



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 1

Neiva, 22 de febrero de 2021

Señores

**CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA**

Ciudad

El suscrito:

MANUEL ALEJANDRO PAJOY TRUJILLO, con C.C. No. 1.081.419.420, Autor de la tesis y/o trabajo de grado titulado **EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE LEVADURAS EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CAFÉ (Coffea arabica) Y SU INCIDENCIA EN LA CALIDAD EN TAZA** presentado y aprobado en el año 2021 como requisito para optar al título de INGENIERO AGRÍCOLA; Autorizo al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "Open Access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

MANUEL ALEJANDRO PAJOY TRUJILLO
C.C. 1.081.419.420



TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE LEVADURAS EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CAFÉ (Coffea arabica) Y SU INCIDENCIA EN LA CALIDAD EN TAZA.

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
PAJOY TRUJILLO	MANUEL ALEJANDRO

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
AMOROCHO CRUZ	CLAUDIA MILENA

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
LADINO GARZÓN CRUZ FLOR	WILMER LICERIO WILSON RODRIGO

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: INGENIERO AGRÍCOLA

FACULTAD: INGENIERÍA

PROGRAMA O POSGRADO: AGRÍCOLA

CIUDAD: NEIVA

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2021

NÚMERO DE PÁGINAS: 31

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas X Fotografías X Grabaciones en discos ___ Ilustraciones en general X Grabados ___
Láminas ___ Litografías ___ Mapas ___ Música impresa ___ Planos ___ Retratos ___ Sin ilustraciones ___ Tablas
o Cuadros X

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento: N/A

MATERIAL ANEXO: N/A

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria): N/A

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. <u>Análisis sensorial</u>	<u>Sensory analysis</u>
2. <u>Actividad antimicrobiana</u>	<u>Antimicrobial activity</u>
3. <u>Cultivos monospóricos</u>	<u>Monosporic crops</u>
4. <u>Candida krusei/inconspicua</u>	<u>Candida krusei/inconspicua</u>
5. <u>API 20 C aux.</u>	<u>API 20 C aux</u>

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

El departamento del Huila en los últimos diez años es considerado uno de los mayores productores de café tradicional de Colombia, pero la cadena consumidora de café está evolucionando en cafés de alta calidad con mejores atributos en taza, menor factor de rendimiento y mejoras en la técnica de recolección. Así, se propone evaluar los cambios sensoriales que puede provocar la adición de levaduras a diferentes concentraciones en el proceso de fermentación de café lavado en un periodo de 18 horas de fermentación. Inicialmente se activó la levadura sometándose a pruebas bioquímicas, monitoreo de curvas de crecimiento microbiano (Log UFC/ml y



absorbancia), y pruebas antimicrobianas con diferentes patógenos (*S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705). Para el proceso del café (cereza y café baba) se realizó caracterización fisicoquímica, evaluando parámetros como color, pH y sólidos solubles pasando al proceso de fermentación donde se obtuvieron 9 tanques en los que se adicionó levadura con concentraciones entre $3,8 \cdot 10^5$ y $2,0 \cdot 10^6$ UFC/ml, adicionalmente se obtuvo crecimiento e identificación de hongos en los granos de café pergamino seco (CPS) con humedad del 12% y se finalizó con análisis sensorial basados en el protocolo de cata según la SCA (Specialty Coffee Association).

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

The department of Huila in the last ten years is considered one of the largest producers of traditional coffee in Colombia, but the coffee consumption chain is evolving in high quality coffees with better cup attributes, lower yield factor and improvements in the harvesting technique. Thus, it is proposed to evaluate the sensory changes that can be provoked by the addition of yeasts at different concentrations in the process of fermentation of washed coffee in a period of 18 hours of fermentation. Initially the yeast was activated by undergoing biochemical tests, monitoring of microbial growth curves (Log CFU/ml and absorbance), and antimicrobial tests with different pathogens (*S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705). For the process of coffee (cherry and slime coffee) it was carried out a physicochemical characterization, evaluating parameters such as color, pH and Brix degrees, passing to the fermentation process where 9 tanks were obtained in which yeast was added with concentrations between $3,8 \cdot 10^5$ y $2,0 \cdot 10^6$ UFC/ml, additionally it was obtained growth and identification of fungi in the grains of dry parchment coffee (CPS) with humidity of 12% and it was finished with sensorial analysis based on the tasting protocol according to the SCA (Specialty Coffee Association).

APROBACIÓN DE LA TESIS

Nombre Presidente Jurado:

CLAUDIA MILEMA AMOROCHO CRUZ

Nombre Jurado:

WILSON RODRIGO CRUZ FLOR

Nombre Jurado:

WILMER LICERIO LADINO GARZON

Evaluación de la adición de levaduras en el proceso de fermentación de café (*coffea arábica*) y su incidencia en la calidad en taza.

Evaluation of the addition of yeast in the coffee fermentation process (*coffea arabica*) and its impact on cup quality.

Manuel Alejandro Pajoy Trujillo¹, Claudia Milena Amorocho Cruz²

Fecha de recibo: febrero 2021

Fecha de revisión:

Fecha de aprobación:

Resumen

El departamento del Huila en los últimos diez años es considerado uno de los mayores productores de café tradicional de Colombia, pero la cadena consumidora de café está evolucionando en cafés de alta calidad con mejores atributos en taza, menor factor de rendimiento y mejoras en la técnica de recolección. Así, se propone evaluar los cambios sensoriales que puede provocar la adición de levaduras a diferentes concentraciones en el proceso de fermentación de café lavado en un periodo de 18 horas de fermentación. Inicialmente se activó la levadura sometiéndose a pruebas bioquímicas, monitoreo de curvas de crecimiento microbiano (Log UFC ml⁻¹ y absorbancia), y pruebas antimicrobianas con diferentes patógenos (*S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705). Para el proceso del café (cereza y café baba) se realizó caracterización fisicoquímica, evaluando parámetros como color, pH y sólidos solubles pasando al proceso de fermentación donde se obtuvieron 9 tanques en los que se adicionó levadura con concentraciones entre $3,8 \cdot 10^5$ y $2,0 \cdot 10^6$ UFC/ml, adicionalmente se obtuvo crecimiento e identificación de hongos en los granos de café pergamino seco (CPS) con humedad del 12% y se finalizó con análisis sensorial basados en el protocolo de cata según la SCA (Specialty Coffee Association).

Palabras clave: Análisis sensorial; actividad antimicrobiana; cultivos monospóricos; *Candida krusei/inconspicua*; API 20 C aux.

The department of Huila in the last ten years is considered one of the largest producers of traditional coffee in Colombia, but the coffee consumption chain is evolving in high quality coffees with better cup attributes, lower yield factor and improvements in the harvesting technique. Thus, it is proposed to evaluate the sensory changes that can be provoked by the addition of yeasts at different concentrations in the process of fermentation of washed coffee in a period of 18 hours of fermentation. Initially the yeast was activated by undergoing biochemical tests, monitoring of microbial growth curves (Log CFU/ml and absorbance), and antimicrobial tests with different pathogens (*S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705). For the process of coffee (cherry and slime coffee) it was carried out a physicochemical characterization, evaluating parameters such as color, pH and Brix degrees, passing to the fermentation process where 9 tanks were obtained in which yeast was added with concentrations between $3,8 \cdot 10^5$ y $2,0 \cdot 10^6$ UFC/ml, additionally it was obtained growth and identification of fungi in the grains of dry parchment coffee (CPS) with humidity of 12% and it was finished with sensorial analysis based on the tasting protocol according to the SCA (Specialty Coffee Association).

Keywords: sensory análisis; antimicrobial activity; monosporic crops; *Candida krusei/inconspicua*; API 20 C aux.

¹ Estudiante de Ingeniería Agrícola, Universidad Surcolombiana, u20151139044

² PhD Profesor Ingeniería Agrícola, Universidad Surcolombiana, claudiamilena.amorocho@usco.edu.co

1. Introducción

El café sobresale en la economía mundial ocupando el segundo puesto después del petróleo, teniendo un movimiento de más de 90 billones de dólares por año, es la segunda bebida más consumida en el mundo siendo universal sin distinción socioeconómica, raza, cultura y religión. Presenta una enorme importancia en el campo científico, agro-cultural, social y comercial (Arias et al., 2018; Gava et al., 2017; Haile & Kang, 2019; Patay et al., 2017).

En el mercado internacional Colombia es reconocido por la producción de café suave lavado dentro de los cafés arábigos (Arias et al., 2018; Vásquez, 2015) convirtiéndolo en el mayor proveedor de cafés especiales (Yela, 2019). Colombia cuenta con 20 departamentos cafeteros de los cuales 16 presentan producción significativa con más de 500.000 familias cafeteras (Samboní, 2017; Yela, 2019). El Huila es un departamento de 37 municipios de los cuales 35 son cafeteros, es categorizado como el productor más importante, con una participación del 18,48 % que equivale a 800 mil sacos de 60 kilos de café pergamino seco (Marique & Gutierrez, 2018; Yela, 2019).

El café es una planta tropical que pertenece a la familia de las Rubiáceas con 450 géneros y más de 6500 especies, la planta de café puede llegar a medir entre 4,5 a 10 m y crece a una altitud de 950 a 2000 m.s.n.m con temperaturas entre 18 y 22°C, sus hojas miden 12 cm de longitud aproximadamente, su floración es pequeña y muy aromática de color blanco, sus frutos son drupas que se caracterizan por tener una hendidura en la parte central, se presenta en diferentes tamaños, colores y formas (Gava et al., 2017; Virgüez & Castro, 2019); de las especies de café existentes solo se destacan dos desde el punto de vista agroeconómico que son el *Coffea arabica* y el *Coffea canephora* (Gava

et al., 2017; Patay et al., 2017; R. Schwan et al., 2012; Vásquez, 2015). El *Coffea arabica* se le considera el mayor productor con alta valoración para el comercio de los granos de café, esta especie se adapta mejor a regiones templadas y altitudes elevadas, contiene mayor concentración de lípidos y sacarosos con un sabor más fino y acentuado comparado con el *Coffea canephora*.; el *Coffea canephora* es más rustico con mejor adaptación en regiones de baja altitud y temperaturas altas, contiene mayor concentración de polisacáridos, cafeína, ácidos clorogénicos y cenizas (Toledo et al., 2016; Trejo et al., 2018).

El café es llamado *kahvah* o *cahue* que provienen de vocablo árabe *quahweh* y significa vino, también es llamado *caffé* en Italia, *kaffee* y *koffie* en Alemania, *coffee* en estados unidos e Inglaterra y en América del Sur y Francia es llamado café (Gava et al., 2017).

Originalmente el café se cultivaba en la región de Kaffa en Etiopia, en los años 1000 D.C se realizaban infusiones de cereza de café, para el siglo XIV los granos de café eran mezclados con grasa animal y se utilizaba como alimento energizante para las personas, también eran proporcionados como alimento para los rebaños siendo un energizante para largos viajes. Finalmente para el siglo XV se desarrolló el proceso de tueste, progresando a una bebida equivalente a la de hoy en día (Camacho & Merino, 2018; Patay et al., 2017; R. Schwan et al., 2012).

La calidad de café depende de varios factores como el origen genético, latitud, altitud, clima del lugar del cultivo, cuidados sanitarios, prácticas agronómicas, cultura cafetera, calidad de la cosecha y control durante los procesos de beneficio, trilla, almacenamiento, tueste y preparación de la bebida (Camacho & Merino, 2018; Ladino et al., 2016; Trejo et al., 2018; Vásquez, 2015).

La cadena productiva del café se integra en tres etapas, en la primera etapa se encuentra el proceso de siembra, la recolección y beneficio del café; en la segunda etapa se encuentra la trilla (Separación de la cascarilla del grano verde), el tueste, la molienda y el empaque; y en la tercera etapa se encuentra la distribución y comercialización del producto (J. J. G. Quintero et al., 2017).

En los procesos de beneficio una vez cosechado el fruto de café maduro (café cereza) debe ser procesado y transformado rápidamente a café pergamino seco (CPS) existiendo diferentes métodos para el beneficio del café en los que se encuentran el beneficio por vía seca, beneficio húmedo convencional, beneficio semi-húmedo y beneficio ecológico (S. Carvajal, 2019; Duicela & Sofía, 2018; J. J. G. Quintero et al., 2017; N. Rodríguez et al., 2015). El beneficio por vía seca es la transformación del café cereza a café natural por medio de la deshidratación (secado) del fruto sin retirar el pericarpio (piel externa del fruto); en el beneficio húmedo convencional el grano de café es sometido a los procesos de despulpado, fermentado, lavado y secado; en el beneficio semi-húmedo el grano de café es sometido a los procesos de despulpado y secado ; y, para el beneficio ecológico el grano de café es despulpado y pasado por el desmucilagador mecánico que realiza el retiro de mucilago mecánicamente dejándolo listo para el secado (S. Carvajal, 2019; Duicela & Sofía, 2018; Elizabeth et al., 2016; N. Rodríguez et al., 2015).

