



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 1

Neiva, 16 de noviembre de 2022.

Señores
CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

La suscrita:

María Paula Quevedo Villamil, con C.C. No. 1015472681

Autor de la tesis y/o trabajo de grado titulado **Caracterización física, microbiológica y sensorial del Café fermentado con cepa aislada de Café** presentado y aprobado en el año **2022** como requisito para optar al título de **Ingeniera 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:

Firma: *Paula Quevedo*

Vigilada Mineducación



TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO:

“CARACTERIZACIÓN FÍSICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL CAFÉ FERMENTADO CON CEPA AISLADA DE CAFÉ”.

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
QUEVEDO VILLAMIL	MARÍA PAULA

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
AMOROCHO CRUZ	CLAUDIA MILENA
CORTÉS GAONA	MARÍA DEL PILAR

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
----------------------------	--------------------------

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: INGENIERA AGRÍCOLA

FACULTAD: INGENIERÍA

PROGRAMA O POSGRADO: INGENIERÍA AGRÍCOLA

CIUDAD: NEIVA

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2022

NÚMERO DE PÁGINAS: 39

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas___ Fotografías Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general
Grabados___ Láminas___ Litografías___ Mapas___ Música impresa___ Planos___ Retratos___
Sin ilustraciones___ Tablas o Cuadros

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento: NO



MATERIAL ANEXO: NO

PREMIO O DISTINCIÓN (*En caso de ser LAUREADAS o Meritoria*):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. Análisis sensorial	Sensory analysis
2. Atributos	attributes
3. Tueste	roasting
4. Taza	Cup

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Los escasos procesos de investigación en fermentación del café en la caficultura del sur de Colombia han generado la necesidad de estandarizar los procesos en la etapa del beneficio del café, la cual es de especial relevancia desde el punto de vista biotecnológico dado que en la pulpa y mucílago están presentes Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) y levaduras. Por ende, el objetivo de este estudio es evaluar cómo la inoculación de levaduras al inicio de la fermentación en diferentes cantidades influye en la calidad final en taza de la bebida. El proceso se realizó mediante beneficio semiseco del café, donde se implementaron 4 tratamientos con inoculación de la cepa nativa de levadura aislada de café en diferentes cantidades (T1, T2, T3) en la etapa inicial de fermentación y el tratamiento control (TC), de 10 kg cada muestra de café; con fermentación de 22 horas; además, se realizó seguimiento de variables fisicoquímicas y microbiológicas al inicio, intermedio y final de la fermentación; las muestras pasaron por el proceso de secado hasta alcanzar un rango de humedad del 10 al 12%. Posteriormente, se procedió a realizar el análisis físico; el tueste con curvas de tostado a tres diferentes temperaturas (150°C, 180°C y 210°C), al inicio del tueste y el análisis sensorial según protocolo SCA para todos los tratamientos, para así, relacionar la fermentación con el análisis de la calidad en taza, donde se encontraron que no todas las curvas de tueste cambiaron el comportamiento de la calidad en la taza, sino solamente los tratamientos inoculados y sometidos a temperaturas iniciales de tueste de 150 °C tuvieron un buen compartimiento en taza.

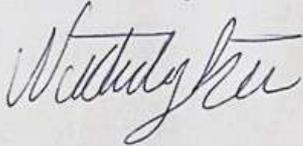
ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

The scarce research processes on coffee fermentation in coffee growing in southern Colombia have generated the need to standardize the processes in the coffee processing stage, which is of special relevance from the biotechnological point of view, given that Lactic Acid Bacteria (LAB) and yeasts are present in the pulp and mucilage. Therefore, the objective of this study is to evaluate how the inoculation of yeasts at the beginning of fermentation in different amounts to influence the final cup quality of the beverage, the process was carried out by semi-dry coffee processing, where 4 treatments were implemented with inoculation of the native strain of yeast isolated from coffee in different amounts (T1, T2, T3) in the initial stage of fermentation and the control treatment (TC), of 10 kg each coffee sample; in addition, physicochemical and microbiological variables were monitored at the beginning, intermediate and end of fermentation; the samples went through the drying process until they reached a humidity range of 10 to 12%. Subsequently, physical analysis was performed; roasting with roasting curves at three different temperatures (150°C, 180°C and 210°C), at the beginning of roasting and sensory analysis according to SCA protocol for all treatments, in order to relate fermentation to the analysis of cup quality, where it was found that not all roasting curves changed the behavior of cup quality, but only the inoculated treatments subjected to initial roasting temperatures of 150°C had a good cup compartment.

APROBACION DE LA TESIS

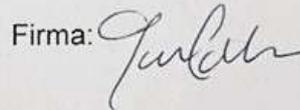
Nombre Jurado: Nataly Peña Gómez

Firma:



Nombre Jurado: Carolina Acosta Romero

Firma:



CARACTERIZACIÓN FÍSICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL CAFÉ FERMENTADO CON CEPA AISLADA DE CAFÉ.

Trabajo de grado presentado al departamento de Ingeniería Agrícola
como requisito para optar al título de: Ingeniero Agrícola

Autores

María Paula Quevedo Villamil: 20161144835

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Agrícola

Neiva, Huila, Colombia. 2022

Firma

Director: Claudia Milena Amorocho Cruz

Firma

Codirector: María del Pilar Cortés Gaona

Nota de aceptación

Firma

Jurado: Nataly Peña-Gómez

Firma

Jurado: Carolina Acosta-Romero

CARACTERIZACIÓN FÍSICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL CAFÉ FERMENTADO CON CEPA AISLADA DE CAFÉ.

RESUMEN

Los escasos procesos de investigación en fermentación del café en la caficultura del sur de Colombia han generado la necesidad de estandarizar los procesos en la etapa del beneficio del café, la cual es de especial relevancia desde el punto de vista biotecnológico dado que en la pulpa y mucílago están presentes Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) y levaduras. Por ende, el objetivo de este estudio es evaluar cómo la inoculación de levaduras al inicio de la fermentación en diferentes cantidades influye en la calidad final en taza de la bebida. El proceso se realizó mediante beneficio semiseco del café, donde se implementaron 4 tratamientos con inoculación de la cepa nativa de levadura aislada de café en diferentes cantidades (T1, T2, T3) en la etapa inicial de fermentación y el tratamiento control (TC), de 10 kg cada muestra de café; con fermentación de 22 horas; además, se realizó seguimiento de variables fisicoquímicas y microbiológicas al inicio, intermedio y final de la fermentación; las muestras pasaron por el proceso de secado hasta alcanzar un rango de humedad del 10 al 12%. Posteriormente, se procedió a realizar el análisis físico; el tueste con curvas de tostado a tres diferentes temperaturas (150°C, 180°C y 210°C), al inicio del tueste y el análisis sensorial según protocolo SCA para todos los tratamientos, para así, relacionar la fermentación con el análisis de la calidad en taza, donde se encontraron que no todas las curvas de tueste cambiaron el comportamiento de la calidad en la taza, sino solamente los tratamientos inoculados y sometidos a temperaturas iniciales de tueste de 150 °C tuvieron un buen compartimiento en taza.

Palabras clave: Análisis sensorial, atributos, tueste, taza.

ABSTRACT

The scarce research processes on coffee fermentation in coffee growing in southern Colombia have generated the need to standardize the processes in the coffee processing stage, which is of special relevance from the biotechnological point of view, given that Lactic Acid Bacteria (LAB) and yeasts are present in the pulp and mucilage. Therefore, the objective of this study is to evaluate how the inoculation of yeasts at the beginning of fermentation in different amounts to influence the final cup quality of the beverage, the process was carried out by semi-dry coffee processing, where 4 treatments were implemented with inoculation of the native strain of yeast isolated from coffee in different amounts (T1, T2, T3) in the initial stage of fermentation and the control treatment (TC), of 10 kg each coffee sample; in addition, physicochemical and microbiological variables were monitored at the beginning, intermediate and end of fermentation; the samples went through the drying process until they reached a humidity range of 10 to 12%. Subsequently, physical analysis was performed; roasting with roasting curves at three different temperatures (150°C, 180°C and 210°C), at the beginning of roasting and sensory analysis according to SCA protocol for all treatments, in order to relate fermentation to the analysis of cup quality, where it was found that not all roasting curves changed the behavior of cup quality, but only the inoculated treatments subjected to initial roasting temperatures of 150°C had a good cup compartment.

Keywords: Sensory analysis, attributes, roasting, cup.

1. INTRODUCCIÓN

Una de las bebidas más consumidas en el mundo es el café, este producto tiene una gran influencia y producción en el sur de Colombia, se destaca por sus peculiares aromas y sabores, los cuales le proporcionan características organolépticas favorables en el proceso de tostado, las cuales determinan la calidad del producto.

La fermentación es un proceso catabólico donde los polisacáridos, disacáridos y monosacáridos son metabolizados generando etanol, ácido láctico, acético y butírico (Puerta 2010). Es de resaltar que en este proceso intervienen las enzimas propias de los microorganismos presentes naturalmente en la matriz alimentaria obtenidos a partir de la fermentación van en relación con el tipo de levaduras y bacterias del sustrato, así como también con las condiciones externas. Las levaduras son microorganismos presentes en los procesos de fermentación de diferentes alimentos, estas ocasionan cambios en el sabor y la textura, manteniendo las propiedades sensoriales y proporcionando un efecto conservante.

En el proceso de fermentación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es posible mejorar significativamente las características sensoriales del café (Martínez *et al.*, 2017); sin embargo, se deben tener en cuenta factores como el tiempo de fermentación y factores externos como la temperatura, higiene, ambiente, equipos, entre otros.

Evangelista *et al.*, 2014 aislaron microorganismos del café como *S. cerevisiae*, *C. Parapsilosis* y *Pichia guilliermondii* durante procesamientos secos; semisecos y evaluaron su potencial como cultivos iniciadores, ya que estos mejoran la calidad de los alimentos fermentados al proporcionar, un mejor control de la fermentación y la previsibilidad del producto final, mediante este estudio se obtuvo como resultado que el uso de levaduras como cultivos iniciadores es una buena alternativa para obtener un café de alta calidad y sabor distintivo; sin embargo, se deben realizar estudios futuros para confirmar cuál es la mejor cepa para usar y evaluar la capacidad de los inóculos de levadura para inhibir el crecimiento de hongos filamentosos.

Silva *et al.*, 2017 realizaron un estudio que tuvo como finalidad determinar el efecto de inocular *Saccharomyces cerevisiae* CCMA0200, CCMA 0543 y *Torulaspora delbrueckii* en dos variedades de café (Ouro Amarelo y Mundo Novo) mediante el proceso semiseco y al final evaluando los atributos sensoriales. Se utilizaron dos técnicas de análisis sensorial (análisis de sabor en taza y dominio temporal de las sensaciones). El uso de las cepas CCMA 0543 y CCMA 0684 mejoró las sensaciones de bebida de ambas variedades de café. La adición de cultivo iniciador CCMA 0543 destacó la acidez del café, mejorando los resultados sensoriales entre las cepas de levadura, para ambas variedades de café. El uso de dos técnicas de análisis sensorial proporcionó un mejor análisis descriptivo y comparativo de las características sensoriales de los tratamientos.

Martínez *et al.*, 2017 evaluaron el comportamiento de *Saccharomyces (S.) cerevisiae* (CCMA 0543), *Candida (C.) parapsilosis* (CCMA 0544) y *Torulaspora (T.) delbrueckii* (CCMA 0684) como cultivos iniciadores para café procesado semiseco utilizando dos métodos de inoculación: (1) inoculación directa y (2) inoculación en balde donde ambos presentaron buenos resultados. Con relación al segundo se favoreció la viabilidad de *S. cerevisiae* y todos los cafés producidos en este

estudio resultaron en puntajes superiores a 80, lo que indica buena calidad y la viabilidad de usar estos microorganismos como cultivos iniciadores.

