



Estudio de la relación de procesos de fermentación de café (*Coffea arabica*, variedades Catimor y Castillo) con grupos microbianos y el perfil sensorial de la bebida para la búsqueda de bacterias ácidolácticas con propiedades tecnológicas en la finca “La Antigua” (municipio de Jardín, Antioquia).

Valentina González Montero

Universidad de Antioquia

Escuela de microbiología

Medellín, Colombia

2022

Estudio de la relación de procesos de fermentación de café (*Coffea arabica*, variedades Catimor y Castillo) con grupos microbianos y el perfil sensorial de la bebida para la búsqueda de bacterias ácidolácticas promisorias en la finca “La Antigua” (municipio de Jardín, Antioquia).

Valentina González Montero
Ingeniera Biológica

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Microbiología

Asesor:

Karina E. Motato Rocha
Doctora y magíster en Biotecnología

Línea de Investigación:
Fermentaciones alimentarias
GIAS

Universidad de Antioquia

Escuela de microbiología

Medellín, Colombia

2022

Cita	(González Montero, 2022)
Referencia	González Montero Valentina. (2022). <i>Estudio de la relación de procesos de fermentación de café (Coffea arabica, variedades Catimor y Castillo) con grupos microbianos y el perfil sensorial de la bebida para la búsqueda de bacterias ácidolácticas promisorias en la finca “La Antigua” (municipio de Jardín, Antioquia [Tesis de maestría]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.</i>



Maestría en Microbiología, Cohorte VII.

Grupo de Investigación GIAS

CODI



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes

Decano/Director: Ricardo Velasco Vélez.

Jefe departamento: Natalia Valencia López.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Agradecimientos

La autora del presente trabajo expresa sus agradecimientos a las siguientes personas:

Andrés M. León Leal. MsC. Docente del laboratorio de café, Centro Nacional de Aprendizaje (SENA) Seccional la salada, Caldas. Por compartir su amplio conocimiento en cuanto a la poscosecha del café.

Guillermo A. Correa Londoño. Docente Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Por su asesoría y acompañamiento en el análisis de datos.

Jaime Henning Polania. Doctor rerum naturalium. Profesor titular Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Por compartir su vasto conocimiento y su excelente asesoría.

Karina E. Motato Rocha. PhD Biotecnología. Investigador Principal. Directora de Tesis. Por guiarme en el transcurso de este trabajo.

Lina M. Garzón Caro. Joven investigadora COLCIENCIAS. Ingeniería de Alimentos. Por tener siempre toda su disposición y colaborar en todo momento de la investigación.

María O. Román Morales. MsC. Asesora de Tesis. Por sus consejos para la profesión como investigadora.

Sergio Echeverri. Por tener interés en la ciencia y permitirme realizar todos los experimentos en su finca.

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias por prestarme sus instalaciones para desarrollar mi trabajo de investigación y sus docentes que me apoyaron con el préstamo de dispositivos y reactivos.

A mis amigos y familiares por su incondicionalidad y apoyo brindado.

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de los microorganismos presentes en la fermentación de café sobre la calificación sensorial de la bebida. A su vez, se evaluó el posible efecto que genera la proporción de agua/café despulpado y el tiempo de fermentación sobre el crecimiento de los microorganismos. Para ello se aplicó un diseño experimental de dos factores a tres niveles (Proporción agua/café: I, II, III; tiempo: A=24h, B=48h, C=72h), cada experimento tuvo dos replicas biológicas para sí obtener un total de 18 tratamientos denominados minilotes. Se registró los datos de pH y temperatura a lo largo de toda la fermentación, y de los °Brix al inicio y final de cada uno de los experimentos. Para el recuento de los grupos microbianos se sembraron muestras de café fermentado en distintos medios de cultivo: agar Plate count para mesófilos, Chromocult para enterobacterias, Ogye para hongos filamentosos y levaduras, WL para bacterias ácidoacéticas (BAA), MRS y M17 para bacterias ácidolácticas (BAL). Los recuentos mas altos de BAL y de BAA se evidenciaron en el experimento C (T2= 72h) y de levaduras en el experimento A(T2= 24h). Los resultados evidenciaron que el desarrollo de los microorganismos fue independiente de las variables estudiadas en el experimento. El puntaje final del café tampoco se vió afectado por los grupos microbianos encontrados o por el proceso de fermentación en cada minilote. Siete de los veinte aislados de bacterias ácidolácticas (BAL) presentaron actividad antagónica con los hongos *A. flavus* y *Penicillium*. Los hallazgos de la presente investigación constituyen las bases para el diseño de los prototipos biotecnológicos; Un cultivo iniciador (*starter*) para la fermentación controlada de café que permita a pequeños caficultores producir cafés especiales o cultivos iniciadores con capacidades bioprotectoras contra hongos micotoxigénicos. **Palabras clave: análisis sensorial, beneficio, proceso semi-seco**

Abstract

This work evaluated the effect of microorganisms from coffee fermentations, in the qualification of coffee as well as the effect of the water proportion and time on the growth of microorganisms. For this experiment a factorial design was used, the two factors were water/ coffee proportion and fermentation time, nine experiments were done by using minilots varying water amount and final time of fermentation. Data of temperature, pH and °Brix were collected, temperature and pH throughout the time of the fermentations and °Brix only at the beginning and end of each process. For the detection and enumeration of the microbial groups, fermented coffee samples were sown in different media culture: PC agar for mesophiles, Chromocult agar for Enterobacteriaceae, Ogye agar for filamentous fungi and yeasts, WL agar for acetic acid bacteria, MRS and M17 agar for lactic acid bacteria. There were no statistically significant differences in the growth of the microorganisms, neither in the coffee flavors. Seven out of twenty LAB isolates had significant antagonistic activity against *A. flavus* and *Penicillium*. The results from this research could be used in the future, for the design of biotechnological prototypes: A starter culture for small coffee growers seeking to develop specialty coffees with controlled fermentation and LAB cultures with bioprotective capabilities

Keywords: sensory analysis, wet process, semi-dry process

Tabla de contenido

	p.
Introducción.	15
1 Objetivos.	19
1.1 General.	19
1.2 Específicos.	19
2 Justificación.	20
3 Marco teorico.	22
3.1 Generalidades acerca del café.	22
3.1.1 Producción de café en Colombia.	25
3.1.2 Composición fisicoquímica del mucílago del café	26
3.1.3 Beneficio del café (Procesos de postcosecha).	27
3.1.3.1 La fermentación natural o seca.	28
3.1.3.2 La fermentación húmeda.	29
3.1.3.3 Fermentación semi-seca o Honey	29
3.1.3.4 Diversidad y rol de los microorganismos en la fermentación húmeda del café.	30
3.1.4 Análisis sensorial del café.	32
3.1.4.1 Graduación y clasificación del café.	32
3.1.4.2 Altitud y/o región.	33
3.1.4.3 Variedad botánica (especie).	34
3.1.5 Evaluación del café verde.	34
3.1.5.1 Apariencia.	34

3.1.5.2 Color	34
3.1.5.3 Olor.	35
3.1.5.4 Humedad.	35
3.1.5.5 Densidad.	35
3.1.5.6 Tamaño del grano.	35
3.1.5.7 Estándar para el café verde comercial.	35
3.1.5.8 Factor de rendimiento (FR)	36
3.1.6 Tostión de muestras.	36
3.1.6.1 Evaluación del café tostado.	37
3.1.7 Evaluación de la bebida de café	38
3.1.7.1 Aroma.	37
3.1.7.2 Sabor.	38
3.1.7.3 Amargura.	39
3.1.7.4 Acidez.	39
3.1.7.5 Dulzor.	39
3.1.7.6. Retrogusto.	38
3.1.7.7 Textura.	40
3.1.7.8 Cata.	40
3.1.8 Hongos micotoxigénicos en el café (contaminación).	40
3.1.8.1 Contaminación durante el proceso de fermentación del café.	43
3.1.8.2 Saneamiento.	46
4 Materiales y Métodos.	49
4.1 Zona de estudio	49

4.2 Caracterización del grano fresco.	49
4.3 Diseño y condiciones experimentales	50
4.3.1 Sistemas de fermentación de café en minilotes.	50
4.3.2 Variable de temperatura durante la fermentación.	52
4.3.3 Análisis fisicoquímico durante la fermentación.	53
4.3.4 Toma de muestras para análisis microbiológico durante la fermentación.	53
4.3.4.1 Análisis microbiológico de las muestras de café fermentado.	53
4.3.4.2 Caracterización macroscópica y purificación de cepas promisorias aisladas del café fermentado.	54
4.3.4.3 Conformación de cepario de bacterias ácidolácticas promisorias de la fermentación del café.	55
4.3.4.4 Pruebas de antagonismo BAL y hongos productores de micotoxinas.	56
4.4 Secado, tostión y molienda final del café.	57
4.4.1 Caracterización del grano verde-almendra.	57
4.4.2 Proceso de tostión y molienda.	57
4.5 Evaluación sensorial del perfil de la bebida de café.	58
4.6 Métodos estadísticos de tratamiento de datos.	58
5 Resultados y análisis.	59
5.1 Condiciones Ambientales.	59
5.2 Caracterización de la cereza de café (variedades Catimor y Castillo) en fresco	59
5.3 Variaciones del pH, la temperatura y los grados °Brix	63
5.4 Recuento de los microorganismos viables y cultivables de café	68
5.5 Evaluación de café verde, cata y perfilación.	78

5.5.1 Humedad y Factor de Rendimiento.	78
5.5.2 Análisis sensorial.	82
5.6 Selección aislados de BAL acorde a los perfiles sensoriales más altos	86
5.7 Antagonismo de BAL aisladas de fermentación de café frente a hongos de los géneros <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	87
6 Conclusiones	91
Recomendaciones.	92
Referentes bibliográficos.	93

Lista de figuras

	P.
Figura 1. Corte longitudinal de la cereza de café y sus partes.	24
Figura 2. Proceso de postcosecha del café	26
Figura 3. Sabor del café respecto a la altitud.	32
Figura 4. Estructura química de la ocratoxina A	42
Figura 5. Estructura química de la aflatoxina B1	43
Figura 6. Diagrama de flujo del diseño experimental.	52
Figura 7. Frutos maduros de café (<i>C. arabica</i>)	59
Figura 8. Variación del pH a través del tiempo	63
Figura 9. Variación de la temperatura a través del tiempo	65
Figura 10. Grados °Brix de la pulpa de café	67
Figura 11. Recuento total ufc/g de los microorganismos indicadores mesófilos PC	69
Figura 12. Recuento total ufc//g de los coliformes totales en Chromocult	70
Figura 13. Recuento total ufc//g de bacterias ácidoacéticas (BAA) en WL	71
Figura 14. Recuento total ufc//g de levaduras en OGYE	72
Figura 15. Recuento total ufc//g de lactobacilos en MRS	73
Figura 16. Recuento total ufc//g de lactobacilos en M17	74
Figura 17. Porcentaje de humedad de las muestras de minilotes de café verde.	79
Figura 18. Factor de rendimiento del café verde de muestras de cada uno de los minilotes	80
Figura 19. Curva de tosti3n	81
Figura 20. Aislados obtenidos de los medios MRS y M17	86

Figura 21. Radio promedio de inhibición de <i>A. flavus</i>	87
Figura 22. Radio promedio de inhibición de <i>Penicillium</i>	88
Figura 23. Pruebas de antagonismo in vitro <i>A. flavus</i> vs aislados	89
Figura 24. Pruebas de antagonismo in vitro <i>Penicillium</i> vs aislados	89

Lista de tablas

	p.
Tabla 1. Tipos de café (tostado o verde) con sus respectivos hongos y micotoxinas	45
Tabla 2. Pruebas de antagonismo entre bacterias ácidolácticas (BAL) y hongos.	48
Tabla 3. Grupos microbianos recuperables en el procesamiento del café	54
Tabla 4. Calificación final (cuantitativa y cualitativa, según SCA) de café especial y no especial	58
Tabla 5. Colores del fruto maduro tabla pantone	60
Tabla 6. Escala de maduración para frutos de café variedad Castillo	61
Tabla 7. Valores P para cada una de las variables en los diferentes cultivos	77
Tabla 8. Calificación cuantitativa, clasificación cualitativa, sabores y aromas detectados de las bebidas obtenidas de muestras de cada sistema de fermentación.	83

Lista de Anexos

Anexo 1	93
Anexo 2	94
Anexo 3	95
Anexo 4	97
Anexo 5	98

Lista de abreviaciones

	P.
BAA: Bacterias ácido acéticas	16
BAL: Bacterias ácido lácticas	16
OTA: Ocratoxina A	17
SCA: <i>Specialty Coffee Association</i>	34

Introducción

El cultivo del cafeto (*Coffea spp*) tiene gran importancia económica, ya que a partir de sus frutos se obtiene una de las bebidas más comercializadas en el mundo (FAO, 2021). Este árbol crece en la zona tropical del planeta, en más de 70 países de África, Asia, América central y del sur. Según la ICO (*International Coffee Organization*) Colombia es el tercer país con mayor producción de café (ICO, 2021), se registra que en el 2018 el área de café sembrada fue aproximadamente 742 mil ha y Antioquia es el líder nacional en la producción de café en el país, con 116.439 ha sembradas (Minagricultura, 2019)

El café ha sido un producto agroindustrial crucial en la economía de nuestro país por más de cien años, entre otras razones, por los empleos directos e indirectos generados, el desarrollo rural y la dinámica económica que genera en su entorno (Kalmanovitz, 2019; Pérez, 2013). En el último informe de indicadores realizado por la Federación Nacional de Cafeteros (FNC) y Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) más de 545 mil familias dependen de la producción del café para su sostenimiento (FNC & MADR, 2020). Por otra parte, el café es un *commodity* que está expuesto a los riesgos de la oferta y la demanda mundial. Los caficultores colombianos tienen determinado el precio de acuerdo con: el comportamiento de la bolsa, los grandes comercializadores, la oferta de otros países y el precio del USD (Estrada, 2011). Es posible tener una diferencia comercial si el café es catalogado como especial, es decir con perfiles sensoriales diferenciados de los convencionales. Estos atributos deben ser consistentes, verificables y sostenibles, por los cuales los consumidores estén dispuestos a pagar un mayor precio beneficiando directamente al caficultor (FNC, 2021). Esta diferenciación es posible cuando se controla el proceso de producción, especialmente durante

la fermentación. En esta etapa los microorganismos degradan el mucílago y generan metabolitos secundarios, que producen sabores y aromas que se difunden dentro del grano. Sin embargo, no se conocen la variedad de microorganismos ni la influencia de la fermentación en las características sensoriales del café en las fincas de una de las mayores zonas de producción en Antioquia: el suroeste.

Se puede hacer un seguimiento del proceso de fermentación midiendo y llevando registro de la temperatura ambiente, temperatura de la masa de café, los grados °Brix del fruto, de la masa de café y el pH a lo largo del proceso. Esto lo podría hacer cada caficultor en la finca para conocer su proceso y así, de ser necesario, reformarlo y estandarizarlo.

El papel de los microorganismos en la fermentación del café es ayudar a remover el mucílago y generar metabolitos que repercuten en el sabor y aroma de la bebida. Los microorganismos provienen de diferentes fuentes, unos se encuentran naturalmente en el fruto y los otros pueden provenir del ambiente, insectos o de las manos del caficultor (Schwan & Fleet, 2015). La variedad de microorganismos depende de los tipos de fermentación, calidad del agua, factores geográficos y ambientales. Se pueden encontrar hongos filamentosos, levaduras, coliformes, bacterias ácidolácticas y ácidoacéticas (BAA) (Freitas Schwan et al., 2012; Jiyuan Zhang et al., 2019).

Entre los grupos recientemente estudiados dentro de la fermentación del café están las bacterias ácidolácticas (BAL), ya que estas participan en la degradación del mucílago (Pereira *et al.*, 2016), estas bacterias producen algunos metabolitos secundarios que juegan un papel importante en las características sensoriales del café y tienen acción bioprotectora. Estas bacterias usan el mucílago como sustrato, fuente de carbono y nitrógeno y, a causa de

su metabolismo, producen una cantidad considerable de ácido láctico. En consecuencia, se da un descenso del pH, lo cual facilita la degradación del mucílago y así la obtención del café pergamino (Pereira *et al.*, 2016). Adicionalmente a la remoción del mucílago, las BAL han sido asociadas con la producción de compuestos como aldehídos, ésteres y cetonas, que son precursores de aromas y sabores deseables, es decir al tostar el café este podrá desarrollar gusto a mantequilla, flores y frutas (Pereira *et al.*, 2016). Estas especies de bacterias producen un amplio espectro de metabolitos antifúngicos, los cuales inhiben el crecimiento de hongos filamentosos perjudiciales y también tienen la capacidad de adsorber, degradar o desintoxicar alimentos contaminados con micotoxinas, como ocratoxinas, aflatoxinas y fumonisinas (Soriano del Castillo, 2007).

Algunos hongos de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium* producen micotoxinas que causan serias y, a veces, intratables enfermedades en humanos. Además de generar pérdidas económicas en el café por desvalorización comercial, las micotoxinas, como metabolitos secundarios producidos mayoritariamente por hongos filamentosos que parasitan alimentos, las más estudiadas son las aflatoxinas y la ocratoxina A (OTA), ya que tienen efectos nefrotóxicos, hepatotóxicos, genotóxicos y cancerígenos (Ostry *et al.*, 2013; Vieira *et al.*, 2015).

Este trabajo presenta la identificación de los diferentes grupos microbianos encontrados en los sistemas de fermentación del café de la finca “La Antigua”; evaluando el efecto de variables, como son: la proporción de agua y granos de café dentro del tanque, el tiempo de proceso para conocer la influencia que tienen en la calidad de café. Además se expone información acerca de parámetros fisicoquímicos, como los °Brix, el pH y la temperatura de

todos los experimentos. A partir de los aislados de los grupos microbianos se seleccionaron y purificaron las bacterias ácidolácticas para realizar ensayos de antagonismo, en los que se evaluó la capacidad inhibitoria de estas con hongos filamentosos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*.

1 Objetivos

1.1 Objetivo general

Identificar la relación de procesos de fermentación de café (*C. arabica*, variedades Catimor y Castillo) con grupos microbianos y el perfil sensorial de la bebida para la búsqueda de bacterias ácidolácticas con propiedades tecnológicas en la finca “La Antigua” (municipio de Jardín, Antioquia).

1.2 Objetivos específicos

1. Identificar preliminarmente microorganismos pertenecientes a los diferentes grupos microbianos presentes en los procesos de fermentación.
2. Relacionar el efecto de dos factores (proporción agua /fruto despulpado de café y tiempo de fermentación) en el recuento de grupos microbianos presentes en la fermentación.
3. Establecer un seguimiento de parámetros fisicoquímicos durante el proceso de fermentación.
4. Evaluar el efecto de la proporción agua/fruto despulpado de café y tiempo final de fermentación, sobre el perfil sensorial final de la bebida
5. Evaluar la actividad antagónica de bacterias ácidolácticas aisladas de las fermentaciones, frente al crecimiento de los hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*.

2 Justificación

Colombia tiene el primer lugar en el mundo como productor de café arábigo suave lavado, es decir, producido mediante fermentación húmeda, caracterizada por ser una bebida con acidez y cuerpo medio-alto de taza limpia, aroma pronunciado y completo (Moldvaer, 2021; Superintendencia de Industria y Comercio, 2005). Sin embargo, hay fallas en el control de los procesos en la finca, en particular en la fermentación, lavado y secado, lo cual ocasiona defectos, contaminaciones y falta de consistencia en la calidad del producto, pérdidas económicas para los caficultores y desaprovechamiento de mercados (International Trade Centre, 2021; Varangis et al., 2003). Darle valor agregado al café es, entonces, una alternativa para tener la opción de venta de *Cafés especiales* y no estar expuestos a los riesgos de ofrecerlo en el mercado como un *commodity* (Cecilia & Duque, 2018; Fernández, 2017). Varios científicos colombianos han notado lo dicho anteriormente y han realizado estudios en los municipios de Nariño (de Oliveira Junqueira et al., 2019), Antioquia (Peñuela-Martínez et al., 2018, 2021) y Magdalena (Cruz-O'byrne et al., 2021; Menco Tapia, 2020).

La fermentación es un paso importante durante el procesamiento del fruto del café, esta busca la degradación del mucílago por microorganismos presentes de forma natural, los cuales usan, como una base nutritiva para su crecimiento, varios componentes de la pulpa y el mucílago (Batt et al., 2014; Sterling et al., 2012). Su duración varía acorde al método empleado por el caficultor (húmeda o seca o *Honey*) y a lo largo del proceso se presentan cambios fisicoquímicos en los granos, tales como reducción del contenido de agua y azúcares simples, producción de ácidos orgánicos, alcoholes y otros metabolitos en general, que serán precursores de aroma y sabor al penetrar el grano, influyendo en las características sensoriales finales de la bebida (Evangelista, Miguel, Silva, Pinheiro, & Schwan, 2015a; Ferreira, Danielle, & Vilela, 2013).

El suroeste antioqueño es una de las zonas cafeteras de mayor importancia, pero no se han hecho los estudios pertinentes para desarrollar un conocimiento científico de cada proceso particular de la finca o localidad cafetera. En consecuencia, los caficultores siguen haciendo la fermentación con los métodos tradicionales y realizando prácticas que van en contra de las recomendaciones técnicas mínimas, tales como mezclar cafés de diferentes días de recolección y la adición de sustancias como la urea, para acelerar el proceso. No se conocen las comunidades microbianas que hacen posible la fermentación, en esta zona cafetera, ni cómo influyen en las características sensoriales finales.

A partir del estudio de los microorganismos viables aislados de las fermentaciones, se abre la posibilidad de llevar a cabo varias investigaciones de bioprospección, a fin encontrar aquellos que logren efectos deseados. Entre ellas proteger de la contaminación con hongos micotoxigénicos (cultivos bioprotectores)(Siedler et al., 2019), realizar un proceso eficiente de desmucilagización de los granos, predecir y controlar las características finales del grano que se va a procesar. Así como cultivos iniciadores que ayuden a optimizar los procesos de fermentación y obtener bebidas con aromas y sabores especiales (Massawe & Lifa, 2010; Mozzi, 2015; Ribeiro et al., 2020): como notas

dulces, cítricas y frutales, que agregan valor y calidad al producto. (Puerta & Echeverry, 2015).

Esta investigación pretende ampliar el conocimiento sobre los microorganismos presentes en la fermentación del fruto de café y la elaboración futura de nuevas propuestas de investigación en el campo de los cafés especiales, obtenidos mediante una fermentación estandarizada y controlada.

3 Marco teorico

3.1 Generalidades acerca del café

El género *Coffea* L. pertenece a la familia *Rubiaceae* y fue descrito por Carlos Linneo en 1753. Los cafetos son arbustos que miden entre 4-6 m de altura en estado silvestre pero, para facilitar la recolección en las plantaciones, se podan entre 2-4 m de altura. Este crece y se cultiva en los países de la zona tropical de la tierra (UEIA, 2014). Sus hojas son perennes y tienen un color verde brillante en el haz. La flor es de color blanco, y de vida muy corta, ya que a los tres días de florecer, dan paso al desarrollo del fruto (Pulgarín, 2007).

Sus frutos se desarrollan durante los seis a siete meses siguientes a la floración; son bayas, comúnmente llamadas cerezas, que maduran de un color carmesí brillante; dentro se encuentran las semillas o granos, que están cubiertos por varias capas: la piel exterior, una pulpa dulce, el mucílago y la película plateada. Una planta tarda de cinco a ocho años para estar en plena producción, que dura entre 15 y 20 años. Dentro de las especies existen variedades que ofrecen diferentes rendimientos, resistencias ante plagas y características sensoriales en particular. Las variedades de café en Colombia incluyen: borbón, originaria de las Islas Reunión, típica, una de las primeras en América; caturra, originada en Brasil; Maragogipe, mutante de la variedad típica; Colombia, obtenida mediante el mejoramiento genético y resistente a la roya (Díaz Arango, Mejía Gutierrez, & León Agatón, 2018).