Dentro del beneficio del café para los métodos de vía seca y húmeda el grano presenta procesos microbiológicos que se asocia a la degradación de la pulpa y mucilago por medio de microorganismos debido a los azúcares y pectinas presentes en el fruto (Córdoba & Guerrero, 2016; G. I. P. Quintero & Molina, 2015). La fermentación puede ser determinante para la calidad del grano

generando cambios en el color, olor, densidad, acidez, pH, actividad de agua y composición química del grano que son factores relevantes en la calidad final de la bebida y van directamente asociados con el tiempo de fermentación (Córdoba & Guerrero, 2016; G. I. P. Quintero & Molina, 2015).

La fermentación es un proceso metabólico de bacterias y levaduras en la descomposición de azúcares para la producción de alcoholes, ácidos y otros compuestos que pueden inferir en la calidad de la bebida final (Evangelista et al., 2014; Ladino, 2017; Ramos et al., 2010; Sanchez, 2018; Silva et al., 2013) . El tiempo de fermentación es variable debido a que los granos inmersos en el sustrato absorban los compuestos resultantes de la fermentación añadiendo propiedades positivas o negativas a la bebida (Ladino, 2017; G. I. P. Quintero & Molina, 2015; Ramos et al., 2010).

Desde la década de 1920 han aislado bacterias, levaduras y hongos de los frutos del café, algunos autores infieren que no hay participación de microorganismos en la degradación del mucilago, pero otros afirman lo contrario (Schwan et al., 2012). Las bacterias tienen un tamaño de unas pocas micras entre 0,5 y 5 μm , tienen diversas formas como esferas, barras, sacacorchos, hélices, filamentos; son procariotas (Salvador & Molina, 2017) y se encuentran las bacterias aeróbicas y anaeróbicas (Codina et al., 2011; Corrales et al., 2015; Ordoñez, 2019; Pineda, 2017; Sanz & Hidalgo, 2018) con una subdivisión entre las bacterias ácido lácticas y bacterias patógenas (Amarocho, 2011). Las levaduras son microorganismo unicelulares con características esféricas ovaladas con tamaños entre 6 y 12 μm existen diferentes tipos de levaduras que generan deterioro en los alimentos en las que se pueden identificar la *zygosaccharomyces*, *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces spp*, *Candida* y *Dekkera/Brettanomyces* como los grupos principales (Carrillo, 2003; Ladino, 2017),

pero algunas levaduras son utilizadas dentro de los procesos fermentativos para el mejoramiento de propiedades sensoriales y organolépticas de los alimentos, levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Candida Rhodotorula*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. parasitpsis*, *C. pintolopesii* se han implementado en diferentes alimentos en el que se encuentra el mejoramiento sensorial del café (Ladino, 2017; Sanchez, 2018); los hongos no son plantas ni animales son organismos con núcleo que se reproducen por esporas, carecen de clorofila y no realizan proceso de fotosíntesis. Los hongos se encuentran en un reino aparte, el Reino Fungi con diversos criterios de agrupación que convergen en la taxonomía (Carrillo, 2003; Ladino, 2017), dentro de la diversidad de hongos se encuentran *Aspergillus* y *Penicillium*. *Penicillium* es un grupo definido de hifas que van unidos directamente a un estipe mediante una o más etapas de ramificación que llevan conidios pequeños, unicelulares en cadenas (Pitt & Hocking, 2009b). Además, *Penicillium* son mohos productores de micotoxinas (Carrillo, 2003; Chávez, 2015; Escobar, 2015; Fournier, 2013; Nuñez, 2018; Yinsheng, 2016) (Tabla 1), se caracterizan por ser ubicuas y saprofitas, crecen en varios sustratos tales como semillas, madera, cuero, textiles y alimentos preparados o sus componentes ya sean de origen animal o vegetal, crece en diversidad de condiciones fisicoquímicas (Camiletti, 2018; Carrillo, 2003). Este género no es afectado por la luz y esporula fácilmente en la oscuridad, forma conidios en estructura de ramas similares a pinceles que terminan en células conidiógenas denominadas fiálides (Nieto & Bernal, 2018).

Penicillium generalmente es blanco, pero difiere en algunas especies en amarillo, anaranjado, púrpura, con aspecto superficial aterciopelado, ligeramente algodonoso (Pérez & Zárate, 2013). Algunas especies de este género tienen gran importancia en la alimentación humana y animal (Pérez &

Zárate, 2013) en la producción de quesos y embutidos fermentados los cuales modificando el aroma y sabor del alimento (Camiletti, 2018).

Aspergillus pertenece a la familia de las *Aspergillaceae* (Pérez & Zárate, 2013), es un hongo filamentoso compuesto de cadenas de células llamadas hifas (Rodríguez, 2018). El género *Aspergillus* carece de gran cantidad y diversidad de especies comparado con *Penicillium*, tiene la capacidad de crecer en temperaturas altas y ambientes acuáticos, son muy resistentes a la luz y a los químicos (Pitt & Hocking, 2009a).

Aspergillus se caracteriza por producir enzimas para la degradación de almidón, celulosa, pectinas y otros polímeros, causando daños en muchos productos alimenticios (Camiletti, 2018), vive como saprófito en el suelo y vegetales en descomposición, produciendo inhibición de la germinación, cambios de color, calentamiento, amohosado, apelmazado y podredumbre de las semillas. Pueden producir micotoxinas (Carrillo, 2003; Chávez, 2015; Escobar, 2015; Fournier, 2013; Nuñez, 2018; Yinsheng, 2016) (Tabla 1) siendo tóxicos para los seres vivos (Carrillo, 2003; Pérez & Zárate, 2013).

Los *Aspergillus* poseen diferentes pigmentaciones que varían desde el color blanco, verde, café, pardo, amarillo, rojizo, gris, negro y difiere de una difusión en el medio de cultivo, su aspecto superficial puede variar entre aterciopelado, granuloso o pulverulento con márgenes bien delineadas, irregulares o difusas (Carrillo, 2003; Pérez & Zárate, 2013). Se caracterizan por la formación de conidióforos, largos estipes que terminan en forma globosa denominada vesícula. (Camiletti, 2018; Rodríguez, 2018).

En este trabajo de investigación se evaluó la adición de levaduras en el proceso de fermentación de café (*Coffea arabica*), su

influencia en el análisis sensorial y calidad en taza del café proveniente del departamento del Huila municipio de Gigante.

2.1. Localización y materia prima

El proyecto se desarrolló en la Universidad Surcolombiana en las instalaciones del Centro

2. Materiales y métodos

Tabla 1. Principales micotoxinas.

Micotoxinas	Algunas especies	Efectos negativos en humanos y animales	Bibliografía
Ácido penicílico	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium simplicissimum</i>	Hepatotóxico y cancerígeno.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Ácido secalónico D	<i>Penicillium oxialicum</i>	Teratogénico.	
Aflotoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus nonius</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, teratogénesis.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Citrinina	<i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium verrucosum</i> .	Toxicidad renal en monogástricos.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Citroviridina	<i>Aspergillus terreus</i> <i>Penicillium citreonigrum</i> .	Beriberi cardiaco agudo.	(Carrillo, 2003; Chávez, 2015)
Esterigmatocistina	<i>Aspergillus versicolor</i>	Cambios patológicos en hígado, inducción de tumores.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Luteoskirina	<i>Penicillium islandicum</i>	Inhiben la actividad adenosintrifostasa (Fosforilación oxidativa)	(Carrillo, 2003; Escobar, 2015)
Ocratoxinas	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Nefropatía en cerdos y aves	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Patulina	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium griseofulvum</i> <i>Penicillium roqueforti</i>	Trastornos gastrointestinales y neurológicos.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Ácido ciclopiazónico	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus tamarii</i> <i>Penicillium commune</i>	Desorden gastrointestinales y neurológicos.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Citocalasinas	<i>Aspergillus terreus</i>	Inhibición de la división celular, función tiroidea y secreción de amilasa.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018).
Roquefortinas	<i>Penicillium roqueforti</i>	Utilizado para la producción de quesos de tipo Roqueforti, Danish blue y Gorgonzola.	(Carrillo, 2003; Yinsheng, 2016)

Penitrem A	<i>Penicillium crustosum</i>	Daños en el sistema nervioso central, tumores.	(Carrillo, 2003; Nuñez, 2018)
Rubratoxinas	<i>Penicillium purpugenum</i>	Causan hemorragias hepáticas	(Carrillo, 2003; Fournier, 2013)

Surcolombiano de investigación en café CESURCAFÉ de la facultad de ingeniería, más específicamente en los laboratorios de Microbiología de alimentos, Tueste y Planta piloto.

Se obtuvo café cereza variedad Castillo de la finca La Florida con altura de 1650 m.s.n.m ubicada en el municipio de Gigante. El café fue despulpado y agregado a tanques de fermentación (plásticos) de 22 litros, se añadió agua destilada con levaduras a diferentes concentraciones (Tabla 2) a cada tanque. Posteriormente fueron rotulados y finalmente fermentado durante 18 horas.

Tabla 2. UFC/ml de las levaduras agregadas al inicio de la fermentación

Tratamiento	UFC/ml	Log UFC ml ⁻¹
T1,1	4,3E+05	5,63
T1,2	3,8E+05	5,58
T2,1	9,5E+05	5,98
T2,2	1,1E+06	6,03
T3,1	1,5E+06	6,16
T3,2	2,0 E+06	6,30

2.2. Caracterización fisicoquímica

2.2.1. Potencial de hidrogeniones (pH) en cereza de café

Se tomó 4 vasos de precipitado de 100 ml (BOECO, ALEMANIA) cada uno y se agregó 7 gramos de café cereza debidamente pesados en balanza (METTLER TOLEDO NEWCLASSIC, SWITZERLAND). Se realizó presión con el dedo pulgar tratando de sacar los jugos de la cereza de café sobre los vasos de precipitado para medir pH con potenciómetro (OHAUS STARTER 5000, ALEMANIA). Las medidas se tomaron por triplicado.

2.2.2. Sólidos solubles (°Brix) en cereza de café y café despulpado (café baba)

Los sólidos solubles en café cereza y café despulpado se determinaron por el método refractométrico. En café cereza se realizaron a las gotas de los jugos de la cereza de café en refractómetro óptico (BRIXCO 3010), para la determinación de sólidos solubles en café despulpado se determinó por medio del mucilago (baba del café) del café despulpado en refractómetro óptico (BRIXCO 3010). Las medidas se tomaron por triplicado.

2.2.3. Potencial de hidrogeniones (pH) en café despulpado (café baba)

Se tomó 4 vasos de precipitado de 100 ml (BOECO, ALEMANIA) cada uno y se agregó 10 gramos de café despulpado (café en baba) debidamente pesados en balanza (METTLER TOLEDO NEWCLASSIC, SWITZERLAND) para medir pH con potenciómetro (OHAUS STARTER 5000, ALEMANIA). Las medidas se tomaron por triplicado.

2.2.4. Grado de madurez en la cereza de café

El color fue obtenido por medio de técnica óptica de espectroscopia utilizando colorímetro (KONICA MINOLTA CR-410, JAPON), basados en las metodologías de Cortes, Juárez y colaboradores expuestas en los años 2015 y 2018. Se obtuvo las coordenadas L*, a* y b* para calcular el tono (h*) e índice de saturación (c*) con las ecuaciones 1 y 2. Adicionalmente las variables L*, a* y b* fueron evaluadas en el software X-Rite Master para determinar color.