Evangelista *et al*, 2014 evaluaron el potencial de las cepas de levadura como cultivos iniciadores para la fermentación seca de granos de café lavados y no lavados. Cuatro cepas de levadura (*Saccharomyces cerevisiae* UFLA YCN727, *S. cerevisiae* UFLA YCN724, *Candida parapsilosis* UFLA YCN448 y *Pichia guilliermondii* UFLA YCN731) se inocularon por separado en cerezas de café lavadas y no lavadas y en el control no se añadió ninguno de los cultivos iniciadores. Los frutos inoculados se esparcieron en bandejas y se colocaron en una terraza hasta que los granos de café alcanzaron el 11% de humedad. El café inoculado con levadura mostró sensaciones de sabores superiores al café de control, lo que indica una mayor calidad sensorial. El tratamiento con *C. parapsilosis* UFLA YCN448 mostró una tasa de dominancia más alta (cerca de 1) para la sensación de caramelo. En el café no lavado esas sensaciones no fueron agradables con relación al café lavado, excepto cuando se inoculó *P. guilliermondii* UFLA YCN731, sugiriendo que lavar el fruto antes del proceso de fermentación influyó positivamente en la calidad del producto final. Se podría producir un café con aroma especial de caramelo, hierbas y frutas utilizando los cultivos iniciadores *C. parapsilosis* UFLA YCN448 y *S. cerevisiae* UFLA YCN727 en café procesado por el método seco.

Además, los periodos de almacenamiento junto a factores como humedad y temperatura pueden favorecer el crecimiento de hongos en los productos alimenticios. Los géneros predominantes en café son *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* y *Mucor*. (Cenicafé, 2006). Los anteriores géneros son productores de micotoxinas, las cuales no son eliminadas en el proceso de tostión y se ha indicado que la presencia de OTA en cantidades superiores a 5µg/kg podría generar afectación en la salud del ser humano (Carrillo, 2003) por su grado de toxicidad. Es de resaltar que los géneros productores de la ocratoxinas son *Aspergillus* y *Penicillium* y la presencia de estos en café pergamino en verde ponen de manifiesto la necesidad de generar medidas preventivas (Luna *et al*, 2010).

Estudios realizados en granos de café inoculando *Saccharomyces*, *Pichia* y *Candida* han mostrado que el rol de estas levaduras ha sido fundamental en la etapa de fermentación dado que ha evitado el crecimiento de hongos filamentosos y han predominado las enzimas pectinolíticas que actúan en la pulpa y mucilago. (Evangelista *et al*, 2014; Guzmán, 2021)

La definición de café especial fue establecida por la Asociación Americana de Cafés Especiales (SCA) en 1982 y se atribuye a un café con buena preparación, de un origen único y sabor distintivo. Con relación al grano verde especial se refiere al que no presenta defectos y tiene un carácter distintivo en taza, con una puntuación igual o superior a 87 (SCA, 2014). Así, la calificación obtenida de una muestra de café corresponde a una suma de factores que involucran la variedad, el cultivo, la etapa postcosecha hasta el análisis sensorial en taza.

Los diferentes tipos de bebidas de café están caracterizadas por diversos matices en términos de cuerpo, aroma, acidez y astringencia. Existen varios factores que influyen en la bebida final, y entre estos está la acción de los microorganismos (Esquivel & Jiménez, 2012). El análisis sensorial cuenta con paneles de catación, allí los participantes previamente se han entrenado sus sentidos con el fin de dar una calificación a la matriz en cuestión, de esta manera se evalúa el café en cuanto a su calidad. (Puerta, 2012).

Por lo cual en el presente proyecto se plantea realizar un protocolo de fermentación realizando seguimiento de variables a los tratamientos con la inoculación de levadura al inicio de fermentación y tratamiento control, evaluando la influencia sobre la calidad sensorial de la bebida, puesto que si se logra comprobar los atributos en el sabor y en el aroma que sean agradables para el consumidor, el producto tendrá un mayor valor, lo cual será remunerado a los productores y a los comercializadores.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Activación levadura (CBS-03D)

Se activó la cepa de levadura CBS-03D aislada de café de la colección del laboratorio de Microbiología de alimentos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana, conservada a -20°C (Ladino, 2017). Para la activación se sembró la cepa en superficie en medio agar extracto de levadura, dextrosa y cloranfenicol (Chloramphenicol glucose agar, YGC, condalab, España), se llevó a incubadora (Heratherm Imh60-S, Thermoscientific, Alemania) durante 24 horas a 30°C , luego se realizó una siembra triple estría en agar YGC, igualmente se incubó durante 24 horas a 30°C para la obtención de un cultivo puro, posteriormente se tomó una colonia aislada para realizar la resiembra en superficie en agar YGC y nuevamente se llevó a incubación en las mismas condiciones.

2.1.1 Identificación bioquímica

La cepa CBS-03D, aislada de café del municipio de Pitalito en el corregimiento de Bruselas, variedad castillo de las 0 horas de fermentación (Ladino, 2017), se estudió bajo el sistema API 20 C AUX (BioMérieux, Francia).

Preparación de la galería (20 cúpulas): se creó una atmósfera húmeda en la cámara de incubación con 5ml de agua destilada por todos los alvéolos, para así depositar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo: con un cultivo en placa de 24 horas en agar YGC, se inoculó en agua de peptona (9ml) hasta llegar a escala McFarland 2%, seguidamente se utilizó una ampolla API C Medium y se transfirió 100 μl (Transfferpette R S, BRAND, Alemania) de la suspensión anterior.

Inoculación de la galería: se llenaron las cúpulas con la suspensión obtenida en el API C Medium, se cerró la cámara de incubación y se incubó a 30°C por 48-72 horas.

Durante la incubación, se espera que la levadura crezca solamente si es capaz de utilizar el sustrato correspondiente, esto se observa mediante el crecimiento de la levadura comparativamente con la cúpula 0 (testigo negativo), una cúpula con mayor turbidez que la de control nos indica una reacción positiva. Los resultados obtenidos permiten la identificación del microorganismo con la ayuda de un programa informático de identificación: paquete estadístico apiwebTM.

Determinación de presencia de hifas (micelio) o de pseudoifas (pseudomicelio): con la ayuda del agar extracto de arroz (Preparado en laboratorio), se extendió una porción de la colonia (levadura)

y se realiza un pequeño corte en la superficie del agar mediante un asa, después la zona inoculada se cubre con una cubierta de vidrio estéril y se incuba a 30 °C durante 48 horas. Después de la incubación, se examina en el microscopio (Leica DM500, China).

2.1.2 Cinética y curva de Crecimiento microbiano

Una vez obtenido un crecimiento de 24 horas, se diluye una porción de crecimiento de levadura en 9 ml de agua de peptona (Agua De Peptona Tamponada ISO 6579, Merck, Alemania) hasta escala McFarland 0.5%, posteriormente se diluye con 90ml de agua de peptona, obteniendo así el tratamiento, además se tiene el respectivo tratamiento control (Blanco). En todos los casos se realizó por duplicado.

Además, se midió densidad óptica por medio del espectrofotómetro UV Vis (Pharmacia Biotech-Ultrospec 2000 UV/ VIS, Reino Unido) con una longitud de onda de 600 nm para 11 tiempos (0, 2, 4, 6, 8, 20, 22, 27, 30, 46, 49) horas. Se hicieron diluciones seriadas y se sembró en superficie en agar YGC, incubando a 30 °C, finalmente se determinó conteo de microorganismos viables en placa (UFC/ml) en los tiempos de 24, 48 y 72 horas.

- Recuento unidades de crecimiento microbiano

El conteo del orden de crecimiento de las levaduras (colonias) se determinó con la siguiente ecuación (1).

$$UFC \cdot ml^{-1} = \left(\frac{NC}{V * ND} \right) \quad (1)$$

Donde,

NC: número de colonias de crecimiento en placa, V: volumen de siembra (0.1 ml) y ND: dilución de conteo de colonias.

2.2 Recolección de café cereza y beneficio

Se realizó la recolección de 150 kg de café cereza en estado de maduración, variedad Colombia de la finca La Florida ubicada en el municipio de Gigante, Huila-Colombia a 1650 m.s.n.m, posteriormente fue transportado a las instalaciones del Centro Surcolombiano de investigación en Café (CESURCAFÉ) de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana, el café fue dispuesto en una tina doble negra (COLEMPAQUES, 350 L) con agua donde se realizó un flote, para la selección del café en maduración óptima, separando así los granos flotantes y el café verde. Implementamos el beneficio semiseco, se despulpamos los granos en la despulpadora GAVIOTA MDZ 300 (300 kg/h, INGESEC-PROMAIN LTDA, Colombia) y se dispusieron en ocho (8) tanques plásticos de fermentación previamente rotulados (4 tratamientos por duplicado) en condiciones anaerobias.

2.3 Fermentación

Se implementaron (3) tres tratamientos con inoculación (T1:10 asas de levadura, T2:8 asas de levadura, T3: 5 asas de levadura) y el tratamiento control (TC: tratamiento control), la muestra de levadura fue extraída de una placa con crecimiento en masa de 24 horas mediante asa de platino,

para ser diluidas en 9 ml de agua de peptona, posteriormente para cada Erlenmeyer se diluyó la mitad (4.5 ml) en 150 ml de agua de peptona esterilizada; cada tratamiento inoculado quedó con un volumen de 154.5 ml, para así llevarse a incubación de 30°C durante 18 horas.

Para incorporar las células de las levaduras, el medio líquido con crecimiento de la levadura fue previamente centrifugado (Hettich-EBA 200, Alemania) por 8 minutos a 6000 rpm en tubos falcón de 14 ml y lavado con agua destilada, una vez obtenida las células se agregó agua de consumo (Cristal) a la mitad de cada tubo, quedando un volumen final a incorporar de 77 ml aproximadamente para cada tanque exceptuando el control y su duplicado, los cuales fueron mezclados con 10 kg de café despulpado que contenía cada tanque de fermentación, la cual se mantuvo por 22 horas. La fermentación se realizó en condiciones anaerobias, solamente se tomaron muestras en el tiempo 0, 12, 22 horas en los cuales se incorporó oxígeno en el momento de abrir la tapa puesto que favorece el crecimiento de las levaduras presentes en el café despulpado y facilita la obtención de la misma.

Caracterización Microbiológica

- Orden de crecimiento microbiano

Se realizó el recuento de células viables en los tiempos 0, 12 y 22 horas, mediante diluciones seriadas y siembra en profundidad donde se pipeteó (1,0 ml) de cultivo en una placa Petri estéril sobre la que se añadió el agar fundido YGC y se mezcló todo con suaves movimientos circulares antes de que se solidificara, luego se llevó a incubación a 30°C durante 24 y 48 horas; finalmente, se hizo el recuento de levaduras.

- Tinción Gram

Se hizo tinción simple de las colonias que crecieron en las siembras realizadas en los diferentes tratamientos para su respectiva visualización en el microscopio (LEICA DM500, China) con el fin de identificar la morfología de la levadura inoculada y levaduras nativas.

2.3.1 Caracterización fisicoquímica

-Potencial de hidrogeniones (pH) en café despulpado

Se tomó una muestra en los tiempos 0, 12 y 22 horas, para cada uno de los tratamientos por triplicado de 10 gr de café despulpado con mucílago en un vaso de precipitado de 100ml, posteriormente se midió el pH con el potenciómetro (OHAUS STARTER 5000, Alemania). Las medidas se tomaron por triplicado.

-Sólidos solubles (°Brix) en café despulpado

Se determinó por medio del refractómetro óptico (Palette PR-201α, ATAGO, Japón), se tomó muestra del mucílago del café, se depositó en el equipo y se tomó la lectura. Las medidas se tomaron por triplicado para cada uno de los tratamientos con sus repeticiones, para los tiempos 0, 12 y 22 horas.

