frutales, especiadas, caramelizadas o florales (Díaz, 2024). La fermentación puede ser espontánea, mediante los microorganismos presentes de forma natural, o iniciarse con cultivos seleccionados, los cuales surgieron en el siglo XX para garantizar chocolates de calidad y agilizar el proceso y mejorar la seguridad del grano; además, se ha demostrado que una mayor diversidad de levaduras incrementa la complejidad sensorial y amplía los compuestos

aromáticos generados, los cuales cumplen funciones esenciales para la supervivencia y comunicación celular (Díaz, 2024). Las levaduras, cuya capacidad para producir metabolitos y enzimas ha sido ampliamente aprovechada por los seres humanos, desempeñan un papel esencial en la fermentación del cacao, ya que permiten generar los precursores del sabor; aminoácidos libres, péptidos y azúcares reductores necesarios para obtener chocolates que cumplan los estándares del mercado; estos compuestos derivan de proteínas y carbohidratos propios del grano mediante reacciones enzimáticas que ocurren durante las etapas postcosecha, especialmente en la fermentación, considerada la más determinante en la fermentación (Gutiérrez et al., 2022). Para elaborar un chocolate que alcance los estándares exigidos por el mercado, es indispensable generar en los granos de cacao ciertos precursores del sabor, como aminoácidos libres, péptidos y azúcares reductores. Estos compuestos se originan a partir de componentes propios del grano principalmente proteínas y carbohidratos mediante reacciones enzimáticas que ocurren en su interior. Para que esto sea posible, el cacao debe atravesar varias etapas posteriores a la cosecha, siendo la fermentación la más determinante (Gutiérrez et al., 2022). La fermentación puede ser espontánea, lo que implica mayor diversidad microbiana, o controlada mediante cultivos iniciadores, definido como preparaciones de microorganismo añadidas para dirigir el proceso y estandarizar las características del producto. Su uso permite acortar y hacer más eficiente la fermentación, aumentando la uniformidad y calidad de los granos, con beneficios directos para productores, comerciantes e industria chocolatera (Gutiérrez et al., 2022). Los compuestos generados por los microorganismos durante la fermentación son responsables de las reacciones bioquímicas que originan los precursores del aroma y el sabor. Por ello, emplear cultivos iniciadores conformados por levaduras y bacterias propias del microbiota característico de la fermentación del cacao permite orientar la formación de perfiles sensoriales específicos en los granos. Cuando se formula de manera adecuada un cultivo iniciador, es posible controlar y optimizar el proceso fermentativo, mejorando así la calidad final del cacao (Hernández, 2021). La investigación sobre el uso de cultivos iniciadores para mejorar las características del cacao Nacional

en Ecuador es inexistente. Sin embargo, la literatura científica indica que el uso de cultivos iniciadores en la fermentación del cacao puede ser beneficioso para reducir el tiempo de fermentación (Constante Catuto, et al., 2024). Y mejorar los compuestos fenólicos (Chagas Junior, 2021) y antioxidantes (Ooi, 2020). Estas investigaciones respaldan los beneficios de aplicar cultivos iniciadores en la fermentación de cacao, aportando conocimiento sobre la interacción microbiana y su influencia en perfiles organolépticos. Por otro lado, encontrando la posibilidad de estandarizar la fermentación para mejorar la calidad y rentabilidad del cacao fino de aroma, capacitando a los productores en la transferencia tecnológica fortaleciendo la cadena de valor local, reduciendo perdidas por defectos y permitiendo el acceso a mercados diferenciados. Las levaduras proliferan durante las etapas iniciales de la fermentación, sin embargo, su número disminuye debido a la prolongada actividad fermentativa, el incremento del pH, la presencia de etanol, la conversión de ácido acético y el aumento de temperatura (Rosales-Valdívía et al., 2024).

La presente investigación aborda la carencia de conocimientos técnicos en cosecha y postcosecha entre los productores cacaoteros de Calceta, Manabí. Lo que genera prácticas deficientes en la fermentación del cacao nacional; como la reducción prematura del periodo de fermentación para venta rápida, provocando la aparición de microorganismos indeseables y defectos sensoriales (acidez excesiva, amargor y astringencia), afectando la calidad y el valor comercial del grano. A partir de estos antecedentes el objetivo del presente estudio fue, evaluar la fermentación dirigida con cultivos iniciadores compuestos por la levadura ***Saccharomyces cerevisiae*** y las bacterias ácido-lácticas ***Lactobacillus acidophilus*** y ***Lactiplantibacillus plantarum*** para determinar su efecto sobre los parámetros físico-químicos y los atributos sensoriales del cacao nacional en las condiciones locales, contrastando las siguientes hipótesis.

#### Planteamiento de hipótesis (a)

Ho: Los parámetros físico-químicos de los granos de cacao nacional sometidos a la fermentación dirigida con cultivos iniciadores (***S. cerevisiae***, ***L. acidophilus*** y ***L. plantarum***) no difieren

significativamente entre los tratamientos; esto indica que la aplicación de distintos cultivos iniciadores y concentraciones no produce efecto estadísticamente significativo sobre los parámetros físicos-químicos evaluados.

H1: Al menos uno de los tratamientos con cultivos iniciadores provoca diferencias significativas en alguno de los parámetros físico-químicos evaluados en los granos de cacao nacional, en comparación con los demás tratamientos.