El grano de café está constituido por agua, carbohidratos, lípidos, compuestos nitrogenados, ácidos y minerales. Los ácidos clorogénicos comprenden varios, entre estos hidroxicinámicos, los cuales son responsables de la acidez inicial del fruto (Haile & Kang, 2019; Puerta & Echeverry, 2015)

Las partes de la fruta, del exterior al interior son:

- Epicarpio (cutícula, cáscara, pulpa): de color rojo-violeta, rojo profundo, amarillo o naranja en su madurez (dependiendo del genotipo), envuelve todas las demás partes del fruto.
- Mesocarpio (mucílago, baba): Consistencia gelatinosa, pulposa, fibrosa y dulce, de color cremoso la cual es rica en carbohidratos (glucosa, fructosa y pectina), proteínas, lípidos, minerales y considerables cantidades de taninos, polifenoles y cafeína.
- Endocarpio (pergamino, cascarilla): Cubierta corácea de color crema a marrón que envuelve la semilla, conformando un polisacárido similar al papel compuesto de α -celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas.
- Espermoderma (película plateada): Envuelve la semilla (integumento seminal). Está compuesta predominantemente de polisacáridos como la celulosa y la hemicelulosa, además de monosacáridos, proteínas, polifenoles y otros compuestos menores. Es rica en fibra dietaria total y compuestos fenólicos con actividad antioxidante. Cubre los dos hemisferios de la semilla de forma elíptica, las cuales a su vez contienen el endospermo y el embrión.
- Endospermo: La semilla propiamente.
- Embrión: Localizado en la superficie convexa de la semilla y representado por un hipocótilo y dos cotiledones (Díaz Arango et al., 2018; Vinícius de Melo Pereira et al., 2019) (figura 1).

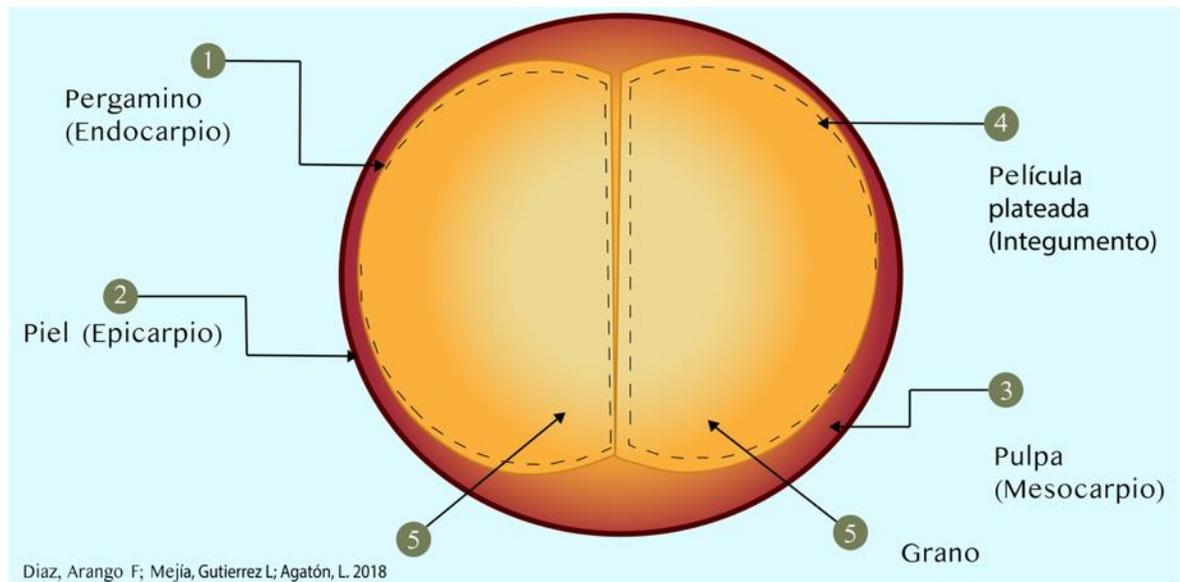


Figura 1. Corte longitudinal de la cereza de café y sus partes. Fuente: Arango et al. (2018).

Las especies con mayor importancia económica son *C. arabica* (café arábigo) y *C. canephora* (robusta) (ICO, 2021). Los cafés arábigo tienen mejor sabor y menor contenido de cafeína (de 0.6 a 1.2% del peso del grano), y los robusta están catalogados con menor calidad (Velásquez & Asociación Nacional del Café (Anacafé), 2019), tiene un sabor más fuerte y amargo, es menos perfumado y tiene mayor contenido de cafeína (de 2.0 a 3.0% del peso del grano) (Phan et al., 2016).

3.1.1 Producción de café en Colombia

Las primeras semillas de café llegaron a Colombia de las Indias Occidentales francesas a finales del siglo XVIII (Cárdenas Gutiérrez, 1993). Con el tiempo el cultivo de cafeto se extendió a otros departamentos, las plantaciones se establecieron preferencialmente en tierras de ladera de clima medio que, por su temperatura y régimen de lluvias, favorece la producción, cuya calidad es reconocida en el mundo (Gómez et al.,

1991). Los primeros cultivos comerciales se produjeron en la zona oriental del país, en el año de 1835 y, a partir de 1950, se propagó hacia el centro y el occidente de Colombia a través de Cundinamarca, Antioquia y Caldas (FNC, 1958, 2020).

El ministerio de agricultura registra hasta el 2019 que los cultivos de café ocupan más de 720 mil ha del territorio colombiano (Minagricultura, 2019). Estos ocupan el 42% de las hectáreas sembradas a lo largo de 590 municipios; los departamentos de mayor producción cafetera son: Caldas, Quindío y Risaralda (eje cafetero), seguidos por la región de Antioquia, Huila, Nariño, Santander y Tolima (FNC, 2018b). Actualmente la caficultura genera 730 mil empleos directos, 25% del empleo agropecuario (FNC, 2017). Antioquia es el primer gran productor de café en el país, con 118.000 ha sembradas, de las cuales viven 79.254 caficultores. Específicamente en el municipio de Jardín hay 2.320 ha y 1.462 caficultores (DANE, 2016; FNC, 2018a).

3.1.2 Composición fisicoquímica del mucílago del café

El Mucílago es una sustancia gelatinosa, translúcida y dulce; rica en polisacáridos tipo pectina. La cantidad de mucílago del fruto depende de la variedad, del estado de madurez y tamaño. Entre las variedades de los cafés, los arábigos, contienen más azúcares que los robustas (Sakiyama & Ferrão, 2014). Las cerezas maduras y más grandes tendrán mayor cantidad de mucílago que las inmaduras y pequeñas. El mucílago se compone de: 84.2% de agua, 8.9% de proteína, 4.1% de azúcar, 0.9% de sustancias pécticas y 0.7% de ceniza, además tiene minerales como Ca, K y P, y amino ácidos (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009).

3.1.3 Beneficio del café (Procesos de postcosecha)

La bebida se obtiene gracias al proceso de postcosecha del fruto y posteriores operaciones de trillado, tostado y molienda del grano. Estos procesos varían según el país, la región, especie y variedad del cafeto pero, en general, siguen el flujo de la figura 2.

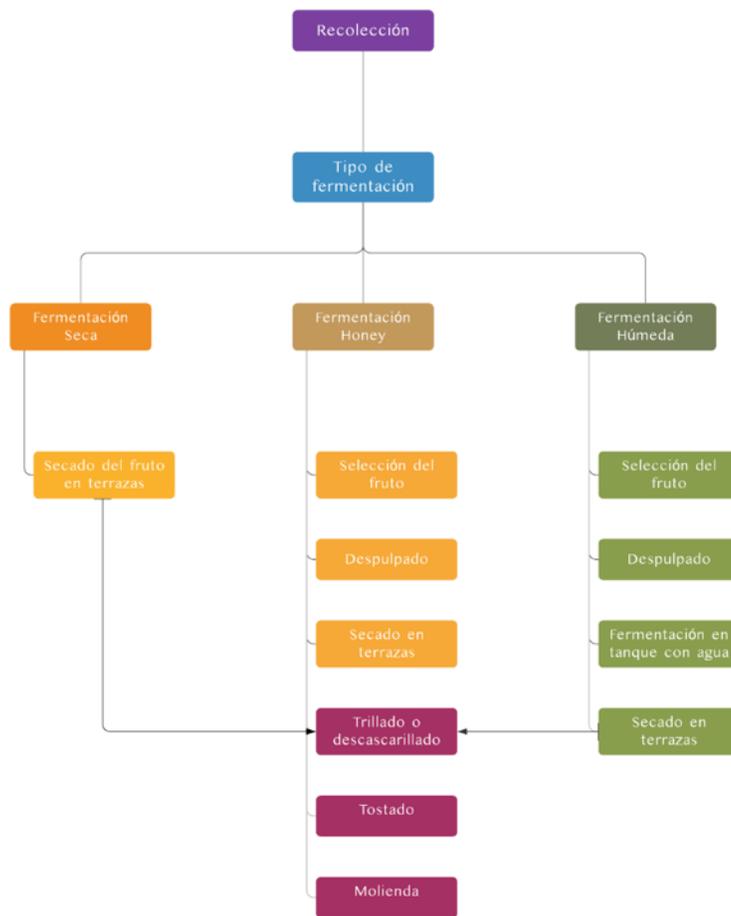


Figura 2. Proceso de postcosecha del café.

Como se ve en la figura anterior, una de las etapas dentro de los procesos de postcosecha del café es la fermentación. Esta puede ser de tres tipos: seca (natural), húmeda, o semi-

seca (*Honey*) y se da de manera espontánea. El objetivo es remover la capa mucilaginosa del grano, independientemente del tipo de fermentación que se realice.

Las fermentaciones son transformaciones bioquímicas realizadas por las enzimas producidas por levaduras, bacterias u hongos al degradar compuestos orgánicos, produciendo energía, gases, ácidos orgánicos, alcohol y compuestos volátiles (Madigan et al., 2009; Puerta, 2010; Soto, 2019). En la fermentación del café, el sustrato para los microorganismos mencionados anteriormente es el mucílago, ya que contiene azúcares fermentables, aminoácidos libres y proteínas. Durante este período ocurren cambios físico-químicos dentro del grano, como degradación de azúcares, disminución de humedad y formación de los precursores de aroma y sabor (Ferreira Silva *et al.*, 2013). Cabe resaltar que este paso tiene gran importancia, ya que le brinda ciertas propiedades organolépticas a la bebida.

3.1.3.1 La fermentación natural o seca

En esta fermentación la cereza se seca completa, no hay procesos previos de despulpado (Díaz Arango *et al.*, 2018). Algunas veces se hace una selección de los granos o limpieza para obtener un producto de mejor calidad, así se evita tener cerezas en distintas etapas de maduración, dañadas o contaminantes físicos como tierra, piedras, hojas, ramas, entre otras. Para llevar a cabo este tipo de fermentación el café cosechado se extiende en una capa de hasta 10 cm de altura, en terrazas o plataformas de asfalto, concreto o tierra compactada. Este proceso tiene una duración de 15 a 20 días. En este periodo el grano obtiene una humedad entre el 11 y 12%. El tiempo que toma el secado depende de las condiciones climáticas. Durante este proceso el café es removido entre ocho y diez veces al día para que logre un secado homogéneo (Brando & Brando, 2015).

Este tipo de fermentación se realiza en la variedad robusta en casi todos los países del mundo y en la variedad arábica en Brasil, Etiopía y Yemen (Ferreira Silva *et al.*, 2000).

3.1.3.2 La fermentación húmeda

Este proceso da como producto granos pelados, despulpados, sin mucílago y con características fisicoquímicas más homogéneas (Schwan & Fleet, 2015). Este proceso, a diferencia del método seco, tiene pasos previos al tanque de fermentado, los cuales son: la selección de frutos maduros, el pelado y despulpado mecánico (Freitas Schwan *et al.*, 2012). En este método la textura del grano debe ser áspera y el mucilago desprende con facilidad de los granos, además de que el pH debe tener un valor de 4.6. Por lo tanto, la duración de la fermentación varía entre seis y 72 horas (Jackeles & Jackeles, 2005). Otros factores que determinan el tiempo de este proceso son la temperatura del ambiente y el espesor del mucílago: a mayor temperatura y espesor, más rápida será la fermentación. El mucílago es removido mediante hidrólisis enzimática y el descenso de pH, causada por microorganismos pectinolíticos y productores de ácidos que están normalmente presentes en las cerezas (Liu *et al.*, 2015)

3.1.3.3 Fermentación semi-seca o *Honey*

Como su nombre lo indica, es una variante del proceso húmedo; en el cual se separan los granos y se despulpan, pero la fermentación sucede de forma natural; es decir no se efectúa en tanques con agua. Esta metodología se desarrolló para evitar el problema en la cosecha no selectiva, el cual es la mezcla de cerezas maduras e inmaduras, lo cual genera baja calidad (Schwan & Fleet, 2015) . Para realizar esta separación, las cerezas maduras, secas, dañadas o inmaduras se ponen en tanques de flotación y las maduras seleccionadas siguen en el proceso. Al igual que en la fermentación húmeda se les

remueve la pulpa (Brando, 2010). En algunos casos, también se remueve todo o parte del mucílago con ayuda de maquinaria. Según la cantidad de mucílago que tengan, los granos serán directamente secados en tanques rotatorios o al sol mediante técnicas especiales (Brando & Brando, 2015).

Es importante detener la fermentación en el momento indicado, sin importar el tipo de proceso. Las prácticas que usan los caficultores para establecer el punto que ellos consideran adecuado para terminar con la fermentación, pueden ser imprecisas (mediante los sentidos como la observación, sensación táctil por frotación de los granos o fermaestro) y condicionados por otros factores como la cantidad del café, la selección del fruto, las condiciones higienico-sanitarias y ambientales del lugar de fermentación, entre otros. La sobrefermentación produce olores y sabores fétidos y rancios, lo cual puede dañar la calidad de todo un lote. Por otra parte, si el tiempo no es suficiente o se produce de manera muy lenta, aparecerán ácidos, como el butírico y el propiónico, lo cual también afecta la calidad (Jackeles & Jackeles, 2005). La insuficiente fermentación puede dejar restos de mucílago en el grano que pueden retenerse después del lavado, causan una fermentación secundaria durante el secado y almacenamiento, y producen aromas y sabores anormales (Feng, 2016).

3.1.3.4 Diversidad y rol de los microorganismos en la fermentación húmeda del café.

La población microbiana durante la fermentación de los granos de café proviene de distintas fuentes: la cáscara, manos del recolector, contenedores/ sacas para transportar los frutos, remanentes de mucílago seco en los tanques de fermentación, insectos, entre otras, y su desarrollo depende de varios factores. entre ellos, la variedad de la planta y la humedad del grano, la competencia de los sustratos, la capacidad enzimática de las

especies colonizadoras, su actividad antimicrobiana y factores ambientales (humedad, temperatura y microbiota del suelo (Huch & Franz, 2014; Silva *et al.*, 2008).

Los microorganismos involucrados son principalmente bacterias ácidolácticas, y ácidoacéticas, coliformes, mohos y levaduras (Freitas Schwan *et al.*, 2012; Jiyuan Zhang *et al.*, 2019). Sin embargo, no se ha elucidado exactamente si el mucílago se degrada principalmente por la acción pectinolítica de los microorganismos, al descenso del pH o a la acción conjunta de ambos; debido a los ácidos producidos, como son el cítrico, málico, butírico succínico, láctico, acético, oxálico, isobutírico e isovalénico (Bressani Pereira *et al.*, 2019; Díaz *et al.*, 2018; Ríos & Sara, 2011). Al degradar los sustratos del mucílago los microorganismos generan alrededor de 700 sustancias volátiles y no volátiles que difunden dentro de los granos. Estos ácidos, junto con los aminoácidos, ésteres y los azúcares remanentes, son importantes por las reacciones en las que están involucradas durante el tueste, que desarrollan y son apreciados (Haile & Kang, 2019; Schwan & Fleet, 2015).

Un tiempo de fermentación demasiado largo, debido a circunstancias ambientales inadecuadas, puede favorecer el crecimiento de microorganismos de descomposición y hongos productores de micotoxinas (Huch & Franz, 2014; Silva *et al.*, 2008).

Los géneros de microorganismos pectinolíticos más comúnmente encontrados en la fermentación del café son *Klebsiella*, *Erwinia*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Saccharomyces* y *Schizosaccharomyces*. Y, en específico, se hallan bacterias ácidolácticas: *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Weissela*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, y *Enterococcus* (Liu *et al.*, 2015)

3.1.4 Análisis sensorial del café

Es el proceso de determinar mediante los sentidos las características de aroma y sabor de una muestra. Es la fase final de una evaluación de calidad de un lote y consta de valorar todos procesos subsecuentes después de la fermentación y el secado. Se inicia con el café verde y finaliza con la catación.

3.1.4.1 Graduación y clasificación del café

Es el primer paso en la valoración, en el cual el café verde es graduado y clasificado, para tratar el grano según los criterios que serán ahondados más adelante y, además, hacer control de la calidad. La clasificación también permite a los caficultores vender a los diferentes mercados, ya sea como especial o como comercial. No existe una metodología en común y estandarizada mundialmente para graduar y clasificar: cada país, productor y cooperativa tienen su propio sistema y normas para la venta y exportación; los cuales se basan en uno o varios de los siguientes criterios (FAO, 2020):

- Altitud
- Región
- Variedad botánica (especie)
- Tipo de fermentación
- Tamaño del grano (calibre de la zaranda)
- Forma y color del grano
- Número de defectos
- Densidad del grano
- Calidad de la taza

3.1.4.2 Altitud y/o región

La altura incide en varios aspectos: el tamaño, la forma, la densidad y el sabor. Los cafés arábigos crecen generalmente a alturas mayores (800- 2100 m.s.n.m) y se desarrollan a menores temperaturas que los robustas (500-1200 m.s.n.m).

Los cafés que crecen a mayor altura tienen un crecimiento más lento, son más densos y tienen la fisura más cerrada. Producen una bebida con mayor acidez y más aromática en comparación con los que se cultivan en un ambiente con menor altitud (figura 3).

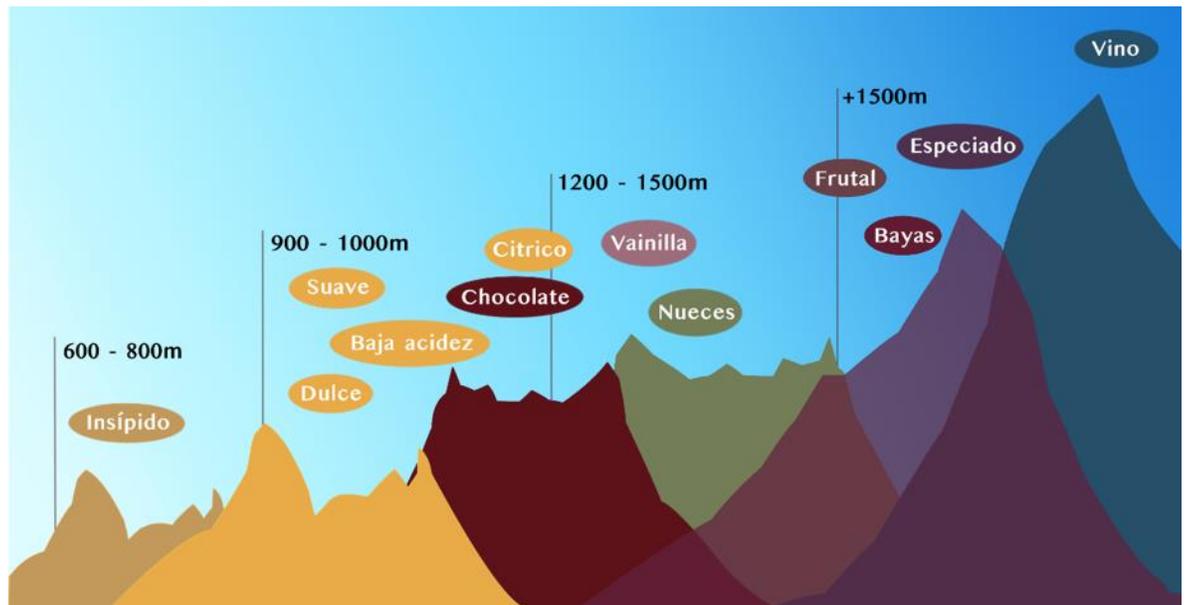


Figura 3. Sabor del café respecto a la altitud. Modificado de Instituto del Café Sostenible. Fuente: SCI (2020).

3.1.4.3 Variedad botánica (especie)

La clasificación por especie y variedad es la primera requerida e indica qué se puede esperar de un café, es decir, el cuerpo y las notas que van a tener en el aroma y sabor. En cada país existen diversas variedades, algunas de arábica registradas en *World Coffee Research* (Arrieta *et al.*, 2018). Estas variedades se clasifican taxonómicamente por sus características botánicas ejemplo: *típica, borbon, mundo novo, caturra* en el caso de arábicas; *indenie, kouillou y niaouli* en el caso del robusta (SCA, 2021; Velásquez & Asociación Nacional del Café (Anacafé), 2019)

3.1.5 Evaluación del café verde. Se clasifica según su apariencia, color, olor, tamaño y su densidad con el fin de obtener un producto final lo más uniforme posible.

3.1.5.1 Apariencia. Se evalúa a simple vista la uniformidad del color, el tamaño y forma de los granos; en general la presencia o no de defectos. Los defectos se clasifican según la *Specialty Coffee Association (SCA, 2019)* en seis principales y 10 secundarios, cada uno con una puntuación diferente.

Para aceptar un café verde como especial debe tener cero defectos de la categoría 1 y máximo cinco de la categoría 2 en una muestra de 350 g de producto verde. Los defectos principales son: granos negros, agrios, cereza seca, daño por hongos, materia extraña y daño severo por insectos. Los secundarios se dividen en: grano negro parcial y agrio parcial.

3.1.5.2 Color. Se puede evaluar si los procesos previos (fermentación, secado y almacenamiento) se hicieron correctamente. Como su nombre lo indica, se observa el color y tonalidad del grano, el cual debe estar preferiblemente en el rango de verde azulados (Ruiz *et al.*, 2015).

3.1.5.3 Olor. Se refiere a la sensación olfativa que tienen los granos verdes. Existen dos categorías (Ruiz et al., 2015):

Limpio: olor fresco, se deben percibir notas de verduras frescas y hierba recién cortada.

Extraño: olor alcohólico, a moho, a humo, a ceniza, entre otros.

3.1.5.4 Humedad. El nivel ideal en el café verde lavado debe estar entre 10 y 12% y en el natural 10 al 13%. Esta medición debe ser exacta, ya que el contenido de humedad de los granos es determinante para mantener la calidad del producto. Por encima de estos porcentajes permite el crecimiento de hongos y, posiblemente, la generación de olores fétidos (*stinkers*) y, en un porcentaje más bajo (<8%) da pérdidas a los caficultores, ya que el agua está directamente asociada al peso y, además, pierde muchas de las características deseables en cuanto a sabor y aroma (International Trade Centre, 2020).

3.1.5.5 Densidad. Medir la densidad es una valiosa información para el siguiente paso: la tostión. Determina la temperatura de carga y el tiempo de residencia en la tostadora (Wang & Lim, 2014; Wilson, 2021).

3.1.5.6 Tamaño del grano. Se mide haciendo uso de una serie de láminas con orificios graduados, denominadas cribas o zarandas. La medida se determina según pasen o retengan (Ruiz et al., 2015).

3.1.5.7 Estándar para el café verde comercial

Existen cinco grados determinados por el tamaño del grano (Mutua & FAO, 2000a):

0: granos retenidos por la zaranda No. 18, orificios de 7mm.

I: granos que pasan por la zaranda No. 18 pero son retenidos por la zaranda No.16, orificios de 6,3 mm.

II: granos que pasan por la zaranda No. 16 pero son retenidos por la zaranda No.14, orificios de 5,5 mm.

III: granos que pasan por la zaranda No. 14 pero son retenidos por la zaranda No.12, orificios de 4,7 mm.

VI: granos que pasan por la zaranda No. 12 pero son retenidos por la zaranda No.10, orificios de 4 mm.

3.1.5.8 Factor de Rendimiento (FR)

Es una medida del rendimiento real del café, es decir la cantidad de pergamino seco (CPS) necesario para obtener 70 kg de excelso; se determina al momento de realizar el análisis físico del producto que se va a vender. El valor máximo permitido de rendimiento en trilla debe ser 94 kg, con un máximo de 100 kg CPS (Federación Nacional de Cafeteros, 2021a). Dadas las condiciones de calidad del café en el país, el promedio del FR es 92.8, es decir que se necesitan 92.8 kg de café pergamino seco para obtener 70 kilos de excelso (Federación Nacional de Cafeteros, 2021).