2.4 Secado del café

Se llevó a cabo la desinfección con hipoclorito de sodio 15% de la superficie de secado (suelo de la facultad de ingeniería, Universidad Surcolombiana), el café fue escurrido para retirar exceso de mucílago y se extendió en polisombra, en una zona donde se proporcionaron condiciones idóneas de brillo solar para el retiro de humedad, se homogenizó cada 2 horas y se realizaron mediciones de humedad por medio del determinador de Humedad (KETT PM-450, Tokio-Japón) hasta lograr la humedad requerida entre 10 al 12%, el secado duró aproximadamente 12 días. Adicionalmente se tomaron registros de humedad relativa y temperatura del ambiente con el termohigrómetro (Datalogger HL-1D, Rotronic, Suiza).

2.4.1 Siembra y aislamiento de cultivos monospóricos

Se realizó una homogeneización del café pergamino seco y se seleccionó aproximadamente 100 granos de forma aleatoria, estos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 15% (PSCICLOR, Colombia) durante 1 minuto y luego se procedió a lavar 3 veces con agua destilada y se dispusieron 5 granos por tratamiento en cajas de Petri con agar de papa y dextrosa (Potato Dextrose Agar, PDA, Conda-pronadisa, España) evitando el contacto entre ellos mismos y el perímetro de la caja de Petri, finalmente se incubó durante 7 días a 30°C. Este procedimiento se realizó por duplicado.

2.4.2 Hongos Ambientales

Se tomaron 3 cajas de Petri con agar PDA y se dispusieron en el ambiente donde se realizó el secado del café pergamino, se dejaron abiertas durante 15 minutos y posteriormente fueron cerradas y puestas en la incubadora a 30 °C durante 7 días hasta observar crecimiento de cultivos. Luego, al evidenciar diferentes tipos de crecimiento por placa, se procedió a aislar los cultivos para obtener cultivos monospóricos. Por tanto, se rotuló cada hongo y se realizó una siembra en la parte central de la placa con asa de hilo en agar PDA y se incubó a 30 °C durante 7 días.

- Tinción con azul de lactofenol

Se realizó tinción con azul de lactofenol para los cultivos monospóricos de hongos (café pergamino y hongos ambientales), realizando visualización en el microscopio, con el fin de identificar estructuras de las esporas según la clasificación de hongos mediante el uso de claves publicadas por Carrillo en 2003.

2.5 Análisis físico de café

Luego del secado donde se garantizó el rango de humedad requerido, se realizó el trillado, se hizo una homogeneización de cada muestra mediante el equipo divisor cónico Boerner (Seedburo equipment Company, Chicago), se tomaron 250 gr de café pergamino seco (CPS) y se trilló con el equipo de trillado de muestras ING-C-250 (INGESEC-PROMAIN LTDA, Colombia), luego se pesó la almendra en la balanza digital (Scout Pro 2000 gr, OHAUS, USA). Posteriormente, se llevó a una zaranda eléctrica ING-Z-TAMIZ-E (INGESEC-PROMAIN LTDA, Colombia), se hizo la clasificación de defectos con el respectivo registro de la masa. El anterior análisis se realizó para café lavado, es importante aclarar que se aplicó para el café honey que se obtuvo producto del

beneficio semi-seco, con el fin de tener un estimado del factor de rendimiento, porcentaje de merma, porcentaje de broca y porcentaje de pasilla que tienen las muestras de café estudiadas.

2.6 Tueste de Café

Para el proceso de tueste, se obtuvieron muestras de café con un tamaño de 500 gr, las cuales se sometieron a altas temperaturas para poder provocar las fases de deshidratación, reacción de Maillard y caramelización en una tostadora de tambor (PRISMA 1000 g, Colombia), definiendo 3 curvas de tueste por cada tratamiento (150, 180, 210) °C, obteniendo así 24 curvas en total de los 4 tratamientos por duplicado.

2.6.1 Grado de tueste

El color fue obtenido por medio de técnica óptica de espectroscopia utilizando colorímetro (KONICA MINOLTA CR-410, JAPÓN) basado en las metodologías de Oviedo *et al.*, 2018 y Amorocho-Cruz *et al.*, 2022, con iluminante D65 y observador estándar con ángulo de visión 0 grados. Se obtuvieron las coordenadas L*, a* y b* para calcular los parámetros CIELAB de c* (croma) (Ecuación 2) y H* (tono) (Ecuación 3). Adicionalmente las variables L*, a* y b* fueron evaluadas en el software Nix Color Sensor para determinar el color. Según Oviedo *et al* (2018) en la interpretación de las coordenadas que conforman el espacio CIELab la coordenada cromática a* se torna color rojo cuando el valor es positivo y tiende al verde en la escala negativa. La coordenada b* se torna amarillo cuando el valor es positivo y tiende al azul en la escala negativa. El parámetro L* indica luminosidad, y dependiendo de la ubicación de los parámetros siendo el blanco (L* = 100) y negro (L* = 0). Cuando el valor de H*=0 es rojo, a medida que aumenta el tono (H*) o se aleja de 0, cambia a rojo-naranja (H*=45), amarillo (H*=90), verde (H*=180) y tono azul (H*=270).

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

$$H * = \arctan\left(\frac{b*}{a*}\right) \quad (3)$$

2.7 Análisis Sensorial

El análisis sensorial se realizó en el Centro Surcolombiano de Investigación en Café (CESURCAFÉ) por medio de un panel de catadores, de acuerdo con el protocolo de la Asociación de Cafés Especiales, SCA, las 24 muestras se dosificaron con relación peso/volumen, de 11 g de café para 200 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).

2.8 Análisis Estadístico

El análisis estadístico se empleó con el programa informático StatGraphics. Se realizó un análisis de varianza ANOVA multifactorial con un nivel del 95,0% de confianza, para: la caracterización microbiológica, donde los factores (tratamientos y tiempos) afecta la cantidad de unidades formadoras de colonias – UFC/ml; parámetros fisicoquímicos, determinando así, como los factores implicados (tratamientos – y tiempos) afectan significativamente el pH y solidos solubles totales

(SST). Además, se hizo un análisis de ANOVA simple con un nivel del 95,0% de confianza, para cada tratamiento frente a los parámetros de análisis físico, color de tueste y los puntajes SCA, comparando así, cuales son las diferencias entre los tratamientos, con el fin de encontrar los comportamientos estadísticos de los procesos experimentales.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 activación levadura CBS-03D

Se obtuvieron colonias de color blanquecinas, cóncavas, ovaladas; se observaron bacilos con diámetros de 1.77µm hasta 8.77 µm; identificando la levadura de tipo Gram positiva (FIGURA 1) y verificando por dimensiones que se trata de una célula eucariota.

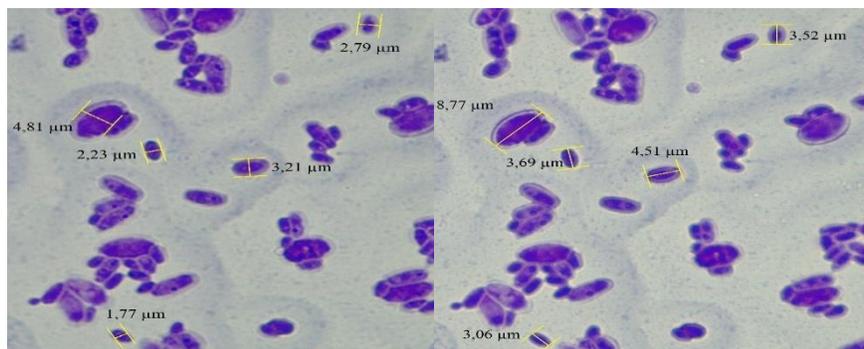


FIGURA 1. Vista microscópica de la levadura CBS-03D con objetivo 100X.

3.1.1 Identificación bioquímica

Mediante el uso de la galería API 20 C AUX la levadura CBS-03D fue identificada con un 98,9% como *Cándida krusei/inconspicua* y con posibilidades a *Candida lambica* o *Candida lipolytica* (FIGURA 2), así mismo se comprobó que no hay presencia de hifas o pseudohifas. Cabe resaltar que esta prueba bioquímica es una estimación de la identificación de esta cepa, pero es importante realizar pruebas más específicas tales como las de biología molecular.

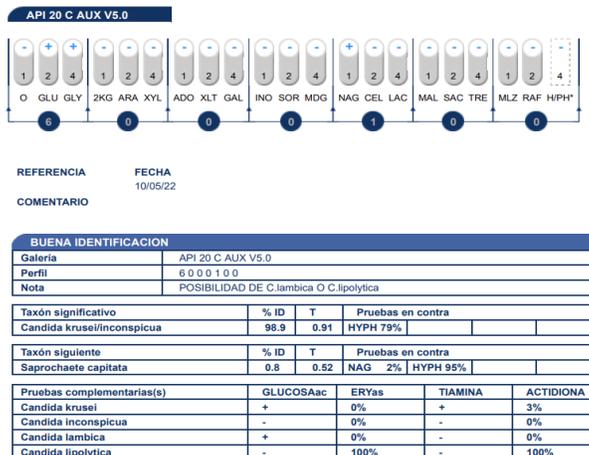


FIGURA 2. Prueba de identificación bioquímica API 20 C AUX V5.0

3.1.2 Cinética y curva de Crecimiento microbiano de levadura CBS-03D

Se observó el crecimiento en la población de levaduras viables en placa y densidad óptica con una absorbancia de 600 nm en cada tiempo de medición apreciando las fases: latencia y exponencial (TABLA 1, FIGURA 3). La curva de log ufc/ml muestra una fase de latencia desde la hora 2 (5.309Log UFC/ml±0.075) hasta la hora 6 (5.19Log UFC/ml±0.02) y una fase exponencial desde la hora 6 hasta la hora 49 (5.83 Log UFC/ml±0.041) donde se terminaron las lecturas tomadas. Algunas cepas se toman más tiempo en adaptar su metabolismo a las nuevas condiciones (disponibilidad de nutrientes y condiciones de cultivo) (Agudelo, *et al.*, 2010). La absorbancia en la fase de latencia se mantuvo en un rango entre (0.02nm±0.001) y (0.04±0.005), en fase la exponencial entre (0.04±0.005) y (0.45±0.313).