#### Planteamiento de hipótesis (b)

Ho: Los atributos sensoriales evaluados del licor de cacao nacional sometidos a fermentación dirigida con los distintos cultivos iniciadores no difieren significativamente entre tratamientos; es decir, los tratamientos producen respuestas sensoriales equivalentes.

H1: Al menos uno de los tratamientos con cultivos iniciadores provoca diferencias significativas en alguno de los atributos sensoriales evaluados en los granos de cacao nacional, en comparación con los demás tratamientos.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló utilizando almendras de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*) de la variedad Nacional con certificación orgánica, provenientes de la Finca Pastora Sol, ubicada en La Pastora, Manabí, Ecuador. Las muestras correspondieron al lote Narciso (Clon EET-103) recolectado en 2024. Los frutos fueron seleccionados manualmente en su estado de madurez fisiológica garantizando la uniformidad, ausencia de daños y una humedad inicial controlada; la temperatura ambiental durante la recolección fue de 28.7°.

### Preparación de tratamiento e inoculación

El experimento se realizó en las instalaciones de la empresa Kaacao S.A., dentro de la Universidad Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Las almendras se colocaron en gavetas plásticas y posteriormente se distribuyeron en cajones de fermentación de madera (40 x 40 cm). Se aplicaron 500 mL de medio de cultivo por cada unidad experimental, utilizando una bomba jardinería de 2 L (Sprayer) para garantizar una distribución homogénea.

Se evaluaron cuatro tratamientos:

- **(T1):** *S. cerevisiae* (4,3\*10<sup>8</sup> UFC/mL) + *L. acidophilus* (1,8\*10<sup>9</sup> UFC/mL)
- **(T2):** *S. cerevisiae* (4,3\*10<sup>8</sup> UFC/mL) + *L. plantarum* (1,7\*10<sup>9</sup> UFC/mL)
- **(T3):** *S. cerevisiae* (4,3\*10<sup>8</sup> UFC/mL) + *L. acidophilus* (1,8\*10<sup>9</sup> UFC/mL) + *L. plantarum* (1,7\*10<sup>9</sup> UFC/mL)
- **(T4):** testigo sin inoculación (protocolo convencional de la empresa)

Se utilizaron en total 6000 mL de inóculo, distribuidos en 2000 mL por tratamiento. El medio contenía melaza al 5 % para favorecer la adaptación de los microorganismos. Cada tratamiento incluyó cuatro repeticiones, empleando 1qq de almendras por réplica.

### Fermentación y secado

Los cajones inoculados fueron ubicados aleatoriamente. El tratamiento testigo se fermentó en los cajones propios de Kaacao S.A. El proceso se desarrolló durante 5,5 días, conforme al protocolo industrial para cacao Nacional, registrándose temperatura y pH en todos los tratamientos para monitorear la evolución fermentativa (Constante-Catuto, et al., 2024).

Posteriormente, las almendras se llevaron a marquesinas para el secado solar hasta alcanzar 75 de humedad.

### Evaluación física

Una vez secas, se evaluaron las características físicas siguiendo la norma (NTE INEN 176, 2021). Se tomaron 100 almendras al azar por tratamiento y se realizó la prueba de corte utilizando una guillotina MAGRA -14 Marca: Teserba, para determinar el grado de fermentación y las características internas del grano.

### Elaboración de licor de cacao

Las almendras fermentadas fueron tostadas a 130 °C durante 1 hr, con remociones cada 30 minutos (horno TEKA). Luego se realizó el descascarillado manual y mecánico, seguido de la trituración en licuadora (OSTER). El refinado final se efectuó mediante una conchadora para obtener un licor destinado al análisis sensorial.

### Evaluación sensorial

El licor fue evaluado por un panel de cuatro

catadores entrenados bajo el protocolo estandarizado de Cacao of Excellence (2023), calificando atributos de aroma, sabor, acidez, astringencia y calidad global. Los datos físicos y sensoriales se sometieron a análisis estadístico para determinar diferencias significativas entre tratamientos.

### Diseño experimental

El estudio se desarrolló bajo un diseño experimental con un enfoque completamente al azar. Se evaluaron 3 tratamientos, cada uno con 4 repeticiones, incluyendo al testigo control sin inocular.

Las variables del estudio son:

El estudio consideró una variable independiente y dos variables dependientes:

#### Variable independiente:

- cultivos iniciadores

#### Variable dependiente

- análisis fisicoquímicos
- análisis sensoriales

Cada una de estas variables fueron sometidas a su respectivo procedimiento analítico con el fin de evaluar el efecto de cultivo iniciador sobre las características finales del producto. El diseño permitió analizar el efecto de los cultivos iniciadores sobre las características físicas, químicas y sensoriales. Cada tipo de análisis siguió su propio procedimiento técnico conforme se detalla en las subsecciones correspondientes.

