



**UNIVERSIDAD
DEL AZUAY**

FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Aplicación de una inoculación secuencial de microorganismos para una
fermentación de cacao CCN-51 con adición de pulpa de frutas

Trabajo previo a la obtención del grado académico de:

Ingeniero en Alimentos

Autores:

Daniela Alexandra Alvarado Ulloa

Pablo Andrés Izquierdo Acosta

Director:

Mgst. María Alicia Peña González

Cuenca-Ecuador

2026

Dedicatoria

“Con todo mi amor y gratitud, dedico esta tesis a mis padres, Carmen y Yury, por su cariño y apoyo incondicional; por las madrugadas que no los dejé dormir y por los fines de semana que no compartí por hacer tareas. Este logro se lo debo a ustedes, que estuvieron en cada paso que di, alentándome a seguir adelante y dar siempre lo mejor de mí.

A mi abuelita Michi y a mi abuelito Carlos, quienes desde el cielo sé que siempre me cuidan y guían mi caminar. Cada logro y meta alcanzada se los dedico a ustedes.

A mis hermanos y a mi abuelita, Xavier, Belén y Carmen, por sus consejos, su apoyo y sus palabras de aliento, incluso cuando no entendían del todo mi carrera.

Y a mi novio, Pablo, por haber sido mi compañero en esta travesía; por las noches en vela estudiando, por las veces en que el estrés me superaba y lograbas calmarme con un abrazo, y por siempre sacar la mejor versión del otro.”

Daniela Alvarado

“A mis padres, Paúl y Cecilia, por ser el pilar inamovible de mi vida. Por tener la sensibilidad de escuchar mis silencios y abrazar mis angustias, incluso sin conocer el origen de mi pesar. Por su sacrificio silencioso de tiempo y salud que se convirtió en la base moral de mi formación; este título es el fruto de su esfuerzo incansable. A ambos, gracias por amarme más allá de mis aciertos y por ser la razón principal de mi perseverancia.

A mis hermanos, Nicolás y María Paula, por caminar a mi lado con una lealtad incondicional, convirtiéndose en mis guías y en el recordatorio constante de que nunca estuve solo en esta travesía. Me enseñaron junto a mis padres que nada es imposible, si remamos juntos como un solo puño.

A mi abuela materna, por ser la raíz de mi determinación y la persona que, con su fe inquebrantable, me permitió sembrar la primera semilla de este camino que hoy llega a su cosecha.

A mi abuela y bisabuela, quienes donde se encuentren custodian mis pasos y continúan celebrando cada uno de mis éxitos con el mismo orgullo de siempre. Sé que hoy sonríen desde el cielo, presumiendo este logro como si fuera propio.

A mi pareja, Daniela, por ser parte de este logro y mi refugio incondicional durante nuestra carrera universitaria. Gracias por ser mi escape, mi camino de vuelta a lo que importa y por caminar de la mano conmigo en este sendero.

A mi familia y amigos, quienes mediante risas compartidas, conversaciones profundas y consejos oportunos en los momentos de crisis, lograron que el peso de este camino fuera ligero.”

Pablo Izquierdo

Agradecimientos

En primer lugar, deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento a la Mgst. María Alicia Peña González y al Dr. Rodrigo Caroca Cáceres, por su disposición, paciencia y por compartir con nosotros sus conocimientos durante el desarrollo de esta investigación.

A los laboratoristas de la universidad, por su apoyo, guía y disposición para la realización de este proyecto. A nuestros compañeros de la carrera, por cada momento compartido y por hacer de este camino una experiencia más grata.

A nuestras familias, por haberse convertido en una sola red de apoyo a lo largo de este camino. Gracias por entender nuestras ausencias, por respetar nuestros silencios y por brindarnos el aliento necesario cuando el cansancio parecía ganarnos la batalla.

Finalmente, queremos agradecer a la Universidad del Azuay, por brindarnos el espacio y los recursos necesarios para nuestra formación personal y profesional.

A todos ustedes, nuestra más profunda gratitud.

Resumen

En Ecuador, el cacao CCN-51 es reconocido por su alta productividad y resistencia; sin embargo, presenta una calidad sensorial inferior al cacao Fino de Aroma, lo que limita su competitividad en mercados especializados. En este contexto, el presente estudio evaluó el efecto de una inoculación secuencial de microorganismos en una fermentación de cacao CCN-51 con adición de pulpa de frutas. Se aplicaron cinco tratamientos experimentales utilizando cultivos iniciadores de levaduras, bacterias ácido lácticas (BAL) y bacterias ácido acéticas (BAA). Durante la fermentación se monitorearon pH y temperatura, se realizó un análisis metagenómico de la dinámica microbiana y se evaluó la calidad de los granos mediante prueba de corte e índice de fermentación. Los resultados evidenciaron que la inoculación secuencial y la sustitución parcial del mucílago por pulpas de frutas modificaron la sucesión microbiana característica de la fermentación del cacao. El análisis metagenómico mostró una alta abundancia de levaduras en los tratamientos inoculados, lo que posiblemente limitó el desarrollo esperado de BAL y BAA. Asimismo, estos tratamientos presentaron un incremento térmico acelerado durante las primeras 24 h de fermentación. En todos los tratamientos se observó una disminución gradual del pH; sin embargo, únicamente el control sin reemplazo de pulpas presentó una reducción significativa a las 120 h. Entre los tratamientos con CI, la inoculación con levaduras y BAL al inicio, seguida de BAA a las 48 h, alcanzó el mayor porcentaje de granos bien fermentados (41%).

Palabras clave: Cacao CCN-51, fermentación de cacao, inoculación secuencial, pulpa de frutas, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Acetobacter ghanensis*, metagenómica.

Abstract

In Ecuador, CCN-51 cocoa is recognized for its high productivity and resistance; however, it exhibits lower sensory quality than Fine Aroma cocoa, thereby limiting its competitiveness in specialized markets. Within this context, the present study evaluated the effect of sequential microbial inoculation during the fermentation of CCN-51 cocoa supplemented with fruit pulp. Five experimental treatments were applied using starter cultures of yeasts, lactic acid bacteria (LAB), and acetic acid bacteria (AAB). Throughout the fermentation process, pH and temperature were monitored, a metagenomic analysis of microbial dynamics was conducted, and bean quality was assessed through cut tests and fermentation index determination. The results demonstrated that sequential inoculation and the partial replacement of mucilage with fruit pulps altered the characteristic microbial succession of cocoa fermentation. Furthermore, metagenomic analysis revealed a high abundance of yeasts in the inoculated treatments, which possibly limited the expected development of LAB and AAB. Moreover, these treatments exhibited an accelerated temperature increase during the first 24 h of fermentation. A gradual decrease in pH was observed in all treatments; nevertheless, only the control treatment without pulp replacement showed a significant reduction at 120 h. Among the treatments with starter cultures, inoculation with yeasts and LAB at the beginning of fermentation, followed by AAB at 48 h, achieved the highest percentage of well-fermented beans (41%).

Keywords: CCN-51 cocoa, cocoa fermentation, sequential inoculation, fruit pulp, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Acetobacter ghanensis*, metagenomics.