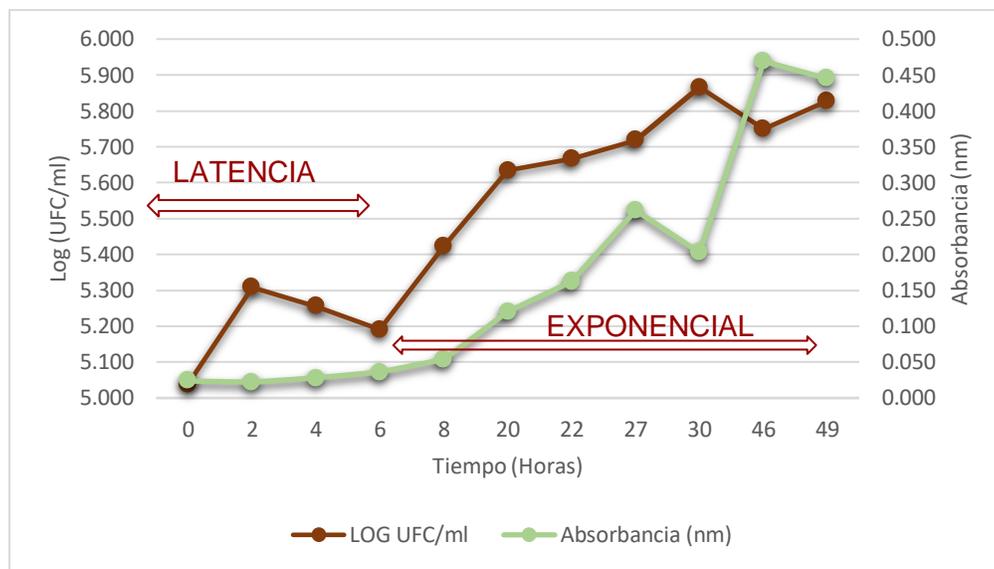


FIGURA 3. Cinética de crecimiento de Levadura CBS-03D

TABLA 1. Valores de cinética de crecimiento de Levadura CBS-03D

TABLA 1. CINÉTICA DE CRECIMIENTO			
Tiempo (Horas)	LOG UFC/ml	Absorbancia (nm)	Fase
0	5,04±0,06	0,02 ±0,00	Latencia
2	5,31 ±0,08	0,02 ±0,00	
4	5,26 ±0,00	0,03±0,00	
6	5,19 ±0,02	0,04 ±0,01	
8	5,42 ±0,01	0,05 ±0,03	
20	5,63 ±0,13	0,12 ±0,04	

22	5,67 ±0,05	0,16 ±0,00	Exponencial
27	5,72 ±0,07	0,26 ±0,07	
30	5,87 ±0,01	0,20 ±0,01	
46	5,75 ±0,06	0,47 ±0,35	
49	5,83 ±0,04	0,45 ±0,31	

De acuerdo con la identificación de la levadura *Cándida krusei/inconspicua* y con posibilidades a *Cándida lambica* o *Cándida lipolytica* (CBS-03D) es posible comparar con los datos encontrados por Zumbado *et al*, 2006 donde se presentaron las curvas de crecimiento de *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida kefyri* en suero de queso, utilizada para la producción de biomasa con medición de 620 nm, esta última levadura comparte el género *Candida* utilizado en la presente investigación. Se puede distinguir la fase de adaptación de los microorganismos al medio, cerca de las primeras 5 horas con valores de absorbancia menores a 0.5 nm en cambio para la levadura *Candida krusei* (CBS-03D) la fase de adaptación se prolongó hasta las 6 horas (5.19 Log UFC/ml ± 0.02) igualmente con un rango de absorbancia menor a 0.5nm (0.04nm ± 0.005).

Maldonado en 2003, realizó la curva de crecimiento para el cultivo de *Candida albicans* igualmente una cepa del género *Candida* donde se obtuvo una fase de latencia en las primeras 12 horas y luego la fase de crecimiento exponencial se prolongó hasta las 22 horas con una absorbancia de 2.150 nm, y una población de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL (Log ufc/ml=7), período en el cual se registró el máximo crecimiento con absorbancia de 560 nm. En la presente investigación el máximo crecimiento se presentó en la hora 30 con una población de $7,35 \times 10^5$ UFC/mL (Log ufc/ml = $5.87 \approx 6$), lo cual muestra que la cepa CBS-03D presenta un metabolismo más lento frente a la cepa trabajada por Maldonado, 2003.

Salazar-Hernández *et al*, en 2014 determinaron la cinética de crecimiento de *Candida albicans* adicionando un volumen de inóculo de 1.0 mL (1×10^6 - 5×10^6 UFC/ mL) en 75 mL de medio líquido Sabouraud con una longitud de onda máxima de 600 nm, durante las primeras 6 horas del crecimiento se observó una prolongación de la fase de latencia con valores de absorbancia menores a 0.8, posteriormente inició la fase exponencial hasta la hora 9 donde comenzó una fase estacionaria y terminaron las mediciones a la hora 12.

3.2 Recolección de café cereza y beneficio

Se realizó la recolección de 150 kg de café cereza en estado de maduración variedad Colombia de la finca La Florida ubicada en el municipio de Gigante, Huila-Colombia a 1650 m.s.n.m, se estimó 18 kg de café cereza por cada tanque para así obtener 10 kg de café despulpaado.

3.3 Fermentación

3.3.1 caracterización microbiológica

En la FIGURA 4 se muestra la interacción del tratamiento aplicado a través del tiempo según la cantidad de levaduras viables medidos en Log UFC/ml. Las levaduras viables a través del tiempo disminuyeron significativamente $P < 0.05$, lo cual representó una fase de descenso y se atribuyó a que las condiciones nutritivas y demanda de oxígeno no son ideales para la población inoculada en los tratamientos.

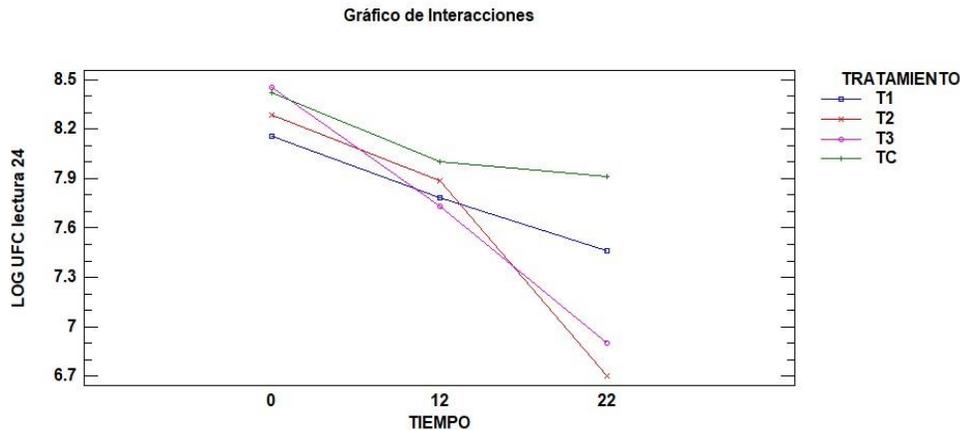


FIGURA 4. Gráfico de interacciones de levaduras viables (log Ufc/ml) y tratamientos con respecto del tiempo.

En la TABLA 2 se muestra los valores del recuento de levaduras en los tratamientos, según el análisis estadístico ANOVA multifactorial entre tratamientos inoculados no existe diferencias significativas ($p > 0.05$), pero sí existen diferencias entre los tratamientos mencionados con respecto al tratamiento control, donde con el tratamiento control se obtuvo una población de levaduras mayor en cada uno de los tiempos. Con respecto al factor tiempo también se reflejan diferencias significativas ($p < 0.05$) que se atribuye a los cambios de la masa de fermentación.

TABLA 2. Recuento del crecimiento de Levaduras representadas en Log UFC/ml en el tiempo de fermentación

Recuento de levaduras (Log UFC/ml)			
TRATAMIENTOS	TIEMPO 0 HORAS	TIEMPO 12 HORAS	TIEMPO 22 HORAS
TC	8,420±0,325	8,000±0,107	7,916±0,034
T1	8,157±0,198	7,781±0,091	7,461±0,258
T2	8,284±0,102	7,888±0,079	6,699±0,206
T3	8,457±0,034	7,730±0,229	6,906±0,293

El sistema de fermentación cerrado restringe el crecimiento microorganismos y permite el desarrollo de las cepas inoculadas como cultivo inicial (Pivaral & Cruz, 2018). El recuento de microorganismos en la fermentación del café depende de aspectos como la población inicial en los granos despulpados, las condiciones ambientales como la temperatura, la disponibilidad de oxígeno, la higiene, nutrientes, el sistema de fermentación, la dilución del sustrato y el tiempo

transcurrido de proceso (Puerta,2012). La temperatura es un factor que tiene efecto en el crecimiento de las levaduras puesto que se pueden alcanzar temperaturas cerca de los 45°C en la masa fermentada lo cual disminuye la tasa de crecimiento microbiano, la mayoría de las levaduras crecen entre 5 y 39 °C, con óptimos de 28 a 35 °C y todas mueren por encima de 50°C. La mayor cantidad de viables en el tratamiento control muestra que el cocultivo realizado en los tratamientos T1, T2 y T3 donde estaban las levaduras nativas y las inoculadas presentó competencia entre ellas, disminuyendo la población durante las 22 horas de fermentación del café.

- Tinción Gram - Morfología de levaduras

En la FIGURA 5 se muestra la caracterización morfológica de las levaduras aisladas, donde se aprecian microorganismos Gram-positivos con formas ovaladas o elipsoidales; además en la caracterización macroscópica se obtuvieron colonias blanquecinas, ovaladas. Así mismo como lo estipula Pardi & Cardozo, 2002 las colonias son típicamente blancas por completo, pero adquieren un color crema o requemado al continuar envejeciendo. La apariencia microscópica de todas las especies de *Candida* es similar, todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica.

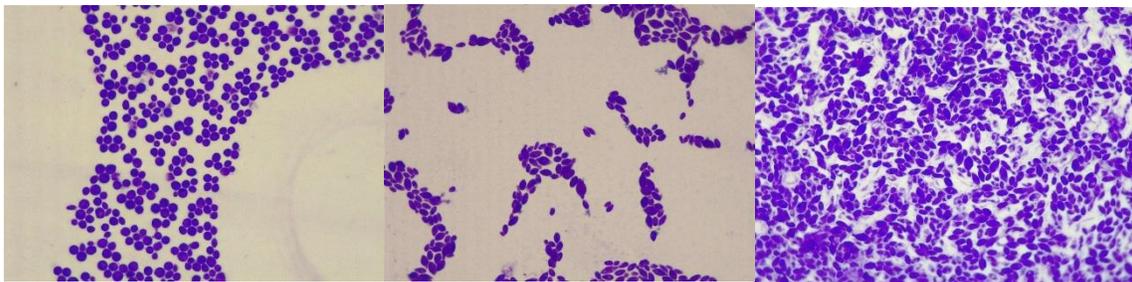


FIGURA 5. Morfología de las levaduras presentes en los tratamientos T1-1, T2-1 y TC respectivamente

3.3.2 Caracterización fisicoquímica

En la TABLA 3 se observa el comportamiento de los tratamientos de fermentación de café a lo largo del tiempo, ante el potencial de hidrogeniones (pH) y los sólidos solubles totales (SST) medidos en °Brix, tanto los valores de pH tienden a disminuir como los sólidos solubles.

TABLA 3. Valores de pH y SST en función a los tiempos de fermentación y tratamientos.

TRATAMIENTOS	Tiempos de fermentación			
		0h	12h	22h
TC	pH	4,64±0,07	3,71±0,07	3,69±0,03
	SST(°Brix)	13,12±0,35	12,39±0,12	11,65±0,21
T1	pH	4,96±0,09	3,79±0,01	3,72±0,04
	SST(°Brix)	12,32±0,64	11,17±0,66	10,93±0,57
T2	pH	4,90±0,03	3,82±0,05	3,75±0,06
	SST(°Brix)	11,72±0,21	11,67±0,52	11,15±0,64
T3	pH	4,89±0,15	3,81±0,04	3,75±0,01
	SST(°Brix)	12,14±0,52	11,54±0,09	11,67±0,05

Se puede afirmar que hay diferencias estadísticamente significativas del pH ($P < 0,05$) ($P = 0,0061$) con un 95.0% de nivel de confianza entre el control (TC) y los tratamientos (T1, T2, T3) como se observa en la FIGURA 6, el pH disminuye en todos los tratamientos, esto ocurre debido a un aumento en la acidez de la masa de fermentación y la producción de ácidos orgánicos a partir de azúcares y rompimiento de pectinas del mucílago (Córdoba y Guerrero 2016).