3.1.6 Tostión de muestras. Es un tratamiento de calor seco aplicado al café verde, para transformar los diferentes componentes encapsulados en la semilla (proteínas, azúcares, ácidos orgánicos) en los aromas y sabores que tanto agradan en la bebida: frutales, nueces, bayas, chocolate, entre otros. A lo largo de la tostión sufre cambios fisicoquímicos. Se disminuye su contenido de humedad y, por lo tanto, su masa, aumenta su volumen y porosidad y se da un drástico cambio de color (Wang & Lim, 2014).

Antes de iniciar la tostión es importante tener la mayor información posible del café verde; el peso de la carga a tostar, la variedad, el tamaño del grano y su densidad, el

porcentaje de humedad, el tipo de tueste deseado o el mejor, según el proceso de fermentación y la procedencia. Todo esto afecta el perfil que tendrá .

El proceso de tueste puede durar entre ocho y 30 minutos y se puede separar en tres fases: la pérdida de humedad, la tostión y el enfriamiento. En la primera se carga el café, que baja la temperatura de la tostadora y absorbe calor, y convierte el agua en vapor libre. El color del grano pasa de verde a marrón (Giner, 2001).. La temperatura de la carga de la tostadora debe estar entre los 190 y 220°C, que depende directamente de la humedad y la densidad (Giner, 2009).

La disponibilidad de agua en el grano es importante para que se den las reacciones químicas (Maillard, degradación de Strecker, pirólisis y caramelización), que dan paso a los sabores. Algunas reacciones se dan a menor velocidad, cuando la humedad llega a un valor crítico.

Durante los últimos minutos del tueste todos los aromas y sabores del café se terminan de desarrollar y se da el primer “*crack*” entre los 170 a 190°C (Rodríguez, 2010).

3.1.6.1 Evaluación del café tostado. Los parámetros a evaluar son el olor y el color. El olor de los granos debe ser fresco, fragante y con las notas propias del origen o del nivel de tostado, sin olores extraños. El color se evalúa mediante las tablas Agtron, según la tonalidad de marrón que se haya generado en el tueste. A cada tonalidad le corresponde un número dado por un colorímetro. Los términos o números más usados por la SCA, para evaluar el café tostado generalmente son ligero o medio (Ruiz et al., 2015).

Tueste ligero: grano opaco y de color marrón claro (Agtron > 70) sin aceite en la superficie. Este sugiere sabores frescos, herbales, florales y cítricos. Posee menor cuerpo y mayor porcentaje de cafeína (Davids, 2020).

Tueste medio: grano opaco, de color marrón medio (Agtron entre 51 - 60) generalmente con superficie seca. Afloran aromas y sabores más dulces, con ligeros toques amargos. Es un café equilibrado, con acidez y cuerpo medio. El contenido de cafeína es moderado (Davids, 2020).

Quaker: granos inmaduros, café no desarrollado, que no tuesta bien, presenta una coloración amarillenta en el tostado. Si no se remueven, darán una taza sin cuerpo y con sabor astringente, terroso, con notas a hierba y cereal (SCA, 2019).

3.1.7 Evaluación de la bebida de café. La catación es un proceso estandarizado. Para evaluar el aroma, sabor y textura de una muestra, los catadores experimentados usan sus sentidos (Lingle & Menon, 2017).

3.1.7.1 Aroma. Es la fracción volátil del café tostado, está consiste en más de 1000 compuestos (Toci & Boldrin, 2018).

El aroma se evalúa en las siguientes fases (Ruiz et al., 2015):

En seco: Es la fragancia de los granos acabados de salir del molino.

En húmedo: Se refiere a los vapores que suelta el café tostado y molido al contacto con el agua caliente.

Aroma retronasal: Son los vapores sueltos dentro de la boca al momento de saborear.

Gusto residual: Son los vapores y residuos que permanecen en el paladar después de haber saboreado.

3.1.7.2 Sabor. Describe las sensaciones generales y combinadas de las características aromáticas y gustativas. Los componentes químicos no volátiles son los que generan principalmente las sensaciones básicas de sabor: amargura, acidez, dulzor y retrogusto.

Entre estos compuestos se encuentran: la cafeína -que contribuye con la firmeza, cuerpo y amargura-, trigonelina, proteínas y péptidos, polisacáridos, diversos ácidos, lípidos y minerales (Buffo & Cardelli-Freire, 2004). Todas las globales en el sabor se pueden separar en cuatro categorías: amargura, acidez, dulzor y retrogusto.

3.1.7.3 Amargura. Es uno de los cinco sabores básicos - ácido (ácido tartárico), dulce (sacarosa), salado (cloruro de sodio), amargo (quinina) y umami (glutamato monosódico) - detectado en la parte posterior de la boca. La amargura es deseable en un café en cierto grado (Gallego-Nicasio, 2018).

3.1.7.4 Acidez. Es una sensación deseable en el sabor del café, que se percibe como una agudeza agradable en los laterales de la lengua. Está determinada por las concentraciones de ácidos orgánicos (Baque, 2019; Osorio Pérez et al., 2021).

3.1.7.5 Dulzor. Es un descriptor básico del sabor, pero no es de sensación fuerte y no presenta defectos. Esta cualidad a menudo se percibe como un sabor agradable, generalmente asociado con sabores frutales y se detecta principalmente en la punta de la lengua. Esta sensación está directamente relacionada con el punto de maduración en que fue recolectado, ya que esto implica la cantidad de carbohidratos que tendrá el grano y el nivel de caramelización que se logrará durante el proceso de tueste (Ruiz et al., 2015).

3.1.7.6 Retrogusto. Es un sabor que permanece en la boca después de la ingestión de un sorbo de café preparado. Los regustos van desde chocolate a picante, posiblemente con notas de caramelo, afrutado, ahumado, tostado y otros sabores. Los vapores que crean el retrogusto son liberados a partir del residuo que permanece en la boca después de tragar la bebida (SCA, 2015).

3.1.7.7 Textura. Conocido como sensación bucal o sensación táctil y hace referencia a la viscosidad y contenido de grasa (conocido colectivamente como cuerpo). La sensación recubre la lengua, se asienta y se puede determinar si es graso, granulado, líquido, o si posee alguna otra característica (FNC & Alcanno, 2019) El cuerpo se clasifica en delgado, ligero, cremoso y grueso dependiendo del contenido de grasa y fibra de gano en la taza (SCA, 2015). En general una buena taza de café se caracteriza por una acidez y amargura balanceada.

3.1.7.8 Cata. El método mundialmente aceptado y usado es el de la SCA (SCA, 2003), el cual tiene pasos detallados y estandarizados para la preparación de la muestra y correcta realización. Se evalúan 11 características importantes: fragancia, aroma, uniformidad, ausencia de defectos (taza limpia), dulzura, sabor, acidez, cuerpo, retrogusto, balance y evaluación global (SCA, 2003). La importancia de un buen perfil sensorial a través de la prueba de taza radica en los sobrepuestos, con los cuales los lotes de café pueden llegar a ser vendidos en el mercado, según las características sensoriales que prefiera el cliente; así mismo estará en disposición de ofrecer un muy buen precio por carga. En Colombia el análisis sensorial está normalizado por la NTC 4883 y la NTC 3566, equivalentes a ISO 6668:1991. Algunas de las cualidades organolépticas o sensoriales que se evalúan en la bebida de café son: aroma/fragancia, acidez, sabor, cuerpo, impresión global (NTC3566, 2002).

3.1.8 Hongos micotoxigénicos en el café (contaminación). Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos para humanos, animales y plantas, tienen bajo peso molecular y son producidos por cepas toxigénicas de algunos géneros de hongos filamentosos (Duarte-Vogel & Villamil-Jiménez, 2006). Se han identificado más de 200

micotoxinas, pero las más frecuentes en alimentos para humanos son: aflatoxinas, ocratoxinas y fumonisinas, producidas principalmente por *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Las micotoxinas pueden causar efectos nocivos en la mayoría de sistemas en el organismo humano, incluyendo mutagénesis, carcinogénesis e inmunosupresión (Alvarenga et al., 2013)

Entre las micotoxinas conocidas, la que más se registra por contaminar el café es la ocratoxina A (OTA), seguida de las aflatoxinas, producidas por otras especies de *Aspergillus*, incluyendo *A. flavus* (Nakajima et al., 2008). La OTA recibe su nombre por ser inicialmente encontrada y aislada a partir de cultivos de *A. ochraceus*, aunque diversas especies de *Aspergillus* y *Penicillium* también la producen (OMS, 2018). La frecuencia de *A. flavus* está entre 4-80% en granos verdes (Soliman, 2002), y la de *A. ochraceus* está entre 65-100% (Mutua & FAO, 2000b).

Químicamente la OTA es un pentacétido termolábil (figura 4), que se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal, y presenta alta toxicidad, ya que se elimina lentamente, reside por largo tiempo en el sistema circulatorio debido a su alta afinidad con las proteínas plasmáticas, puede inhibir la síntesis de proteínas y la respiración mitocondrial. La OTA se acumula principalmente en el riñón, seguido de otros órganos, como el hígado, el páncreas e intestino, por lo cual tiene efectos nefrotóxicos, hepatotóxicos, carcinogénicos, teratogénicos e inmunosupresores (Bui-Klimke & Wu, 2015). Los niveles máximos aceptados en el café por la Comisión Europea y la legislación colombiana son los mismos: 5 y 10 µg/kg, y dependen de la presentación (Comisión de las Comunidades Europeas, 2010; Ministerio de Salud y Protección Social, 2013).

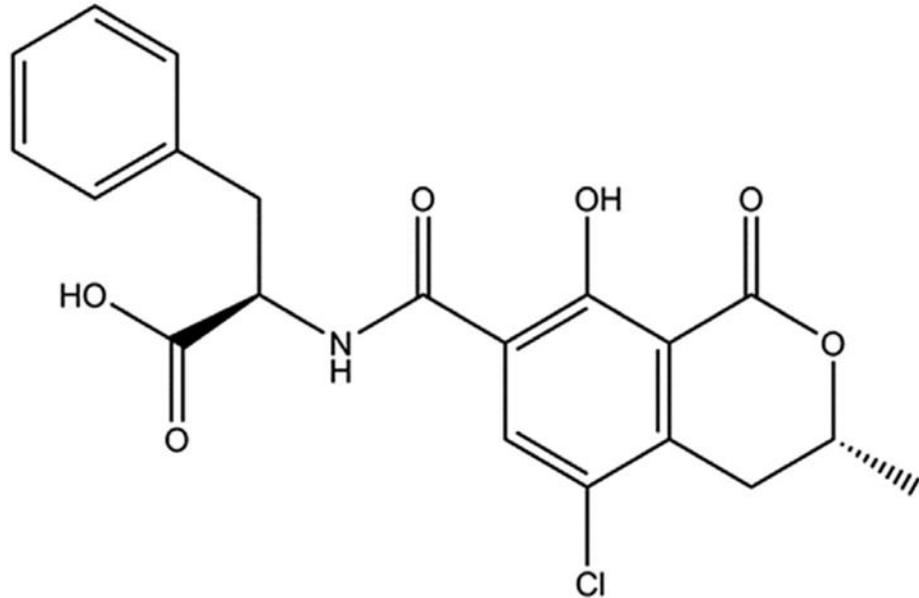


Figura 4. Estructura química de la ocratoxina A. Fuente: Gupta, Srivastava, & Lall (2018).

Las aflatoxinas son un gran grupo de compuestos producidos por cepas toxigénicas de *A. flavus* y *A. parasiticus*. Representan un riesgo para la salud cuando contaminan alimentos, debido a que son carcinógenas y hepatotóxicas, con un mecanismo de acción genotóxico. La aflatoxina B1 es la más comúnmente encontrada en el café, tiene un anillo de cinco miembros (figura 5) (Soriano del Castillo, 2007).

Los límites obligatorios para el contenido de aflatoxinas en los alimentos vulnerables se han fijado según la legislación de cada país. para la Comisión Europea es 2-12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (REGLAMENTO (CE) No 1881, 2010) y para Colombia 4-15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, según sea el alimento (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013).

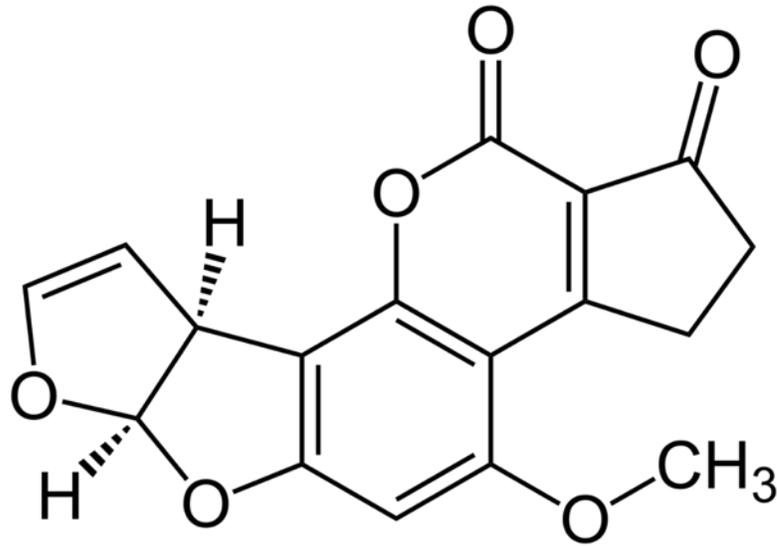


Figura 5. Estructura química de la aflatoxina B1. Fuente: Campos-Pereira, Prado Veiga-Menoncello, & Marin-Morales (2014).

3.1.8.1 Contaminación durante el proceso de fermentación del café. Como cualquier otro cultivo está sujeto a la posible contaminación por microorganismos durante las diferentes fases de procesamiento: cosecha, beneficio, transporte y almacenamiento. La acción perjudicial para la calidad y seguridad del producto final por parte de los microorganismos depende de las condiciones ambientales, así como de la gestión del cultivo y del producto.

Dos de las principales micotoxinas en alimentos son las ocratoxinas y aflatoxinas, producidas principalmente por hongos microscópicos filamentosos del género *Aspergillus*. Están presentes en todas las etapas de producción, desde la recolección hasta el tostado, aunque las etapas posteriores a la cosecha, como el secado y almacenamiento del café verde, son las más propicias para la producción de estas

sustancias (Barcelo & Barcelo, 2018; Bokhari & Aly, 2009). Dado su carácter inevitable e imprevisible, la contaminación por micotoxinas plantea un problema especial para la inocuidad de los alimentos, dado que pueden causar efectos agudos o crónicos sobre la salud del hombre y los animales; afectan distintos órganos y sistemas (Soriano del Castillo, 2007). La tabla 1 reproduce algunos estudios realizados en diferentes países, que analizan la presencia de hongos o de micotoxinas en café verde o tostado.

Tabla 1. Tipos de café (tostado o verde) con sus respectivos hongos y micotoxinas (cantidades) hallados en su procesamiento en algunos países (o regiones), con las referencias correspondientes.

Tipo de café	Hongo o cantidad de micotoxinas	País o región	Referencia
Tostado	Cantidades (en µg/kg) de OTA: 1.56-32.40; de aflatoxinas: 0.25-13.12	España	García-Moraleja <i>et al.</i> (2015)
	<i>Aspergillus</i> (79%), <i>Fusarium</i> (8%), <i>Penicillium</i> (5%), cantidad de OTA: 1.53 µg/kg	Etiopía	Geremew <i>et al.</i> (2016)
	<i>Aspergillus</i> (68%)	Angola, Brasil, Colombia, Costa Rica, Guatemala Honduras, India Nicaragua, Timor, Uganda, Vietnam	Viegas <i>et al.</i> (2017)
Verde			
	Cantidades (en µg/kg) de OTA: 12.2; de aflatoxinas: 0.25	Brasil, Colombia, Costa de Marfil, China, Etiopía, Guatemala, Indonesia, México	Bessaire <i>et al.</i> (2019)
	Cantidad de OTA (en ppm): 0.0146 a 0.4319	Japón	Rosavani & Harada (2019)
	<i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i> (94%); cantidad de OTA (en ng/g): 0.4	Polonia	Twarużek <i>et al.</i> (2020)
	Cantidad de OTA (µg/kg): de 0.31 a 1	Chile	Gonzalez <i>et al.</i> (2020)
Verde y tostado	Aflatoxinas (en µg/kg): G1: 0.17, B1: 0.14, G2: 0.12, B2: 0.09	Doha	Al-Ghouti <i>et al.</i> (2020)
	OTA en ppb: café verde (1.114-18.667); café tostado (1.646-31.077)	Yemen	Humaid, Alghalibi & Khalqi (2019)

3.1.8.2 Saneamiento. El café es un alimento de gran importancia para los humanos, tanto por sus beneficios como por su sabor. A pesar de los avances tecnológicos y los procesos, como el tueste, no aseguran la completa destrucción de los hongos o las micotoxinas y es necesario un apropiado control en la higiene durante la producción para asegurar un producto inocuo para los consumidores, y reducir la ingesta de esta toxina (Soriano del Castillo, 2007). Desde hace unos años se ha ampliado el uso de microorganismos o sus compuestos antimicrobianos en los alimentos para la preservación como bioconservantes, debido a la creciente demanda de los consumidores para adaptar enfoques de conservación de alimentos más naturales, en lugar de depender de productos químicos. Así, el uso de agentes biológicos como conservantes en el campo, procesamiento y en operaciones de poscosecha ha captado la atención de la comunidad científica porque ofrecen la mejor alternativa a los conservantes químicos (Remize et al., 2021). Las bacterias ácidolácticas (BAL) son las candidatas más prometedoras para su uso en alimentos como antagonistas de los hongos, ya que se han utilizado ampliamente en las fermentaciones de alimentos tradicionales desde la antigüedad y han adquirido el estado de GRAS (generalmente considerados seguros)(FDA, 2018; Schnürer & Magnusson, 2005). Las BAL son un grupo de bacterias que puede convertir > 50% de los carbohidratos usados como sustrato para su metabolismo en ácido láctico. Se las identifica por ser cocobacilos o bacilos Gram positivos, aerotolerantes, no motiles y no formadores de esporas (Holzapfel & Wood, 2014). Es posible que las BAL provengan inicialmente de la superficie de los frutos del café. Sin embargo, el suelo, el agua, el equipo de café utilizado en el procesamiento son fuentes potenciales de BAL (Schwan & Fleet, 2015). Este tipo de bacterias tiene la facultad de proliferar rápidamente

en la fermentación de café, ya que se adaptan fácilmente al medio ambiente, a la variación del pH, la disponibilidad de azúcares y la competencia con otros microorganismos. El efecto protector principal que logran las BAL es debido a la producción de ácido láctico, el cual disminuye el pH e inhibe otros microorganismos (Dimitrov Todorov et al., 2017). Además del ácido láctico, las BAL producen otras sustancias antimicrobianas, como ácido acético, peróxido de hidrógeno, diacetilo, reuterina y bacteriocinas, que pueden desempeñar un papel importante en su capacidad de conservación en los alimentos (Reis et al., 2012). El rol de las BAL no se limita a inhibir el crecimiento de hongos, sino que algunas cepas también interactúan con micotoxinas, lo que resulta en su inactivación o su eliminación a través de la unión a la pared celular (Ahlberg et al., 2015). Varios autores han estudiado la capacidad antifúngica y antimicotoxigénica de las bacterias ácidolácticas tanto en la fermentación del cacao como en la del café. Algunos de estos estudios se resumen en la tabla 2, donde se observan buenos porcentajes de inhibición del crecimiento del hongo o desintoxicación de los granos y degradación de las micotoxinas.

Tabla 2. Pruebas de antagonismo entre bacterias ácidolácticas (BAL) y hongos obtenidos de matrices de café y cacao y porcentajes de inhibición con sus respectivas referencias.

Matriz	BAL	Hongos	% de inhibición o desintoxicación	Referencia
Café	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Aspergillus carbonarius</i>	Alto, inhibición	Djossou <i>et al.</i> (2011)
	<i>L. brevis</i>	<i>A. westerdijkiae</i>	Inhibición > 50%	de Melo Pereira <i>et al.</i> (2016)
	<i>Bacillus</i> spp	<i>A. westerdijkiae</i>	Inhibición del 76-95% Reducción de producción de OTA 62-96%	Einloft <i>et al.</i> (2017)
	<i>Bifidobacterium acidophilus</i> y <i>L.</i>	<i>A. flavus</i>	Inhibición por: <i>Bifidobacterium</i> 8.24%; por <i>Lactobacillus</i> 23.70%; por mezcla de microorganismos 59.39%	Radu <i>et al.</i> (2018)
Cacao	<i>L. fermentum</i> y <i>L. plantarum</i>	<i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	Inhibición de 88.5%	Ruggirello <i>et al.</i> (2019)
	<i>Pediococcus</i> spp, <i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> y <i>L. sanfranciscensis</i>	<i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> y <i>A. ochraceus</i>	Inhibición de 15-66.7%	Essia Ngang <i>et al.</i> (2015)

4 Materiales y Métodos

4.1 Zona de estudio

La ubicación de la investigación corresponde a la finca ‘‘La Antigua’’, vereda La Salada, sector Cristo Rey, municipio de Jardín, departamento de Antioquia (5°35’54’’N, 75°49’11’’ O) a 1850 - 1900 m.s.n.m. Los meses de cosecha van de septiembre a diciembre. La temperatura del ambiente varía entre 12 y 25°C. La superficie sembrada es 3.2 ha, el número de árboles de café 17000, con edades entre dos y cuatro años y una cosecha promedio de 2875 kg/ ha.

4.2 Caracterización del grano fresco

Se tomaron cerezas de café (mezcla indefinida *C. arabica* var. Catimor y Castillo) y se hizo una selección acorde al tamaño, la apariencia visual, sanidad (integridad del grano por estereoscopio y el estado óptimo de madurez mediante el color. Para este último se emplearon la tabla pantone (códigos de color: #fc4f59, #ef2b2d, #d62828, #af2626, #ef2b2d, #cc2d30, #a03033, #ce1126, #af1e2d) y también se comparó con la escala de maduración para frutos de café variedad Colombia realizada por Martínez Castro (2016). Se determinó los °Brix, que representan el porcentaje de sólidos solubles (azúcares) (Gil Hernández & Sánchez de Medina Contreras, 2010), mediante refractómetro (Ultechnovo). Se estableció el porcentaje de frutos maduros en estado óptimo mediante pesaje. A las cerezas despulpadas se les realizaron los análisis microbiológicos que se describen más adelante.

4.3 Diseño y condiciones experimentales

4.3.1 Sistemas de fermentación de café en minilotes

Se seleccionaron dos factores influyentes en las prácticas de fermentación tradicional de pequeños caficultores del suroeste antioqueño a saber:

1. La proporción del agua/ fruto despulpado de café.
2. Los tiempos finales de fermentación.

Por tanto, se aplicó un diseño factorial 3^2 : dos factores de tres niveles cada uno, de la siguiente manera:

Factor 1. proporción agua/fruto despulpado de café

Nivel 1 (I). Húmedo inmersión: adición de agua, proporción agua/frutos despulados de café-p/p - 10:25.

Nivel 2 (II). Húmedo inmersión: Adición de agua proporción agua/frutos despulados de café-p/p - 20:25.

Nivel 3 (III). Semi-seco (*Honey*): Con la humedad del despulpado, sin adición de agua 0:25-p/p

Factor 2. Tiempo final de fermentación del café.

Nivel 1(A). 24 horas.

Nivel 2(B). 48 horas.

Nivel 3(C). 72 horas.

Se hizo la fermentación en sistema de minilotes para aplicar un diseño de experimentos, así: 18 Kg de fruto despulpado se depositaron equitativamente en recipientes plásticos de geometría definida rectangular (32 cm x 26 cm x 13 cm) para todos los minilotes

(figura 6), los cuales se dejaron durante el proceso de fermentación espontánea, en las mismas instalaciones donde se efectúa el beneficio por parte del caficultor .

Tanto el personal destinado para la recolección y beneficio, los utensilios empleados, el agua adicionada para la fermentación, fueron todas condiciones iguales a las que el caficultor emplea de forma habitual en su finca. Cada sistema de fermentación en minilote contó con su pH-metro de medición continua y termómetro (Equipo fabricado por la UdeA).

Cada tipo de fermentación acorde a su proporción agua/proporción frutos despulpados y tiempos finales de fermentación se realizó por duplicado biológico (dos momentos diferentes en el proceso de experimentación). Al finalizar la fermentación de los experimentos con proporción de agua/fruto despulpado de café de nivel 1, estos no se lavaron.