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (1)$$

$$c^* = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

Fuente: Juárez *et al.*, 2018; McGuire, 2019

2.3. Caracterización Microbiológica

2.3.1. Identificación morfológica y bioquímica

Se realizó identificación con el kit API 20 C AUX (BIOMÉRIEUX, FRANCIA) que consta de 20 capsulas de las cuales 19 contienen azúcares deshidratados, también se evaluó la presencia o ausencia de hifas / pseudohifas en agar YGC y PDA, tinción Gram, presencia y ausencia de catalasa. El kit cuenta con controles de D-glucosa (GLU), glicerol (GLY), calcio 2-cetogluconato (2KG), L-arabinosa (ARA), D-xilosa (XYL), adonitol (ADO), xilitol (XLT), D-galactosa (GAL), inositol (INO), D-sorbitol (SOR), metil- α D-glucopiranosida (MDG), N-acetilglucosamina (NAG), D-celobiosa (CEL), D-lactosa (LAC)(de origen bovino), D- maltosa (MAL), D-sacarosa (SAC), D-trehalosa (TRE), D-melezitosa (MLZ), D-rafinosa (RAF). La tira de API 20 C AUX se preparó según lo sugerido por el fabricante, se incubó a 30°C durante 72 horas, tomando lectura a las 48 horas y 72 horas después del inicio de la prueba. Los datos fueron analizados por el software apiweb™.

2.3.2. Proceso de fermentación con adición de levaduras

Se activo la cepa de levadura conservada a -20 °C de la colección del laboratorio de Microbiología de alimentos de la facultad de ingeniería de la Universidad Surcolombiana, recolectada por investigaciones preliminares. La levadura hace parte del proyecto de investigación Caracterización de las bacterias ácido lácticas (BAL), hongos y levaduras que inciden durante el proceso de fermentación de café arábica (*Coffea arabica*) y su influencia

en el análisis sensorial y calidad de la taza; la cual fue asilada a las 12 horas de fermentación del café variedad caturra de la finca San isidro del municipio de Palestina ubicada a 1600 m.s.n.m. (Ladino, 2017).

En la activación, inicialmente se tomó parte de la cepa y se realizó siembra en superficie en medio agar Chloramphenicol (YGC AGAR ISO 7954, CONDA PRONADISA, ESPAÑA), se llevó a incubadora (HERATHERM IMH60-S, THERMO SCIENTIFIC, ALEMANIA) durante 24 horas a 30° C, seguidamente se tomó parte de ella con un asa de platino y se realizó el método triple estría en agar YGC, para la obtención de un cultivo puro. Posteriormente se realizó resiembra en superficie en agar YGC y se incubó durante 24 horas a 30 °C después, se tomaron diferentes proporciones de levadura de la resiembra y se inocularon en seis tubos de ensayo con 9 ml agua de peptona (MERCK KGAA, AGUA DE PEPTONA TAMPONADA ISO 6579, ALEMANIA) cada uno para obtener muestras a diferentes concentraciones. Las muestras inoculadas en tubos de ensayo fueron incubadas durante 24 horas a 30° C, se realizó diluciones seriadas y siembra en placa en agar YGC, posteriormente los cultivos en agua de peptona fueron centrifugados (ZENTRIFUGEN HETTICH EBA 200/200 S, ALEMANIA) a 5000 rpm durante 2,28 min, se eliminó el sobrenadante y se lavó con agua destilada tres veces con el fin de eliminar los restos de agua de peptona. Finalmente, las células se resuspendieron en 2 ml de agua destilada llegando a contenido celular a la escala 4% de MacFarland. Las muestras resuspendidas en agua destilada fueron centrifugadas y adicionadas al café despulpado para una fermentación de 18 horas.

2.3.3. Curva de crecimiento microbiano

Se activo la cepa de levadura L-CPA12-1 con los métodos de siembra en superficie, siembra en triple estría y resiembra en

superficie con tiempos de incubación de 24 horas a 30 °C.

Se tomó parte de la resiembra y se inocularon en dos erlenmeyer ajustando las muestras inicialmente a 0,178 y 0,259 nm con espectrofotómetro (PHARMACIA BIOTECH ULTROSPEC 2000), se realizaron diluciones seriadas y se llevaron a incubadora durante 48 horas a 30°C. Durante las 48 horas se realizaron diluciones seriadas y densidad óptica. Las primeras 12 horas cada hora, desde las 24 a las 36 horas se realizaron cada 4 horas y finalizó a las 48 horas. Se determinó promedio y desviación estándar de las muestras tomadas.

2.3.4. Actividad antimicrobiana

Se activaron las cepas de levadura (L-CPA12-1) y patógenos (*S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705) (Figura 1) en YGC y PCA (STANDARD METHODS AGAR APHA Y ISO 4833, ESPAÑA) con los métodos de siembra en superficie, siembra en triple estría y resiembra en superficie con tiempos de incubación de 24 horas a 30 °C para levadura y 37 °C para patógenos. Posteriormente se realizaron los métodos de discos y pocillos

2.3.5. Método de discos

Para medir la inhibición de patógenos en presencia de células de levadura se utilizó la técnica de difusión de discos. Con ayuda de un sacabocados estéril se cortó en discos de 7 mm de diámetro la placa de la resiembra de la levadura, posteriormente se depositó un disco en el medio PCA donde se encontraba sembrado 100 µl del patógeno ajustado a contenido celular a la escala 0,5 % MacFarland, posteriormente se realizó medida en espectrofotómetro. Adicionalmente, se realizaron dos pocillos para el control positivo

en los que se depositaron antibióticos como Bencilpenicilina (FARMACEUTICA DE COLOMBIA S.A, COLOMBIA) y Cloranfenicol (PROCAPS S.A, COLOMBIA). Las placas se incubaron a 30 °C durante 24 horas y el parámetro de medición de inhibición fue medido en milímetros. Este procedimiento se realizó para todo los patógenos (*S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705) por duplicado (Figura 1).

2.3.6. Método de sobrenadante en pocillos

Se tomó levadura de la resiembra y se inoculo en 9 ml de agua de peptona, se dejó en incubadora durante 24 horas a 30 °C, Seguidamente se centrifugo a 6000 rpm durante 5 minutos, se retiró el sobrenadante con ayuda de una jeringa (ONTOMÉDICA, CHINA) y se pasó por filtro de membrana de acetato de celulosa de 0,2µm (MINISART, SARTORIUS STEDIM BIOTECH, ESPAÑA) con el fin de obtener el sobrenadante libre de células.

Posteriormente se realizaron 3 pocillos de 7 mm de diámetro con ayuda de un sacabocados al agar de PCA donde se encontraba sembrado 100 µl del patógeno ajustado a contenido celular a la escala 0,5 % MacFarland. En uno de los pocillos se adiciono 50 µl del sobrenadante libre de células y en los pocillos restantes se adiciono 50 µl de Bencilpenicilina (FARMACEUTICA DE COLOMBIA S.A, COLOMBIA) y Cloranfenicol (PROCAPS S.A, COLOMBIA) como control positivo.

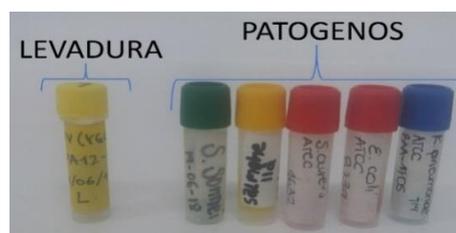


Figura 1. Crioviales de conservación

2.3.7. Siembra y asilamiento de cultivos monospóricos

Finalizada la etapa de secado se tomó muestra de 5 tratamientos (T2; T2,2; Testigo.1; Testigo.2; Testigo.3) en café pergamino seco (CPS). De las muestras tomadas se eligieron 5 granos CPS de forma aleatoria por muestra a cada muestra, seguidamente fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 15% (PISCICLOR), y lavados tres veces con agua destilada, posteriormente se depositaron en la superficie de cajas de Petri con agar PDA (POTATO DEXTROSE AGAR EUROPEAN PHARMACOPOEIA, ESPAÑA) evitando el contacto entre granos y perímetro de la caja de Petri. Finalmente fueron incubados a 30°C durante una semana.

Para el aislamiento se identificaron los hongos con crecimiento en el perímetro o sobre el grano, tomando muestra de ellos y se hizo un cultivo monospórico de cada uno en agar PDA durante una semana a 30°C.

Finalmente se realizó tinción con azul de lactofenol (ALBOR QUMICO, COLOMBIA) y se observaron al microscopio para su posterior identificación con el uso de las siguientes claves Carrillo, 2003; Pérez & Zárate, 2013; Pitt & Hocking, 2009a, 2009b.

2.4. Análisis Sensorial

De los 9 tanques de fermentación se evaluaron 5 muestras (Testigo,1; Testigo,2; Testigo,3; T2,1; T2,2) de acuerdo con la metodología de la Asociación de cafés Especiales – SCA (SCA, 2015). Se realizó preparación de las muestras en café verde que fueron sometidas a selección, tueste y dosificación con relación peso/volumen, de 8,25 gr (+/- 0,25 gr) de café para 150 ml de agua por taza; en la evaluación de la bebida se valoraron 10 atributos (Fragancia/aroma,

sabor, sabor residual, acidez, cuerpo, uniformidad balance, limpieza de taza, dulzor y valoración final de catador) para cada muestra, registradas en el formato de evaluación diseñado por la SCA.

2.5. Análisis estadístico

Se realizó una ANOVA simple con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre muestras independientes de pH, sólidos solubles y UFC/ml entre inicio y final de la fermentación usando el paquete estadístico Statgraphics centurión XVI. Versión 16.01.0018 con nivel de significancia de 0.05

3. Resultados y discusión

3.1. Rendimiento de la materia prima

Se obtuvo 200 kilogramos de cereza de café de los cuales 99,14 Kg (49,97%) fueron de café despulpado (Café baba) y 100,86 Kg (50,43%) de pulpa de café (Cacota de café) que comparados con los datos obtenidos por Ramírez y Mineducación en sus investigaciones en los años 2018 y 2019 se obtuvieron datos dentro del rango del 40 a 60% de pérdida de peso que se asocia al mucilago y a la pulpa del café.

3.2. Caracterización fisicoquímica

De acuerdo con los datos obtenidos se puede establecer que no hay diferencias significativas en pH y sólidos solubles del café cereza y café despulpado (Tabla 3)

Tabla 3. pH – Sólidos solubles antes y después de despulpado

Promedio pH cereza	Promedio pH despulpado
6,30±0,27	6,00±0,27
Promedios sólidos solubles cereza	Promedios sólidos solubles despulpado
13,33±0,58	13,00±0,58

Se puede determinar una reducción del pH y sólidos solubles dentro del proceso fermentativo. El pH pasa de ligeramente ácido a moderadamente ácido variando entre 6,3 a 4,08 (Tabla 4), los sólidos solubles se presentan en el rango de 13 a 12,37 (Tabla 5).

Para Córdoba y Ladino en los años 2016 y 2017 en sus investigaciones asocian la disminución de pH y sólidos solubles al aumento de la acidez en masa, ruptura de pectinas presentes en el mucilago, producción de ácidos, enzimas y alcoholes a partir de la degradación de azúcares que se encuentra en el mucilago por medio de microorganismos presentes en el fruto. Adicional a ello Córdoba & Guerrero informan que el pH de 4,6 puede ser un indicador adecuado para la finalización del proceso de fermentación sin generar problemas de sobrefermentación del grano.

Tabla 4. Valores de pH al inicio y final de la fermentación

Tratamiento	Promedio pH Inicio	Promedio pH Final
T1,1	6,0±0,27	4,13±0,008
T1,2	6,0±0,27	4,15±0,008
T2,1	6,0±0,27	4,12±0,008
T2,2	6,0±0,27	4,14±0,008
T3,1	6,0±0,27	4,20±0,008
T3,2	6,0±0,27	4,14±0,008
Testigo.1	6,0±0,27	4,08±0,008
Testigo.2	6,0±0,27	4,09±0,008
Testigo.3	6,0±0,27	4,10±0,008

Tabla 5. Sólidos solubles al inicio y final de la fermentación

Tratamiento	Promedios sólidos solubles inicio	Promedios sólidos solubles final
T1,1	13±0,58	12,70±0,2
T1,2	13±0,58	12,80±0,2
T2,1	13±0,58	11,63±0,2
T2,2	13±0,58	12,47±0,2
T3,1	13±0,58	12,90±0,2
T3,2	13±0,58	12,66±0,2
Testigo.1	13±0,58	12,90±0,2
Testigo.2	13±0,58	12,37±0,2

Testigo.3	13±0,58	12,73±0,2
------------------	---------	-----------

Se puede establecer que hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en pH y sólidos solubles entre la condición inicial y final de la fermentación como se observa en el gráfico de caja y bigotes en la figura 2 donde los datos obtenidos no se cruzan entre ellos, con un valor de $p < 0,05$ (Tabla 6) con un nivel de confianza del 95%.