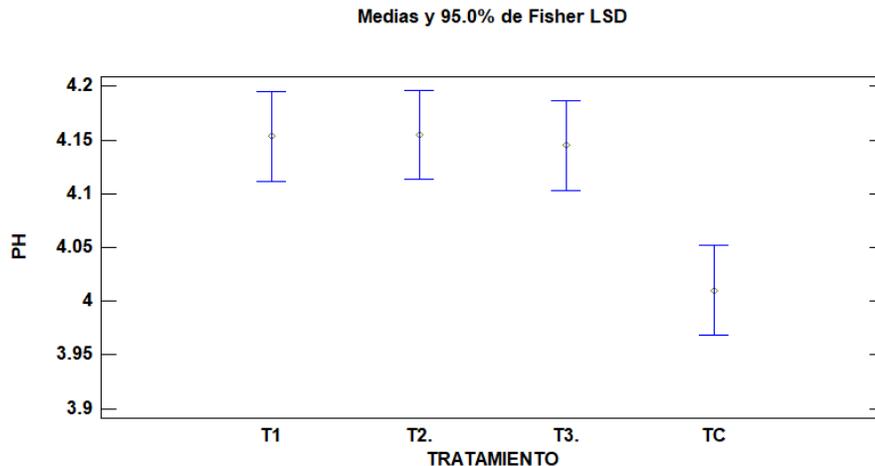


FIGURA 6. Gráfico de medias de pH con respecto a los tratamientos.

La mayoría de las levaduras toleran un rango de pH entre 3 y 10, pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH entre 4.5 a 6.5 (Suárez *et al*, 2016 citado en Betancur & Zurita, 2020 p. 12). También existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los tiempos de fermentación con respecto al pH (FIGURA 7) ya que en las primeras 12 horas se observa una reducción acelerada del pH la cual se asocia a la acidificación que se da por los microorganismos responsables de la fermentación los cuales degradan el mucílago (Ladino, 2016) y se puede atribuir a la población de levaduras presente durante la fermentación.

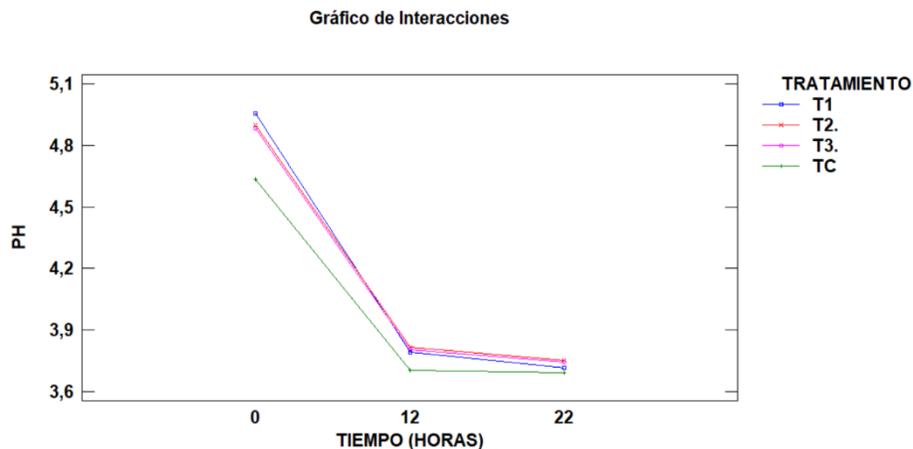


FIGURA 7. Gráfico de interacciones de pH y tratamientos con respecto del tiempo.

La acidificación del medio se relaciona con la actividad microbiana y enzimática (Puerta 2015). Según Betancur & Zurita en 2020 la adición de levaduras a los tratamientos inoculados puede inhibir o modular el crecimiento de otros microorganismos en el medio fermentativo por su competencia por nutrientes.

Los azúcares totales y reductores disminuyen significativamente en las primeras 12 horas de fermentación aumentando la acidez, produciendo etanol y degradando los lípidos ya que los azúcares son oxidados por bacterias lácticas y levaduras (Puerta, 2011). En el rango de 12 a 22 horas estos parámetros se mantienen estables sin diferencias estadísticas ($p < 0.05$) como se observa en el gráfico de interacción (FIGURA 8). Sin embargo, el tratamiento 3 en el tiempo de 22 horas tienen un comportamiento de aumento con respecto al valor de las 12 horas, esto lo asociamos a contaminación cruzada o adaptación de las levaduras a las condiciones dadas.

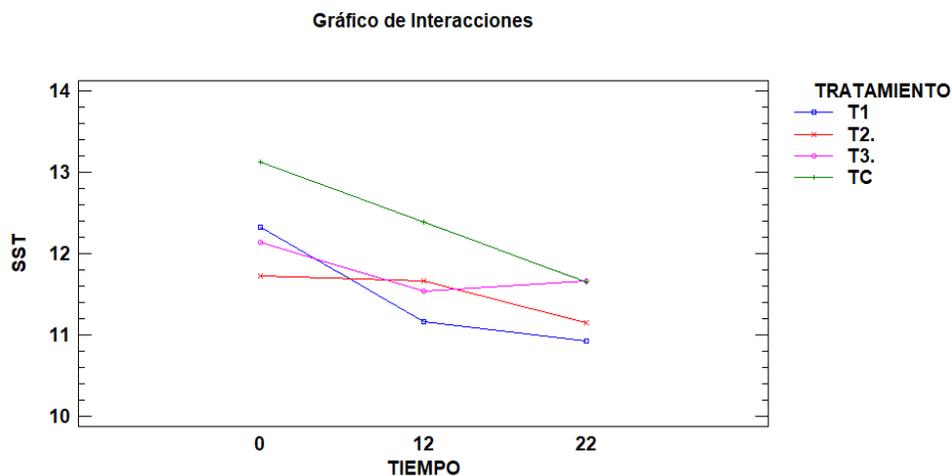


FIGURA 8. Gráfico de interacciones de SST y tratamientos con respecto del tiempo.

Puerta en 2012, según sus investigaciones realizadas en procesos de fermentación sin agua e inoculados aprecia que a medida que avanza el tiempo se presenta un decrecimiento exponencial de los sólidos solubles; además, en caso de disminuir la temperatura externa el descenso de los sólidos solubles se ralentiza. Y en la presente investigación se muestra en la FIGURA 8 la disminución en todos los tratamientos al disminuir los sólidos solubles a medida que avanzaba el proceso, incluido el TC indicando que evidentemente hay presencia de microorganismos nativos encargados de transformar los sólidos solubles presentes en la masa de fermentación.

3.4 Secado de café

En el secado de café se realizó el seguimiento de las variables de humedad relativa y temperatura del ambiente. Los datos de humedad relativa oscilaron entre 63% - 82% puesto que el mes de mayo fue un mes húmedo. La temperatura osciló entre 25°C - 30°C, según el IDEAM la temperatura promedio de Neiva-Colombia es de 27°C y al medio día la temperatura máxima media oscila entre 32 y 35°C, en la madrugada la temperatura mínima está entre 22 y 23°C. Por otra parte, la humedad relativa del aire oscila durante el año entre 54 y 74 %, siendo mayor en la época lluviosa del

segundo semestre. En la FIGURA 9 se representó gráficamente los valores promedio obtenidos de humedad y temperatura diarios en el proceso de secado del café pergamino.

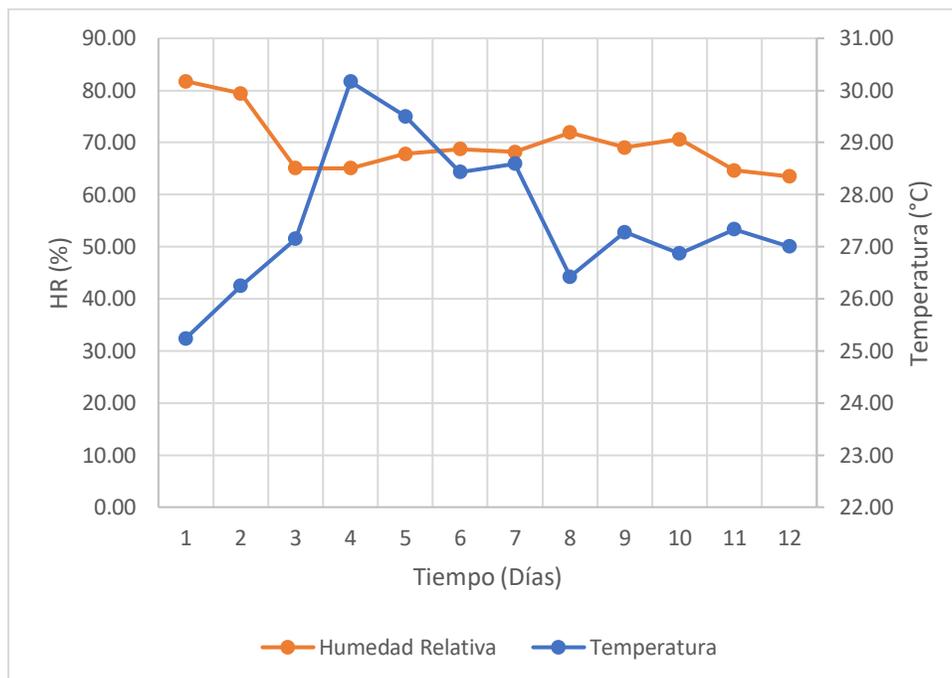


FIGURA 9. Gráfico de valores promedio de humedad relativa y temperatura en el tiempo de secado.

El seguimiento de las condiciones de humedad influye en el control de hongos no benéficos en el café como *Aspergillus ochraceus*, el cual es el principal productor de la Ochratoxina A. Este hongo está ampliamente distribuido en las fincas cafeteras, en ambientes de beneficiaderos, secadores solares, cisco, café pergamino y café almendra (Puerta, 2006), quizá por falta de prácticas de limpieza en los ambientes de beneficio y secado; además, por preconceptos como considerar que cualquier tipo de contaminación se elimina del café por la tostión. Para su crecimiento, *Aspergillus* requiere de una humedad relativa entre el 70 y 90 %, contenido de agua en la semilla entre 15 y 20 % y un rango de temperatura amplio (0 a 45 °C) (Klich, 2002). La temperatura también es un factor importante ya que influye en el crecimiento de los microorganismos que participan en las reacciones bioquímicas y la fermentación, lo cual repercute en el sabor y aroma del café. (García, 2016)

3.4.1 Siembra y aislamiento de cultivos monospóricos

Las placas con café pergamino seco presentaron crecimiento de un tipo de hongo, de características algodonoso, esponjoso y coloración blanca (FIGURA 10) en el cual fue difícil identificar su estructura microscópicamente ya que se destruía al realizar la toma de la muestra, evidenciando únicamente filamentos (FIGURA 11). Según la literatura de hongos similares macroscópicamente en Agar PDA podemos deducir que puede pertenecer a un género similar a *Fusarium*, *Mucor* o *Trichophyton*.

Vista Macroscópica



FIGURA 10. Crecimiento de hongo en granos de café previamente desinfectados.

Vista Microscópica

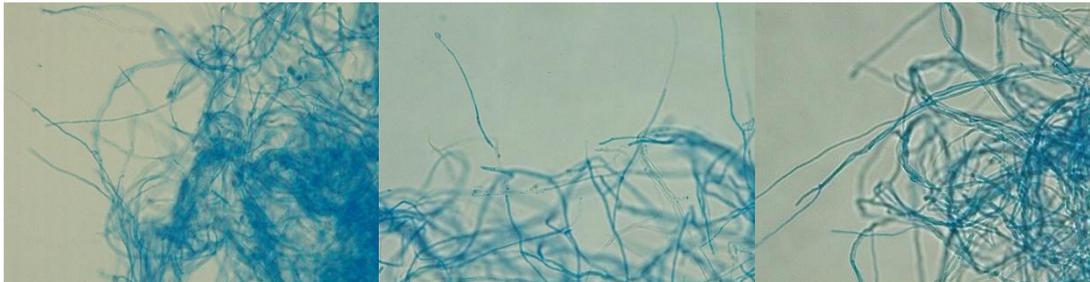


FIGURA 11. Vista microscópica en muestras de café pergamino seco.