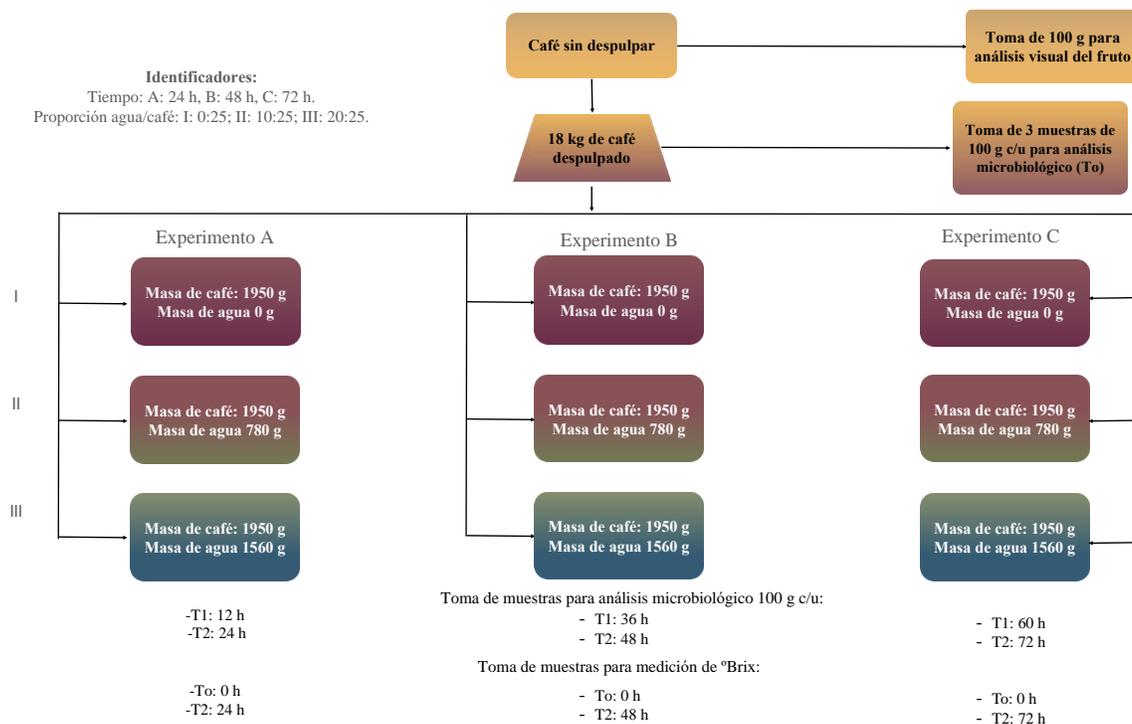


Figura 6. Diagrama de flujo del diseño experimental.

4.3.2 Variable de temperatura durante la fermentación. Se hizo seguimiento de la temperatura durante la fermentación espontánea , así:

A. Medición de la temperatura dentro del sistema minilote de fermentación con termocuplas digitales en grados Celsius (°C).

B. Medición de temperatura ambiental cada 2h con termómetro (Schneider) en grados Celsius (°C).

4.3.3 Análisis fisicoquímico durante la fermentación. Durante el proceso se midieron parámetros fisicoquímicos, así:

A. pH de la pulpa del café fermentado en tiempo real, con pH metro Instrumental UdeA. Esto se realizó en 3 minilotes de cada una de las proporciones agua/café I, II y III.

B. °Brix de la pulpa de café fermentado al inicio y final de cada fermentación con refractómetro (Ultechnovo).

4.3.4 Toma de muestras para análisis microbiológico durante la fermentación.

Se tomaron 100 g de muestra (mixta) representativas de los sistemas minilotes de fermentación en tres tiempos durante la fermentación así: T0 (inicio), T1 (intermedio) y T2 (final), bajo condiciones asépticas en bolsas plásticas resellables de polietileno de baja densidad (PEBD). Una vez tomadas las muestras, se procedió a su transporte en refrigeración ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) al laboratorio de Microbiología de Alimentos del Departamento de Alimentos de la Universidad de Antioquia y su posterior análisis en un tiempo no superior a 12 horas. Cada muestra se sembró con una réplica técnica del análisis microbiológico.

4.3.4.1 Análisis microbiológico de las muestras de café fermentado. A partir de las muestras tomadas de los sistemas minilotes de fermentación, se pesaron 10g de muestra para realizar los recuentos de los grupos microbianos (ufc/g) de la siguiente manera: se aforaron 90mL de agua peptonada, homogenizando por 30 s en stomacher (Seward 400), se hicieron seis diluciones seriadas, homogeneizadas en vórtex durante 5 s. Las siembras se realizaron en superficie en los siguientes medios, tiempos y temperaturas (Tabla 3).

Tabla 3. Grupos microbianos recuperables en el procesamiento del café, medios de cultivo (PC: Plate Count agar; MRS: Man, Rogosa y Sharpe; OGYE: Oxytetracycline Glucose Yeast Agar), temperatura y tiempo de incubación o anaerobiosis, aplicadas en los experimentos del presente trabajo.

Grupo microbiano	Medio de cultivo	Incubación		Anaerobiosis
		Temperatura (°C)	Tiempo (horas)	
Mesófilos	PC	30	24	No
BAL (bacilos)	MRS + 0.2% (p / v) fluconazol	32	72	Microaerofilia
BAL (cocos)	M17+ 0.2% (p / v) fluconazol			
BAA	WL	30		
Mohos y levaduras	OGYE+ gentamicina	25	120	No
Coliformes totales y fecales	Chromocult	37	24	

4.3.4.2 Caracterización macroscópica y purificación de cepas promisorias aisladas del café fermentado.

El aislamiento y purificación de microorganismos dominantes y de interés se llevó a cabo de la siguiente manera: de los medios de cultivo MRS, M17, WL y OGYE se tomaron las colonias bien diferenciadas. El tamaño, forma, color, altura y borde fueron descritos y se realizó la observación macroscópica mediante estereoscopio óptico. También se procedió a hacer una tinción de Gram para bacterias y tinción con azul de metileno para hongos y levaduras. La réplica de los aislados purificados se hizo en los mismos medios y condiciones de incubación del aislamiento para ser preservados posteriormente. Se realizó la prueba de catalasa, a las BAL; según los protocolos para la identificación preliminar de aislados bacterianos (Bou et al., 2011).

4.3.4.3 Conformación de cepario de bacterias ácidolácticas promisorios de la fermentación del café.

Una vez realizadas la caracterización macroscópica, la purificación de cepas y las pruebas bioquímicas preliminares, se procedió a su preservación de la siguiente manera: los criterios microbiológicos de selección para los aislados de BAL fueron: bacterias Gram positivas, no esporuladas, catalasa negativa y diferencia notoria en la morfología de la colonia. Adicionalmente como criterio de potencial tecnológico se tomó en cuenta el puntaje en taza, ya que a futuro se pueden usar como cultivo starter para mejorar las características sensoriales de la bebida de café. Las BAL que cumplieron las características se tomaron de la caja de petri que tuviera un aislado purificado, a continuación, se rasparon con un asa para ser reinoculada en 1mL del caldo correspondiente y condiciones idénticas a las de cultivo (ver ‘Análisis microbiológico de las muestras’) y se incubó durante toda la noche (overnight). De este cultivo se tomó un inóculo correspondiente al 2% de 50mL de un nuevo caldo de cultivo. Este cultivo overnight se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente; el sobrenadante se descartó y el pellet se resuspendió en el mismo volumen de agua peptonada estéril. Nuevamente se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos, se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en el medio de cultivo correspondiente con adición de glicerol al 30% (v/v). Se dispensaron en tubos Eppendorf® de 2 ml y se conservaron a una temperatura de -80°C.

Las muestras fueron identificadas con un código compuesto de las letras ‘‘U’’ correspondiente a la Universidad de Antioquia, la letra ‘‘C’’, correspondiente de palabra café, un número arábigo correspondiente al caficultor y otro número arábigo

correspondiente al aislado, como en el siguiente ejemplo: UC1-01. El último número arábigo puede ir acompañado de una letra para distinguir el medio de cultivo de donde se obtuvo.

4.3.4.4 Pruebas de antagonismo BAL y hongos productores de micotoxinas.

Se realizaron dos pruebas de antagonismo con 10 cepas de BAL reactivadas, confrontándolas con especies puras de *Penicillium* y *A. flavus* provenientes del Instituto de Biología de la universidad de Antioquia. Para el primer ensayo se rastrilló con un asa el hongo filamentoso (*A. flavus* o *Penicillium sp*) y se hicieron dos líneas en la mitad de la caja de Petri con medio MRS o M17, según el medio de crecimiento de la cepa de BAL aislada a usar. Se dejó en incubación a 25°C durante tres días. Después, se sembró en paralelo una asada de la cepa de la BAL y se incubó a 37°C en condiciones de anaerobiosis durante 78 h. El otro ensayo se realizó con el método descrito por Magnusson y Schnürer (2001) con algunas modificaciones. Inicialmente se reactivaron las cepas de BAL, haciéndolas crecer en condiciones anaeróbicas en el medio correspondiente, MRS o M17, durante 24 h a 37°C. Pasado este tiempo, se tomó una asada de cada aislado de BAL y se cultivó en 10 mL de caldo, igual al medio correspondiente, y se incubaron a 37 °C por 48 h. Después 1 ml de cada uno de los cultivos líquidos se pasó a 50 ml de caldo y se dejaron crecer a 37°C por 48 h. De este último cultivo en caldo se sembraron líneas de 2 cm de largo de cada uno de los aislados en cajas con agar MRS o agar M17 y se incubaron a 37°C por 48 h en condiciones de anaerobiosis. Por último, cada caja de Petri fue cubierta con 10 mL de agar sabouraud con 10⁴ esporas/ml de *A. flavus* o *Penicillium sp* y fueron incubadas a 25°C durante 48 h. Ambos ensayos se realizaron por triplicado con dos réplicas biológicas.

4.4 Secado, tostión y molienda final del café

Secado. En este experimento se dejó el café luego del lavado al sol durante un periodo necesario para alcanzar una humedad del ~11%. Se empleó la terraza de cemento disponible en la finca (Cárdenas-Díaz & Pardo-Pinzón, 2014) y se empacaron en el momento que el caficultor consideró apropiado.

Trillado. Se realizó con una máquina Ingsec ING-C-250. Se determinó el factor de rendimiento acorde al diseño experimental propuesto para los minilotes de fermentación y bajo los criterios establecidos en el Laboratorio de Café, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, Centro de los Recursos Naturales Renovables La Salada.

4.4.1 Caracterización del grano verde-almendra

Densidad: Método densidad a granel (densidad aparente).

Humedad: Equipo Gehaka Agri g600.

Tamaño e integridad: Se analizaron 250 gramos de muestra de café verde en almendra para la clasificación de los defectos tal y como lo establece la Federación Nacional de Cafeteros resolución número 5 de 2002 (FNC, 2002)

Color: Se realizó una medición de color como método para controlar la calidad empleando tabla pantone (“Tabla de códigos Pantone y RGB - Logorapid,”)

Examen de calidad: olfativo, visual, materia extraña y defectos según norma SCA (SCA, 2019).

4.4.2 Proceso de tostión y molienda. Se realizó un tipo de tostión ligera, unidad de color Agrtron de 60 a 65 según NTC 2442 (ICONTEC, 2004) y se molió el café para obtener un tamaño medio de partícula entre 300 y 500 micras.

4.5 Evaluación sensorial del perfil de la bebida de café.

Esta se realizó aplicando la metodología SCA (SCA, 2003) y según protocolos del Laboratorio de Café, SENA, Centro de los Recursos Naturales Renovables La Salada, Caldas (Ant). El procedimiento consistió en pesar 12.5 g de café; para el caso del tostado y molido se procedió a realizar la extracción por método de goteo directo apoyado en la NTC 4602-1 (ICONTEC, 1999). La tabla 4 muestra la relación entre el puntaje cuantitativo y cualitativo de la catación de café creada por la SCA, esta fue usada como parámetro para establecer la calificación cualitativa del café de cada uno de los minilotes catado y puntuado de manera cuantitativa.

Tabla 4. Calificación final (cuantitativa y cualitativa, según SCA, 2021) de café especial y no especial de la *Specialty Coffee Association*.

Calificación final		Tipo de café
Cuantitativa	Cualitativa	
90 - 100	Excepcional	Especial
85 - 89	Excelente	
80 - 84	Muy bueno	
< 79	Calidad inferior al especial y castigado	No especial

4.6 Métodos estadísticos de tratamiento de datos.

Se registraron los datos de cada uno de los minilotes de la fermentación, estos se procesaron y se les calculó la media. El estadístico que se aplicó fue análisis de varianza de dos factores (Anova) con un nivel de significancia de $p = 0.05$ para evaluar el efecto de los factores sobre las variables dependientes. Se hizo también correlación de Pearson y análisis de componentes principales haciendo uso del software R.

5 Resultados y análisis

5.1 Condiciones Ambientales.

La finca Antigua durante el desarrollo de los experimentos presentó temperaturas entre 11 y 26°C. El seguimiento de la temperatura durante los experimentos se detalla en el Anexo 1.

5.2 Caracterización de la cereza de café (variedades Catimor y Castillo) en fresco

Los frutos de café recolectados cumplieron con el estado de madurez en un 80% (Figura 7), comparado visualmente con la tabla 5 y la variedad Colombia (tabla 6) de Martínez Castro (2016) sobre cafés especiales. Se usó la tabla de la variedad Colombia ya que es el referente mas cercano a las variedades usadas en este experimento. también se corroboró que las cerezas no presentaran signos de contaminación por hongos, insectos o daño mecánico (figura 7).



Figura 7. Frutos maduros de café (*C. arabica*), color rojo, brillantes, textura firme y blanda, piel ligeramente rugosa. Tomados de la cosecha de la finca ‘La Antigua’ en noviembre de 2019.

Tabla 5.

Colores del fruto maduro tabla pantone. Fuente:(“Tabla de códigos Pantone y RGB - Logorapid,”.)

PMS 1785	PMS 1788	PMS 1795	PMS 1805
#fc4f59	#ef2b2d	#d62828	#af2626
Red 032	PMS 1797	PMS 1807	PMS 1817
#ef2b2d	#cc2d30	#a03033	#5b2d28
PMS 186	PMS 187	PMS 188	PMS 189
#ce1126	#af1e2d	#7c2128	#ffa3b2

Tabla 6.

Escala de maduración para frutos de café variedad Colombia. Fuente: (Martínez Castro, 2016)

Estado	Patrón de color del fruto en el modelo CIEL*a*b*	Fuerza de desprendimiento (N)	SST (° Brix)
 Verde	L* = 45,04a ^x a* = -14,16a b* = 30,69a ΔE* = 3,74	10,60c ± 3,55	-----
 Pintón	L* = 51,64b a* = 15,74b b* = 35,15b ΔE* = 11,09	9,78c ± 3,79	11,23a ± 1,87
 Maduro	L* = 34,98c a* = 27,68c b* = 14,51c ΔE* = 5,39	8,10a ± 3,60	13,90b ± 2,42
 Sobremaduro	L* = 28,30d a* = 21,19d b* = 7,27d ΔE* = 4,15	6,04b ± 3,08	16,54c ± 2,31

Toda la cadena de producción del café es importante, empezando por la recolección del fruto, principalmente con grado de madurez apropiado, ya que de ellos dependerá la cantidad, la calidad del seco y de la almendra, la calidad y carácter final de la bebida, que influye directamente en el precio que pagará el mercado. Tanto defectos como tamaño de las almendras dependen en un amplio grado del estado de madurez de los frutos cosechados. Se ha estudiado que la madurez contribuye en un 35% en la calidad,

con diferencias respecto de los frutos verdes con tazas defectuosas; y los pintones, maduros y sobremaduros con tazas de buena calidad (Marín López et al., 2003).

El beneficio de frutos inmaduros, genera un alto porcentaje de granos con sabores y aromas indeseables en la bebida (SCA, 2019).

5.3 Variaciones del pH, la temperatura y los grados °Brix

Las siguientes figuras muestran la variabilidad en el comportamiento del pH (figura 8) y la temperatura (figura 9) durante la fermentación en cada experimento (promedios de dos réplicas biológicas). La figura 10 muestra el cambio en los grados °Brix de los granos de café en tiempo inicial y al final de la fermentación.

Puerta (2013), determinó que el tiempo de fermentación es un parámetro particular para cada finca acorde a la temperatura del lugar, altura de la masa en el tanque de fermentación, tipo y calidad del agua, cantidad de mucílago en el grano, grado de madurez, principalmente. Para obtener producto de calidad deben evitarse problemas como la sobrefermentación, que afecta las propiedades sensoriales. Peñuela-Martínez (2010), afirman que el tiempo de fermentación puede oscilar entre 15 y 24, con un promedio de 16.4 horas.

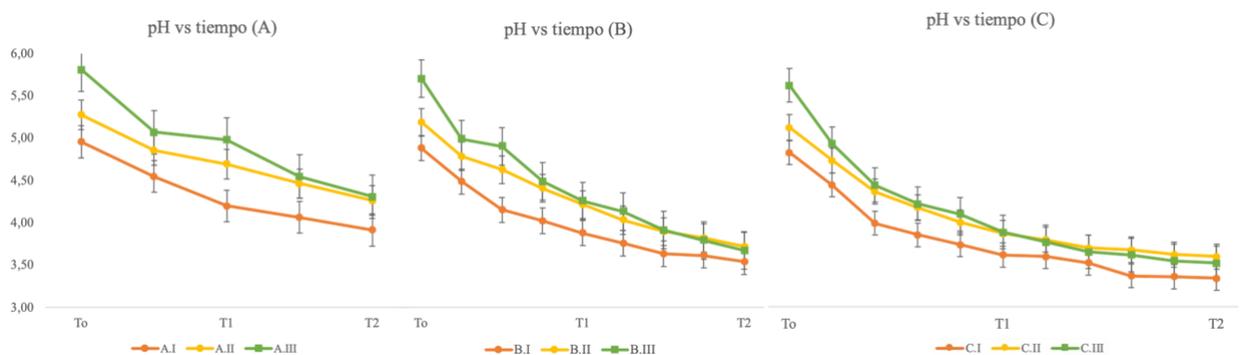


Figura 8. Variación del pH a través de tiempo en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III(20:25).

La figura 8 indica un descenso del pH en todos los experimentos y sistemas de fermentación en minilotes. Los pH del experimento A descendieron hasta 3.92, 4.27 y 4.31 en cada uno de los minilotes I, II y III, respectivamente. En el experimento B el minilote I descendió hasta un pH de 3.56 y los minilotes II y III disminuyeron hasta tener valores de 3.75 y 3.70 respectivamente. Finalmente, el pH del experimento C tuvo un comportamiento similar al del experimento B ya que el pH del minilote I tuvo un menor valor al final de la fermentación mientras que los minilotes II y III tuvieron un valor de 3.64 y 3.56 respectivamente. Por otra parte, el pH de los sistemas de fermentación en minilotes tuvo una correlación con la proporción de agua de 0.26 (Anexo 2) ya que como se puede notar (figura 8) a mayor proporción de agua, mayor es el pH, esto se explica debido a que el agua actúa como solvente y buffer (Voet & Voet, 2006).

Cenicafé recomienda que el pH inicial para fermentaciones controladas sin adición de agua debe estar entre 5.0 y 5.3 y el final entre 3.7 y 3.9, y para las sumergidas el pH inicial debe estar entre 5.3 y 5.6 y el final entre 3.9 y 4.2 (Puerta & Echeverry, 2015). Los experimentos realizados en la finca la Antigua, estuvieron por encima y por debajo de estos valores (5.82 y 3.37), ya que el pH varía dependiendo del tipo de fermentación, la temperatura y la variedad del café. Por ejemplo, Jackels & Jackels (2005) con un proceso de fermentación sin adición de agua registraron pH con valores entre 5.7 y 4.4. Acorde con Velmourougane (2012), realizando una fermentación de café natural (fruto sin despulpar), el descenso del pH se atribuye a la degradación por microorganismos de los azúcares complejos en azúcares más simples y producción de ácidos. En las

fermentaciones realizadas en minilotes, con el grano despulpado, los azúcares contenidos en el mucílago de café también quedan a disposición de los microorganismos, degradándose y produciendo ácidos, lo cual se ve reflejado en la disminución paulatina del pH, debido a la formación y disociación de ácidos (Puerta Quintero & Cenicafé, 2012).

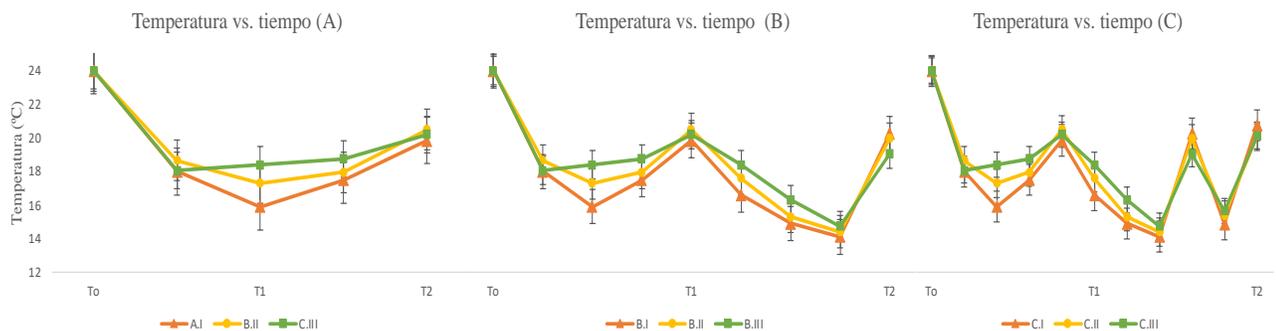


Figura 9. Variación de la temperatura (°C) a través de tiempo dentro de los experimentos A (final de fermentación: 24 h), B (final de fermentación: 48 h), C (final de fermentación: 72 h) y en las proporciones de agua/café en naranja: I (0:25), amarillo: II (10:25) y verde: III (20:25).

La temperatura del experimento A inició en 24.0°C y disminuyó progresivamente las primeras 12 horas, llegando a la mínima de 15.9°C. Las horas siguientes aumentó y finalizó con 20.0°C. Al igual que en el experimento A, los experimentos B y C iniciaron con 24.0°C. El experimento B tuvo un descenso en casi 10.0°C con mínima de 14.1°C; finalizó con 20.0°C. El experimento C tuvo dos temperaturas bajas: 14.1°C y 14.8°C a las 42 h y las 60 h, respectivamente. Durante las seis últimas horas de la fermentación aumentó la temperatura hasta 20°C al final del proceso. Los cambios fluctuantes de la temperatura dentro de los

minilotes de fermentación se vieron condicionada por la temperatura ambiente, ya que se obtuvo una correlación positiva es decir al haber un cambio en la temperatura ambiental, habrá un cambio en la temperatura interna de los minilotes (Ver anexo 3).

Las condiciones de temperatura externas e internas son importantes para todo el proceso, ya que afectan el sabor y la calidad del grano fermentado (Masoud & Jespersen, 2006). Con esto se entiende que la temperatura tiene efecto en varios aspectos dentro de la fermentación incluyendo a la viabilidad y variedad de los microorganismos (Ray & Ward, 2009). En este estudio, a pesar de que hubo momentos en los que se registraron temperaturas bajas (14.0°C) se obtuvo un recuento significativo de microorganismos en todos los medios de cultivo (fig. 11-16) con mínimos de 4.9 log ufc/g en el medio MRS.

En cuanto al sabor, a bajas temperaturas el café desarrolla mayor cantidad de ácidos clorogénicos y por lo tanto sabores más ácidos (FNC & Cenicafé, 2013), la cinética de las reacciones en la fermentación se ralentiza y la descomposición del mucílago puede ser más lenta. Esto concuerda con los sabores encontrados en las bebidas de café mejor puntuadas (tabla 8) características como especiadas y frutos rojos fueron descritas en algunas muestras. De manera general, los cafés de altura se caracterizan por un balance del sabor gracias a la acidez que estos tienen naturalmente (Duicela Guambi et al., 2003). En varias fuentes se encuentra que las fermentaciones con café despulpado se debe tener en cuenta la temperatura para que se de completamente la degradación del mucílago, ya que esto puede producir sabores desagradables (Clarke, 2012; Kleinwächter et al., 2015; Puerta & Echeverry, 2015a; Schwan & Fleet, 2015).