### Procedimiento experimental

#### Preparación de la muestra

- a. Identificación de frutos: se procedió a la identificación de plantas de cacao Nacional, teniendo en cuenta de que estas se encontraran libres de plagas y enfermedades, además se tuvo mucho en cuenta que las mazorcas alcancen la madurez fisiológica adecuada.
- b. Cosecha de frutos: luego de haber sido ya identificadas las mazorcas de cacao que estén en óptimas condiciones, se realizó la respectiva recolección del fruto con la ayuda de una tijera de podar.
- c. Extracción de los granos: Para la apertura de las mazorcas se efectuó utilizando una cuchilla de acero inoxidable, esto se lo realizó con el propósito de seccionar la cascara sin

ocasionar daños a las semillas. Los granos de cacao fueron retirados cuidadosamente y depositados en una gaveta de plástico para su respetivo traslado hacia las instalaciones de la Empresa Kaacao S.A.

- d. Pesado de los granos frescos: El peso de los granos recién extraídos se estableció con la ayuda de una balanza digital.
- e. Inoculación de Microorganismos y fermentación: Se prepararon 6000 mL de las combinaciones de microorganismos, distribuido en 2000 mL por cada tratamiento de acuerdo a las cantidades requeridas en cada tratamiento, se utilizó 2000 mL por lo tanto cada cajón necesitó 500 mL de medio de cultivo, de los cuales 100 mL, eran una concentración de melaza concentrada al 5 %, utilizando 1qq de almendras de cacao en las 4 réplicas por cada tratamiento, tomando en consideración al testigo control sin inocular. Posteriormente, se vaciaron las almendras de cacao y se inoculó 500 mL de los medios de cultivos iniciadores de cada combinación, con la ayuda de una bomba jardinera de 2 L (Sprayer), se inoculó en el vaciado para que se homogeneicé e inocule de manera uniforme la almendra. Luego se llevaron las muestras inoculadas a los cajones de fermentación de 40x40 cm de madera blanca, siendo estos los tratamientos inoculados de manera aleatoria, al mismo tiempo se llevó a los cajones de fermentación que tiene la empresa Kaacao el testigo sin inoculación, todos los cajones tenían perforaciones en la base para así facilitar el drenaje del mucilago.
- f. Control proceso durante la fermentación tuvo una duración de 5 días y medio, rigiéndonos bajo el protocolo que realiza la empresa Kaacao S.A.
- g. Proceso de Secado del Cacao: Ya una vez finalizada la fermentación basándonos en el protocolo que se emplea en la empresa Kaacao, se llevó los tratamientos a las marquesinas identificándoles cada lote, para que cumplan con el proceso de secado, llevando la respectiva toma de humedad esta se la realizó cada 1 hora con la ayuda de un medidor de humedad (AgraTronix) teniendo en cuenta la humedad relativa del

- sitio. Al concluir el proceso de secado al 7 % de humedad, se evaluaron las características físicas de las almendras mediante técnicas basadas en la norma (NTE INEN 176, 2021).
- h. Selección de granos: La selección de los granos de cacao se realizó utilizando una maquina seleccionadora, diseñada para clasificar el material según parámetros físicos previamente establecidos. Antes del ingreso a la máquina, estos granos fueron sometidos a una inspección preliminar, retirando impurezas visibles como restos de cáscara, fibras, partículas extrañas o granos adheridos. Una vez limpio el material, los granos se alimentaron de manera uniforme a la máquina. El equipo ejecutó la clasificación mediante un sistema de zarandas vibratorias y/o sensores que identifican características como tamaño, forma, peso y presencia de defectos. Los granos fueron distribuidos en diferentes gavetas.
- i. Análisis físicos de las almendras: Al concluir el proceso de secado al 7 % de humedad, se evaluaron las características físicas de las almendras mediante técnicas basadas en la norma (NTE INEN 176, 2021). Se tomaron muestras representativas de 100 almendras al azar, las mismas que fueron sometidas a la prueba de corte, donde se utilizó una guillotina cizalla cortadora de granos cacao MAGRA -14, Marca: Teserba, una vez cortada las almendras se pudo evaluar su textura interna y consistencia, siguiendo los lineamientos establecidos en la norma (NTE INEN 176, 2021). Estas mediciones permitieron determinar los cambios físicos asociados a los diferentes tratamientos. Los datos obtenidos se los aplicó en un análisis estadístico. Así mismo, las almendras fermentadas fueron secadas y luego procesadas para la elaboración del licor de cacao.
- j. Elaboración del licor de cacao: El proceso del tostado se llevó a cabo con el propósito de desarrollar compuestos aromáticos característicos, reducir la humedad residual y así facilitar el descascarillado y molienda de los granos el cual consistió en llevar las almendras de cacao a un horno tostador a temperatura controlada de 130 °C por 1 hr, realizando remociones de 30 min en un horno. Luego del tostado se realizó el respectivo descascarillado se la realizó de manera manual y para tener mejores resultados en cuanto a este proceso de la llevó a una descascarilladora, seguido de la molienda esta se la realizó con el fin de reducir el tamaño de las partículas de los granos de cacao, favoreciendo la liberación de la manteca de cacao y la obtención de una pasta homogénea. Este licor fue acondicionado adecuadamente y utilizado para la evaluación sensorial.

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA para determinar diferencias significativas entre tratamientos. Cuando hubo diferencias, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey con un nivel de significancia de  $p<0.05$ . Una vez comprobados los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianza y aleatoriedad, se realizó el análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por la prueba de Tukey al ( $p > 0.05$ ). Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics 19.