Liu *et al* en 2012 encontraron un crecimiento rápido en PDA de la cepa BH-3 donde los micelios eran algodonosos y extensos, de color blanquecino similares a los encontrados, con hifas septadas. Las cadenas de conidias estaban ausentes y las características morfológicas típicas indicaron la posibilidad de que BH-3 perteneciera a *Fusarium spp.*

Por otra parte, chai *et al*, 2018 aislaron una especie de hongo mucoraleano perteneciente al género *Mucor* (*Mucor chuxiongensis* sp.) las colonias de este crecen rápidamente a 30 °C en PDA y tienen un crecimiento limitado después de 7 días a 25 °C en PDA (68 mm de diámetro y 3 mm de altura). Las colonias son blancas con aspecto algodonoso, bordes irregulares, reverso amarillento y olor a pescado. Las hifas son ramificadas y hialinas, de paredes delgadas, jóvenes aseptadas, septadas cuando envejecen y miden entre 4 y 16 μm de diámetro.

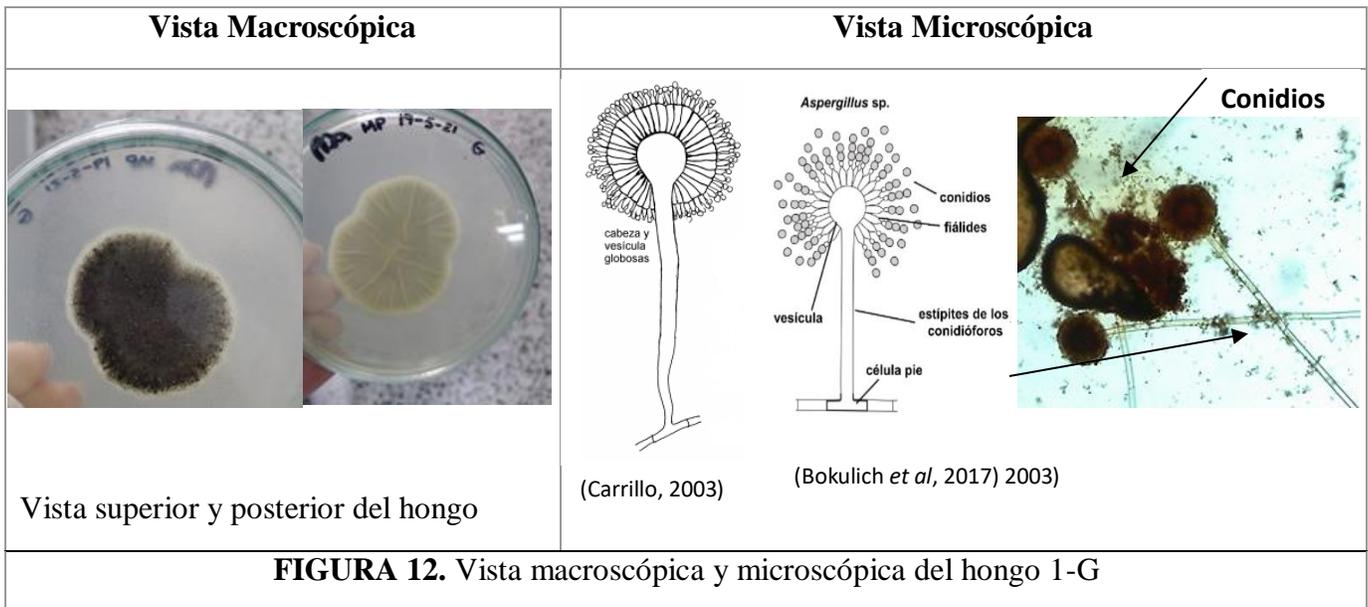
Según Nout & Aidoo en 2010 citado por Chai *et al* en 2018, los taxones del género *Mucor* se han aislado del suelo, estiércol, frutas en descomposición, material de nidos de avispas de papel y material vegetal muerto, así como varios parásitos en plantas y otros hongos. Algunas especies de *Mucor* se han utilizado durante siglos en la fermentación de alimentos tradicionales asiáticos y africanos, como el tempeh o el furu (tofu fermentado).

Por último, Molina, 2011 describió el género *Trichophyton*, implicado en la patología humana, donde el aspecto macroscópico de este género es variable y presenta diferencias entre las distintas especies, por lo que las colonias pueden observarse pulverulentas, algodonosas, cerebriformes, velludas. En el reverso de las placas Petri puede apreciarse una pigmentación rojiza o marrón, con escasas macroconidias; *T. mentagrophytes* crece en los medios habituales formando colonias de color blanco-crema, algodonosas, sobrelevadas que se extienden rápidamente; también hay zonas lisas y granulares, mientras que el reverso muestra un pigmento claro, amarillo o amarillo-marrón. Las microconidias tienen forma de perla o lágrima y son ureasa positiva; también pueden aparecer hifas en espiral y las macroconidias habitualmente están ausentes.

3.4.2 Hongos ambientales

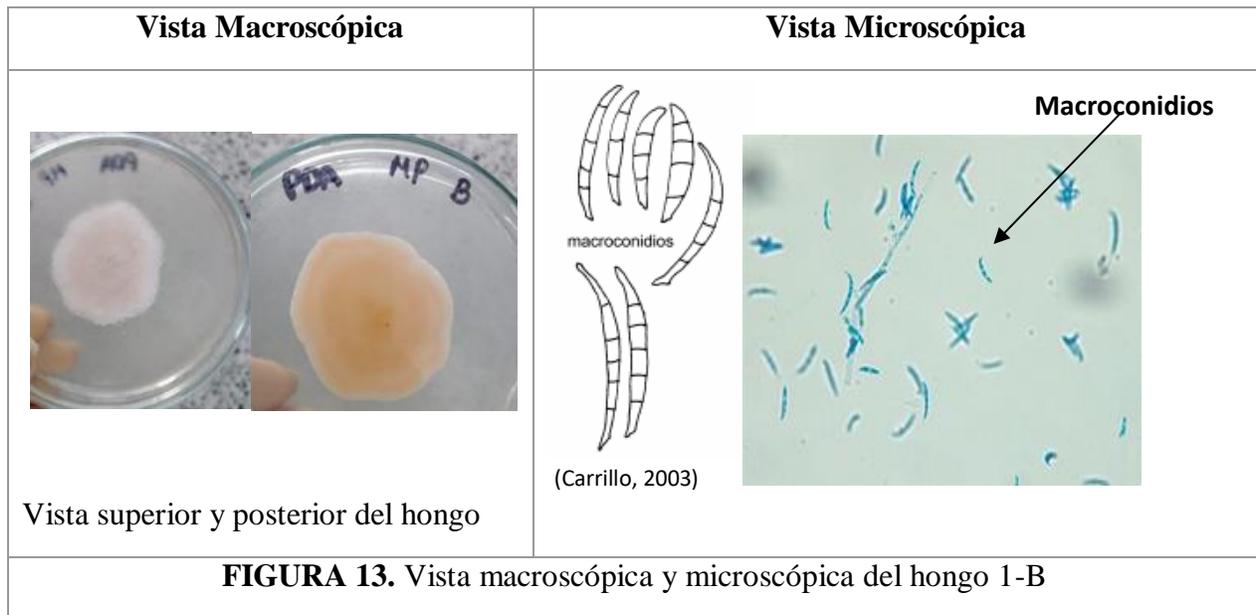
Se realizó la caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los hongos ambientales identificados en las diferentes placas con agar PDA, las cuales se pueden apreciar en las siguientes figuras junto con las claves empleadas para facilitar su identificación. En la FIGURA 12 (placa 1-G) se presenta un hongo polvoriento con tonalidad gris-verdoso con venas en la parte posterior con estructura microscópica similar al género *Aspergillus* sp.

Las colonias de *Aspergillus* presentan tonos de verdes, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Según Carrillo, 2003 al observar las esporas en el microscopio las cabezas conidiales presentan formas globosa, radiada, columnar o claviforme; estructuras que a simple vista se parecen a diminutos alfileres sobre el sustrato. La mayoría de las especies del género *Aspergillus* son hongos filamentosos que degradan la materia orgánica, se encuentran naturalmente y en abundancia en el suelo donde sobreviven, se desarrollan sobre materia en descomposición y pueden encontrarse en cualquier ambiente; se reproducen por conidios cuya germinación da origen a las hifas.



En la FIGURA 13 (placa 1-B) se presenta un hongo algodonoso con tonalidad rosada y figuras concéntricas en la parte posterior con estructura microscópica de macroconidios, perteneciente al género *Fusarium sp.* La forma y tamaño de las esporas es la característica principal para el reconocimiento de los fusarios. Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o en esporodoquios. Los macroconidios son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie (Carrillo,2003).

Este hongo tiene la capacidad de sobrevivir por largos periodos en el suelo, debido a sus estructuras de resistencia denominadas clamidospora (Daugovish *et al.* 2008). Retana *et al.*, 2017 realizaron la descripción morfológica del patógeno, la apariencia del micelio (color y pigmentación) en medio papa dextrosa agar (PDA) encontrando crecimiento de colonias de apariencia algodonosa y de color blanquecino-rosado en los primeros estados de desarrollo, posteriormente conforme el micelio se desarrolló, se tornó de un color levemente púrpura en el centro del mismo y al reverso de la caja de Petri de un color morado oscuro hacia el centro y de un tono más claro hacia el borde externo.



En la FIGURA 14 (placa 1-A) se presenta un hongo polvoriento con tonalidad negra grisácea y venas en la parte posterior con estructura microscópica similar al género *Aspergillus sp* con similitud al hongo de la FIGURA 12.

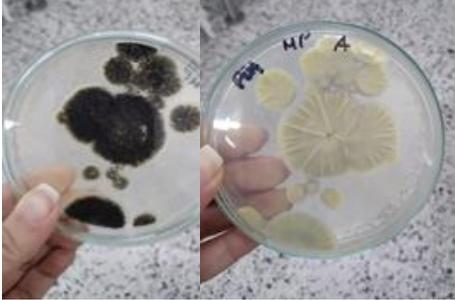
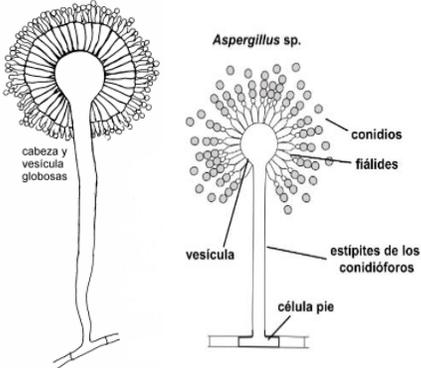
Vista Macroscópica	Vista Microscópica
 <p data-bbox="240 684 613 758">Vista superior y posterior del hongo</p>	 <p data-bbox="678 695 1052 722">(Carrillo, 2003) (Bokulich <i>et al</i>, 2017)</p>

FIGURA 14. Vista macroscópica y microscópica del hongo 1-A

En la FIGURA 15 (placa 2-D) se presenta un hongo algodonoso con tonalidad gris-verdoso y venas en la parte posterior con estructura microscópica similar al género *Penicillium sp.* Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides. Los conidios generados en fiálides suelen llamarse fialoconidios para indicar su origen. En la fiálide, al dividirse el núcleo, se extiende simultáneamente el extremo apical que luego se estrangula separando a la espora recién formada. Se llama conectivo a la porción de pared que une entre sí a los conidios permitiendo la formación de cadenas, y en algunas especies se aprecia claramente con el microscopio óptico (Carrillo, 2003).