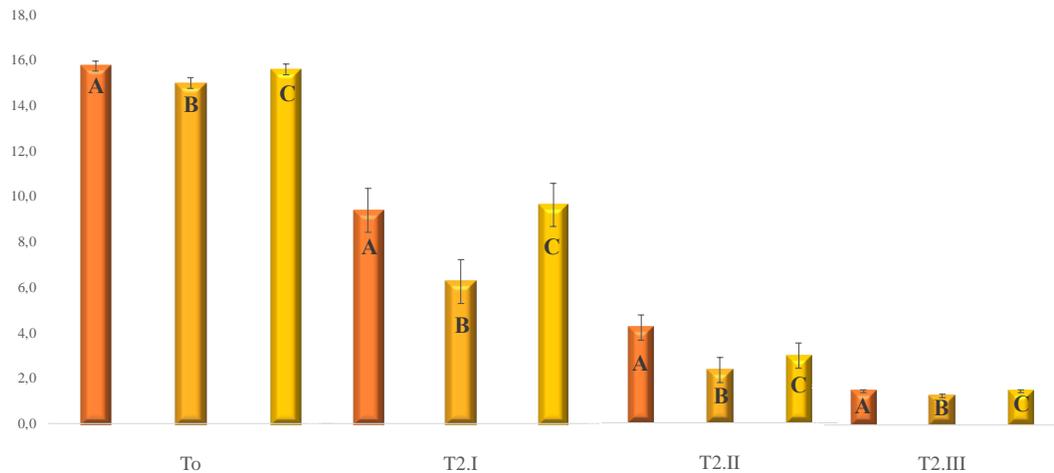


Figura 10. Grados °Brix de la pulpa de café (tiempo cero T0) y al final del proceso de fermentación (tiempo dos T2) en los experimentos A: (final de fermentación: 24 h), B: (final de fermentación: 48 h), C:(final de fermentación: 72 h) y en las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III(20:25).

En la figura 10 se observa que en el T0 todos los sistemas minilotes tienen una cantidad de sólidos solubles totales similares en cada uno de los experimentos; A: 15.8, B: 15.0 y C:15.6. Lo cual es coherente con la madurez de los frutos presentada en la figura 7. En todos los experimentos se evidencia el consumo de los sólidos (azúcares), en menor cantidad al final de los experimentos A, B y C en los minilotes I y II y en mayor cantidad en el minilote III.

Según la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín (Martínez Castro, 2016) los grados °Brix de los frutos en el punto correcto de madurez para la variedad catimor es 16 y para la variedad castillo 14.4. Dado que el café fermentado en los minilotes es una mezcla de estas variedades, los grados °Brix están entre 15.0 y 15.2; incluidos en el

promedio de los frutos maduros de estas variedades. En este experimento, los minilotes sin adición de agua el decrecimiento de los grados °Brix fue menor que en los minilotes con agua, lo cual puede deberse a que el agua es el medio necesario ya sea como sustrato o intermediario para que se den las reacciones bioquímicas que permiten la degradación del mucilago (Frenkel-Pinter et al., 2021) de donde los microorganismos obtienen los azúcares y emplean como fuente de energía (Elhalis et al., 2020). El decrecimiento exponencial en los grados °Brix también fue registrado en el departamento del Huila (Pantoja López et al., 2015) y en la ciudad de Santa Marta (Cruz-O'byrne et al., 2020).

5.4 Recuento de los microorganismos viables y cultivables de café

Los resultados de los recuentos microbiológicas de la fermentación para microorganismos se presentan en las figuras de la 11 a la 16; en orden, mesófilos (en PC), de bacterias ácidolácticas (en MRS y M17L), ácidoacéticas (en WL), de mohos y levaduras (en OGYE), coliformes totales (en Chromocult).

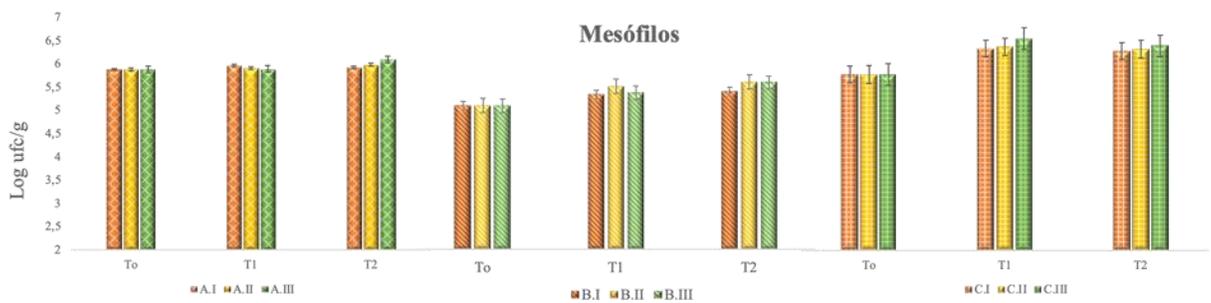


Figura 11. Recuento total ufc/g de los microorganismos indicadores mesófilos en PC durante la fermentación del café, en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en cada una de las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III (20:25).

Los mesófilos en todos los minilotes en todos los experimentos se mantuvieron estables durante las primeras 24 horas, posiblemente por la poca degradación de sustratos. Tanto en el experimento A como en el B hubo un incremento de poblaciones en el tiempo final entre 0.1 a 0.2 (log ufc/g) en los tanques con agua. En el experimento C los recuentos aumentaron y su punto mas alto fue 6.7 log ufc/g (C.III) en la mitad del experimento y a las 72 h tendieron a estabilizarse en todos los minilotes, con 6.4 log ufc/g aproximadamente. En general los microorganismos pertenecientes a este grupo aumentaron en todos los experimentos a diferencia de lo reportado por Puerta et al., (2012) en cuya fermentación del mucílago hubo cantidad de mesófilos en el tiempo cero 357×10^5 ufc/g (7,6 log ufc/g) y al final del proceso 74×10^5 ufc/g (6,9 log ufc/g) lo cual indica disminución de este grupo. Las diferencias entre al experimento desarrollado en este trabajo con el realizado por Puerta et al., (2012), puede haberse debido a la

diversidad de microorganismos que conforman el grupo de los mesófilos, los cuales varían por los factores físicos y biológicos distintos que existen e incluso caracterizan cada zona (Schwan & Fleet, 2015).

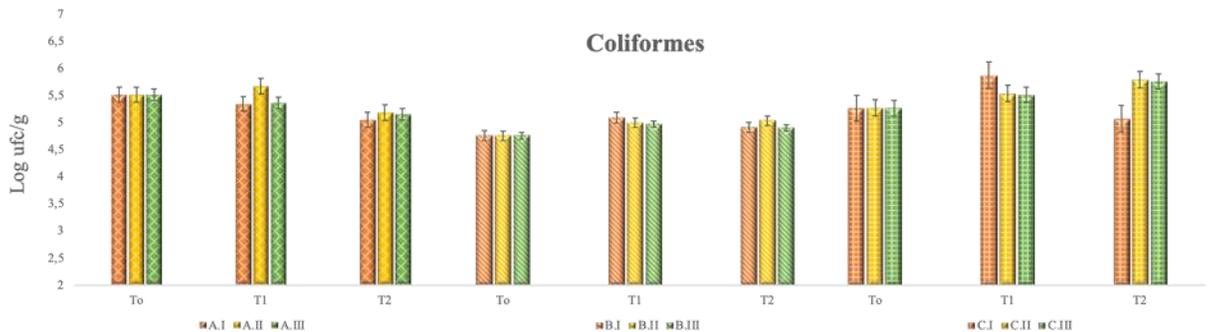


Figura 12. Recuento total ufc/g de los coliformes totales en Chromocult, durante la fermentación del café, en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en cada una de las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III (20:25).

Las poblaciones de coliformes (figura 12) de los minilotes I y III, en el experimento A, descienden desde el inicio de la fermentación convergiendo a las 24 h a 5.1 (log ufc/g). En el experimento B en general se mantuvieron estables variando ligeramente entre 5.5 y 5.8 (log ufc/g). Durante las últimas horas de la fermentación en el experimento C los minilotes C.II y C.III tuvieron un aumento en las poblaciones, mientras que C.I descendió.

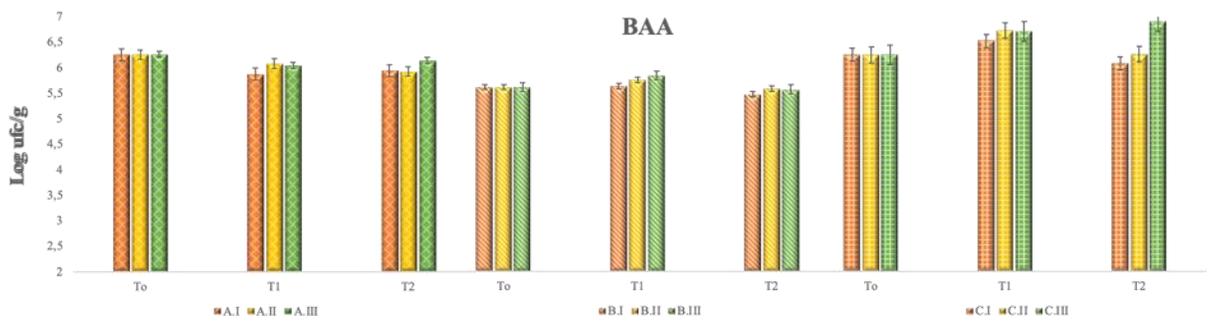


Figura 13. Recuento total ufc/g de bacterias ácidoacéticas (BAA) en WL, durante la fermentación del café, en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en cada una de las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III (20:25).

En todos los experimentos, en los minilotes I los recuentos de las BAA estuvieron entre los rangos de 5.9 y 6.5 (log ufc/g). Con respecto al recuento total de bacterias BAA con tiempo final de 24 y 48 h presentaron resultados similares entre los diferentes niveles de proporción de agua/ café estando sus valores de ufc entre 5.9 y 6.2 (log ufc/g). Se observa una variación en los recuentos a las 72 h de fermentación de acuerdo con su nivel de agua, en donde el sistema C.III alcanza un recuento máx. de 6.9 log ufc/g en este grupo de bacterias.

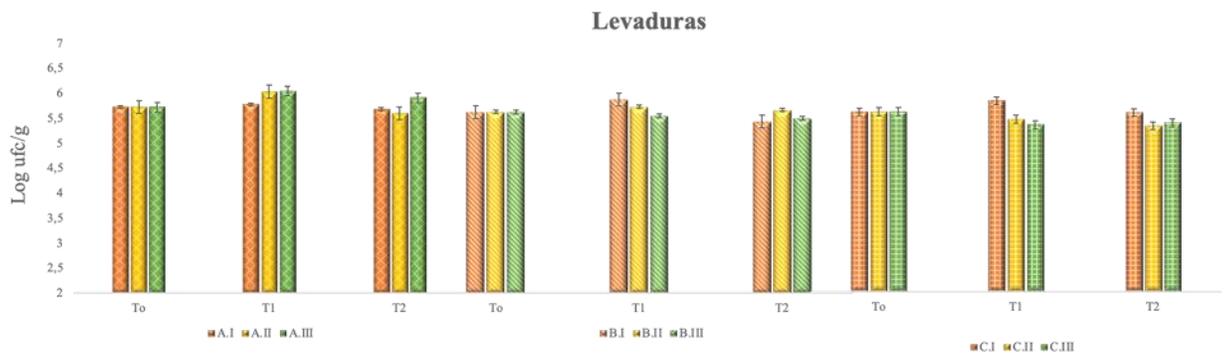


Figura 14. Recuento total ufc/g de levaduras en OGYE, durante la fermentación del café, en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en cada una de las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III (20:25).

En las primeras 12 h del experimento A en los sistemas II y III los recuentos fueron aumentando y convergieron a las 12h en 6.1 (log ufc/g). En el experimento B a las 24h los recuentos de levaduras en los minilotes I y II aumentan, mientras que el I permanece constante. En el experimento C se observa diferencia a las 36 h (T1) en el minilote I donde los recuentos son levemente superiores a los sistemas con agua con 5.7 log ufc/g. Al final de este experimento los recuentos en todos los minilotes disminuyen en una cantidad mínima. Los números de levaduras de esta investigación se mantuvieron fluctuando entre los rangos de 5.4 y 6.0 log ufc/g, mientras que los recuentos encontrados por Puerta et al., (2012) en el tiempo inicial fueron 38×10^5 ufc/g (6,6 log ufc/g) y al final 159×10^5 ufc/g (7,2 log ufc/g). Esto nos indica que en ambos estudios hubo una diferencia semejante (0,6 log ufc/g), pero el número de levaduras siempre fue mayor en el estudio llevado a cabo en cenicafé.

Zhang et al.(2019) encontraron que las levaduras tuvieron un mayor recuento en comparación con este estudio. Se registraron 7.0 log ufc/g, mientras que en este trabajo inicialmente fue 5.7 log ufc/g (figura 14). Al ir avanzando el tiempo de la fermentación se observa que los recuentos se mantuvieron estables con ligeras variaciones y a las 48h se evidencia una ligera disminución de las poblaciones. Contrastando los estudios se puede decir que hay una similitud en las pequeñas variaciones que se dan a través del tiempo de proceso y a las 48 h solo se ve el descenso de recuentos en el minilote B.III (figura 14).

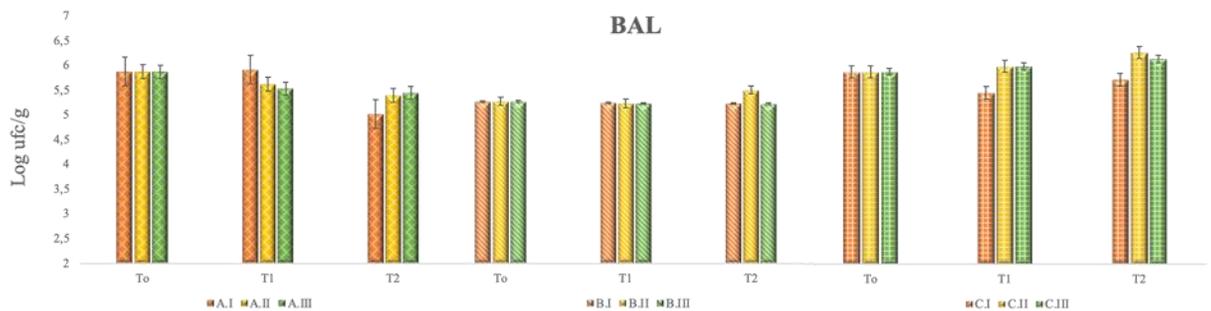


Figura 15. Recuento total ufc/g de lactobacilos en MRS durante la fermentación del café, en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en cada una de las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III (20:25).

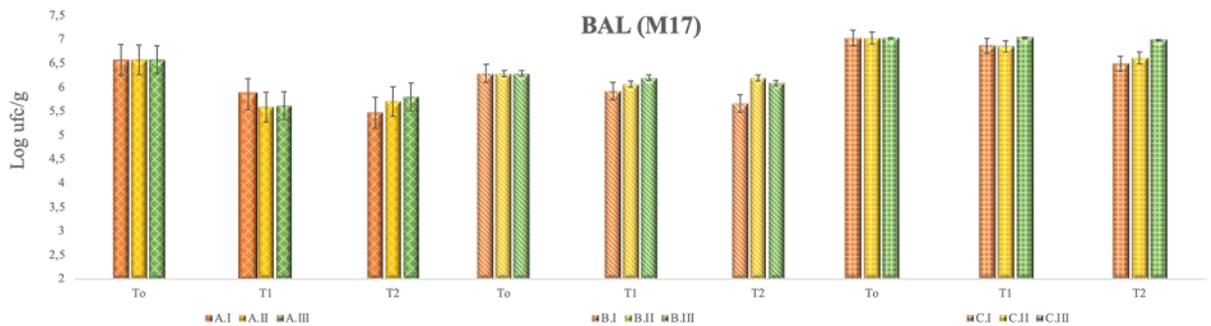


Figura 16. Recuento total ufc/g de lactobacilos en M17 durante la fermentación del café, en los experimentos A (tiempo final de fermentación: 24 h), B (tiempo final de fermentación: 48 h), C (tiempo final de fermentación: 72 h) y en cada una de las proporciones de agua/café I (0:25), II (10:25), III (20:25).

En el experimento A las 24 h en el medio MRS como en M17 hubo un descenso de los recuentos en el minilote I, mientras que los lotes con agua mantuvieron un recuento relativamente estable en el medio MRS, en donde los recuentos disminuyeron de 5.8 a 5.4 log ufc/g. En el medio M17 en este mismo experimento (A) los recuentos en los minilotes II y III tuvieron un descenso de 6.5 a 5.7 log ufc/g.

Durante todo el experimento B los recuentos de todos los minilote en MRS son estables, se ve crecimiento en el minilote II a las 48h. En el medio M17 los recuentos en los minilotes II y III, aunque más altos en comparación con MRS, también fueron estables, mientras que en el minilote I de nuevo se ve un descenso de la misma magnitud que en el experimento A.

A las 72 h en medio MRS los minilotes con mayor adición de agua, II y III, tienen recuentos mayores, del orden de 6.2 log ufc/g y en el medio M17 solo el minilote III

tiene un alto número de bacterias que se mantiene estable durante todo el experimento. Los otros dos minilotes en este medio descendieron de 6.8 a 6.0 log ufc/g. La diferencia en los recuentos de BAL se puede explicar por la composición de los medios de cultivo; el medio MRS es un medio semi selectivo que permite el crecimiento de bacterias ácidolácticas mesófilas, está mas enriquecido y tiene mayor contenido de fuente de carbono, con un pH de 5.7 (Merck, 2019). Esto pudo haber favorecido la recuperación del grupo de BAL en el medio MRS, ya que el pH inhibe otros grupos de microorganismos como pueden ser los coliformes. El medio M17 (Scharlau, 2021) es un medio selectivo para aislar principalmente cocos lácticos, este es menos enriquecido y tiene un pH que tiende a ser neutro no facilita tanto el crecimiento de muchas especies pertenecientes a las BAL, mas si el crecimiento de otros microorganismos.

Examinando las gráficas de recuentos de bacterias ácidolácticas en el experimento realizado en cenicafé (Puerta et al., 2012) se encontró que la cantidad de BAL siempre fue mayor en su estudio. Los recuentos en los tiempos 0h (T0), 24h y 72h fueron respectivamente 12×10^6 ufc/g (7.1 log ufc/g), 24×10^6 ufc/g (7.4 log ufc/g) y 13×10^6 ufc/g (7.1 log ufc/g). Contrastando los anteriores recuentos con los de este experimento, el máximo en MRS fue 6.3 log ufc/g (C.II) y en M17 6.6 log ufc/g (C.III). La diferencia de recuentos entre estos dos estudios puede estar dada por las cantidades de café usados ya que en cenicafé (Puerta et al., 2012) usaron tanques de mayores dimensiones y mayor proporción de materia prima lo cual es factible que se genere un ambiente más anaeróbico, favoreciendo el desarrollo de estas bacterias (Schwan & Fleet, 2015).

La cantidad de microorganismos encontrados es variable e independiente en los estudios revisados de la fermentación de café, aunque se hagan los mismos procesos de fermentación y se use la misma especie de café. Ribeiro et al. (2018) informó, al inicio de la fermentación húmeda de *C.arabica* un máximo de 4.8 y 6.2 log ufc/g de bacterias mesófilas y BAL (MRS) respectivamente y al finalizar las mesófilas decrecieron casi a la mitad de la población original. Las BAL tuvieron un comportamiento ligeramente diferente ya que algunas disminuyeron, mientras que otras aumentaron su número. Los recuentos iniciales, encontrados en este estudio, para mesófilos y BAL (MRS) fueron iguales 5.9 log ufc/g y al contrario que en el estudio mencionado al final de cada experimento, las mesófilas aumentaron en un 11%. Las BAL, al igual que en Ribeiro et al. (2018), presentaron comportamientos de descenso o incremento, pero no en la misma proporción.

Confrontando los experimentos realizados con la literatura, nombrada a continuación, se comparan otros estudios que hicieron identificación taxonómica de los microorganismos.

En una fermentación sin agua se encontró que la cantidad de bacterias y levaduras identificadas es similar; 16 y 14 especies respectivamente (Vilela et al., 2010). Se ve que hay un comportamiento igual en un estudio llevado a cabo con fermentación húmeda (Evangelista et al., 2015b). Mientras, en otra fermentación húmeda realizada, la cantidad de bacterias es 12 veces mayor (de Oliveira Junqueira et al., 2019). Además el desarrollo de los microorganismos en las fermentaciones de café, casi siempre se hace en sucesión, es decir, que la abundancia y predominancia de especies en una comunidad microbiana cambian conforme transcurre el tiempo (Connell & Slatyer, 1977). Esto se ha visto en

fermentaciones naturales llevadas a cabo en Brasil (Silva et al., 2008; Vilela et al., 2010) y fermentación húmeda en Ecuador (Pothakos et al., 2020)

En nuestro estudio se observa de manera global que las bacterias también tienen un número dominante con un máximo de 6,7 log ufc/g respecto a las levaduras cuyo máximo fue 6,0 log ufc/g (figuras 11 y 14).

La tabla 7 muestra los valores p de los efectos que tienen la cantidad de agua, el tiempo de fermentación y su interacción. Este análisis se realizó mediante una ANOVA de dos vías para establecer diferencias significativas en las variables dependientes (Recuentos de microorganismos y catación) evaluadas.

Tabla 7. Valores P para evaluar el efecto de las variables cantidad de agua y tiempo de fermentación en los diferentes microorganismos y la catación.

	Agua	Tiempo	AguaXTiempo
Mesófilos	0.7084	0.1245	0.9809
Enterobacterias	0.415	0.308	0.744
Levaduras	0.821	0.128	0.513
BAL	0.1084	0.0213 *	0.3712
BAA	0.0538	0.0176 *	0.0933
BAL (M17)	0.4039	0.2561	0.5729
Catación	0.286	0.452	0.549

Las BAL y las BAA presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con relación al tiempo de fermentación. Esta interacción con el tiempo se puede deber al alto desarrollo de las BAA en el experimento C en el cual puede haber una mayor disposición de etanol producido por las levaduras en el transcurso de la fermentación favoreciendo

el crecimiento de este grupo de bacterias (Lopes et al., 2004; Tran et al., 2020). Las BAL también presentan un aumento en el mismo experimento, pero solo en los mini lotes con adición de agua. Las concentraciones alcanzadas de ácidos orgánicos como el ácido láctico y el ácido acético, representadas en el descenso del pH, inhiben el crecimiento de otros grupos microbianos como los coliformes y por tanto permiten la prevalencia de las BAL.

No hubo ningún efecto de la interacción Agua x tiempo de fermentación en los grupos microbianos.

En cuanto a los puntajes de catación (tabla 8) no hubo algún tratamiento, estadísticamente significativo, que sea favorable o desfavorable en cuanto a sabor y aroma en la bebida.

Esto puede deberse posiblemente a que se usaron dos variedades de café (Castillo y Catimor) en proporciones desconocidas y la afectación del proceso espontáneo de fermentación por variables ambientales como la humedad y temperatura en el proceso de secado.

5.5 Evaluación de café verde, cata y perfilación

Las siguientes tablas y figuras muestran los resultados y análisis de las principales variables del análisis físico y calidad de la bebida.

5.5.1 Humedad y Factor de Rendimiento.

Los resultados correspondientes a la medición de humedad de las muestras de café después de su secado natural se presentan en la figura 17.

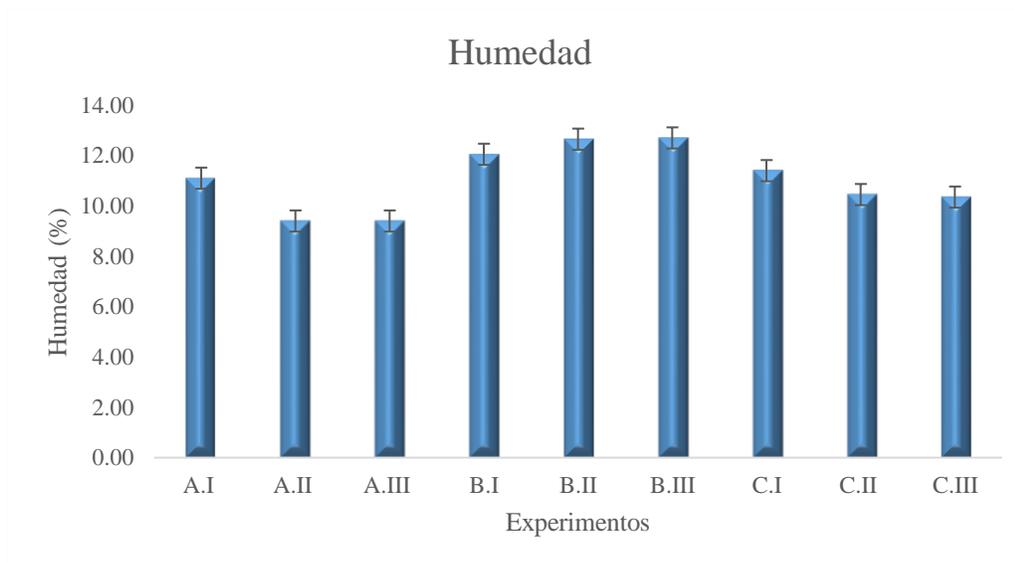


Figura 17. Porcentaje de humedad de las muestras de minilotes de café verde.