## III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fermentación de almendras de cacao inoculadas con microorganismos se producen diversos cambios positivos sobre las características del grano de cacao como: a) Calidad física de las almendras de cacao nacional. b) Impacto de la inoculación en las propiedades sensoriales del licor de cacao.

### Calidad física de las almendras de cacao nacional

Considerando los estudios previos, como el de (Flor, 2024) y (Constante-Catuto, et al., 2024), demostraron que la inoculación de cultivos iniciadores con combinaciones mejora la tasa y uniformidad de fermentación al potenciar la actividad microbiológica beneficiosa en el grano. La sinergia entre levaduras y bacterias acido-lácticas favorece la degradación de pulpa y el desarrollo de compuestos que influyen favorablemente en la fermentación, optimizando la calidad del mismo lo que plantea (De Vuyst, 2016). Así, el uso de cultivos

iniciadores específicos no solo acelera el proceso, sino que también mejora la consistencia del producto final, haciendo la fermentación más controlable y replicable en ambientes productivos. En la Tabla 1 requisitos de la Norma INEN 176 para la calidad

de granos de cacao, Tabla 2 se muestran los datos obtenidos de la calidad física durante el proceso de fermentación con la inoculación de microorganismos, aplicando la Norma INEN 176.

**Tabla 1.** Requisitos de la Norma INEN 176

Requisitos	Granos de cacao			Métodos de ensayo
	Grado 1	Grado 2	Grado 3	
Humedad, máxima, % <sup>a</sup>	7	7	7	NTE INEN- ISO 2291
Peso de 100 granos, g	>130	>120 a 130	100 a 120	b
Granos fermentados, mínimo, %	75	65	53	NTE INEN- ISO 1114
Granos violetas, máximo, %	15	21	25	NTE INEN- ISO 1114
Granos pizarrosos, máximo	9	12	18	NTE INEN- ISO 1114
Granos mohosos, máximo %	1	2	4	NTE INEN- ISO 1114
Totales (análisis sobre 100 granos), mínimo	100	100	100	-
Granos defectuosos <sup>c,d</sup> , máximo %	0,5	1	3	-
Material relacionado con los granos de cacao, máximo %	1	1	1	-
Material extraño, máximo, %	0,75	0,75	0,75	-

a El símbolo % (por ciento) representa al número 0,01, que expresa a la fracción básica.

b Masa determinada por medio de una balanza u otro instrumento equivalente.

c Granos de cacao defectuosos (3.6) corresponden a los granos dañados por insectos, granos germinados, granos negros, granos planos-vano o granza y granos rotos.

d Los valores para los granos defectuosos no deben corresponder solo a los granos de cacao dañados por insectos.

**Tabla 2.** Calidad física de las almendras de cacao en base a la Norma INEN 176

TRATAMIENTOS	BIEN FERMENTADOS	MEDIANAMENTE FERMENTADOS	VIOLETAS	MOHO	PIZARRO	INDICE DE SEMILLA	% DE TESTA	TOTAL %
T1R1	20	31	49	-	-	1,42	1,59	51
T1R2	20	54	26	-	-	1,36	0,33	74
T1R3	16	44	40	-	-	1,5	0,51	60
T1R4	21	58	21	-	-	1,47	0,12	79
T2R1	30	47	23	-	-	1,38	0,89	77
T2R2	23	30	47	-	-	1,70	1,59	53
T2R3	26	51	23	-	-	1,57	1,38	77
T2R4	23	49	28	-	-	1,32	0,42	72
T3R1	27	44	29	-	-	1,43	0,42	71
T3R2	16	64	20	-	-	1,49	1,59	80
T3R3	26	51	23	-	-	1,91	0,78	77
T3R4	17	45	40	-	-	1,43	0,33	62
TESTIGO	27	43	30	-	-	1,66	1,59	70
TESTIGO	20	46	34	-	-	1,36	1,59	66
TESTIGO	25	45	30	-	-	1,38	1,59	70
TESTIGO	17	43	40	-	-	1,91	1,59	60

Los tratamientos con mejor porcentaje respecto a la parte física de las almendras de

cacao, el consorcio de *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactiplantibacillus*

plantarum (T3) produjo un 72,5 % de almendras bien fermentadas, superando significativamente tanto a los tratamientos con dos cultivos iniciadores (T1

y T2) como al testigo sin inoculación, teniendo en consideración que no existió remoción alguna en los tratamientos inoculado, como se muestra en la Tabla 3 y en la Figura 1.

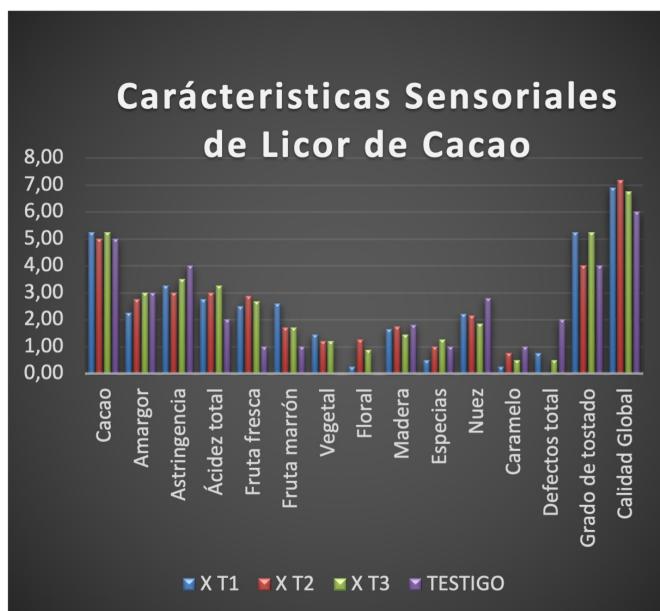


Figura 1. Histograma de porcentaje de pruebas físicas en la calidad de almendras fermentadas