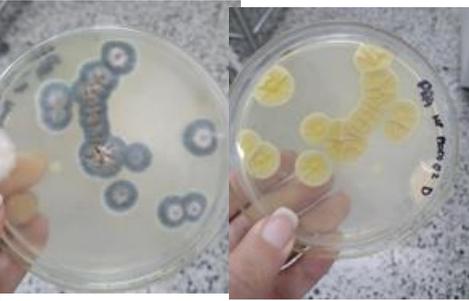
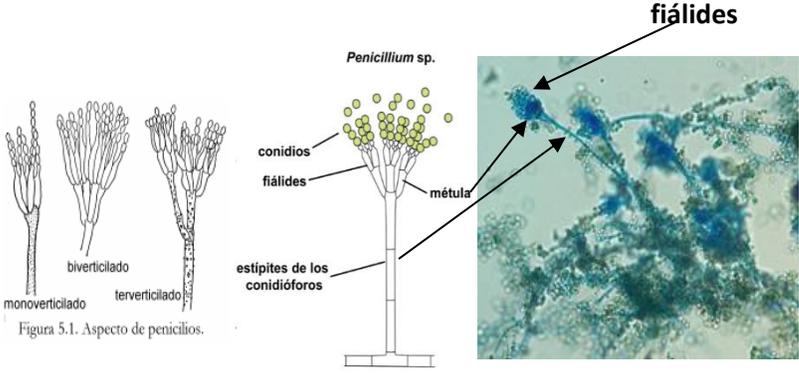
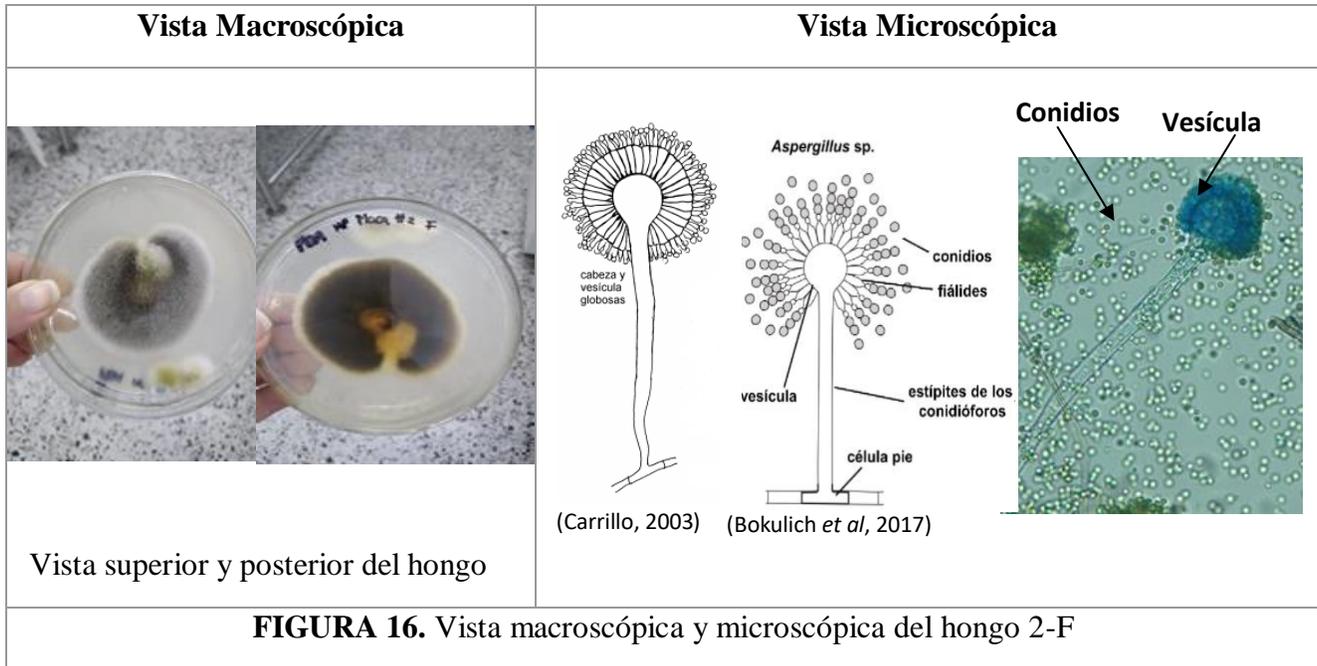
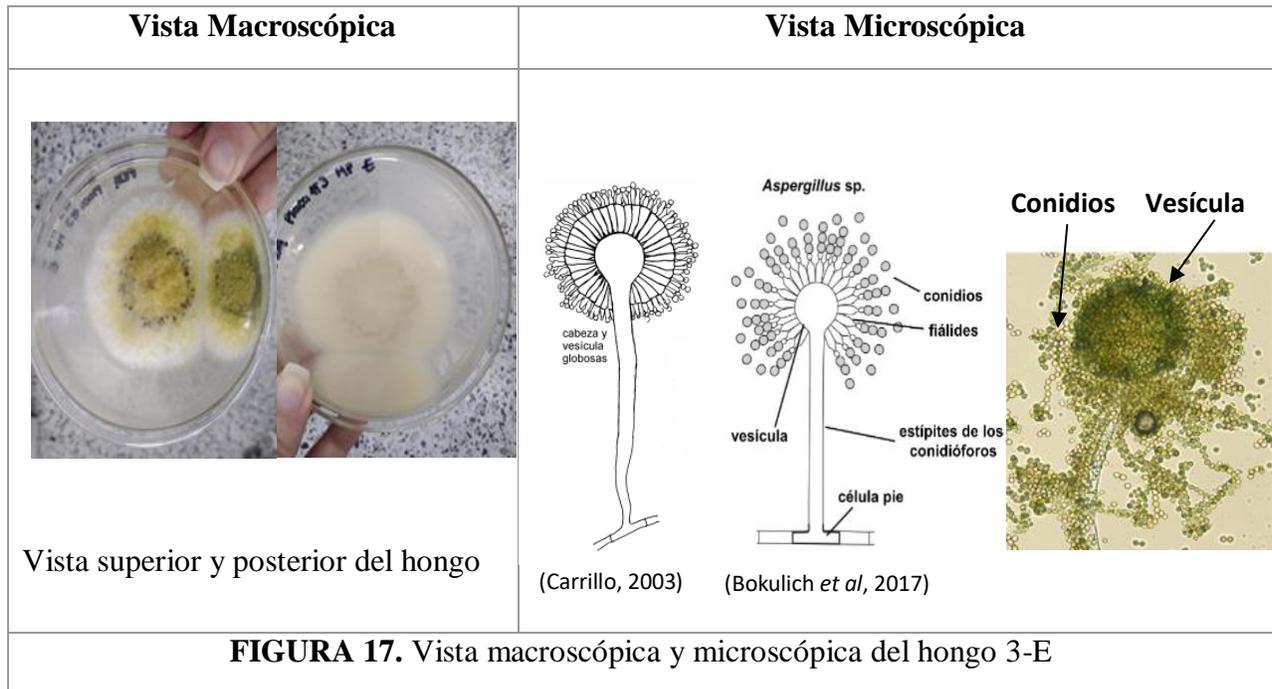
Vista Macroscópica	Vista Microscópica
 <p data-bbox="204 1682 472 1755">Vista superior y posterior del hongo</p>	 <p data-bbox="678 1717 1122 1745">(Carrillo, 2003) (Bokulich <i>et al</i>, 2017)</p>

FIGURA 15. Vista macroscópica y microscópica del hongo 2-D

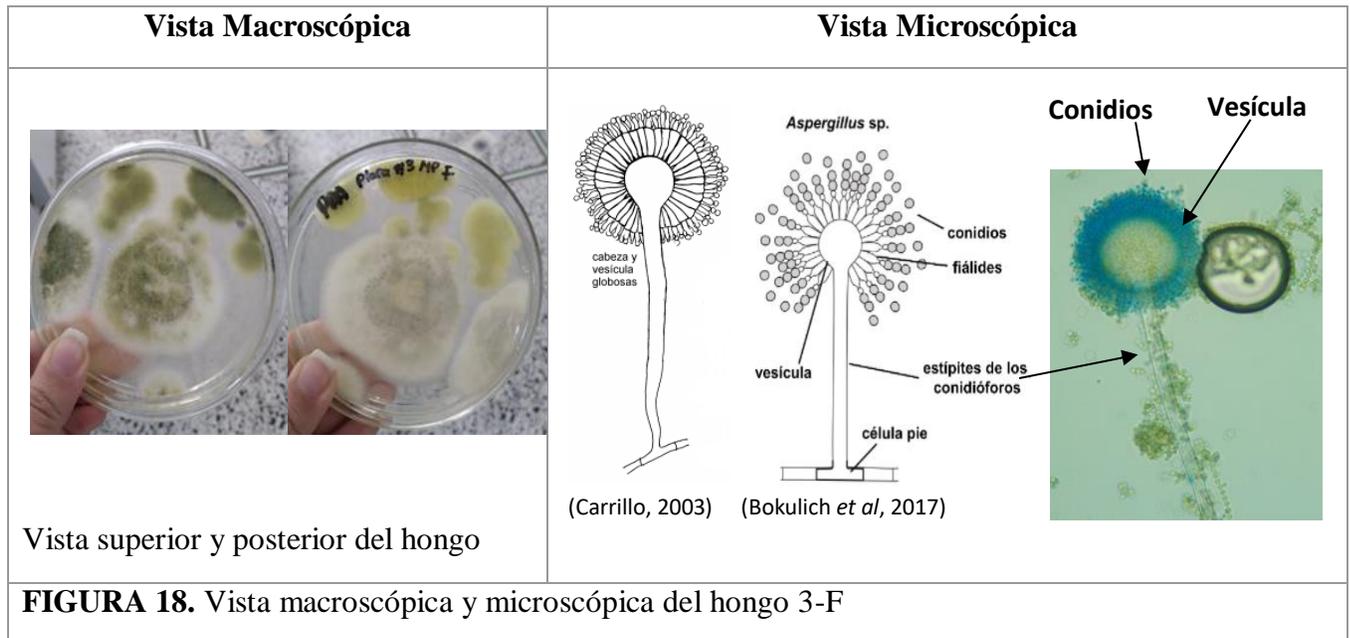
En la FIGURA 16 (placa 2-F) se presenta un hongo algodonoso con tonalidad blanca y café con estructura microscópica similar al género *Aspergillus sp.*



En la FIGURA 17 (placa 3-E) se presenta un hongo con tonalidad verdosa con estructura microscópica similar al género *Aspergillus sp.*



En la FIGURA 18 (placa 3-F) se presenta un hongo polvoriento con tonalidad verdosa con estructura microscópica similar al género *Aspergillus sp.*



Silva *et al*, 2008 citado por Pivaral & Cruz, 2018 indican que, en investigaciones anteriores, géneros como el *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Cladosporium* representan un 42.6% de los géneros que podemos encontrar en la fermentación. Además, el crecimiento de hongos se reduce conforme el crecimiento de BAL y levaduras como el género *Saccharomyces*, la cual es ampliamente utilizada ya que inhibe el crecimiento de otras levaduras y hongos.

3.5 Análisis físico de café

Se hizo la clasificación de defectos con el respectivo registro de la masa para la obtención del factor de rendimiento, porcentaje de merma, porcentaje de pasilla y porcentaje de broca (TABLA 4), encontrando granos negros, cristalizados, decolorados veteados, partidos, broca, paloteado y aplastado en todos los tratamientos.

TABLA 4. Resultados análisis físico de los 4 tratamientos

ANÁLISIS FÍSICO DE CAFÉ					
Tratamientos	Factor de rendimiento (kg)	Broca (%)	Pasilla (%)	Merma (%)	Defectos
TC	96,98 ± 0,27	1,97 ± 0,50	8,42 ± 0,01	20,64 ± 0,06	Grano negro; cristalizado; decolorado veteado, sobresecado; partido/cortado; broca; averanado (arrugado); paloteado; aplastado.

T1	95,01 ± 1,24	1,65 ± 0,57	6,83 ± 1,30	20,02 ± 0,08	Grano negro; vinagre; cristalizado; decolorado veteado, mantequillo, sobresecado; partido/cortado; broca; paloteado; aplastado.
T2	96,25 ± 1,53	2,07 ± 0,44	7,70 ± 2,22	20,56 ± 0,57	Grano negro; cristalizado; decolorado veteado; partido/mordido/cortado; broca; averanado(arrugado); paloteado; aplastado.
T3	95,94 ± 0,37	1,58 ± 0,25	7,62 ± 0,44	20,24 ± 0,11	Grano negro; cristalizado; decolorado veteado, sobresecado; partido/cortado; broca; paloteado; aplastado.