Dos muestras (B.II y B.III.) tuvieron humedad por encima del límite superior permitido (12.00%), las demás muestras se encuentran entre los rangos de humedad establecidos por la SCA (8 al 12%) Las prácticas tradicionales del secado del café implican el uso de la radiación solar natural en terrazas de concreto, como fue el caso de esta investigación. El punto final del secado lo determina el caficultor mediante el chasquido de los granos y mordida de grano, ello implica que no hay una medición precisa de la humedad lo que causa que los lotes tengan humedad variable y por fuera de lo establecido (International Trade Centre, 2020). Pese a esto, los resultados de la perfilación final de la bebida no fueron desfavorables para las muestras B.II y B.III

En la figura 18, se evidencia que las muestras B.I y C.I de café tuvieron un factor de rendimiento > 92.0 Kg. El factor de rendimiento más alto se obtuvo a las 72h y en minilote sin agua (C.I) y el más bajo a las 24h (A.II), con valores de 95.7 y 81.2

respectivamente. El factor de rendimiento está influenciado por la genética del cafeto, condiciones ambientales, calidad y fertilidad del suelo (Arcila Pulgarín, 2007).



Figura 18. Factor de rendimiento del café verde de muestras de cada uno de los minilotes.

Curva de tostión

La figura 19 muestra el promedio de las curvas de las dieciocho muestras de café trillado estudiadas. Se observa que para todas las muestras los tiempos y temperaturas de tostión fueron similares la temperatura para ingresar el café siempre fue de 175°C, a los dos minutos del proceso llegó a la temperatura más baja (128°C). Se escuchó el primer crack a los ocho minutos (480s) y se retiró a los nueve (540s), en donde la temperatura fue de 174°C en promedio, siendo esta una tostión ligera. Las muestras B.II A.I, A.II presentaron los perfiles sensoriales característicos herbales y cítricos de este tipo de tostión (Giner, 2009).

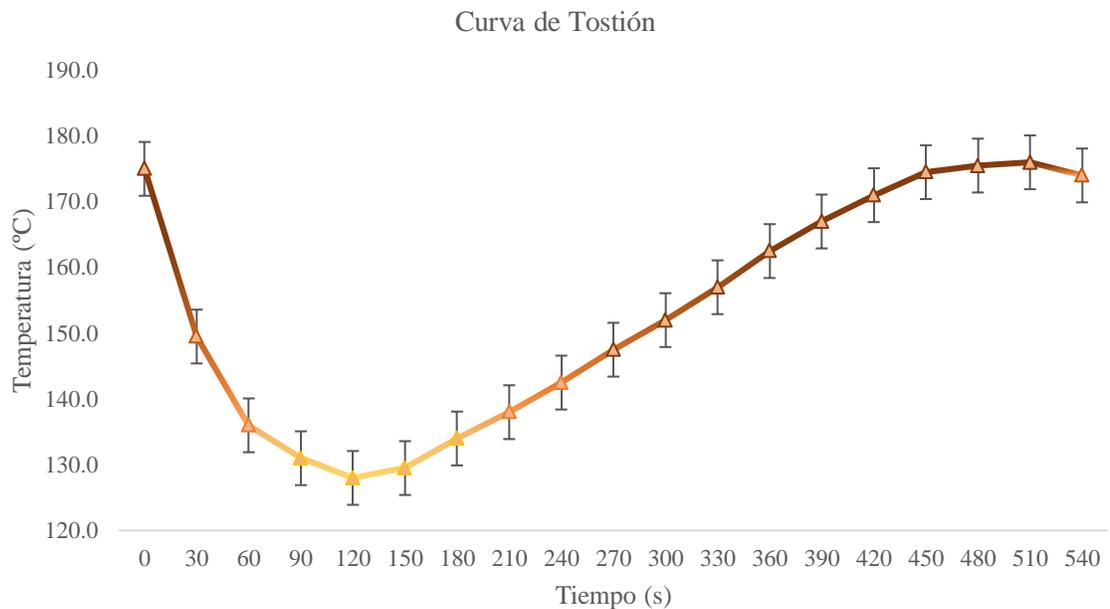


Figura 19. Curva de tuestión (valores promedio de temperatura (°C) vs tiempo (segundos) de las muestras de café verde de la finca La Antigua (Jardín, Antioquia) recolectado en noviembre de 2019.

Dados el análisis físico y la curva de tuestión de las muestras, el proceso (de tuestión) de este café es susceptible de una estandarización. Bicho et al., (2013) y Dutra et al., (2001), también trabajando con cafés arábicas, encontraron que el tiempo final óptimo de tuestión también fue de nueve minutos, entrando en la categoría de café gourmet.

5.5.2 Análisis sensorial.

En la tabla 8 se resumen las puntuaciones, los sabores y aromas detectados en los cafés de cada uno de los sistemas de fermentación (minilotes). En esta tabla están incluidas las bebidas obtenidas de la replica (R) del experimento ya que las puntuaciones de la catación difirieron.

Tabla 8. Calificación cuantitativa, clasificación cualitativa, sabores y aromas detectados de las bebidas obtenidas de muestras de cada sistema de fermentación.

Sistemas de fermentación (tiempo en horas, nivel de agua)	Calificación		Sabor y aroma
	cuantitativa	cualitativa	
A.I (R)	81.0		chocolate/dulce/especiado/ fresa/astringente
B.I			chocolate/cereza/frutos rojos/astringente/baja intensidad
B.I (R)			frutos rojos/ caramelo/ chocolate/dulce/seco (posgusto)
C.I	80.5		champaña/uva verde/ vino blanco/ seco
C.III			chocolate/dulce marcado/frutal
A.III	80.0	Muy bueno	chocolate/dulce/azúcar morena/ limpio
A.II (R)			chocolate/dulce/torta de vainilla
B.II (R)			chocolate/leve aromático/limpio/sutil
C.I (R)	80.0		uva/chocolate/caramelo/ seco-astringente/ligero
C.III (R)			uva/aromático/vainilla/dulce de leche/sutil
B.II	79.5	Inferior especial	café estándar (acidez cítrica, chocolate, panela)
A.I			frutos rojos/especiado caramelo/ dulce herbal
A.II			chocolate/dulce/herbal/seco/ cereal
B.III (R)			dulce, intenso en aroma dulce/chocolate, café estándar
C.II			herbal/chocolate/dulce/seco/ ligero
C.II (R)	78.5		frutos rojos/ ligero/grasa
B.III			café estándar (acidez cítrica, chocolate, panela) tabaco
A.III (R)	69.0	Penalizado	chocolate/herbal/fenol

Según los resultados obtenidos en la perfilación de las muestras de café, no se encuentra la misma clasificación entre muestras de un mismo sistema de fermentación; acorde a los parámetros establecidos por la SCA (SCA, 2015). Aunque numéricamente la calificación es cercana en todas las muestras de café evaluadas, excepto en el sistema de fermentación A.III (69 y 80) la SCA tiene rangos de escasa diferencia numérica para clasificar un café como especial (ver tabla 6). Otra observación importante a destacar de las muestras de café analizadas, es que uno de los atributos sensoriales por los catadores, en trece de las muestras, fue el sabor a chocolate, incluyendo la muestra penalizada (A.III (R)). Once minilotes se clasificaron como café de Colombia, por que se describieron con acidez cítrica, chocolate y panela (Medina, 2016). Las muestras sancionadas en la catación presentaron sabores a fenol y a grasa, estos sabores es posible que se hayan presentado a un error en la selección de los granos de café. Esto no significa que todo el lote es defectuoso, si no que puede contener algún grano con defecto y con este es suficiente para afectar el sabor de la bebida (Lingle & Menon, 2017). También, se puede advertir que se obtuvieron bebidas con una puntuación alta con tiempos de fermentación de 72 h (muestras C.I y C.III), es decir, no tuvieron sobre fermentación lo cual puede haberse debido a que el proceso se realizó a partir de la sexta hora a temperaturas menores a 21°C.

Analizando los factores comunes (proporción agua/ café y tiempo de fermentación), que presentaron las muestras con mayor puntuación (81) se encuentra que las 4 muestras no tienen adición de agua (A.I, B.I, B.I (R) y C.I); este tipo de fermentación es un acercamiento a la fermentación tipo *Honey* (Ver anexo 4), la cual se caracteriza por dejar parte del mucílago al despulpar y este al quedarse adherido al grano les da sabores más dulces, acidez redonda y notas de chocolate, tostado y moras (frutos rojos) (FNC & Cenicafé, 2013). Otra anotación importante de los resultados sensoriales obtenidos de los minilotes de fermentación estudiados, es con respecto a los tiempos de fermentación. Acorde con las recomendaciones de la SCA en condiciones de procesamiento higiénicas (en particular para el tanque de fermentación y el canal de lavado), una fermentación más larga permite más tiempo para que

se despliegan las actividades microbianas deseables y resulte en un mayor efecto de la fermentación sobre los sabores transmitidos a los granos de café (Jiyuan et al., 2019). En nuestro estudio evidenciamos que ni la proporción agua/masa de café ni el tiempo de fermentación afectaron de manera significativa los recuentos microbianos y tampoco hacia una mayor puntuación correlacionada con los factores evaluados. Sin embargo teniendo en cuenta que puede diseñarse un proceso de fermentación que favorezca un grupo microbiano o un microorganismo en particular como son las BAL y las levaduras tal como han sido reportados por otros estudios (de Melo Pereira *et al.*, 2014; Evangelista *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2016; de Melo Pereira *et al.*, 2017), se considera que precisamente los resultados obtenidos de este estudio da cuenta lo importante que resulta controlar un proceso de fermentación de café empleando cultivos iniciadores o condicionando sus factores extrínsecos para favorecer el crecimiento de estos microorganismos.

5.6 Selección aislados de BAL acorde a los perfiles sensoriales más altos

En la figura 20 se resumen los aislados de BAL obtenidos de los minilotes de los experimentos A y B, seleccionados acorde a las puntuaciones más altas en la perfilación (80 y 81).



Figura 20. Aislados obtenidos de los medios MRS y M17 de los diferentes minilotes y tiempos de fermentación.

Se obtuvieron un total de 20 presuntos aislados distintos, acordes a su caracterización macro y microscópica que fueron debidamente marcados y crío conservados, para conformar el cepario inicial. Según otros autores de fermentaciones húmedas se han encontrado entre 5 y 6 especies de BAL, recuperadas de cultivos de fermentaciones sembradas en MRS (Nasanit & Satayawut, 2015; Ribeiro et al., 2018; Zhang et al., 2019)

En el trabajo de Nasanit & Satyawut, (2015) obtuvieron 237 aislados de BAL, que al identificarlas pertenecían a cinco géneros (*Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*). Esto da un indicio de que probablemente de los 20 aislados varios sean del mismo género o especie.

La identificación taxonómica preliminar de algunos aislados se muestra en el anexo 5, lo cual se realizó mediante la amplificación del ARN 16S para su identificación a nivel de especie.

5.7 Antagonismo de BAL aisladas de fermentación de café frente a hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*

Los aislados que tuvieron actividad antagónica se muestran en las figuras 21 y 22.

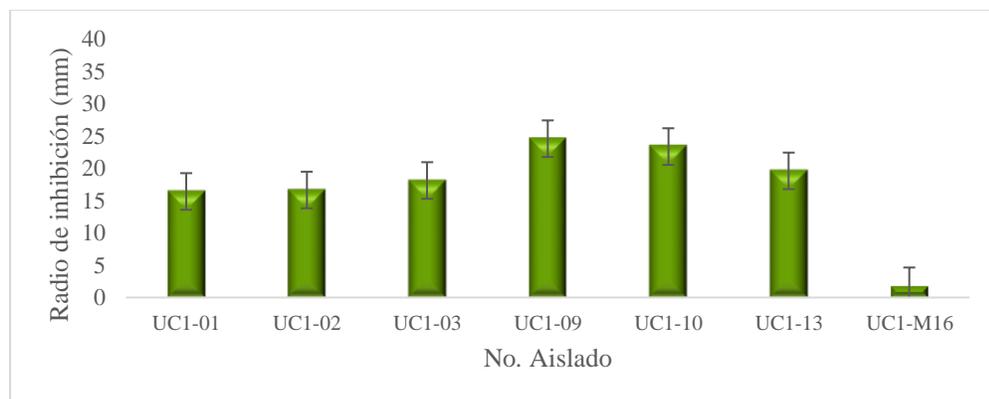


Figura 21. Radio promedio de inhibición de *A. flavus* causado por cada uno de los aislados de BAL. Pruebas *in vitro* realizadas a una temperatura de incubación de 25°C durante 48h.

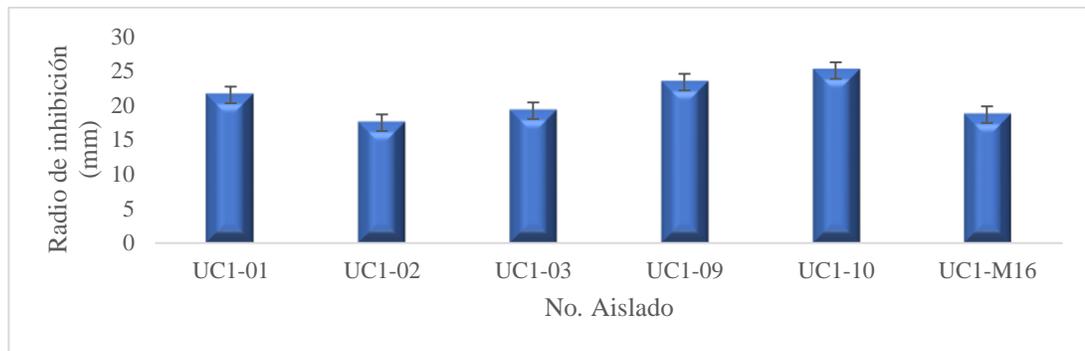


Figura 22. Radio promedio de inhibición de *Penicillium* causado por cada uno de los aislados de BAL. Pruebas *in vitro* realizadas a una temperatura de incubación de 25°C durante 48h.

Contrastando los radios de inhibición de las figuras 21 y 22 se puede notar que UC1-13 solo inhibió a *A. flavus* y que *Penicillium* fue más sensible a la presencia de las BAL, es decir que se midió un radio de inhibición mayor de las cepas antagonistas en *Penicillium* que en *A. flavus*. Para ambos hongos se encontró que los aislados que tuvieron mejor actividad antagónica fueron UC1-09 y UC1-10. Se han hecho varios estudios de antagonismo, de hongos contaminantes y micotoxigénicos con BAL demostrándose que hay varios géneros y especies de este grupo bacteriano que tienen una alta competencia como agentes biocontroladores de hongos filamentosos (de Melo Pereira *et al.*, 2016; Djossou *et al.*, 2011; Leong *et al.*, 2014; Siedler *et al.*, 2019). Los efectos antifúngicos de las bacterias ácidolácticas se pueden deber a varios factores y sustancias, se considera que la producción de ácidos orgánicos y el consecuente descenso de pH son los principales agentes de control fúngico. Existen otros metabolitos tales como el etanol, el peróxido de hidrógeno y la reuteriicina, que son producidas en mínimas cantidades como para tener la capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos

por si solas, por lo que se cree que tienen una actividad sinérgica con los otros compuestos orgánicos producidos por las bacterias (Crowley *et al.*, 2013; Nair *et al.*, 2002; Perczak *et al.*, 2018). En las figuras 23 y 24 se muestra el halo de inhibición de los test in vitro causado de los aislados UC1- 09 y UC1-10 de BAL en *A. flavus* y en *Penicillium* respectivamente.

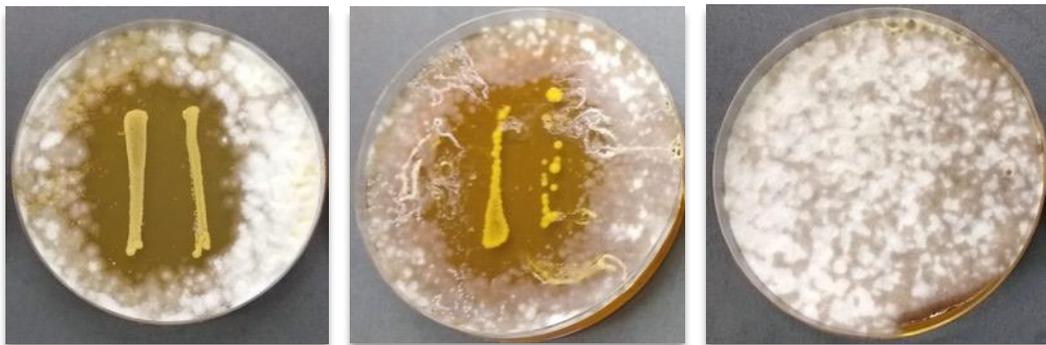


Figura 23. Pruebas de antagonismo in vitro *A. flavus* vs aislados UC1- 09 y UC1-10 y muestra control. Se muestran de izquierda a derecha inhibición de UC1- 09, UC1- 10 y control de *A. flavus*.



Figura 24. Pruebas de antagonismo in vitro *Penicillium* vs aislados UC1- 09 y UC1-10 y muestra control. Se muestran de izquierda a derecha inhibición de UC1- 09, UC1- 10 y control de *Penicillium*.

Desde hace años las BAL han sido seleccionadas de diferentes ambientes y alimentos para ser estudiadas, no sólo por su capacidad de transformar alimentos mediante la fermentación (Ingraham & Ingraham, 1998), sino también por poder conservar o alargar la vida útil de estos, evitando la proliferación de hongos y bacterias perjudiciales (Choi et al., 2018; de Melo Pereira et al., 2016; Savitha & Sankaranarayanan, 2021). Es necesario hacer las pruebas antagónicas previamente a los estudios moleculares ya que no es suficiente hacer identificación genómica, debido a que la capacidad de competir depende de la cepa, es decir no es suficiente saber que en la fermentación existe presencia de géneros de BAL que se conocen, por otras investigaciones, que tienen actividades inhibitorias (Cheong *et al.*, 2014). En los experimentos realizados con los aislados, se obtuvieron resultados similares a estudios hechos para evaluar la capacidad de las BAL, obtenidas de diferentes ambientes, contra *Aspergillus* y *Penicillium* (Chen *et al.*, 2021; Djossou *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2019; Jesper Magnusson *et al.*, 2003). Los géneros y especies de este grupo de bacterias encontrados frecuentemente son: *Lactobacillus sp.*, *Leuconostoc sp.*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *P. pentosaceus*, *L. brevis* (de Melo Pereira *et al.*, 2016; Romanens *et al.*, 2019; Rouse *et al.*, 2008; Ruggirello et al., 2019). Es probable que los aislados quienes presentaron inhibición contra *Penicillium* y *A. flavus* (figuras 23 y 24), pertenezcan a los géneros o especies mencionados anteriormente.

6 Conclusiones

Se lograron aislar e identificar preliminarmente microorganismos presentes en los procesos de fermentación realizados en la finca “La antigua” vereda la salada municipio de Jardín, Antioquia. Los grupos microbianos encontrados fueron: bacterias ácidolácticas, bacterias ácidoacéticas, enterobacterias y levaduras. La identificación taxonómica plena de estos microorganismos, en especial las BAA, BAL y levaduras, es importante ya que se aporta al conocimiento de la fermentación del café en Colombia. Este conocimiento será crucial para futuros desarrollos tecnológicos en miras al tratamiento de aguas residuales del beneficio del café (mieles), direccionar de la bebida y la composición fisicoquímica de la misma desde el control de los procesos de la fermentación. En cuanto a las variables de tiempo y proporción agua/café de la fermentación, estas no afectaron el recuento total de los microorganismos viables cultivables ni el perfil sensorial de la bebida de café. La pertinencia de estos hallazgos radica en que se pueden aplicar otros procesos de fermentación en el campo, evitando el gasto desmesurado de agua, la contaminación de fuentes hídricas y mejorando la eficiencia del proceso en términos de tiempo. De los aislados obtenidos de bacterias ácidolácticas, siete presentaron actividad antagónica frente a hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Esto es un primer paso para conocer el alcance de las propiedades tecnológicas de los aislados, tanto para ser usados como cultivos *starter* bajo condiciones de mayor control, como para ser cultivos bioprotectores del café.

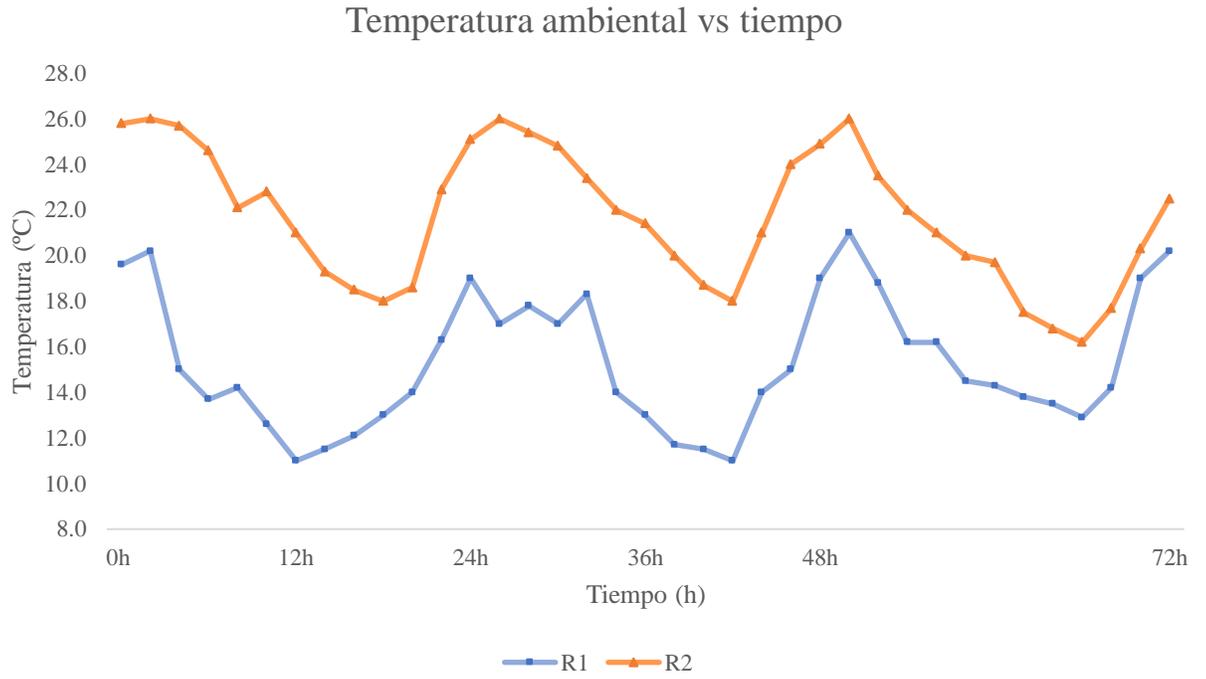
Recomendaciones

Realizar una identificación a nivel de especie de los aislados obtenidos mediante el uso de técnicas moleculares.