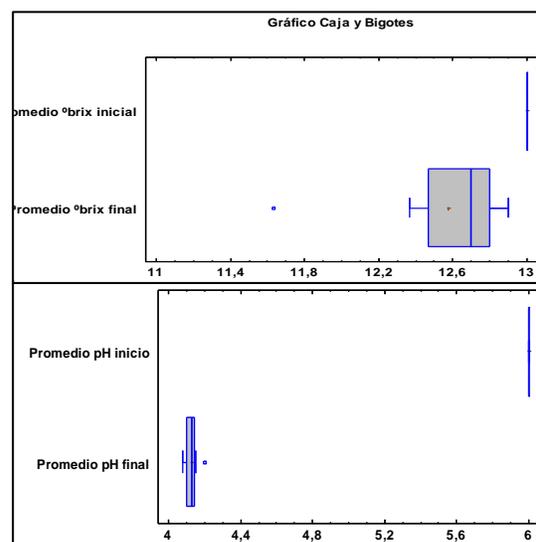


Figura 2. Caja de bigotes comparando las medias de pH y sólidos solubles al inicio y final de la fermentación.

Tabla 6. Prueba de hipótesis de las medias de pH y sólidos solubles al inicio y final de la fermentación.

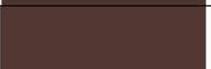
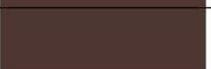
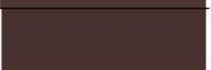
	Sólidos solubles	pH
Prueba t		
Hipótesis Nula	Media = 0	Media = 0
Alternativa	No igual	No igual
Estadístico t	3,23197	179,403
Valor-P	0,00242736	0

Se rechaza la hipótesis nula por $\alpha = 0,05$

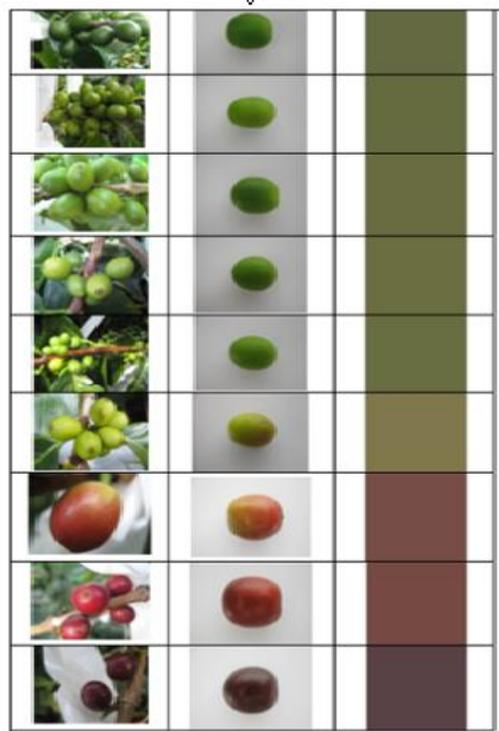
3.3. Grado de madurez del grano

Se obtuvo 8 mediciones de las coordenadas L^* , a^* y b^* las cuales fueron analizadas por el software X-Rite Master para obtener el color del grano como se observa en la figura 3:A y compararlos con la figura 3:B en la

determinación del grado de madurez por color, adicional se determinó el tono (h^*) e índice de saturación (c^*) como se puede observar en la tabla 7.

Numero de muestras tomadas	Coordenadas LAB		Color
1	L*	23,72	
	a*	17,99	
	b*	7,1	
2	L*	24,3	
	a*	19,42	
	b*	7,86	
3	L*	26,06	
	a*	14,01	
	b*	6,2	
4	L*	28,8	
	a*	18,41	
	b*	10,63	
5	L*	22,52	
	a*	14,93	
	b*	4,72	
6	L*	23,78	
	a*	18,01	
	b*	6,08	
7	L*	23,49	
	a*	14,46	
	b*	4,85	
8	L*	21,48	
	a*	13,37	
	b*	3,51	
Promedio de las muestras de color	L*	21,57	
	a*	14,51	
	b*	5,66	

a. Autor



B. (J. Carvajal et al., 2011)

Figura 3. Comparación del color para el grado de Madurez.

Para Carvajal y colaboradores en el 2011 los frutos inmaduros presentan una coloración amarillo-verdosa con valor de tono (h^*) igual a 107,82 y 106,54 con luminosidad (L^*) de 37,88 e índice de saturación (c^*) de 26,47 y 24,33; los granos maduros presentan coloración rojiza con valor de tono (h^*) igual a 32,86 con luminosidad (L^*) de 35,94 e índice de saturación (c^*) de 21,40 y 21,77; y, los frutos sobremaduros presentan una coloración rojiza-marrón con valor de tono (h^*) igual a 15,74 con luminosidad de 30,5 e índice de saturación (c^*) de 10,12, pero para Juárez y colaboradores en el 2018 los frutos inmaduros presentan una coloración amarillo-verdosa con valor de tono (h^*) igual a 101,95 con luminosidad (L^*) de 41,85 e índice de saturación (c^*) de 31,35 y los granos maduros presentan coloración rojiza con valor de tono (h^*) igual a 29,84 con luminosidad (L^*) de 30,18 e índice de saturación (c^*) de 24,34.

Comparando los datos obtenidos en tono (Tabla 7), luminosidad (Tabla 7), índice de saturación (Tabla 7) y gama de colores expuestas por Carvajal, Juárez y colaboradores se determina que el grano estaba en el grado de madurez de maduro y sobremaduro (Figura 3).

3.4. Proceso de fermentación con adición de levaduras

Se obtuvo 9 tanques con 10 kg de café despulpado cada uno, se adicionó 2 ml de agua destilada con levaduras a diferentes concentraciones (Tabla 1), posteriormente fueron rotulados como Testigo,1; Testigo,2; Testigo,3; T1,1; T1,2; T2,1; T2,2; T3,1; T3,2. Finalmente se fermentó durante 18 horas encontrando un aumento en las concentraciones de levaduras inoculadas inicialmente.

En la Tabla 8 se plasma el recuento de viables y el aumento de la concentración de las

levaduras durante el proceso de fermentación que se relaciona con lo encontrado por Caroline, Schwan y colaboradores en el 2020 y 2012 en sus investigaciones sobre influencia de las condiciones de fermentación sobre la calidad sensorial del café inoculado con levaduras y fermentación de café donde informa que la microbiota del café procesado en húmedo, despulpado y lavado inicialmente presenta una concentración de Log UFC ml⁻¹ menores a las alcanzadas a finalizar la fermentación.

El crecimiento de levaduras en Log UFC ml⁻¹ al inicio y final de la fermentación presento diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) (Tabla 9; Figura 4) con un nivel de confianza del 95%. También se puede establecer que hay diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) (Figura 5; Figura 6; Figura 7; Tabla 10; Tabla 11; Tabla 12, respectivamente) en Log UFC ml⁻¹ finales entre los tratamientos con adición de levaduras y los tratamientos sin adición de levaduras.

Tabla 7. Determinación del grado de madurez por tono, luminosidad y saturación

Fuente	(J. Carvajal et al., 2011)			(Juárez et al., 2018)			Promedio de la presente Investigación		
	L*	h*	c*	L*	h*	c*	L*	h*	c*
Inmaduros	37,88	107,8 - 106,54	26,47	41,85	101,95	31,35	-	-	-
Maduros	35,94	32,86	21,40- 21,77	30,18	29,84	24,34	21,57±8,36	18,54±8,2	15,62±6,45
Sobremaduros	30,5	15,74	10,12	-	-	-	-	-	-

Tabla 8. Recuento de levaduras viables UFC/ml al final de la fermentación

Tratamiento	UFC/ml	Log UFC ml ⁻¹
T1,1	2,6E+06	6,42
T1,2	3,7E+08	6,56
T2,1	4,7E+07	7,67
T2,2	1,8E+07	7,26
T3,1	5,0E+06	6,70
T3,2	9,0E+06	6,95
Testigo.1	5,2E+06	5,72
Testigo.2	1,7E+05	5,23
Testigo.3	1,8E+05	5,26

Tabla 9. Prueba de hipótesis de las medias de Log UFC ml⁻¹ al inicio y final de la fermentación

Prueba t	
Hipótesis Nula	Media = 0
Alternativa	No igual
Estadístico t	5,64176
Valor-P	0,00242736
Se rechaza la hipótesis nula por alfa = 0,05	

Tabla 10. Prueba de hipótesis de las medias de Log UFC ml⁻¹ del testigo.1 con los tratamientos

Prueba t	
Hipótesis Nula	Media = 0
Alternativa	No igual
Estadístico t	-6,28241
Valor-P	0,00150128
Se rechaza la hipótesis nula por alfa = 0,05	

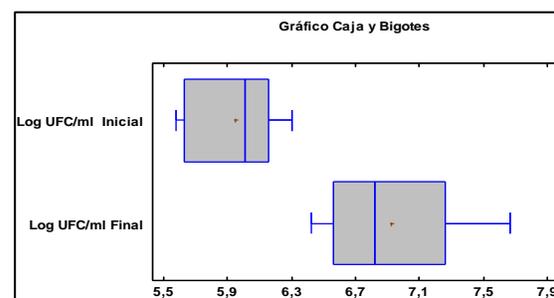


Figura 4. Caja de bigotes comparando las medias de Log UFC ml⁻¹ al inicio y final de la fermentación.

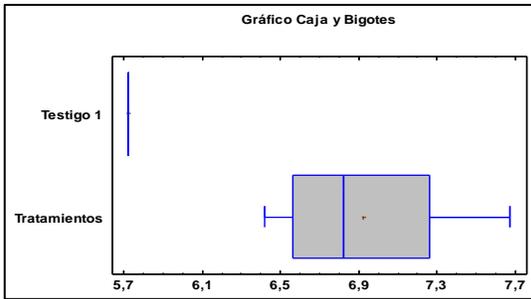


Figura 5. Caja de bigotes comparando las medias de Log UFC ml⁻¹ del testigo1 con los tratamientos.

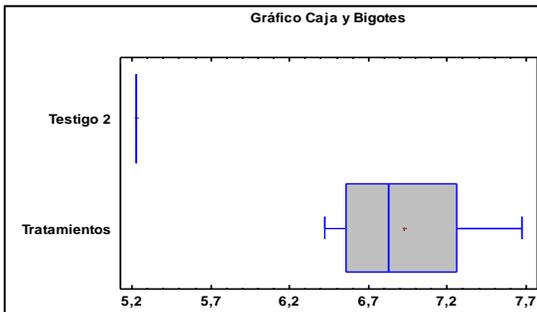


Figura 6. Caja de bigotes comparando las medias de Log UFC ml⁻¹ del testigo.2 con los tratamientos.

Tabla 11. Prueba de hipótesis de las medias de Log UFC ml⁻¹ del testigo.2 con los tratamientos

Prueba t	
Hipótesis Nula	Media = 0
Alternativa	No igual
Estadístico t	-8,83356
Valor-P	0,000308869
Se rechaza la hipótesis nula por alfa = 0,05	

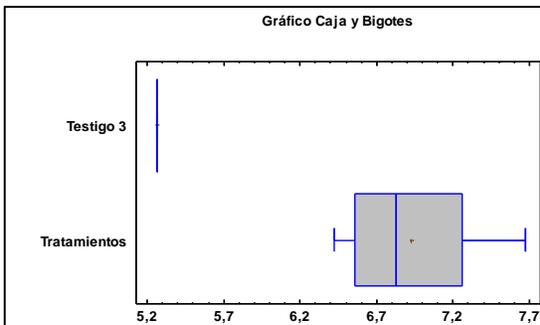


Figura 7. Caja de bigotes comparando las medias de Log UFC ml⁻¹ del testigo.3 con los tratamientos.

Tabla 12. Prueba de hipótesis de las medias de Log UFC ml⁻¹ del testigo.3 con los tratamientos

Prueba t	
Hipótesis Nula	Media = 0
Alternativa	No igual
Estadístico t	-8,67737
Valor-P	0,000336105
Se rechaza la hipótesis nula por alfa = 0,05	

3.5. Identificación morfológica y bioquímica

En la levadura CPA12-1 se identificó colonias de color blancuzcas (Figura 8:B) Gram positivas con morfología de bacilos terminados en punta (Figura 8:C), con presencia de catalasa (Figura 8:A).