Tabla 3. Valores de medias en las características físicas aplicando Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=20,46847

Tratamientos		Error: 95,0625 gl: 12	
Tratamiento Medias n E.E			
T1 ( <i>S. cerevisiae; L. acidophilus</i> , 4,3*10 <sup>8</sup> UFC/mL + 1,8*10 <sup>9</sup> UFC/mL)	T1	66,00	4
T2 ( <i>S. cerevisiae; L. plantarum</i> , 4,3*10 <sup>8</sup> UFC/mL + 1,7*10 <sup>9</sup> UFC/mL)	T2	69,75	4
T3 ( <i>S. cerevisiae; L. acidophilus; L. plantarum</i> 4,3*10 <sup>8</sup> UFC/mL + 1,8*10 <sup>9</sup> UFC/mL + 1,7*10 <sup>9</sup> UFC/mL)	T3	72,50	4
TESTIGO	Testigo	66,50	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p >0,05)

#### Impacto de la inoculación en las propiedades sensoriales del licor de cacao.

En la tabla 4 se muestran los resultados de la prueba estadística de ANOVA en cuanto a los análisis

sensoriales, los que evidenció que los tratamientos no presentaron diferencias significativas en la evaluación de los catadores entrenados con respecto a los atributos evaluados

Tabla 4. Análisis de Varianza ANOVA de valores medios a los atributos evaluados

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,335	3	0,445	2,4665127	0,11225734	3,49029482
Dentro de los grupos	2,165	12	0,18041667			

Valores p ≤ 0,05 indican que no existen diferencias significativas

En el tratamiento T2, conformado por *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactiplantibacillus plantarum*, se observó un perfil sensorial superior,

alcanzando una puntuación global de 7,18 %, sin presencia de defectos, lo que evidencia una fermentación orientada hacia la generación de

compuestos aromáticos deseables. Este resultado se explica porque ambos microorganismos son reconocidos por su capacidad de liberar metabolitos aromáticos como alcoholes superiores, ésteres y aldehídos, así, como enzimas que favorecen la formación de precursores del sabor en el interior del grano. No obstante, al no incluir bacterias con un marcado poder pectinolítico o acético, la degradación física de la pulpa resulta menos eficiente, lo que se manifiesta en un rendimiento físico inferior respecto

al T3, como se aprecia en la Figura 2. El hecho de que T2, aun sin realizar remociones, supere claramente al testigo absoluto confirma que la inoculación con cultivos iniciadores incide directamente en la mejora de las características organolépticas del licor de cacao, reforzando la importancia de seleccionar combinaciones microbianas adecuadas según el objetivo productivo, rendimiento físico o calidad sensorial.

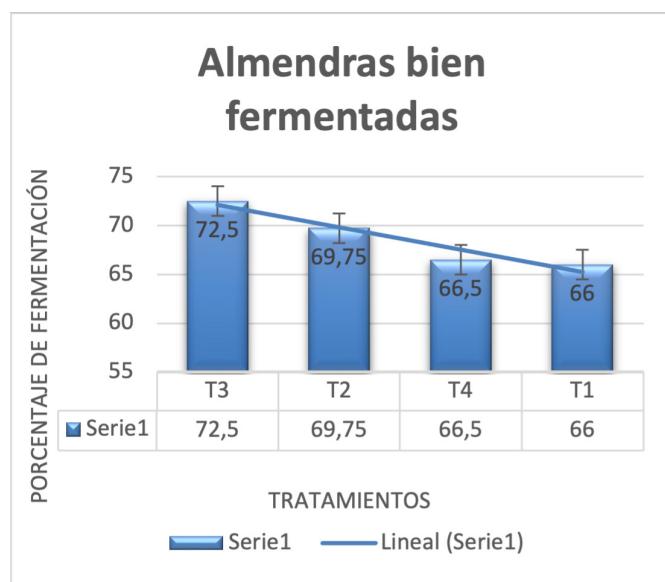


Figura 2.

En síntesis, se puede evidenciar en la Figura 3 que se muestra la rueda de sabores del cacao, una herramienta sensorial utilizada para identificar, describir y clasificar los sabores presentes en el

cacao fino de aroma. Esta rueda fue desarrollada por (Excelencia, 2023), una iniciativa global que promueve la calidad del cacao a través del análisis sensorial.