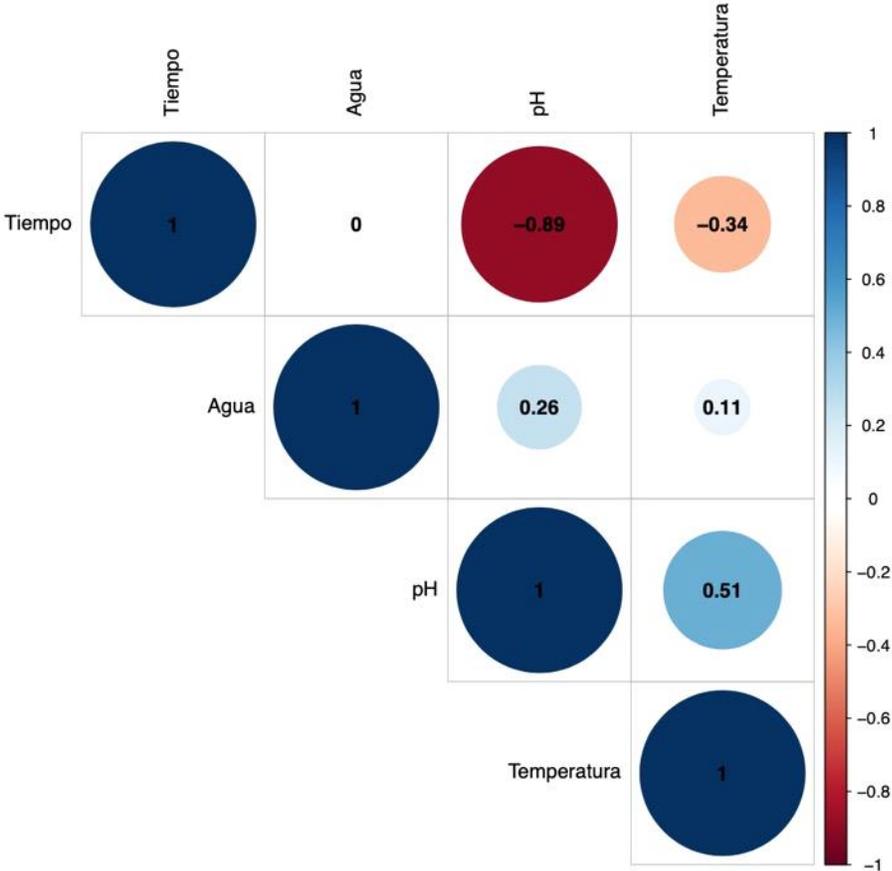
Los cultivos de BAL tienen excelente potencial para controlar, mejorar y mantener la calidad del proceso de fermentación de café. Sin duda el potencial de las BAL aisladas no ha sido completamente determinado y se deben realizar más estudios para poder hacer una explotación de ellas en campo, incluso generando cultivos mixtos de BAL y levaduras.

Se podrían realizar más estudios para evaluar la dinámica de las comunidades microbianas.

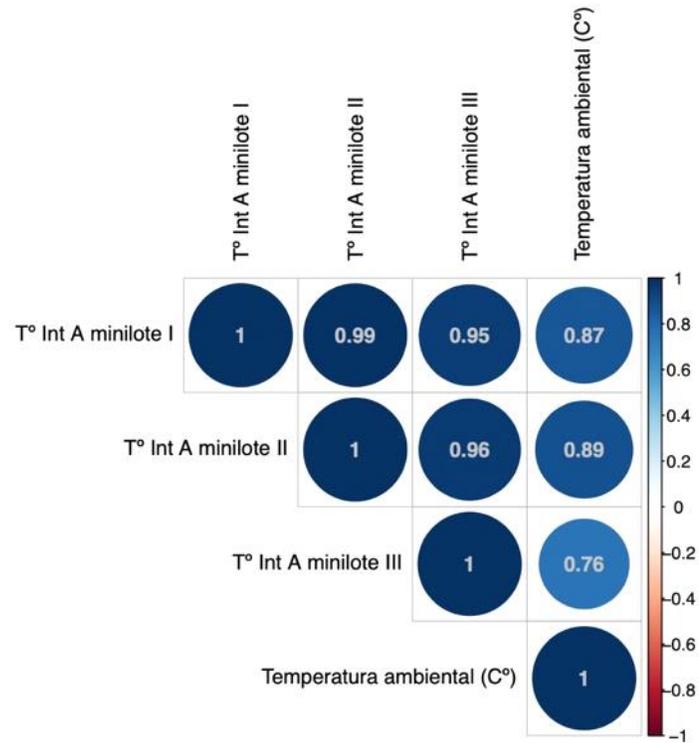
Anexo 1. Gráfica de temperaturas ambientales a través del tiempo de duración de todos los experimentos en cada una de sus repeticiones.

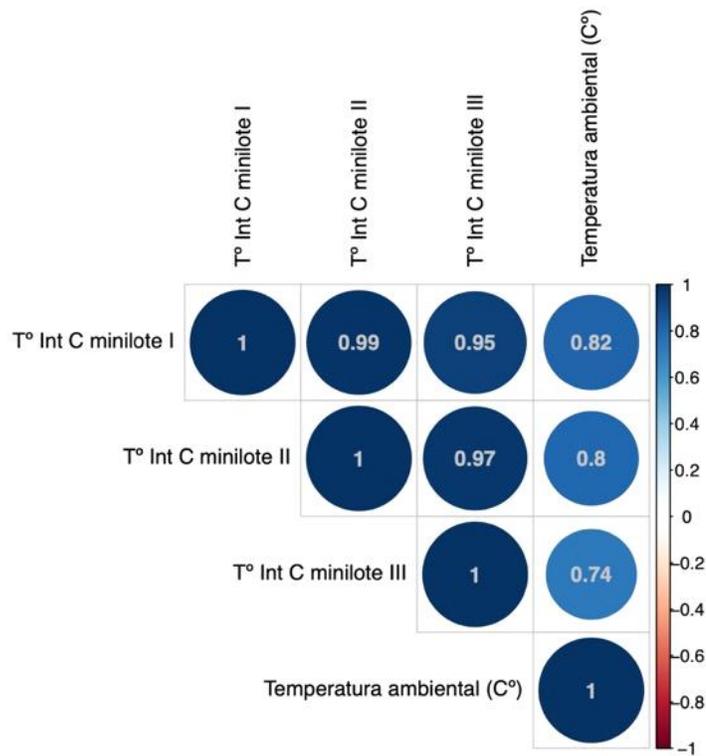
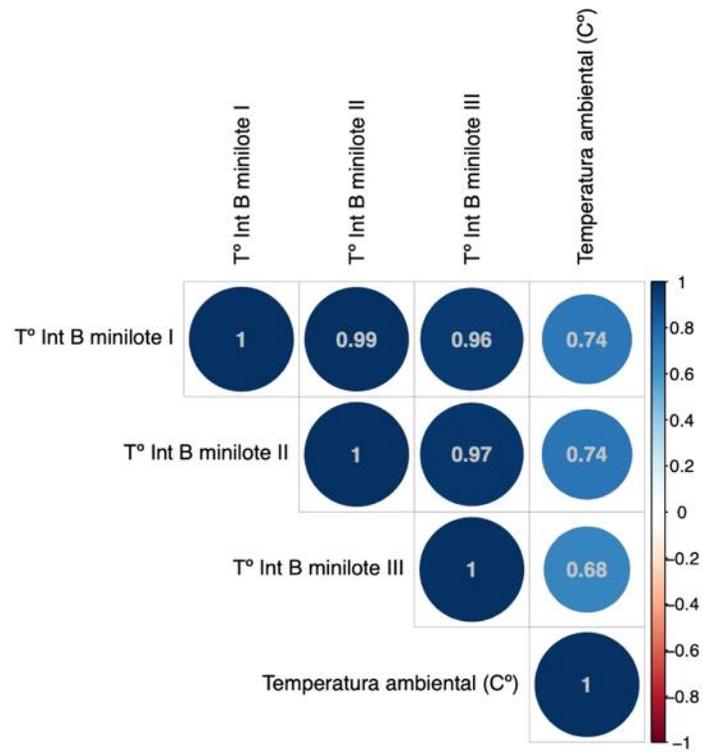


Anexo 2. Gráfica de correlaciones de factores físicos



Anexo 3. Grafica de correlación temperaturas ambientales y temperaturas internas durante los experimentos en orden A, B y C .





Anexo 4. Secado del café en terraza de mini lotes del experimento A. A.I, café sin lavar (Arriba izquierda), A.II café lavado (Abajo Izquierda) y A.III café lavado (derecha)



Anexo 5. Identificación aislados de BAL de café

Código aislado	Identificación taxonómica
UC1-8.2	<i>Acetobacter fabarum</i> ID%:99
UC1-M13	<i>Bacillus cereus</i> ID%:99
UC1-M23	<i>Kosakonia cowanii</i> ID%:99
UC1-10 UC1-13 UC1-15 UC1-26	<i>Lactobacillus brevis</i> ID%:99
UC1-3.2	<i>Lactobacillus paracasei</i> ID%:99
UC1-03 UC1-10.2 UC1-09	<i>Lactobacillus pentosus</i> ID%:99
UC1-04 UC1-05 UC1-07 UC1-11 UC1-14 UC1-5.2 UC1-9.2	<i>Lactobacillus plantarum</i> ID%:99

Referentes bibliográficos

- Ahlberg, S. H., Joutsjoki, V. & Korhonen, H. J. (2015). Potential of lactic acid bacteria in aflatoxin risk mitigation. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 87–102.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.042>
- Al-Ghouti, M. A., AlHusaini, A., Abu-Dieyeh, M. H., Abd Elkhabeer, M. & Alam, M. M. (2020). Determination of aflatoxins in coffee by means of ultra-high performance liquid chromatography-fluorescence detector and fungi isolation. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1–16.
<https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1819993>
- Alvarenga Arrúa, A., Moura Méndez, J., Fernández Ríos, D. & Casal Martínez, C. (2013). Aspergillus y micotoxinas. In *Rev UN Med* (Vol. 2, Issue 1).
- Arcila Pulgarín, J. (2007). Factores que determinan la productividad del cafetal. In H. F. Ospina & S. Marín López (Eds.), *Sistemas de producción de café en Colombia* (First, Vol. 1, pp. 62–86).
- Arrieta, N., Anzueto, F., Echeverria, F., Chemutai Alunga, J. & Cheserek, J. (2018). *Arabica coffee varieties* .
https://worldcoffeeresearch.org/media/documents/Arabica_Coffee_Varieties.pdf
- Baque, M. (2019). *Acidez: ¿Un atributo que vende?*
<https://www.revistaforumcafe.com/acidez>
- Barcelo, J. M. & Barcelo, R. C. (2018). Post-harvest practices linked with ochratoxin A contamination of coffee in three provinces of Cordillera Administrative Region, Philippines. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 35(2), 328–340.

<https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1393109>

- Batt, C., Patel, P. & Encyclopedia of Food Microbiology. (2014). Cocoa and coffee fermentations. In P. Nigam & A. Singh (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 485–492). Academic Press.
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). Food chemistry. In *Food Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7>
- Bessaire, T., Perrin, I., Tarres, A., Bebius, A., Reding, F. & Theurillat, V. (2019). Mycotoxins in green coffee: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 96, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.033>
- Bicho, N. C., Leitão, A. E., Ramalho, J. C., de Alvarenga, N. B. & Lidon, F. C. (2013). Impact of Roasting Time on the Sensory Profile of Arabica and Robusta Coffee. *Ecology of Food and Nutrition*, 52(2), 163–177. <https://doi.org/10.1080/03670244.2012.706061>
- Bokhari, F. & Aly, M. M. (2009). Trials towards reduction of fungal growth and aflatoxin G1 production in Arabic coffee using different additives. *African Journal of Food Science*, 3(3), 68–076. <http://www.academicjournals.org/ajfs>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A. & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 29, Issue 8). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Brando, C. H. . (2010). Alternativas a la cosecha selectiva. *Almanaque Para Cafetaleros: Buenas Prácticas Para El Nuevo Milenio*, 6, 64–66.
- Brando, C. H. J. & Brando, M. F. (2014). Method of coffee fermentation and drying. In

Cocoa and Coffee Fermentations (pp. 367–398).

Bressani Pereira, A. P., Martinez, S. J. & Inácio, A. B. (2019). Organic Acids Produced during Fermentation and Sensory Perception in Specialty Coffee using Yeast Starter Culture. *Food Research International*, 108773.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108773>

Buffo, R. A. & Cardelli-Freire, C. (2004). Coffee flavour: An overview. In *Flavour and Fragrance Journal* (Vol. 19, Issue 2, pp. 99–104). John Wiley & Sons, Ltd.

<https://doi.org/10.1002/ffj.1325>

Bui-Klimke, T. R. & Wu, F. (2015). Ochratoxin A and Human Health Risk: A Review of the Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(13), 1860–1869.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2012.724480>

Campos-Pereira, F. D., Prado Veiga-Menoncello, A. C. & Marin-Morales, M. A. (2014). DNA damage induced by diet. In G. D. C. Severi-Aguiar & A. A. Alves (Eds.), *oxic Effects of Chemicals in Food, Chemical and Consumer Product Safety* (1st ed.).

https://www.researchgate.net/publication/268982335_DNA_damage_induced_by_diet

Cárdenas-Díaz, J. P. & Pardo-Pinzón, J. D. (2014). *Caracterización de las etapas de fermentación y secado del café primavera*. ESCUELA COLOMBIANA DE INGENIERÍA JULIO GARAVITO.

Cárdenas Gutiérrez, J. (1993). *La Industria del Café en Colombia*. 3–12.

<https://federaciondecafeteros.org/static/files/Cardenas - Industria del cafe en Colombia.pdf>

Cecilia, M. & Duque, Y. (2018). *El Papel de las Políticas Públicas y las Estrategias*

Sectoriales en la Transición del Café como commodity hacia Cafés Especiales. *El*

Caso del Suroeste Antioqueño El Papel de las Políticas Públicas y las Estrategias Sectoriales en la Transición del Café c.

- Chen, O., Hong, Y., Ma, J., Deng, L., Yi, L. & Zeng, K. (2021). Screening lactic acid bacteria from pickle and cured meat as biocontrol agents of *Penicillium digitatum* on citrus fruit. *Biological Control*, 158, 104606.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2021.104606>
- Cheong, E. Y. L., Sandhu, A., Jayabalan, J., Kieu Le, T. T., Nhiep, N. T., My Ho, H. T., Zwielehner, J., Bansal, N. & Turner, M. S. (2014). Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould *Penicillium commune* and their potential as biopreservatives in cheese. *Food Control*, 46, 91–97.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2014.05.011>
- Choi, A. R., Patra, J. K., Kim, W. J. & Kang, S. S. (2018). Antagonistic activities and probiotic potential of lactic acid bacteria derived from a plant-based fermented food. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1963.
<https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.01963/BIBTEX>
- Clarke, R. (2012). *Coffee: Volume 2: Technology* (Issue Vol. 2, p. 17). Springer Netherlands. <https://books.google.com.co/books?id=NlcGCAAQBAJ>
- CNA. (2015). *Censo Nacional Agropecuario*. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <https://www.dane.gov.co/files/images/foros/foro-de-entrega-de-resultados-y-cierre-3-censo-nacional-agropecuario/CNATomo2-Resultados.pdf>
- REGLAMENTO (CE) No 1881, Pub. L. No. REGLAMENTO (CE) No 1881/2006 (2010). https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/contaminants/catalogue/aflatoxins_en
- Connell, J. H. & Slatyer, R. O. (1977). Mechanisms of Succession in Natural Communities

and Their Role in Community Stability and Organization. *The University of Chicago Press for The American Society of Naturalists*, 111, 1119–1144.

https://www.jstor.org/stable/pdf/2460259.pdf?casa_token=fkJeN97cshsAAAAA:FAtQb8dmWlXnW74DAN1URUdrBTdDrC6IAQWO-BALwxVamHI-72BIpJxpiDI2ylOj-Mg4CcRLTCNLT-nWOu1ia2m_FjCaQeSi_0leHj8SFbUabVuc1Qw

Crowley, S., Bottacini, F., Mahony, J. & van Sinderen, D. (2013). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* strain 16, a broad-spectrum antifungal-producing lactic acid bacterium. *Genome Announcements*, 1(4).

<https://doi.org/10.1128/genomeA.00533-13>

Cruz-O'byrne, R., Piraneque-Gambasica, N. & Aguirre-Forero, S. (2020).

Physicochemical, microbiological, and sensory analysis of fermented coffee from Sierra Nevada of Santa Marta, Colombia. *Coffee Science - ISSN 1984-3909*, 15(1), e151797–e151797. <https://doi.org/10.25186/V15I.1797>

Cruz-O'byrne, R., Piraneque-Gambasica, N. & Aguirre-Forero, S. (2021). Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in northern Colombia. *International Journal of Food Microbiology*, 354, 109282. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109282>

DANE. (2016). *Censo nacional agropecuario 2014*.

Dauids, K. (2020). *ROAST DEFINITIONS*. <https://www.coffeereview.com/roast-definitions/>

de Melo Pereira, G. V., Beux, M., Pagnoncelli, M. G. B., Soccol, V. T., Rodrigues, C. & Soccol, C. R. (2016). Isolation, selection and evaluation of antagonistic yeasts and

lactic acid bacteria against ochratoxigenic fungus *Aspergillus westerdijkiae* on coffee beans. *Letters in Applied Microbiology*, 62(1), 96–101.

<https://doi.org/10.1111/lam.12520>

de Melo Pereira, G. V., Soccol, V. T., Pandey, A., Medeiros, A. B. P., Andrade Lara, J. M. R., Gollo, A. L. & Soccol, C. R. (2014). Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. *International Journal of Food Microbiology*, 188, 60–66.

<https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2014.07.008>

de Oliveira Junqueira, A. C., de Melo Pereira, G. V., Coral Medina, J. D., Alvear, M. C. R., Rosero, R., de Carvalho Neto, D. P., Enríquez, H. G. & Soccol, C. R. (2019). First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45002-8>

Díaz Arango, F. O., Mejía Gutiérrez, L. F. & León Agatón, L. (2018). *Café. Un recorrido de la semilla a la taza* (L. M. Gallego Sepúlveda & J. I. Escobar Castro (Eds.)). Editorial Universidad de Caldas.

https://issuu.com/editorialucaldas/docs/librocafe__issuu

Díaz, F. O., Ormaza, A. M. & Rojano, B. A. (2018). Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza, Contenido de Compuestos Antioxidantes y la Actividad Antioxidante * Autor a qu. *Información Tecnológica*, 29(4), 31–42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000400031>

Dimitrov Todorov, S., Stojanovski, S., Iliev, I., Moncheva, P., Nero, L. A. & Vitanova

- Ivanova, I. (2017). Technology and safety assessment for lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian fermented meat product “lukanka.” *Brazilian Journal of Microbiology*, 48, 576–586. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.005>
- Djossou, O., Perraud-Gaime, I., Lakhel Mirleau, F., Rodriguez-Serrano, G., Karou, G., Niamke, S., Ouzari, I., Boudabous, A. & Roussos, S. (2011). Robusta coffee beans post-harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. as potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. *Anaerobe*, 17(6), 267–272. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.006>
- Duarte-Vogel, S. & Villamil-Jiménez, L. C. (2006). Micotoxins in public health. *Revista de Salud Publica (Bogota, Colombia)*, 8 Suppl 1(1), 129–135. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642006000400011>
- Duarte, G. S., Pereira, A. A. & Farah, A. (2010). Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, 118(3), 851–855. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.042>
- Duicela Guambi, L. A., Corral Castillo, R., Farfán Talledo, D., Cedeño Guerra, L., Palma Ponce, R., Sánchez Oviedo, J. & Villacís Sotomayor, J. C. (2003). *Caracterización física y organoléptica de cafés arábigos en los principales agrosistemas del Ecuador* (1ra ed.).
- Dutra, E. R., Oliveira, L. S., Franca, A. S., Ferraz, V. P. & Afonso, R. J. C. F. (2001). Preliminary study on the feasibility of using the composition of coffee roasting exhaust gas for the determination of the degree of roast. *Journal of Food Engineering*, 47(3), 241–246. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00116-3)

- Einloft, T. C., De Oliveira, P. B., Veras, F. F., Welke, J. E., Mallmann, C. A., Dilkin, P. & Dionello, R. G. (2017). Effect of bacillus spp. On aspergillus westerdijkieae growth, sporulation and ochratoxin a production in green-coffee medium. *Food Science and Technology*, 37(Special Issue), 24–27. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.05617>
- Elhalis, H., Cox, J. & Zhao, J. (2020). Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans. *International Journal of Food Microbiology*, 321(November 2019), 108544. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108544>
- Essia Ngang, J. J., Yadang, G., Sado Kamdem, S. L., Kouebou, C. P., Youte Fanche, S. A., Tsochi Kougan, D. L., Tsoungui, A. & Etoa, F. X. (2015). Antifungal properties of selected lactic acid bacteria and application in the biological control of ochratoxin A producing fungi during cocoa fermentation. *Biocontrol Science and Technology*, 25(3), 245–259. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.969195>
- Estrada, F. (2011). *Por los senderos del café. La bebida del diablo: Historia económica y política del café en Colombia.*
- Evangelista, S. R., Miguel, M. G. da C. P., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M. & Schwan, R. F. (2015a). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 210, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008>
- Evangelista, S. R., Miguel, M. G. da C. P., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M. & Schwan, R. F. (2015b). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 210, 102–112. <http://10.0.3.248/j.ijfoodmicro.2015.06.008>

- Evangelista, S. R., Silva, C. F., Miguel, M. G. P. da C., Cordeiro, C. de S., Pinheiro, A. C. M., Duarte, W. F. & Schwan, R. F. (2014). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*, 61, 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.033>
- FAO. (2020). *Grading and Classification of Green Coffee*.
- FAO. (2021, June). *Coffee*. <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/coffee/en/>
- FDA. (2018, January 4). *Microorganisms & Microbial-Derived Ingredients Used in Food (Partial List) | FDA*. <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/microorganisms-microbial-derived-ingredients-used-food-partial-list>
- Feng, X. (2016). *Culture-Dependent and -Independent Methods to Investigate the Predominant Microorganisms Associated with Wet Processed*. 190–195. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1047-3>
- Fernandez, L. (2017). *Estudio de factibilidad para producir cafés especiales en las fincas cafeteras grandes y medianas en el municipio de Andes, Antioquia*. 128.
- Ferreira Silva, C., Marques Vilela, D., de Souza Cordeiro, C., Duarte, W. F., Dias, D. R. & Schwan, R. F. (2013). Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 235–247. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1175-2>
- Ferreira Silva, C., Schwan, R., Sousa Dias, E. & Wheals, A. (2000). Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 60(2–3), 251–260. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00315-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00315-9)
- FNC. (1958). *Manual del Cafetero Colombiano* (pp. 1–28). Argra Ltda.

<https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/831/1/01>. Historia del café.pdf

FNC. (2002). *RESOLUCION NUMERO 5 DE 2002*.

<https://federaciondefeferos.org/static/files/RESOL5-2002.pdf>

FNC. (2017). FNC en cifras. *Federación Nacional de Cafeteros*, 366, 1–3.

www.federaciondefeferos.org

FNC. (2018a). *Informe compromiso social cafetero 2018*. <https://fncantioquia.org/Balance-2018/#/10/1>

FNC. (2018b). *Informe del gerente. CONGRESO NACIONAL DE CAFETEROS*.

https://www.federaciondefeferos.org/static/files/Periodico_IGG2018.pdf

FNC. (2020a). *HISTORIA DEL CAFÉ DE COLOMBIA*.

<https://www.cafedecolombia.com/particulares/historia-del-cafe-de-colombia/>

FNC. (2020b). *Informe compromiso social cafetero 2020*. <https://fncantioquia.org/balance-2020/#/caficultura>

FNC. (2021). *Cafés Especiales*. <https://federaciondefeferos.org/wp/glosario/cafes-especiales/>

FNC & Alcano, G. (2019). *LA EXPERIENCIA SENSORIAL DEL CAFÉ*.

https://www.ucc.edu.co/sitios/catalogo/SiteAssets/Lists/saladeprensa/poranyomes/cartilla_la_experiencia_sensorial_del_cafe.pdf

FNC & Cenicafé. (2013). *Manual del cafetero colombiano* (Vol. 148). LEGIS.

FNC & MADR. (2020). *Cadena de café*.

https://sioc.minagricultura.gov.co/Cafe/Documentos/2020-03-31_Cifras_Sectoriales.pdf

Freitas Schwan, R., Ferreira Silva, C. & Batista, L. R. (2012). Coffee fermentation. In H. Y.

H & E. E. Özgül (Eds.), *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage*

Technology (Issue May, pp. 682–684). CRC Press.

Frenkel-Pinter, M., Rajaei, V., Glass, J. B., Hud, N. V. & Williams, L. D. (2021). Water and Life: The Medium is the Message. *Journal of Molecular Evolution*, 89(1–2), 2–11.

<https://doi.org/10.1007/S00239-020-09978-6/FIGURES/3>

Gallego-Nicasio, V. (2018). *Preparación y cata de aguas, cafés e infusiones*. IC Editorial.