En la prueba bioquímica API 20C AUX se obtuvieron resultados positivos en D-glucosa (GLU), glicerol (GLY), N-acetil-glucosamina (NAG) y resultados negativos en el resto de los componentes efectuados por la prueba. Los datos fueron analizados en la página apiwebTM donde se identificó la levadura como *Candida krusei/inconspicua* con un 98% de confiabilidad, también se determinó que no hay presencia de hifas o pseudohifas (Figura 9).

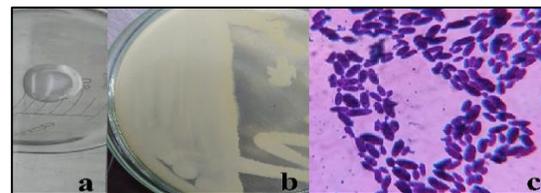


Figura 8. A. Prueba de catalasa; B. Color de las colonias; C. Morfología Gram positiva.

La levadura *candida krusei/inconspicua* es predominante en la producción de queso Oaxaca según lo encontrado por Garnier y colaboradores en el 2017. El género *Candida* es una levadura que cuenta con muchas especies las cuales se caracterizan por ser blancuzcas, cremosas, no formadoras de esporas (Stratford, 2014). Las levaduras se

consideran oportunistas, son gram positivas con morfología de cocos o bacilos (Carrillo, 2003) pueden ser beneficiosas para los seres vivos; las cuales son utilizadas en diversos procesos alimenticios como la producción de quesos y bebidas fermentadas en las que se identifican diversos generos de levadura *Candida* para la modificación sensorial del alimento (Kim et al., 2017; R. F. Schwan et al., 2007). Las levaduras con presencia de enzimas oxidativas (catalasa, superóxido dismutasa y tiorredoxina) pueden presentar características termotolerantes comparadas con las levaduras con ausencia de enzimas oxidativas que se tornan sensibles a las altas temperaturas.

Comparando la literatura con los datos obtenidos se afirma que el microorganismo utilizado para la modificación del proceso fermentativo es una levadura con probabilidad de ser termotolerante debido a la presencia de catalasa.

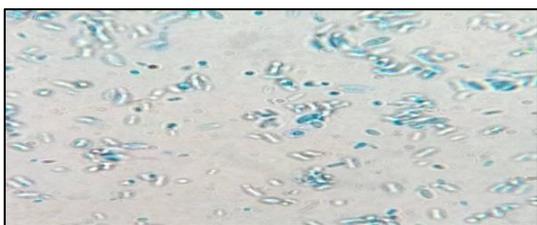


Figura 9. Tinción con azul de lactofenol.

3.6. Curva de crecimiento microbiano

Los modelos de crecimiento cinético describen el comportamiento celular con el consumo de sustrato, la formación de productos por medio de características de rutas metabólicas, adaptabilidad de las células al medio y actividades intracelulares (Suarez, 2018), que van relacionadas con el medio que lo rodea y factores determinantes como el pH, actividad de agua y temperatura, que controlan el crecimiento celular (división celular y la replicación de cromosomas)(Aguilar et al., 2015; Cattaneo & Larcher, 2006; Virgüez & Castro, 2019)

El crecimiento celular se puede determinar por curvas de crecimiento microbianos, en el proceso se debe desarrollar la fase de latencia que representa el tiempo para reiniciar el ciclo celular después de un periodo de ayuno nutricional; fase exponencial o periodo de crecimiento balanceado que representa el periodo donde hay suficiente nutrimento con recuperación del ciclo celular, incrementando su número de células exponencialmente; fase estacionaria representa el periodo de crecimiento nulo, momento en que el número de células en el cultivo no varía, y la fase de senescencia que representa el periodo en que la velocidad de muerte es mayor que la velocidad de crecimiento (Cattaneo et al., 2007; Ladino, 2017).

En la figura 10 se puede observar el comportamiento microbiano con respecto al tiempo. Se observa variaciones en la población de levaduras en Log UFC ml⁻¹ y densidad óptica con una absorbancia de 600 nm en cada tiempo de medición, en la gráfica se puede apreciar las diferentes fases: latencia, exponencial, estacionaria y senescencia.

En la absorbancia se observa que empieza con una fase de latencia que va desde 0 (0,22 nm ± 0,06) a 1 (0,31 nm ± 0,04), seguidamente obtuvo la fase exponencial que va desde 1 a 2 (1,18 nm ± 0,01) y finalmente obtuvo la fase estacionaria que va desde el 2 al 3 (1,32 nm ± 0,01). En la curva de Log UFC ml⁻¹ se obtuvo la fase exponencial que va desde 0 a 4 (6,87 Log UFC ml⁻¹ ± 0,16), seguida de la fase estacionaria que va desde 4 a 5 (6,69 Log UFC ml⁻¹ ± 0,06) y finalizada con la fase de senescencia que va desde 5 a 6 (6,47 Log UFC ml⁻¹ ± 0,03), estos datos también se pueden observar en la tabla 13 donde se plasma el comportamiento numéricamente.

De acuerdo con los datos obtenidos en la levadura *C. krusei/inconspicua* (CPA12-1) se pueden comparar con los datos encontrados por Zumbado y colaboradores (figura 11) en

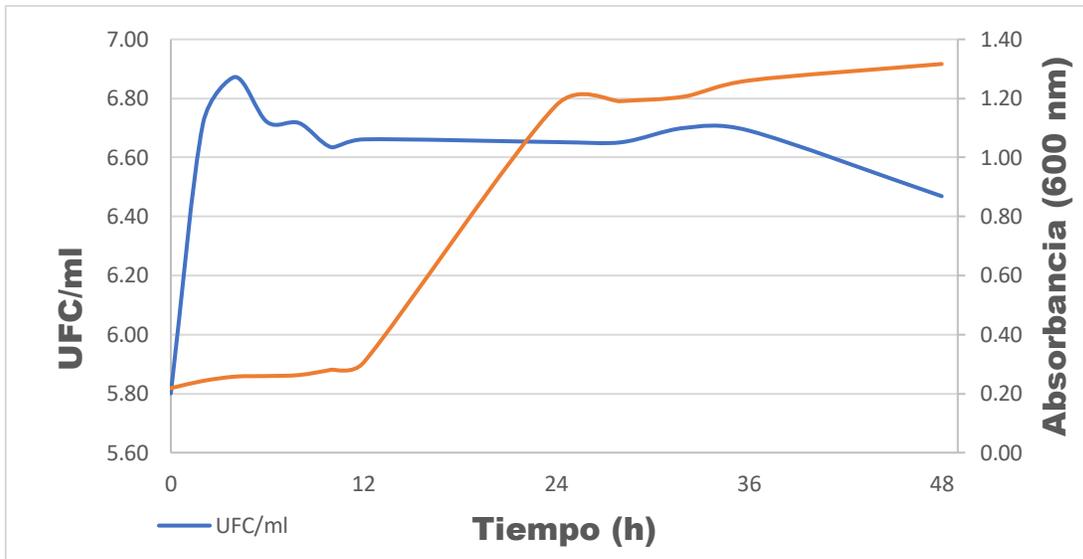


Figura 10. Curvas de comportamiento microbiano de la levadura CPA12-1.

Tabla 13. Comportamiento microbiano

Tiempo (h)	Log UFC ml ⁻¹	Absorbancia (nm)
0	5,80±0,10	0,22±0,06
2	6,71± 0,12	0,24±0,04
4	6,87±0,16	0,26±0,03
6	6,72±0,25	0,26±0,03
8	6,72±0,11	0,26±0,03
10	6,63±0,04	0,28±0,04
12	6,66±0,16	0,31±0,04
24	6,65±0,21	1,18±0,01
28	6,65±0,16	1,19±0,01
32	6,70±0,08	1,21±0,00
36	6,69±0,06	1,26±0,02
48	6,47±0,03	1,32±0,01

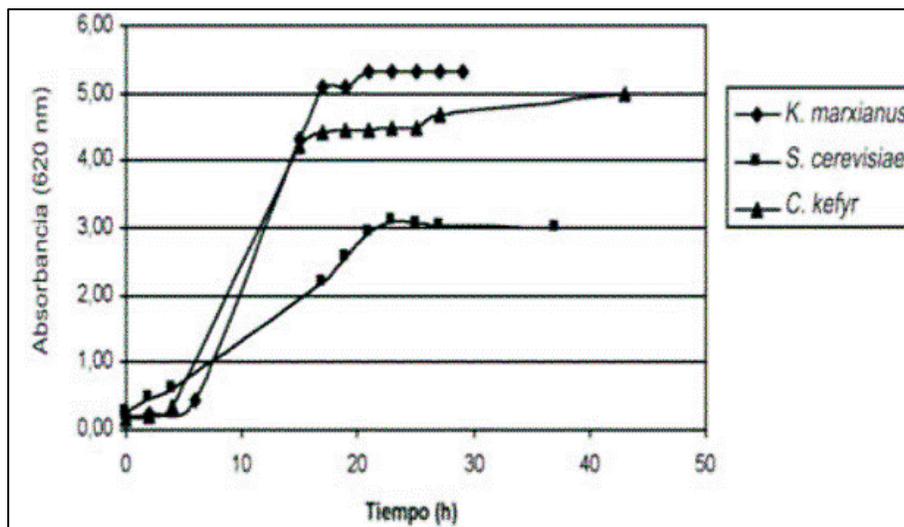


Figura 11. Levaduras en suero de queso. (Zumbado et al., 2006).

curvas de crecimiento microbiano de las levaduras *S. cerevisiae*, *K.marxianus*, *C.Kefyr* aislada de suero de queso y evaluadas a 620 nm.

Dentro de las levaduras evaluadas por Zumbado y colobaradores se encuentra la levadura *C.Kefyr* que comparte el mismo género con la levadura *C. krusei/inconspicua* utilizada durante el proceso de investigación; las dos levaduras son del género *Candida*, en el tiempo de latencia se observa que la levadura *C.Kefyr* finaliza la adaptabilidad cerca de las 8 horas con un rango menor a 1,0 nm, en cambio la levadura *C. krusei/inconspicua* (CPA12-1) finaliza la adaptabilidad a las 12 horas con un rango igualmente menor a 1,0 nm; El tiempo exponencial dura alrededor de 4 horas para la levadura *C.Kefyr* alcanzando un rango mayor a 4,0 nm a diferencia de la levadura *C. krusei/inconspicua* que tiene un tiempo de crecimiento exponencial de 12 horas alcanzando un rango aproximado de 1,20 nm. Para el tiempo de la fase estacionaria se observa que la levadura *C.Kefyr* se mantiene entre 5,0 y 4,0 nm por un periodo de 31 horas aproximadamente, para la levadura *C. krusei/inconspicua* se observa que en la fase estacionaria se mantiene entre 1,40 y 1,20 nm por un periodo de 24 horas

3.7. Actividad antimicrobiana

3.7.1. Método de discos

Las células de levadura *Candida krusei/inconspicua* (CPA12-1) no inhibe *S. sonnei* ATCC 25931, *Salmonella* ATT 9270, *S. aureus* ATCC 1632, *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705, mientras que los antibióticos (control positivo) Bencilpenicilina (800,000 Ui) y cloranfenicol (250 mg) afectaron el crecimiento de los patógenos estudiados, siendo más efectivo el cloranfenicol (Tabla 14)

3.7.2. Método de pocillos

Es conocido que las levaduras poseen una enzima encargada de transformar los azúcares en etanol y dióxido de carbono; los productos generados en la fermentación de café durante 18 horas no presentaron efecto inhibitorio frente a los patógenos evaluados en el presente estudio, mientras los antibióticos Bencilpenicilina (a) y Cloranfenicol (b) afectaron el crecimiento de los patógenos estudiados, siendo más efectivo el cloranfenicol (Tabla 15).