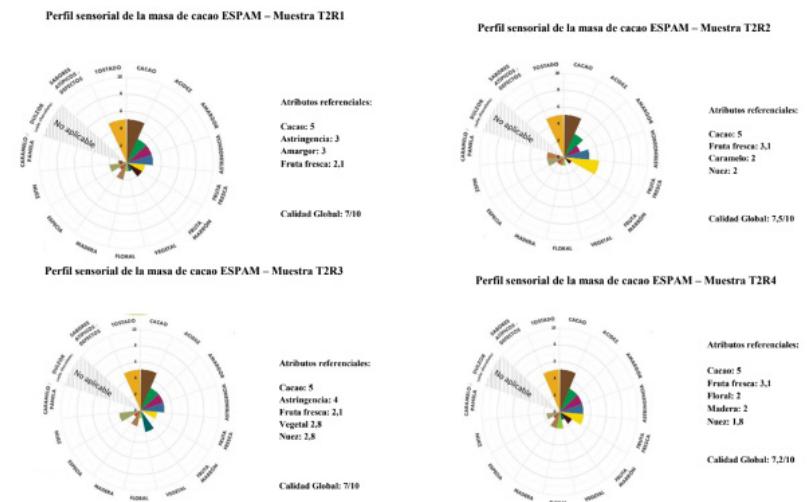


Figura 3. Rueda de sabores en la calidad del licor de cacao

Aunque el tratamiento T3 obtuvo los mejores resultados en los parámetros físicos de fermentación, ello no impidió que el T2 se posicionara como el de mayor calidad sensorial. El cultivo iniciador conformado por *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactiplantibacillus plantarum* (T2) mostró el perfil más destacado de sabor y aroma, con una calificación global de 7,18 % y ausencia de defectos, lo que se atribuye a la liberación de metabolitos aromáticos y enzimas que favorecen la formación de precursores del sabor. Sin embargo, al no incluir bacterias con elevada actividad pectinolítico o acética, la degradación de la pulpa fue menor, reflejándose en un rendimiento físico inferior frente

al T3. En contraste, el consorcio multi especies del T3 (*S. cerevisiae* + *L. acidophilus* + *L. plantarum*) promovió una degradación más eficiente de la pulpa y alcanzó el mayor porcentaje de almendras bien fermentadas (72,5 %). La comparación general evidencia que todos los tratamientos inoculados superaron al testigo, situando a T2 como el de mejor desempeño sensorial, seguido de T3 y T1, mientras que el testigo presentó la menor calidad, tal como se observa en la Tabla 5 y la Figura 4. Estos resultados reafirman la potencialidad de los cultivos iniciadores para optimizar, de manera específica, tanto la calidad física como las propiedades sensoriales del cacao fermentado.

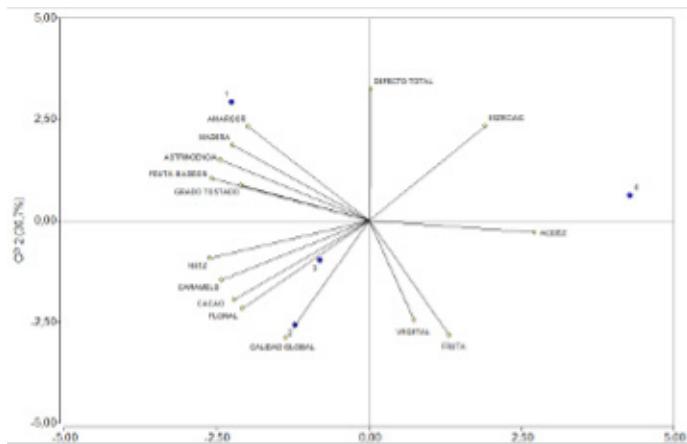


Figura 4. Gráfico estrella, atributos de las almendras de cacao

A partir de resultados obtenidos, se recomienda establecer un protocolo más detallado para la aplicación de cultivos iniciadores como estrategia para mejorar la calidad del cacao destinado a exportación y la elaboración de chocolates con mayores estándares sensoriales. Esta recomendación coincide con lo señalado por (Beckett, 2008) y (Afoakwa, 2008), quienes destacan que la microbiota que interviene durante la fermentación cumple un papel decisivo en la formación de compuestos aromáticos y precursores del sabor que determinan la calidad final del chocolate. La consistencia observada en los tratamientos inoculados sugiere, además, que el uso controlado de cultivos iniciadores puede implementarse de manera reproducible y escalable dentro de la industria cacaotera, contribuyendo al desarrollo de productos más homogéneos y con mejores características organolépticas.

#### IV. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación evidencian que el uso de cultivos iniciadores constituye una estrategia eficaz para mejorar la fermentación del cacao nacional y potenciar su calidad final. En particular, la aplicación de consorcios microbianos permitió optimizar distintos aspectos del proceso: mientras el tratamiento T3, integrado por *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactiplantibacillus plantarum*, favoreció una fermentación física más completa, el tratamiento T2 destacó por generar perfiles sensoriales más definidos y libres de defectos. Estas respuestas diferenciales demuestran que la selección adecuada de microorganismos puede modular tanto las características físicas del grano como las propiedades organolépticas del licor de cacao, ofreciendo alternativas para diferentes necesidades productivas. De este modo, la inoculación dirigida

se proyecta como una herramienta valiosa para estandarizar la fermentación y elevar la calidad del cacao a nivel industrial. Para futuras investigaciones, será pertinente evaluar nuevas combinaciones de cepas y analizar su comportamiento en diversas condiciones agroindustriales, con el fin de profundizar en su impacto sobre la formación de compuestos aromáticos y la composición bioquímica del grano, tomando como base los resultados obtenidos en el presente estudio.