<https://books.google.com.co/books?id=x1EpEAAAQBAJ>

García-Moraleja, A., Font, G., Mañes, J. & Ferrer, E. (2015). Simultaneous determination of mycotoxin in commercial coffee. *Food Control*, 57, 282–292.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.04.031>

Geremew, T., Abate, D., Landschoot, S., Haesaert, G. & Audenaert, K. (2016). Occurrence of toxigenic fungi and ochratoxin A in Ethiopian coffee for local consumption. *Food Control*, 69, 65–73.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.025>

Gil Hernández, Á. & Sánchez de Medina Contreras, F. (2010). Legumbres, verduras y productos hotícolas. In *Tratado de nutrición* (2. ed.). Medica Panamericana.

Giner, J. (2001). Tostado y molido del café. *Forum Del Café*.

https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f_07-tostado_y_molido.pdf

Giner, J. (2009). El tueste del café. *Forum Del Café*, 1–9.

https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-37_tueste_de_cafe.pdf

Gómez, L., Caballero, A. & Baldión, V. (1991). *ECOTOPOS CAFETEROS*.

<https://biblioteca.cenicafe.org/jspui/bitstream/10778/818/1/lib13731.pdf>

Gonzalez, A. L., Lozano, V. A., Escandar, G. M. & Bravo, M. A. (2020). Determination of ochratoxin A in coffee and tea samples by coupling second-order multivariate

calibration and fluorescence spectroscopy. *Talanta*, 219, 121288.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121288>

Gupta, R. C., Srivastava, A. & Lall, R. (2018). Ochratoxins and Citrinin. In *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles: Third Edition* (pp. 1019–1027). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00072-6>

Haile, M. & Kang, W. H. (2019). The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. *Journal of Food Quality*, 2019.

<https://doi.org/10.1155/2019/4836709>

Holzapfel, W. H. & Wood, B. J. B. (2014). Introduction to the LAB. In *Lactic Acid Bacteria* (Vol. 9781444333831, pp. 1–12). John Wiley & Sons, Ltd.

<https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch1>

Huch, M. & Franz, C. (2014). Coffee: Fermentation and microbiota. In *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits* (pp. 501–513). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00021-9>

Humaid, A. A. H., Alghalibi, S. M. S. & Khalqi, E. A. A. A.-. (2019). Aflatoxins and Ochratoxin A Content of Stored Yemeni Coffee Beans and Effect of Roasting on Mycotoxin Contamination. *International Journal of Molecular Microbiology*, 2(1),

11–21. <https://www.journals.pscmpublishers.org/index.php/ijmm/article/view/303>

ICO. (2021). *Coffee Market Report*. <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>

ICONTEC. (1999). *NTC 4602-1*.

ICONTEC. (2000). *NTC 4883*.

ICONTEC. (2002). *NTC 3566. Norma Técnica*.

ICONTEC. (2004). NTC 2442. *Norma*.

Ingraham, J. L. & Ingraham, C. A. (1998). Biotecnología Microbiana. In *Introducción a la microbiología* (Vol. 2, pp. 733–751). Reverte.

International Trade Centre. (2020). *Coffee quality-Moisture content and drying*.

<http://www.thecoffeeguide.org/coffee-guide/coffee-quality/moisture-content-and-drying/>

International Trade Centre. (2021). *Coffee quality Specific aspects affecting quality and*

price. <https://www.intracen.org/coffee-guide/coffee-quality/specific-aspects-affecting-quality-and-price/>

Jackeles, S. C. & Jackeles, C. F. (2005). Characterization of the Coffee Mucilage

Fermentation Process Using Chemical Indicators: A Field Study in Nicaragua. *Journal of Food Science*, 70(5), 321–325.

Jackels, S. C. & Jackels, C. F. (2005). Characterization of the Coffee Mucilage

Fermentation Process Using Chemical Indicators: A Field Study in Nicaragua. *Journal of Food Science*, 70(5), C321–C325. <http://10.0.4.87/j.1365-2621.2005.tb09960.x>

Jiyuan, S., de Bruyn, F. & SCA. (2019, September 2). *The Fermentation Effect*.

<https://sca.coffee/sca-news/25-magazine/issue-10/english/the-fermentation-effect-25-magazine-issue-10>

Jiyuan Zhang, S., De Bruyn, F., Pothakos, V., Contreras, G. F., Cai, Z., Moccand, C.,

Weckx, S. & De Vuyst, L. (2019). Influence of Various Processing Parameters on the Microbial Community Dynamics, Metabolomic Profiles, and Cup Quality During Wet Coffee Processing. *Frontiers in Microbiology*, 10(November), 1–24.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02621>

- Jiyuan Zhang, S., De Bruyn, F., Pothakos, V., Torres, J., Falconi, C., Moccand, C., Weckx, S. & De Vuyst, L. (2019). Following Coffee Production from Cherries to Cup: Microbiological and Metabolomic Analysis of Wet Processing of *Coffea arabica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(6), e02635-18.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02635-18>
- Kalmanovitz, S. (2019). *Nueva historia económica de Colombia*. Penguin Random House.
- Kleinwächter, M., Bytof, G. & Selmar, D. (2015). Coffee Beans and Processing. In *Coffee in Health and Disease Prevention* (pp. 73–81). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00009-7>
- Leong, K. H., Chen, Y. S., Pan, S. F., Chen, J. J., Wu, H. C., Chang, Y. C. & Yanagida, F. (2014). Diversity of lactic acid bacteria associated with fresh coffee cherries in taiwan. *Current Microbiology*, 68(4), 440–447. <https://doi.org/10.1007/s00284-013-0495-2>
- Lingle, T. & Menon, S. (2017). Cupping and Grading-Discovering Character and Quality. *The Craft and Science of Coffee*, 181–203. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00008-6>
- Liu, shao quan, Lee, L. W., Liu, S. Q., Cheong, M. W., Curran, P. & Yu, B. (2015). Coffee fermentation and flavor - An intricate and delicate relationship. In *FOOD CHEMISTRY* (Vol. 185, pp. 182–191).
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edswsc&AN=000355027100023&lang=es&site=eds-live>
- Lopes, M. ., Amorim, L. ., Godoy, A., Oliveira, A. ., Cherubin, R. & Basso, L. . (2004). *Interaction between yeast and acetic acid bacteria in industrial fermentation for ethanol production: A case study*.

https://www.researchgate.net/publication/309458126_Interaction_between_yeast_and_acetic_acid_bacteria_in_industrial_fermentation_for_ethanol_production_A_case_study

Ma, J., Hong, Y., Deng, L., Yi, L. & Zeng, K. (2019). Screening and characterization of lactic acid bacteria with antifungal activity against *Penicillium digitatum* on citrus.

Biological Control, 138(July), 104044.

<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104044>

Madigan, M. T., Guerrero, R. & Sánchez Pérez, M. (2009). Principios de microbiología. In *Brock, biología de los microorganismos* (p. 152). Pearson Educación.

Magnusson, J. & Schnürer, J. (2001). *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain

Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and*

Environmental Microbiology, 67(1), 1–5. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.1-5.2001>

Magnusson, Jesper, Ström, K., Roos, S., Sjögren, J. & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria.

FEMS Microbiology Letters, 219(1), 129–135. [https://doi.org/10.1016/S0378-](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01207-7)

[1097\(02\)01207-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01207-7)

Marín López, S., Arcilla Pulgarín, J., Montoya Restrepo, E. & Oliveros Tascón, C. (2003).

Relación entre el estado de madurez del fruto del café y las características de beneficio rendimiento y calidad de la bebida. *Cenicafé*, 54(4), 297–315.

<https://www.cenicafe.org/es/publications/arc054%2804%29297-315.pdf>

Martínez Castro, V. M. (2016). *Efecto de la composición del café cosechado (Coffea*

arábica L.) sobre la calidad sensorial de la bebida en fincas con potencial de

producción de cafés especiales en el suroeste del departamento de Antioquia. 127.

<http://www.bdigital.unal.edu.co/51855/1/93339220.2016.pdf>

Masoud, W., Bjørg Cesar, L., Jespersen, L. & Jakobsen, M. (2004). Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. In *Yeast (Chichester, England)* (Vol. 21). <https://doi.org/10.1002/yea.1124>

Masoud, W. & Jespersen, L. (2006). Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa. *International Journal of Food Microbiology*, 110(3), 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.030>

Massawe, G. A. & Lifa, S. J. (2010). Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 2(1), 41–82. <https://doi.org/10.1504/IJPTI.2010.038187>

Medina, I. (2016, August 18). *Los sabores del café de Colombia | Estilo | EL PAÍS*. https://elpais.com/elpais/2016/08/18/estilo/1471556222_428781.html

Menco Tapia, Y. (2020). *Estudio del comportamiento cinético de hongos y su relación con las características fisicoquímicas en el proceso de fermentación del mucílago de café (Coffea arabica L.) En la sierra nevada de santa marta* [Universidad del Magdalena]. [http://repositorio.unimagdalena.edu.co/jspui/bitstream/123456789/5481/1/Yuliana Menco- Informe final pasantía de investigación.pdf](http://repositorio.unimagdalena.edu.co/jspui/bitstream/123456789/5481/1/Yuliana%20Menco-Informe%20final%20pasantía%20de%20investigación.pdf)

Merck. (2019). *Technical Data Sheet GranuCult™ MRS Agar*. 1–4.

Minagricultura. (2019). *Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo*. <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>

Resolución Número 4506 De 2013, “Por la cual se establecen los niveles máximos de contaminantes en los alimentos destinados al consumo humano y se dictan otras

disposiciones” 1 (2013).

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-4506-de-2013.pdf>

Moldvaer, A. (2021). *The Coffee Book*.

Mozzi, F. (2015). Lactic Acid Bacteria. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 501–508). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00414-1>

Mutua, J. & FAO. (2000a). *Green Coffee Classification and Grading*. POST HARVEST HANDLING AND PROCESSING OF COFFEE IN AFRICAN COUNTRIES.

<http://www.fao.org/3/x6939e/X6939e13.htm>

Mutua, J. & FAO. (2000b). *Post Harvest Handling and Processing of Green Coffee in African Countries*. <http://www.fao.org/3/X6939E/X6939e03.htm>

Nair, J. R., Singh, G. & Sekar, V. (2002). Isolation and characterization of a novel *Bacillus* strain from coffee phyllosphere showing antifungal activity. *Journal of Applied Microbiology*, 93(5), 772–780. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01756.x>

Nakajima, M., Tsubouchi, H., Miyabe, M. & Ueno, Y. (2008). Survey of aflatoxin B 1 and ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. *Food and Agricultural Immunology*. <https://doi.org/10.1080/09540109709354938>

Nasanit, R. & Satyawut, K. (2015). Microbiological study during coffee fermentation of *Coffea arabica* var. chiangmai 80 in Thailand. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 49(1), 32–41.

OMS. (2018, May 9). *Micotoxinas*. <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/mycotoxins>

Osorio Pérez, V., Pabón Usaquén, J., Gallego Agudelo, C. & Echeverri-Giraldo, L. F.

(2021). *Efecto de las temperaturas y tiempos de tueste en la composición química del café*. 72(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.38141/10778/72103>

Ostry, V., Malir, F. & Ruprich, J. (2013). Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. *Toxins*, 5(9), 1574–1586.

<https://doi.org/10.3390/toxins5091574>

Pantoja López, F., Rojas Gutiérrez, P. A., Oriana, L., Macias, M., Sofía, E., Quinayás, T., Rojas Ome, Y., Arcos, C. A., Mercedes Ordoñez, C. & Vega, G. A. (2015). ESTUDIO DE ALGUNAS VARIABLES EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CAFÉ Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE TAZA EN EL SUR DE COLOMBIA. In *Cienc. Tecnol* (Vol. 3, Issue 1).

Peñuela-Martínez. (2010). REMOCIÓN DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ A TRAVÉS DE FERMENTACIÓN NATURAL. In *Cenicafé* (Vol. 61, Issue 2).

Peñuela-Martínez, A. E., Romero-Tabarez, M. & Zapata-Zapata, A. D. (2021). Functional diversity of microbial communities associated with fermentation processes in coffee (*Coffea arabica* L.). *Coffee Science - ISSN 1984-3909*, 16, e161825–e161825.

<https://doi.org/10.25186/V16I.1825>

Peñuela-Martínez, A. E., Zapata-Zapata, A. D. & Durango-Restrepo, D. L. (2018). Performance of different fermentation methods and the effect on coffee quality (*Coffea arabica* L.). *Coffee Science*, 4, 465–476.

<http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/111118>

Perczak, A., Goliński, P., Bryła, M. & Waśkiewicz, A. (2018). The efficiency of lactic acid bacteria against pathogenic fungi and mycotoxins. *Arhiv Za Higijenu Rada i*

Toksikologiju, 69(1), 32–45. <https://doi.org/10.2478/aiht-2018-69-3051>

Pereira, G. V. de M., de Carvalho Neto, D. P., Medeiros, A. B. P., Soccol, V. T., Neto, E.,

Woiciechowski, A. L. & Soccol, C. R. (2016). Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing.

International Journal of Food Science and Technology, 51(7), 1689–1695.

<https://doi.org/10.1111/ijfs.13142>

Pérez, J. (2013). *Economía cafetera y desarrollo económico en Colombia* (J. O. Lizcano Gil

(Ed.)). Universidad Jorge Tadeo Lozano. www.utadeo.edu.co

Phan, A., Miyakawa, T. & Tanokura, M. (2016). Metabolomics study of green coffee

beans. In D. Bagchi, H. Moriyama & A. Swaroop (Eds.), *Green coffee bean extract in human health*.

Pothakos, V., De Vuyst, L., Zhang, S. J., De Bruyn, F., Verce, M., Torres, J., Callanan, M.,

Moccand, C. & Weckx, S. (2020). Temporal shotgun metagenomics of an Ecuadorian coffee fermentation process highlights the predominance of lactic acid bacteria.

Current Research in Biotechnology, 2, 1–15.

<https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2020.02.001>

Puerta, G. (2010). *Avances técnicos 402*. 12.

<https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0402.pdf>

Puerta, G. (2013). *CINÉTICA QUÍMICA DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCÍLAGO DE*

CAFÉ A TEMPERATURA AMBIENTE (Vol. 64, Issue 1).

Puerta, G. & Echeverry, J. (2015a). Fermentación controlada del café: Tecnología para

agregar valor a la calidad. *Avances Técnicos / Cenicafé*, 454, 12.

Puerta, G. & Echeverry, M. (2015b). Fermentación controlada del café. *Avances Técnicos /*

Cenicafé, 454, 12.

Puerta, G., Mejía Marín, J. & Osorio Betancur, G. (2012). MICROBIOLOGÍA DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ SEGÚN SU MADUREZ Y SELECCIÓN. *Cenicafé*, 63(2), 58–78.

Puerta Quintero, G. I. & Cenicafé. (2012). *Factores, procesos y controles en la fermentación del café*. www.cenicafe.org

Pulgarín, J. (2007). Crecimiento y desarrollo de la planta de café. In H. F. Ospina O. & S. M. Marín L. (Eds.), *Sistemas de producción de café en Colombia* (1ra ed.). Cenicafé.

Radu, F., Popescu, S., Rotariu, L., Cozma, A. & Butnariu, M. (Eds.). (2018). EFFECT OF SOME PROBIOTIC BACTERIA ON THE REDUCTION OF AFLATOXIN B1 PRODUCTION IN STORED ARABICA COFFEE BEANS. In : *Environmental–biochemical cooperation for prognosis of natural water and soil pollution in the Hungarian–Romanian cross–border region to shun catastrophe*.

https://www.researchgate.net/publication/332253294_EFFECT_OF_SOME_PROBIOTIC_BACTERIA_ON_THE_REDUCTION_OF_AFLATOXIN_B1_PRODUCTION_IN_STORED_ARABICA_COFFEE_BEANS

Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N. & Penna, A. L. B. (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. In *Food Engineering Reviews* (Vol. 4, Issue 2, pp. 124–140). Springer. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>

Remize, F., Leneveu-Jenvrin, C. & Garcia, C. (2021). Editorial for Special Issue “Lactic Acid Bacteria, Biopreservation Agents for Fruit and Vegetables.” *Microorganisms* 2021, Vol. 9, Page 939, 9(5), 939.

<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9050939>

Ribeiro, L. S., Evangelista, S. R., da Cruz Pedrozo Miguel, M. G., van Mullem, J., Silva, C.

F. & Schwan, R. F. (2018). Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. *Annals of Microbiology*, 68(10), 705–716. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1377-4>

Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. da C. P., Martinez, S. J., Bressani, A. P. P., Evangelista, S. R.,

Batista, C. F. S. e & Schwan, R. F. (2020). The use of mesophilic and lactic acid bacteria strains as starter cultures for improvement of coffee beans wet fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2020 36:12, 36(12), 1–15.

<https://doi.org/10.1007/S11274-020-02963-7>

Ríos, P.-Q. G. I. ; & Sara, A. (2011). *COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ, SEGÚN EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN Y REFRIGERACIÓN*. 62(hasta 1999), 23–40. <http://www.cenicafe.org/es/documents/2.pdf>

Rodriguez, M. (2010, June). *La física y química en el tueste del café*.

https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-41_fisica_quimica_tueste.pdf

Romanens, E., Freimüller Leischtfeld, S., Volland, A., Stevens, M., Krähenmann, U., Isele,

D., Fischer, B., Meile, L. & Miescher Schwenninger, S. (2019). Screening of lactic acid bacteria and yeast strains to select adapted anti-fungal co-cultures for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 290(March 2018), 262–272. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.10.001>

Rosavani, M. & Harada, H. (2019). Presence of Ochratoxin in a Green Coffee Beans

Processed Naturally by Smallholder Farmers in Jember. *Novel Techniques in Nutrition*

- & *Food Science*, 3(3), 2–3. <https://doi.org/10.31031/ntnf.2019.03.000565>
- Rouse, S., Harnett, D., Vaughan, A. & Sinderen, D. Van. (2008). Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. *Journal of Applied Microbiology*, 104(3), 915–923. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2672.2007.03619.X>
- Ruggirello, M., Nucera, D., Cannoni, M., Peraino, A., Rosso, F., Fontana, M., Cocolin, L. & Dolci, P. (2019). Antifungal activity of yeasts and lactic acid bacteria isolated from cocoa bean fermentations. *Food Research International*, 115, 519–525. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.002>
- Ruiz, D., Riaño, C. & Orozco, L. (2015). Evaluación Sensorial Del Café. *Solidaridad Network*, 37.
- Sakiyama, N. S. & Ferrão, M. A. G. (2014). Botany and production of coffee. In *Cocoa and Coffee Fermentations* (pp. 341–361).
- Savitha, T. & Sankaranarayanan, A. (2021). Role of Probiotic Microbes Exerting Nutritional Properties. *Advances in Probiotics*, 163–184. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822909-5.00011-3>
- SCA. (2003). *Cupping Protocols and Procedures*. <https://sca.coffee/research/protocols-best-practices>
- SCA. (2015). Cupping Specialty Coffee. *SCAA Protocols*, 1–10.
- SCA. (2019). *El café Arábica lavado Guía de defectos del café verde* (Vol. 3).
- SCA. (2021a). *Coffee Plants of the World*. <https://sca.coffee/research/coffee-plants-of-the-world>
- SCA. (2021b, July). *Protocols & Best Practices — Specialty Coffee Association*. <https://sca.coffee/research/protocols-best-practices>

Scharlau. (2021). *M17. Mic*, 11–13.

Schnürer, J. & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives.

Trends in Food Science and Technology, 16(1–3), 70–78.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>

Schwan, R. F. & Fleet, G. H. (2015). *Cocoa and Coffee Fermentations*. Taylor & Francis.

SCI. (2020). *Sustainable Coffee Institute*. <https://www.sci.coffee/>

Siedler, S., Balti, R. & Neves, A. R. (2019). Bioprotective mechanisms of lactic acid

bacteria against fungal spoilage of food. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 138–

146. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.015>

Silva, C. F., Batista, L. R., Abreu, L. M., Dias, E. S. & Schwan, R. F. (2008). Succession of

bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation.

Food Microbiology, 25(8), 951–957. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2008.07.003>

Soliman, K. M. (2002). Incidence, level, and behavior of aflatoxins during coffee bean

roasting and decaffeination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25),

7477–7481. <https://doi.org/10.1021/jf011338v>

Soriano del Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos* (Ediciones Díaz de S...).

<https://books.google.com.co/books?id=wgRVcFvk-->

IC&pg=PA168&dq=aflatoxinas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKewj_2pG74PbuAhWPO1

kKHTvpBuAQ6AEwAXoECAEQAg#v=onepage&q=aflatoxinas&f=false

Soto, B. (2019). Fermentation Processes. In *Fermentation processes* (pp. 1–20). ED-Tech

Press.

Sterling, T., Miller, K., Lopez, A. & Camu, N. (2012). Cocoa and coffee. In M. Doyle & R.

L. Buchanan (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (4ta ed.).

- American Society for Microbiology Press. https://books.google.com.co/books?id=furBAAAQBAJ&dq=coffee+mucilage+degradation&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- Resolución 4819, Pub. L. No. 4819 (2005).
- [https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Denominacion de Origen/Agro - Alimenticios/Café de Colombia/cafede_colombia.pdf](https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Denominacion%20de%20Origen/Agro-Alimenticios/Café%20de%20Colombia/cafede_colombia.pdf)
- Tabla de códigos Pantone y RGB - Logorapid.* (n.d.). Retrieved August 18, 2020, from <https://www.logorapid.com/pantone>
- Toci, A. & Boldrin, M. (2018). Coffee Beverages and Their Aroma Compounds. *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes*, 1–30. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811518-3.00012-0>
- Tran, T., Grandvalet, C., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H. & Tourdot-Maréchal, R. (2020). Microbial Dynamics between Yeasts and Acetic Acid Bacteria in Kombucha: Impacts on the Chemical Composition of the Beverage. *Foods*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/foods9070963>
- Twarużek, M., Kosicki, R., Kwiatkowska-Giżyńska, J., Grajewski, J. & Ałtyn, I. (2020). Ochratoxin A and citrinin in green coffee and dietary supplements with green coffee extract. *Toxicon*, 188, 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.10.021>
- UEIA. (2014). *Cafeto (Coffea arabica)*. <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/91>
- Varangis, P., Siegel, P., Lewin, B. & Giovannucci, D. (2003). *Región centroamericana La crisis cafetalera: Efectos y estrategias para hacerle frente.* <https://federaciondecafeteros.org/static/files/4.crisiscafetaleraeffectos.pdf>
- Velásquez, R. & Asociación Nacional del Café (Anacafé). (2019). *Guía de variedades de*

café (Segunda).

<https://www.anacafe.org/uploads/file/9a4f9434577a433aad6c123d321e25f9/Guía-de-variedades-Anacafé.pdf>

Viegas, C., Pacífico, C., Faria, T., de Oliveira, A. C., Caetano, L. A., Carolino, E., Gomes,

A. Q. & Viegas, S. (2017). Fungal contamination in green coffee beans samples: A

public health concern. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A:*

Current Issues, 80(13–15), 719–728. <https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1286927>

Vieira, T., Cunha, S. & Casal, S. (2015). *Mycotoxins in Coffee* (V. R. B. T.-C. in H. and D.

P. Preedy (Ed.); pp. 225–233). Academic Press.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00025-5>

Vilela, D. M., Pereira, G. V. de M., Silva, C. F., Batista, L. R. & Schwan, R. F. (2010).

Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with

semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology*, 27, 1128–1135.

<http://10.0.3.248/j.fm.2010.07.024>

Vinícius de Melo Pereira, G., de Carvalho Neto, D. P., Magalhães Júnior, A. I., Vásquez, Z.

S., Medeiros, A. B. P., Vandenberghe, L. P. S. & Soccol, C. R. (2019). Exploring the

impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review.

Food Chemistry, 272(December 2017), 441–452.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>

Vinícius de Melo Pereira, G., Soccol, V. T., Brar, S. K., Neto, E., Soccol, C. R. & Vinícius

de Melo Pereira, G. (2017). Microbial ecology and starter culture technology in coffee

processing. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 57(13), 2775–2788.

<http://10.0.4.56/10408398.2015.1067759>

Voet, D. & Voet, J. G. (2006). Soluciones Acuosas. In *Bioquímica* (3ra ed., pp. 41–52).

Medica Panamericana.

Wang, X. & Lim, L.-T. (2014). Physicochemical Characteristics of coffee. In *Coffee in Health and Disease Prevention* (pp. 247–254).

Wilson, H. (2021, August 2). *Understanding coffee bean density*.

<https://perfectdailygrind.com/2021/08/understanding-coffee-bean-density/>