Tabla 14. Actividad antimicrobiana método de discos

Patógenos	Inhibición (mm)		
	Levadura	Positivos	
	L-CPA12-1	a	b
<i>Salmonella</i>	0	26,74±0,1 91	45,73±0,5 69
<i>E.coli</i>	0	20,98±0,1 27	49,95±0,6 43
<i>S.aureus</i>	0	25,89±0,6 15	49,19±2,0 72
<i>K.Pneumoniae</i>	0	15,04±1,2 7	41,42±17, 11
<i>S. Sonnei</i>	0	17,15±1,3 72	35,38±2,5 03

Tabla 15. Actividad antimicrobiana método de pocillos

Patógenos	Inhibición (mm)		
	Levadura	Positivos	
	L-CPA12-1	a	B
<i>Salmonella</i>	0	40,05±0,2 12	62,6±6,22 3
<i>E.coli</i>	0	20,97±0,1 13	50,95±0,7 78
<i>S.aureus</i>	0	40,8±0,70 7	64,15±1,9 09
<i>K.Pneumoniae</i>	0	31,2±12,4 5	49,5±9,19 2
<i>S. Sonnei</i>	0	29±1,414	46,75±2,1 92

3.7.3. Identificación los cultivos monospóricos

Todas las placas presentaron crecimiento de hongos con diferentes aspectos y pigmentaciones (anexo. A;), de cada placa se obtuvieron entre 2 a 4 hongos de diferente apariencia; los cuales fueron aislados para obtener cultivos monospóricos. En total se obtuvieron 13 hongos con diferentes pigmentaciones (anexo. B). Finalmente se identificaron, de los cuales 3 pertenecen al género *Aspergillus* (Figura 12; Figura 13; Figura 14) y 9 pertenecen al género *Penicillium* (Figura 15; Figura 16; Figura 17; Figura 18; Figura 19; Figura 20; Figura 21; Figura 22; Figura 23).

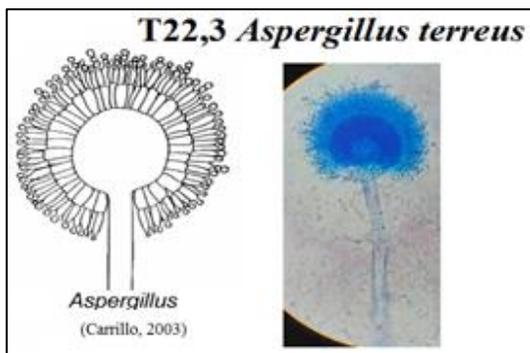


Figura 12. Hongo encontrado en el tratamiento T2,2.

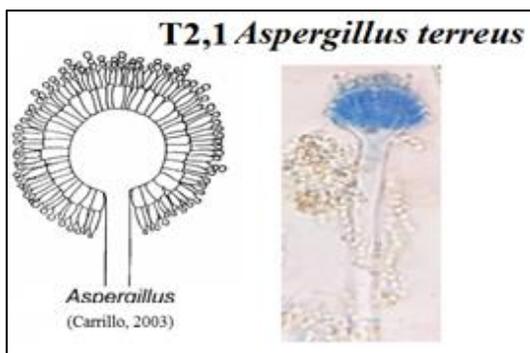


Figura 13. Hongo encontrado en el tratamiento T2,1.

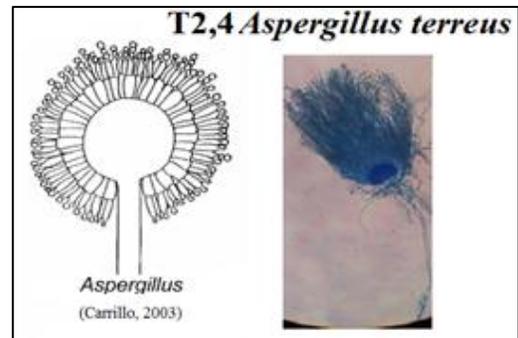


Figura 14. Hongo encontrado en el tratamiento T2,1.

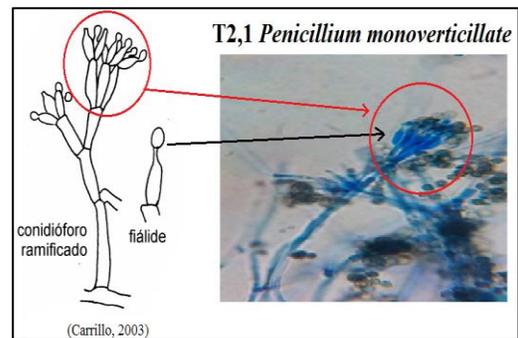


Figura 15. Hongo encontrado en el tratamiento T2,1.

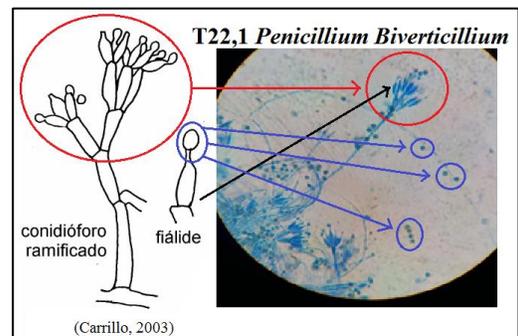


Figura 16. Hongo encontrado en el tratamiento T2,2.

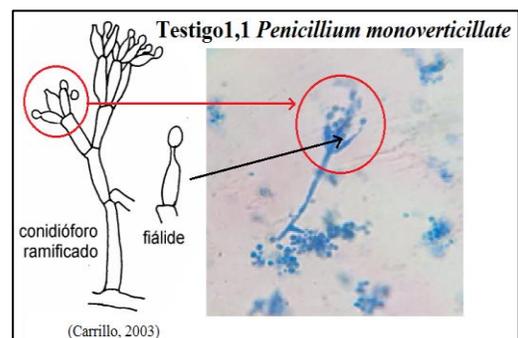


Figura 17. Hongo encontrado en el Testigo1.

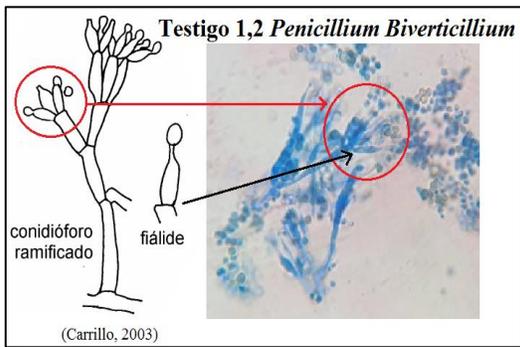


Figura 18. Hongo encontrado en el Testigo 1.

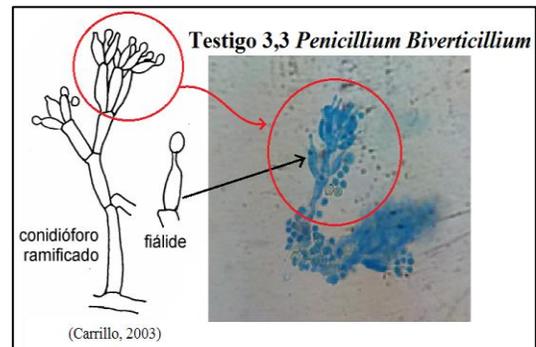


Figura 22. Hongo encontrado en el testigo 3.

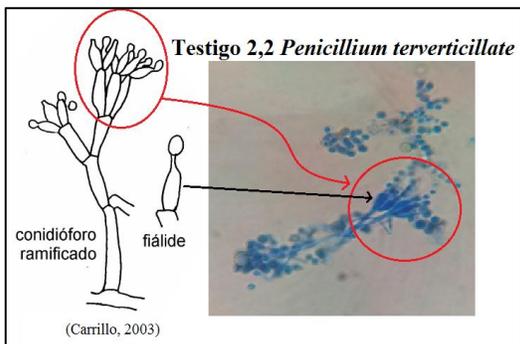


Figura 19. Hongo encontrado en el Testigo 2,1.

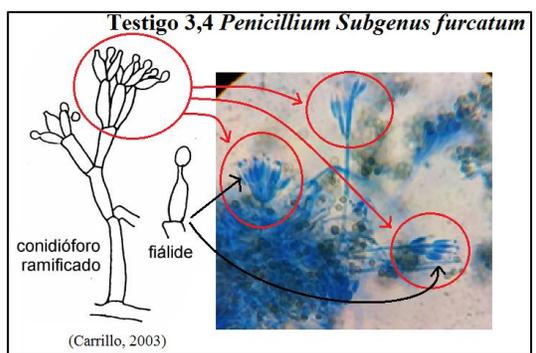


Figura 23. Hongo encontrado en el testigo T3.

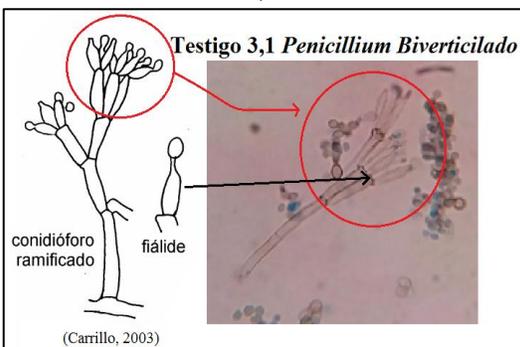


Figura 20. Hongo encontrado en el testigo 3.

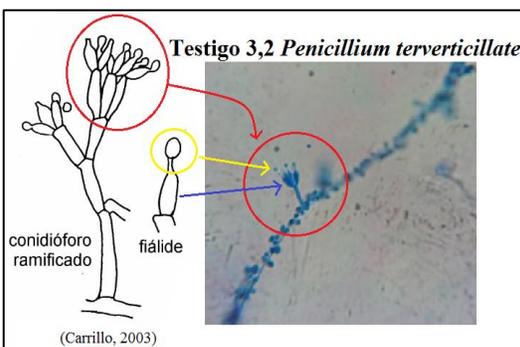


Figura 21. Hongo encontrado en el testigo 3.

3.8. Análisis Sensorial

En el análisis según la metodología Asociación de cafés Especiales (SCA) se pudo identificar que todos los cafés presentaron puntuaciones mayores a 80 puntos (Tabla 16), indicando que las muestras son cafés especiales según lo descrito por SCA en 2015, Silva y colaboradores en 2017.

El café con adición de levaduras en el proceso de fermentación se torna más agradable, dulce con fragancias aromáticas y achocolatadas comparado con el café sin adición de levaduras donde presenta notas a frutos amarillos secos, cítricos y herbales (Tabla 16). Entre las muestras con adición de levaduras se puede identificar que el tratamiento T2,1 tiene mayor cantidad de UFC/ml tornando sabores dulces agradables comparado con el tratamiento T2,2 que tiene menor cantidad de UFC/ml con sabor dulzón pulposo áspero (Tabla 16). Lo anterior

muestra que el café es de calidad especial y que la adición de levaduras contribuye a introducir en el café características diferentes a los testigos.

Los cambios sensoriales se pueden atribuir a la levadura *Candida krusei/inconspicua* utilizada en el proceso de fermentación que genero variaciones estadísticamente significativas en variables como la cantidad de la levadura (Log UFC ml⁻¹) y cambios en factores fisicoquímicos, pero también pueden ser atribuidos a los hongos del género *Penicillium*, ya que algunas especies de este género de hongos se utilizan para la fabricación de quesos y embutidos en la modificación de aroma y sabor del producto

4. Conclusiones

Dentro del estudio realizado se puede establecer que el tiempo de fermentación fue el adecuado debido a que no se obtuvo café sobre fermentados o sabores negativos en ningún tratamiento realizado, pero se encontraron cambios en el análisis sensorial del café microbiológicamente modificado en base al atributo de fragancia / aroma con notas aromáticas, achocolatadas y dulces. Los cambios encontrados dentro del atributo de Fragancia / aroma no se resaltaron en el atributo de sabor por ello no se obtuvieron cambios significativos en el puntaje en taza.

Tabla 16. Relación UFC/ml, puntaje en taza y análisis sensorial

Tratamiento	UFC/ml	Log UFC ml ₁	Puntaje en taza	Fragancia/Aroma	Sabor	Acidez	Cuerpo
T2,1	4,70E+07	7,67	84,75	Dulce, aromático, Especiado, chocolate, cítrico	Dulce tenso pronunciado Agradable	Media-Media	Medio
T2,2	1,80E+07	7,26	82,25	Dulce, cítrica, herbal, chocolate	Dulzón, Pulposo y áspero	Media - Media	Medio
Testigo.1	5,20E+06	5,72	84,00	Dulce, cítrico, herbal	Dulce un poco maderoso en frio se torna áspero.	Media - Media	Medio
Testigo.2	1,70E+05	5,23	83,50	Dulce, Cítrico, Frutos rojos	Dulce un poco astringente en frio se torna áspera.	Media - Media	Medio, en frio se hace ligero
Testigo.3	1,80E+05	5,26	83,25	Dulce, cítrico, herbal, Dulce amarillos frescos	Un poco áspera y maderosa, en frio se coloca áspera	Media - Media	Medio-Medio

5. Bibliografía

- Aguilar, J., Espinoza, M., Cabanillas, J., & Ávila, I. (2015). *Evaluación de la cinética de crecimiento de saccharomyces cerevisiae utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo*. 5. <http://dx.doi.org/10.17268/agroind.science.2015.01.04>
- Amorocho, C. M. (2011). Caracterización y potencial probiótico de bacterias lácticas aisladas de leche de oveja Guirra. In *Universidad Politecnica de Vlaencia*. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/13830>
- Arias, F., Ruiz, A., & Londoño, J. (2018). Análisis del mercado de cafés especiales y el posicionamiento colombiano en las nuevas tendencias mundiales. *Journal of Research, Education and Society*, 1(1), 1–7.