## V. AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a la Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López por su compromiso con la excelencia académica, manifestando en la calidad de su cuerpo docente y en las oportunidades de aprendizaje continuo.

Extendemos nuestra gratitud a la empresa Kaacao S.A. por su invaluable apoyo en el desarrollo de este proyecto. Agradecemos profundamente su disponibilidad y predisposición al facilitarnos el uso de sus laboratorios e instalaciones, elementos clave para la ejecución de nuestra investigación.

Asimismo, agradecemos a la Estación Experimental Tropical Pichilingue, en especial al Laboratorio de Calidad Integral de Cacao y Café, por su excelente predisposición y colaboración en la realización de las pruebas sensoriales.

Agradecemos de forma especial a la Ingeniera Gabriela Alvarez, cuya indispensable guía y dedicación han sido cruciales en la mayoría de los procesos de este proyecto. Su apoyo ha sido fundamental para el éxito de esta investigación.

Nuestro agradecimiento más profundo a nuestra tutora, la ingeniera Irina García, por su constante apoyo, orientación y paciencia.

Finalmente, nuestro agradecimiento al Ingeniero Piero Fajardo por su ardua labor y compromiso constante, que han sido vitales para la consecución de nuestros objetivos, elementos esenciales que nos acompañaron a lo largo de todo el desarrollo de este proyecto.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afoakwa, E. O. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 850-

857. <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>.

Angulo, A., & Solís, L. (15 de Enero de 2019). *Aceleración de la fermentación del cacao mediante la acción de bacterias*. <https://www.redalyc.org/journal/5732/573263327001/>

Angulo, D. (2022). *Evaluación en el Manejo Poscosecha de Cacao (Theobroma cacao) de la variedad CCN-51 en la Parroquia Rocafuerte- Esmeraldas*. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/10343/3/Angulo%20P.%20%2C%20Diana%20J.%20%282022%29%20EVALUACI%C3%93N%20DEL%20MANEJO%20POSCOSECHA%20DE%20%20CACAO%20DE%20LA%20VARIEDAD%20CCN-51%20EN%20LA%20PARROQUIA%20ROCAFUERTE-ESMERALDAS.pdf>

BDF NATURAL . (26 de Junio de 2025). *Cultivos Iniciadores Bioprotectores – Protección Natural de los Alimentos,Impulsada por la Fermentación*. <https://www.bdfingredients.com/es/noticias/cultivos-iniciadores-bioprotectores-proteccion-natural-de-los-alimentos-impulsada-por-la-fermentacion/>

Beckett, S. T. (2008). *The science of chocolate (2nd ed.)*. Royal Society of Chemistry . <https://doi.org/10.1039/9781847558053>

Cadby, J. (28 de Junio de 2019). *¿Qué Sucede Durante la Fermentación Del Cacao?* <https://perfectdailygrind.com/es/2019/06/28/que-sucede-durante-la-fermentacion-del-cacao/>

Cadby, J. F. (28 de Junio de 2019). *Perfect Daily Gring*. <https://perfectdailygrind.com/es/2019/06/28/que-sucede-durante-la-fermentacion-del-cacao/>

Casco Toapanta, M. G. (2023). Métodos de fermentación en el cacao ccn-51 con norma inen 176 en la parroquia Guasaganda. *Ciencias Técnica y Aplicadas* , 614-615.

Chagas Junior, G. C. (2021). Chemical implications and time reduction of on-farm cocoa fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kudriavzevii*, *Food Chemistry*, *Science Direct*, 6-8.