- Bastista da Motaa, M., Batistaa, N., Sances, M., Ribeiroc, D., Borémb, F., & Schawana, R. (2020). Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. *Food Research International*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109482>Obtén
- Camacho, A., & Merino, M. (2018). Estimación del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del café arábigo (*Coffea arabica*) orgánico y convencional en el proceso de elaboración de yogur aromatizado con café. *Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC)*. <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/623034>
- Camiletti, B. X. (2018). *Estrategias de manejo de aspergillus y penicillium spp. Para la reducción de los niveles de micotoxinas en maíz* [Universidad Nacional de La Plata]. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/92372>
- Carrillo, L. (2003). *Microbiología Agrícola*. Universidad Nacional de salta.
- Carvajal, J., Aristizábal, I., Oliveros, E., & Mejía, W. (2011). Colorimetría del Fruto de Café (*Coffea arabica* L.) Durante su Desarrollo y Maduración. *Revista Facultad Nacional Agronomía- Medellín*, 64(2), 6229–6240.
- Carvajal, S. (2019). Aprovechamiento de los desperdicios del café para la elaboración de una Kombucha (*Medusomyces Gisevi*) a partir de borras de café. *Universidad de Guayaquil Facultad de Ingeniería Química Licenciatura En Gastronomía*.
- Cattaneo, C., & Larcher, L. (2006). Simulación de crecimiento de microorganismos utilizando el método de Monte Carlo. *Mecánica Computacional*, 15(2591–3522).
- Cattaneo, C., Larcher, L., Togo, S., & Chaillou, L. (2007). Aplicación de Método de Monte Carlo para el Estudio de Crecimiento de Bacterias y Levaduras. *Mecánica Computacional*, 16(2591–3522). <http://venus.santafe-conicet.gov.ar/ojs/index.php/mc/article/view/1351>
- Chávez, J. (2015). “Identificación de fitopatógenos fungosos y bacterianos en frutos de cuatro especies del género *Capsicum* al estado post cosecha.” (Issue Cajamarca – Perú). Universidad de Nacional de cajamarca.
- Codina, M. G., De Cueto, M., Vicente, D., Echevarría, J. E., & Prats, G. (2011). Microbiological diagnosis of central nervous system infections. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.10.003>
- Córdoba, N. M., & Guerrero, J. esteban. (2016). Caracterización De Los Procesos Tradicionales De Fermentación De Café En El Departamento De Nariño. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 75. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)75-83](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)75-83)
- Corrales, L., Antolinez, D., Bohórquez, J., & Corredero, A. (2015). Anaerobic bacteria: processes they perform and their contribution to life sustainability on the planet. *Nova*, 13(23), 55–81. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a06.pdf>
- Cortes, E. (2015). Evolución de atributos de calidad en queso huilense en almacenamiento refrigerado. *Ingeniería y Region*.
- Duicela, L., & Sofia, V. (2018). *Calidad organoléptica , métodos de beneficio y cultivares de café robusta (Coffea canephora Pierre ex Froehner) en la amazonía del Ecuador*. 19(2).
- Elizabeth, M., Rico, C., Beatriz, O., & Soto, L. (2016). Elaboración De Una Bebida Alcohólica Usando Subproductos Del Proceso De Beneficio Del Café (Pulpa De Café). In *Revista Nova* (Vol. 2, Issue 1). <http://revistas.sena.edu.co/index.php/rnova/rt/printerFriendly/619/0>
- Escobar, R. (2015). “Aflatoxina b1, b2, g1, g2 en arroz al granel en el mercado mayorista el arenal. cuenca. 2014” [Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/47183>
- 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>
- Fournier, P. (2013). *Respuesta productiva de pollos de carne de linea coobb 500 a la suplementación de una hepatoprotector en dos diferentes edades*. [Universidad Nacional de Trujillo]. <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4923/FOURNIER>

- CASTILLO PIERRE.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Garnier, L., Valence, F., Pawtowski, A., Auhustsinava-Galerie, L., Frotté, N., Baroncelli, R., Deniel, F., Coton, E., & Mounier, J. (2017). Diversity of spoilage fungi associated with various French dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, *241*, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.026>
- Gava, R., Almeida da fonsaca, A., Gava, M., & Herzorg, L. (2017). *Café Conilon* (Incapar (ed.); 2nd ed.). <https://biblioteca.incapar.es.gov.br/digital/handle/123456789/3114>
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019). The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. *Journal of Food Quality*, *2019*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2019/4836709>
- Juárez, A., Debernard, H., Quevedo, A., Malagó, F., & Morales, V. . (2018). características físicas del fruto de café (*Coffea arabica* L.) en híbridos de timor. *Agroproductividad*, *11*(3), 115–120. <http://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/226/169>
- Kim, J.-H., Kim, B.-M., Jeong, S.-G., & Oh, M. (2017). The Prevalence and Control of Spoilage Mold and Yeast in Cheese. *Journal of Milk Science and Biotechnology*, *35*(3), 152–161. <https://doi.org/10.22424/jmsb.2017.35.3.152>
- Ladino, W. (2017). Caracterización de las bacterias ácido lácticas (bal), hongos y levaduras que inciden durante el proceso de fermentación de café arábica (*coffea arabica*) y su influencia en el análisis sensorial y calidad de la taza. *Ingeniería y Region*, 108.
- Ladino, W., Cortés, E. T., Amorocho, C. M., & Gutiérrez, N. (2016). Calidad de taza de café (*Coffea arabica* L.) procesado en fermentación semi-seca Coffee (*Coffea arabica* L.) cup quality processed by semi-dry method. *ResearchGate*, *34*(November 2018), 5–6. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.57773>
- Marique, C., & Gutierrez, N. (2018). Evaluación del proceso de clasificación de café (*Coffee arabica* L.) por el método de la espectroscopia infrarroja FTIR Evaluation of the coffee classification process (*Coffee arabica* L.) by the FTIR infrared spectroscopy method. *Rev. Ingeniería y Región.*, *20*. <https://doi.org/10.25054/22161325.1890>
- McGuire, R. G. (2019). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, *27*(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>
- Mineducación. (2019). *Cartilla educativa en producción de cafés especiales* (Colombia). <https://www.ucc.edu.co/sitios/catalogo/SiteAssets/Lists/saladeprensa/poranyomes/cartilla produccion de cafes especiales.pdf>
- Nieto, D., & Bernal, J. (2018). Ensayo experimental basado en el crecimiento y producción enzimática del hongo penicillium sp y su potencial en la enseñanza interdisciplinaria a partir del manejo de variables en estudios biológicos de laboratorio. In *Universidad Pedagógica Nacional* (Vol. 10, Issue 1). <http://repositorio.pedagogica.edu.co/handle/20.500.12209/9680>
- Núñez, C. (2018). *Determinación de la aflatoxina M1 en lecherías de la Región Metropolitana y Región de Valparaíso* [Universidad de Chile]. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/168623>
- Ordoñez, L. (2019). Bacterias presentes en teléfonos móviles del personal que labora en el área de microbiología del hospital general de ambato, 2020. *Repositorio Digital de La UTMACH*. <https://doi.org/https://doi.org/10.26820/reciamuc/1.4.2017.649-683>
- Patay, E. B., Fritea, L., Antonescu, A., Antonescu, A., & Dobjanschi, L. (2017). *Coffea arabica*: A Plant with Rich Content in Caffeine. In *The Question of Caffeine*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68149>
- Pérez, D., & Zárate, M. (2013). *Determinación de la flora micológica del maíz seco y su harina en la parroquia San Juan-Canton Gualaceo*. 1–85.
- Pineda, J. (2017). Identificación de estreptococo b-hemolítico en hisopados nasofaríngeos de perros con patologías respiratorias en diferentes clínicas en la ciudad de machala. In *Universidad técnica de Machala*.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009a). *Aspergillus* and Related Teleomorphs. In *Fungi and Food Spoilage* (pp. 275–337). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2_8
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009b). *Penicillium* and Related Genera. In *Fungi and Food Spoilage*

- (Vol. 2, Issue 1, pp. 169–273). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2_7
- Quintero, G. I. P., & Molina, J. G. E. (2015). Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad. *Gerencia Técnica / Programa de Investigación Científica Fondo Nacional Del Café*, 12. <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/558/1/avt0454.pdf>
- Quintero, J. J. G., Mendez, C. D. N., & Vianchá Sánchez, Z. (2017). Análisis de buenas prácticas en el proceso de beneficio del café: experiencia de estudio en el municipio de Viotá (Cundinamarca, Colombia). *Ingeniería Solidaria*, 13(22), 121–136. <https://doi.org/10.16925/in.v13i22.1839>
- Ramírez, A. (2018). Rendimiento del café pergamino húmedo determinado por características específicas de los productores. *Coporación Universitaria Lasallista*, 1–107. http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2421/1/Rendimiento_cafe_percamino_humedo.pdf
- Ramos, C. L., de Almeida, E. G., Pereira, G. V. de M., Cardoso, P. G., Dias, E. S., & Schwan, R. F. (2010). Determination of dynamic characteristics of microbiota in a fermented beverage produced by Brazilian Amerindians using culture-dependent and culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2–3), 225–231. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.029>
- Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. da C. P., Evangelista, S. R., Martins, P. M. M., van Mullem, J., Belizario, M. H., & Schwan, R. F. (2017). Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. *Food Research International*, 92, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.011>
- Rodriguez, A. (2018). *Comportamiento de híbridos de maíz ante una cepa de Aspergillus flavus en la provincia de Córdoba* [Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/70667>
- Rodriguez, N., Sanz, J., Oliveros, C., & Ramirez, C. (2015). *Beneficio del café en Colombia*. FNC-Cenicafé.
- Salvador, C., & Molina, H. (2017). “Prevalencia de bacterias portadoras de blee y kpc en pacientes de nuevo ingreso a la unidad de cuidados intensivos en el hospital san francisco de quito durante el periodo junio del 2016 a junio del 2017. *Repositorio Digital UCE*. <https://doi.org/http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13356>
- Samboní, A. (2017). Evaluación de sistemas de tratamiento de aguas residuales producto del beneficio de café en el municipio de Pitalito, Huila. *Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD*, 3(1), 1–14.
- Sanchez, I. (2018). Efecto de la adición de levadura (*Saccharomyces* sp) en el proceso de fermentación de café (*Coffea arabica*). *Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazonas.*, 71. http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1514/Sanchez_De_La_Cruz_Inder_Gley.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Sanz, S., & Hidalgo, M. (2018). *Identificación y Caracterización de Microorganismos Alterantes del Vino en Bodega : Revisión de Aplicaciones de las Nuevas Técnicas Moleculares Alumno / a : Sandra Sanz Heras Tutor / a : Elena Hidalgo Rodríguez*. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/31871>
- SCA. (2015). SCAA Protocols Cupping Specialty Coffee. *Specialty Coffee Association of America*, 1–10. <http://www.scaa.org/?page=resources&d=coffee-protocols>.
- Schwan, R. F., Almeida, E. G., Souza-Dias, M. A. G., & Jespersen, L. (2007). Yeast diversity in rice-cassava fermentations produced by the indigenous Tapirape people of Brazil. *FEMS Yeast Research*, 7(6), 966–972. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2007.00241.x>
- Schwan, R., Hui, Y., Evranuz, E., Silva, C., & Batista, L. (2012). Coffee Fermentation. *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition*, 677–690. <https://doi.org/10.1201/b12055-49>
- Silva, C. F., Vilela, D. M., 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>
- Stratford, M. (2014). Food and Beverage Spoilage Yeasts. In *Yeasts in Food and Beverages* (Vol. 99, Issue 2, pp. 335–379). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-28398-0_11
- Suarez, D. (2018). Análisis de datos cinéticos para la producción de ácido láctico a partir de *Lactobacillus acidophilus* en un sustrato complejo [FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA]. In *Universidad de América*. <https://hdl.handle.net/20.500.11839/6766>
- Toledo, P. R. A. B., Pezza, L., Pezza, H. R., & Toci, A. T. (2016). Relationship Between the Different Aspects Related to Coffee Quality and Their Volatile Compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 705–719. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12205>
- Trejo, L., Gómez, F., Morales, V., Marin, T., Castañeda, O., & Pastelin, M. (2018). concentración de macronutrientes y micronutrientes en granos de café (*Coffea sp.*) de diferentes orígenes. In *AgroProductividad* (Vol. 11, Issue 4). <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i4.263>
- Vásquez, J. (2015). Propuesta de plan de negocio para exportar cafés especiales a la república de Corea del Sur. *Universidad Eafit Escuela*, 1–94.
https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/7378/JuanFernando_VasquezEscobar_2015.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Virgüez, N., & Castro, E. C. (2019). *Evaluación del mucílago de café (Coffea arabica L, Caturra) como potencial prebiótico en una bebida de arroz*.
https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1277&context=ing_alimentos
- Yela, R. (2019). Caracterización de las diferentes técnicas de manejo de plagas y enfermedades en cafés. *Universidad de Nariño Facultad de Ciencias Agrícolas*.
http://sired.udenar.edu.co/5915/2//articulo_cientifico.pdf
- Yinsheng, X. U. (2016). *Utilização de leveduras saccharomyces no controle da deterioração do queijo parmesão*. 73. [http://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/522/1/Xu Yinsheng - Dissertação.pdf](http://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/522/1/Xu%20Yinsheng%20-%20Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf)
- Zumbado, W., Esquivel, P., & Wong, E. (2006). Selección de una levadura para la producción de biomasa: Crecimiento en suero de queso. *Agronomía Mesoamericana*, 17 °N2(1021–7444), 151–160. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5039970>

ANEXOS

ANEXO A

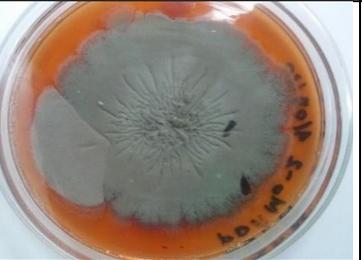
Granos de café pergamino seco con crecimiento de hongos en agar PDA.



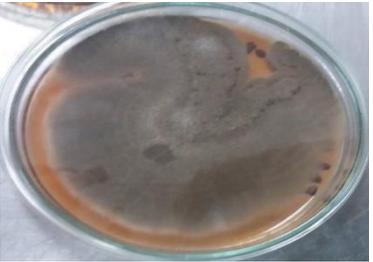
ANEXO B

Pigmentación de los cultivos monospóricos

T2,1 <i>Penicillium monoverticillate</i>	T22,1 <i>Penicillium Biverticillium</i>	T22,3 <i>Aspergillus terreus</i>
		

Testigo3,4 <i>Penicillium subgenus furcatum</i>	Testigo1,1 <i>Penicillium monoverticillate</i>	Testigo1,2 <i>Penicillium Biverticillium</i>
		

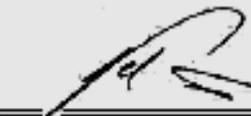
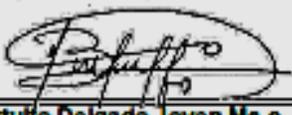
Testigo 2,1 <i>Aspergillus terreus</i>	Testigo2,2 <i>Penicillium terverticillate</i>	Testigo2,4 <i>Aspergillus terreus</i>
		

Testigo3,1 <i>Penicillium Biverticillado</i>	Tetigo3,2 <i>Penicillium terverticillate</i>	Testigo3,3 <i>Penicillium Biverticillium</i>
		

ANEXO C

Fichas técnicas

Tratamiento	Testigo.1	Testigo.2	Testigo.3	T2,1	T2,2
Ficha técnica	826	958	565	235	435

		FICHA TÉCNICA			
Fecha:		11/09/20		Muestra:	
				826	
DATOS DEL PRODUCTOR	Nombre (Propietario):		MANUEL PAJOY		
	Cédula:		20151139044		
	Departamento:		HUILA		
	Municipio:		GIGANTE		
	Vareda/Predio:		3.5		
	Variedad:		COLOMBIA		
	Altura (m.s.n.m.):		1650		
Teléfono/Celular:					
ANÁLISIS FÍSICO	Humedad (%):		10.3		
	Almendra total (g):		199.5		
	Almendra sana (g):		182.0		
	Broca	g	3.5		
		%	1.8		
	Pasilla	g	16.0		
		%	8.0		
Merma (%):		20.2			
F.R. (Kg):		96.2			
		OBSERVACIONES			
		Se encontró: G. Decolorados amar o mantequillos, causado problemas de nutrientes en el suelo. G. Avaranados o arrugados, causado por un desarrollo pobre del café por sequía o debilidad del café. G. Decolorados sobrecocados, debido a demasiado tiempo en el secado. G. Inmaduros o peloteados, causado por recolección de granos verdes o pintones, roya o sequía o falta de abono. G. Partidos, debido a la despulpadora mal ajustada o camisa defectuosa o recolección de cerezas verdes. G. Aplastados, por maltrato durante el beneficio, pisar el café durante el secado o desgaste de camisas. G. Brocados.			
ANÁLISIS SENSORIAL	Fragancia/Aroma	DULCE, CRÍTICO, NARANJA, HERBAL			
	Sabor	DULCE UN POCO MADEROSO EN FRIO SE TORNA ASPERO			
	Acidez	MEDIA MEDIA			
	Cuerpo	MEDIO			
	Puntaje total	84.00			
OBSERVACIONES		Es considerado un café especial según las SCAA.			
					
Nelson Gutiérrez Guzmán Ph.D. Coordinador CESURCAFÉ (57)(8) 8754753 Ext 1131 cesurcafe@usco.edu.co		Bertulfo Delgado Joven Ms.c. Catador Certificado Q Grader SCAA			



FICHA TÉCNICA



Fecha: 11/09/20 Muestra: 958

DATOS DEL PRODUCTOR	Nombre (Propietario):	MANUEL PAJOY
	Cédula:	20151139044
	Departamento:	HUILA
	Municipio:	GUGANTE
	Vareda/Predio:	LA FLORIDA
	Variedad:	COLOMBIA
	Altura (m.s.n.m.):	1650
	Teléfono/Celular:	

ANÁLISIS FÍSICO	Humedad (%):	10.8	OBSERVACIONES Se encontró: G. Vinagre, causado por retrasos en la recolección y en el despulpado, fermentaciones prolongadas, uso de aguas contaminadas, sobrecalentamiento o almacenamiento húmedo del café. G. Decolorados amar o mantecillos, causado problemas de nutrientes en el suelo. G. Averanados o arrugados, causado por un desarrollo pobre del café por sequía o debilidad del café. G. Decolorados sobrecalentados, debido a demasiado tiempo en el secado. G. Inmaduros o paloteados, causado por recolección de granos verdes o pintones, roya o sequía o falta de abono. G. Partidos, debido a la despulpadora mal	
	Almendra total (g):	199		
	Almendra sana (g):	176.1		
	Broca	g		4.6
		%		2.3
	Pasilla	g		20.6
		%		10.4
	Merma (%):	20.4		
F.R. (Kg):	99.4			

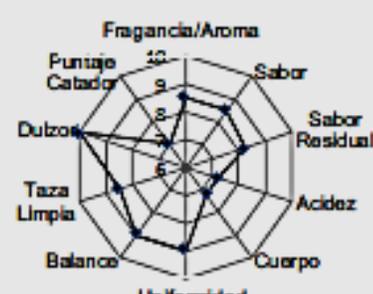
ANÁLISIS SENSORIAL	Fragancia/Aroma	DULCE, CÍTRICO, VAINILLA, PERFUMADA, FRUTO S ROJOS	
	Sabor	DULCE UN POCO ASTRIGENTE, EN FRÍO SE HACE	
	Acidez	MEDIA MEDIA	
	Cuerpo	MEDIO MEDIO, EN DULCE SE HACE LIGERO	
	Puntaje total	83.50	
	958		

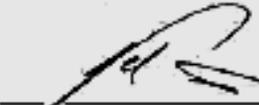
OBSERVACIONES Es considerado un café especial según las SCAA.

Nelson Gutiérrez Guzmán Ph.D.
 Coordinador CESURCAFÉ
 (57)(8) 8754753 Ext 1131
cesurcafe@usco.edu.co

Bertulfo Delgado Joven Ms.c.
 Catador Certificado Q Grader
 SCAA

Fecha: 11/09/20 Muestra: 565

DATOS DEL PRODUCTOR	Nombre (Propietario):		MANUEL PAJOY	OBSERVACIONES Se encontró: G. Decolorados amar o mantequillos, causado problemas de nutrientes en el suelo. G. Averanados o amagados, causado por un desarrollo pobre del café por sequía o debilidad del café. G. Decolorados sobresecados, debido a demasiado tiempo en el secado. G. Inmaduros o paloteados, causado por recolección de granos verdes o pintones, roya o sequía o falta de abono. G. Partidos, debido a la despulpadora mal ajustada o camisa defectuosa o recolección de cerezas verdes. G. Aplastados, por maltrato durante el beneficio, pisar el café durante el secado o desgaste de camisas. G. Brocados.
	Cédula:		20151139044	
	Departamento:		HUILA	
	Municipio:		GIGANTE	
	Vareda/Predio:		LA FLORIDA	
	Variedad:		COLOMBIA	
	Altura (m.s.n.m.):		1650	
	Teléfono/Celular:			
ANÁLISIS FÍSICO	Humedad (%):	11.5		
	Almendra total (g):	198.3		
	Almendra sana (g):	160.4		
	Broca	g		3.1
		%		1.6
	Pasilla	g		45
		%		22.7
	Merma (%):	20.7		
F.R. (Kg):	116.4			
ANÁLISIS SENSORIAL	Fragancia/Aroma	DULCE CITRICO, HERBALES, DULCES AMARILLO FRESCOS		
	Sabor	UN POCO ASPERO Y MADEROSO, EN FRIO SE COLOCA		
	Acidez	MEDIA MEDIA		
	Cuerpo	MEDIO MEDIO		
	Puntaje total	83.25		
				565
OBSERVACIONES		Es considerado un café especial según las SCAA.		



Nelson Gutiérrez Guzmán Ph.D.
 Coordinador CESURCAFÉ
 (57)(8) 8754753 Ext 1131
cesurcafe@usco.edu.co



Bertulfo Delgado Joven Ms.c.
 Catador Certificado Q Grader
 SCAA

**FICHA TÉCNICA**

Fecha: 11/09/20 Muestra: 435

DATOS DEL PRODUCTOR	Nombre (Propietario): MANUEL PAJOY		OBSERVACIONES Se encontró: G. Vinagre, causado por retrasos en la recolección y en el despulpado, fermentaciones prolongadas, uso de aguas contaminadas, sobrecalentamiento o almacenamiento húmedo del café. G. Decolorados ambar o mantequillos, causado problemas de nutrientes en el suelo. G. Averanados o arrugados, causado por un desarrollo pobre del café por sequía o debilidad del café. G. Decolorados sobresecados, debido a demasiado tiempo en el secado. G. Inmaduros o paloteados, causado por recolección de granos verdes o pintones, roya o sequía o falta de abono. G. Partidos, debido a la despulpadora mal
	Cédula:		
	Departamento: HUILA		
	Municipio: GIGANTE		
	Vareada/Pradio: LA FLORIDA		
	Variedad: COLOMBIA-M2		
	Altura (m.s.n.m.): 1650		
Teléfono/Celular:			
ANÁLISIS FÍSICO	Humedad (%):	10	
	Almendra total (g):	195	
	Almendra sana (g):	166	
	Broca	g	4.6
		%	2.4
	Pasilla	g	27.3
		%	14.0
Merma (%):	22.0		
F.R. (Kg):	105.4		
ANÁLISIS SENSORIAL	Fragancia/Aroma	DULCE, CITRICA, HERBAL, CHOCOLATE	
	Sabor	DULZON, PULPOSO Y ASPERO.	
	Acidez	MEDIA - MEDIA, ASTRINGENTE	
	Cuerpo	MEDIO - MEDIO.	
	Puntaje total	82.25	
	OBSERVACIONES	Es considerado un café especial según las SCAA.	

Nelson Gutiérrez Guzmán Ph.D.
 Coordinador CESURCAFÉ
 (57)(8) 8754753 Ext 1131
cesurcafe@usco.edu.co

Bertulfo Delgado Joven Ms.c.
 Catador Certificado Q Grader
 SCAA