- Cocomun, B. (2021). *Estudio del proceso de fermentación de los granos de cacao (*Theobroma Cacao* en México)*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=288218>
- Constante-Catuto, M. P.-V.-V. (2024). Evaluación de la tolerancia al estrés y diseño de medios de cultivo alternativos para la producción de cultivos iniciadores de fermentación en cacao. *Heliyon*, 4-8.
- De Vuyst, L. &. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 121, 5-17. <https://doi.org/10.1111>
- Díaz, C. (17 de Diciembre de 2024). *Cultivos iniciadores de levaduras funcionales para la fermentación del cacao*. <https://www.lesaffre.com/trends-mag/cocoa-fermentation-the-key-to-delicious-chocolate/>
- Excelencia, C. d. (Septiembre de 2023). *Formulario de evaluación sensorial Cacao de Excelencia [Herramienta digital]*. <https://www.cacaoexcellece.org/info-resources>
- Flor, J. E. (2024). Fermentación del Cacao de la variedad CCN-51 con reemplazo de pulpa empleando un cultivo iniciador. *Dspace de la Universidad del Azuay*, 10-14.
- García, A., Quintana, L., & Moreno, E. (2022). Determinación del índice de grano y del porcentaje cascarilla de los genotipos de cacao regionales FSV41, FEAR5 Y FLE2 y genotipo universal CCN 51. *SCIELO*, 2-3.
- Garcia-Briones, A. R.-P. (2021). La cadena de producción del Cacao en Ecuador: Resiliencia en los diferentes actores de la producción. *Revista Digital Novasinergia*, 3-4.
- Hernández, N. (2021 de Junio de 2021). *SELECCIÓN DE LEVADURAS Y BACTERIAS AUTÓCTONAS DE LA FERMENTACIÓN DE CACAO MEXICANO PARA LA FORMULACIÓN DE CULTIVOS INICIADORES*. <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/2562/1/2019-1%20Tesis-Hern%C3%A1nchez-Parada%20N.pdf>
- Hidalgo, P. (2025). *DSpace UTB*. <https://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/18341>
- Jiménez Barragán, J. C. (2003). *Repositorio Digital INIAP*. Repositorio Digital INIAP: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4073>
- Lagos, T. (s.f.).
- Lagos, T., Vásquez, A., Rojas, G., Huamani, I., & Sosa, J. (Julio de 2024). *FERMENTACION DE CACAO CRIOLLO Y CCN-51: BACTERIA LACTOBACILLUS FERMENTUM Y LEVADURA LSACCHAROMYCES CEREVISIAE*. <http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v16n4/2218-3620-rus-16-04-52.pdf>
- Nogales, J. (18 de Febrero de 2021). *Causas de una mala fermentación en el cacao*. <https://poscosechacacao.com/2021/02/causas-de-una-mala-fermentacion-en-el-cacao/>
- NTE INEN 176. (Febrero de 2021). *Anecacao.com*. Anecacao.com: <https://anecacao.com/wp-content/uploads/2024/04/NTE-INEN-176-SEXTA-REVISION-1.pdf>
- Ooi, T. S. (2020). Influence of selected native yeast starter cultures on the antioxidant activities, fermentation index and total soluble solids of Malaysia cocoa beans: A simulation study, LWT. *Science Direct*, 2-6.
- Peñaherrera González, N. (2021). Estudio de métodos de fermentación y secado del cacao. *Quito: UCE*, 14-15.
- Rojas-Rojas, K. H.-A.-G. (2020). Transformaciones bioquímicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) durante un proceso de fermentación controlada . *Agronomía Costarricense*, <https://doi.org/10.15517/rac.v45i1.45694>.
- Rosales-Valdívía, García-Curiel, Pérez-Flores, Contreras-López, Pérez-Escalante, & García-Mora. (2024). Influencia de la fermentación del cacao y del uso de cultivos iniciadores sobre las características organolépticas del chocolate: un análisis integral . *PADI Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 12(23), 35-36. <https://doi.org/https://doi.org/10.29057/icbi.v12i23.12047>

- Salazar, L. (20 de Noviembre de 2017). *Universidad Peruana Cayetano Heredia Facultad De Ciencias Y Filosofia*. Universidad Peruana Cayetano Heredia Facultad De Ciencias Y Filosofia: <https://repositorio.upch.edu.pe>
- Steinau-Dueñas, I. G.-R.-d.-A. (2017). Evaluación de la incidencia de la fermentación en la calidad del grano de cacao trinitario en Caluco, Sonsonate, El Salvador. *Universidad de El Salvador*, 1(1), 12-18.
- Zapata, L., & Lizarazo, P. (2023). *La Fermentacion del Cacao*. <https://acrobat.adobe.com/id/urn:aaid:sc:VA6C2:dd875c9d-290a-40b6-9daf-84df8bb21812>

Tabla 5. Matriz de correlación de análisis sensorial.

MATRIZ DE CORRELACIÓN CON DATOS NO PARAMETRICOS (Valor de tabla Spearman 0,464) INIAP PICHILINGUE															
Cacao	Cacao	Amargor	Astringencia	Acides total	Vegetal	Floral	Madera	Especias	Nuez	Caramelo	Defecto total	Grado tostado	Fruta fresca	Fruta marrón	Calidad Global
1,00															
Cacao	1,00														
Amargor	-0,18	1,00													
Astringencia	0,18	0,44	1,00												
Acides total	0,50	0,24	0,09	1,00											
Vegetal	-0,07	0,05	-0,36	0,28	1,00										
Floral	-0,38	0,05	<b>-0,59</b>	0,16	0,13	1,00									
Madera	-0,48	<b>0,56</b>	0,09	-0,17	-0,01	0,34	1,00								
Especias	0,07	0,46	0,36	0,25	-0,39	0,24	0,41	1,00							
Nuez	-0,25	-0,31	-0,17	-0,46	0,23	-0,10	-0,11	<b>-0,53</b>	1,00						
Caramelo	-0,33	-0,18	-0,23	-0,43	<b>-0,61</b>	0,34	0,10	0,19	0,01	1,00					
Defecto total	0,07	0,16	<b>0,71</b>	-0,27	-0,37	<b>-0,58</b>	0,16	0,37	0,07	-0,21	1,00				
Grado tostado	0,38	0,00	0,33	<b>0,55</b>	-0,38	-0,25	-0,07	0,00	<b>-0,56</b>	-0,21	0,03	1,00			
Fruta fresca	-0,40	-0,22	<b>-0,58</b>	0,17	0,14	<b>0,70</b>	0,09	-0,14	-0,09	0,28	<b>-0,57</b>	0,17	1,00		
Fruta marrón	0,12	-0,21	-0,07	-0,08	-0,07	0,02	0,29	0,01	-0,41	-0,16	0,16	0,46	0,10	1,00	
Calidad Global	-0,35	-0,25	<b>-0,83</b>	0,04	0,11	0,80	0,10	-0,11	-0,10	0,45	<b>-0,75</b>	-0,12	<b>0,88</b>	0,04	