En la Tabla 5 se observa los valores-P obtenidos mediante ANOVA Simple con respecto al tratamiento y sus variables (factor de rendimiento, porcentaje de merma y pasilla), estos datos nos muestran que el valor-P es mayor que 0.05; por tanto, no existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de los PARAMETROS entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 5. Valor-P de los parámetros frente a los tratamientos

	Factor de rendimiento	Porcentaje de merma (%)	Porcentaje de broca (%)	Porcentaje de pasilla (%)
Valor -P	0,3918	0,2665	0,6805	0,6805

Frente al factor de rendimiento, porcentaje de merma, broca y pasilla entre tratamientos no hay diferencias significativas ($p > 0.05$), indicando que los granos procesados en todos tenían las mismas características. De acuerdo a la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (2022) el valor de referencia es de 94 kilogramos de café pergamino seco para obtener 70 kg de Excelso y 6.3 kg de pasilla, el café procesado en esta investigación se obtiene con un rango del 95 al 96 (Kg) en factor de rendimiento, dadas estas condiciones para comercialización de café se necesitaría más CPS debido a que la calidad física está por debajo de los valores de referencia, del mismo modo tanto el % de broca y pasilla están por encima de la referencia, estipulado por la FNC (2022).

Mediante observación se evalúa la calidad física, identificando los defectos del café verde y evaluando su aspecto general. De acuerdo con Pabón & Osorio, 2019, la calidad física del café se define como la cantidad de almendra sana, libre de granos que no cumplen con los requisitos exigidos por los cafés tipo exportación. Los defectos del café verde se clasifican en dos grupos. En

el primer grupo se encuentran: negro, cardenillo, vinagre, reposado y mantequillo. Los defectos del segundo grupo son menores y están: cristalizado, decolorado veteado, decolorado sobresecado, mordido o cortado, picado por insectos, averanado o arrugado, ligeramente picado por broca, aplastado y grano flojo.

Los granos negros producen efectos en la taza como fermento o sabor stinker, sucio, moho, agrio, sabor fenólico y son causado principalmente por sobrefermentación de granos verdes, otra causa es sequía y por enfermedades generadas por hongos. Los granos brocados se deben al ataque por insectos, específicamente la broca (*Hypothenemus hampei*) perfora la cereza aún en el árbol, formando túneles en la semilla, con el fin de reproducirse en su interior. La incidencia de la broca tiende a disminuir a mayor altitud del cultivo, el efecto en taza es sabor sucio, agrio, moho especialmente en grandes cantidades de grano brocado. El defecto de grano cristalizado tiene como causa las altas temperaturas de secado (más de 50°C de la temperatura del aire de secado). El grano decolorado se debe a un almacenamiento prolongado o malas condiciones en el mismo. El grano paloteado o inmaduro es causado por la recolección de frutos verdes o pintones, cultivos en zonas marginales bajas o falta de fertilización de los cafetales y, por último, el grano aplastado se debe a cuando se hace presión en el grano de café o el pechero de la despulpadora está muy ajustado.

3.6 Tueste de Café

A continuación, se relaciona el comportamiento de los tratamientos (TC, T1, T2, T3) frente a cada temperatura inicial en la curva de tostión.

Los tratamientos frente a la curva de tostión de 150 °C (FIGURA 19) muestran el mismo comportamiento en el punto de equilibrio (deshidratación) en tiempo; sin embargo, en la reacción de Maillard el tratamiento 1, se demora aproximadamente 1 minuto más frente a los demás tratamientos; el proceso del primer crack y etapa final todos los tratamientos se comportan consecutivamente. La duración de tostión es aproximadamente de 10 minutos, la cual está dentro del rango de tiempo establecido por la SCA, 2015.

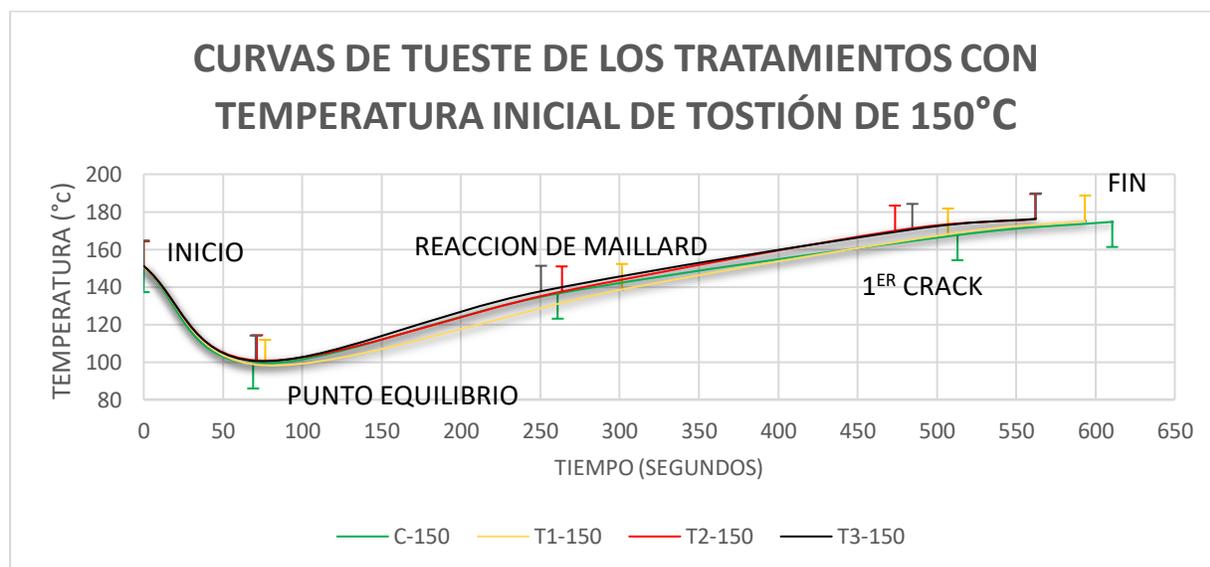


FIGURA 19. Curvas de tueste con temperatura inicial de 150 °C frente a los tratamientos.

Los tratamientos con la curva de tuestión de 180 °C (FIGURA 20) el comportamiento es similar en el punto de equilibrio (deshidratación) en tiempo; sin embargo, en la reacción de Maillard todos los tratamientos están en tiempo diferente pero no son diferencias de más de 1 minuto; el proceso del primer crack el tratamiento control y el T1 se presentó en tiempos diferentes frente a los otros dos tratamientos (T1, T3), estos últimos se comportaron similar y en etapa final los tratamientos (T1,T2,T3) estuvieron dentro del rango de tiempo de tuestión de la SCA excepto el tratamiento control, el cual alcanzo un tiempo de tuestión de 7 minutos con 51 segundos.

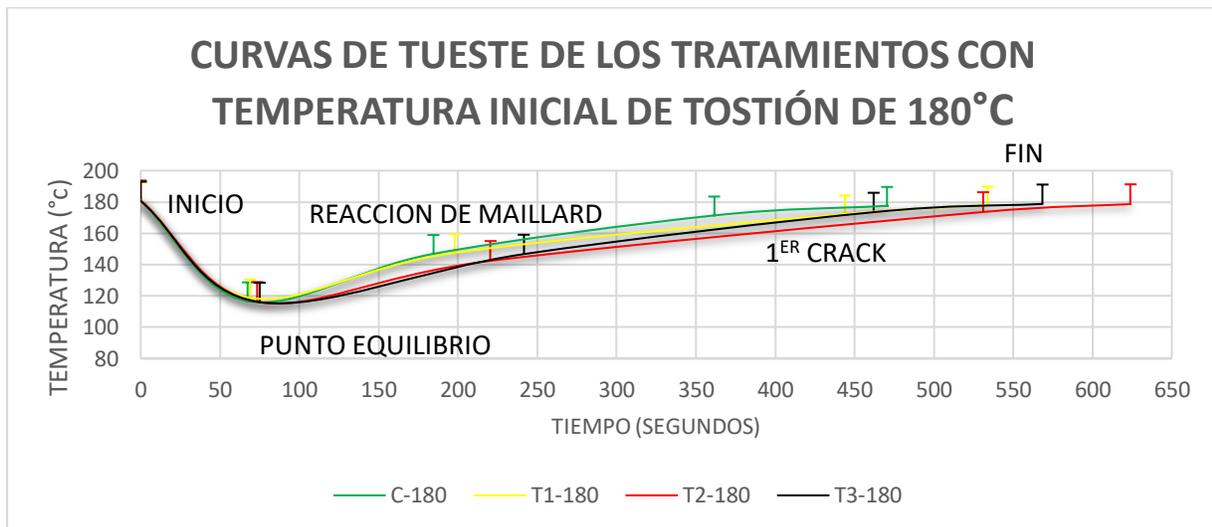


FIGURA 20. Curvas de tueste con temperatura inicial de 180 °C frente a los tratamientos.

Los tratamientos con la curva de tuestión de 210 °C (FIGURA 21) en el punto de equilibrio (deshidratación) en tiempo se comporta igual, en la reacción de Maillard los tiempos son similares, pero en los tiempos del proceso del primer crack el T2 inicia el proceso antes que los otros tratamientos (TC, T1, T3), conllevando a que termine primero su proceso de tuestión en un tiempo de 7 minutos con 57 segundos; los tratamientos restantes si se encuentran dentro del rango establecido de tuestión.

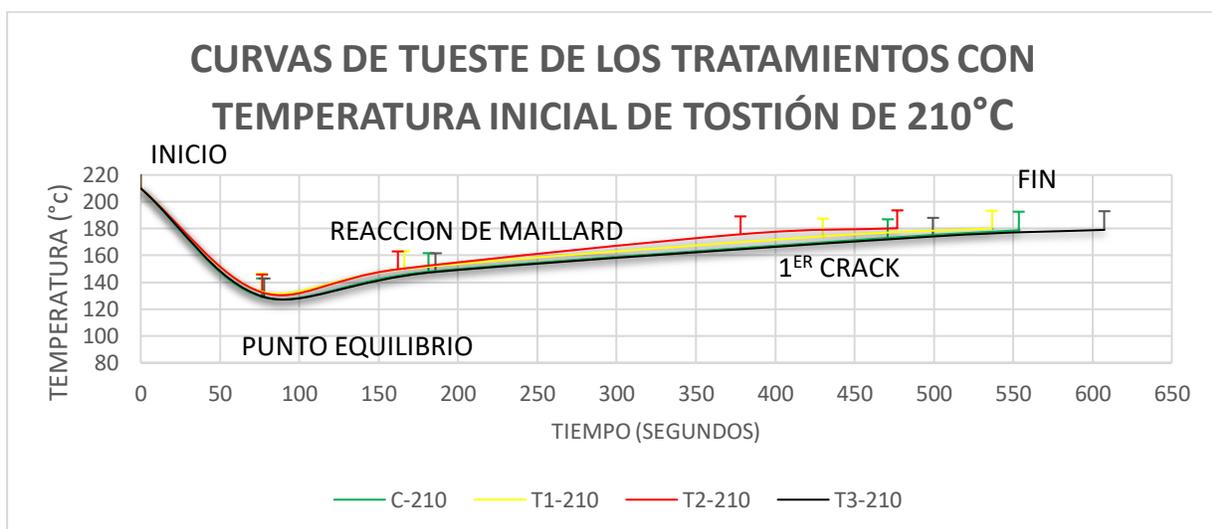


FIGURA 21. Curvas de tueste con temperatura inicial de 210 °C frente a los tratamientos.

Todas las muestras de los tratamientos se llevaron bajo los parámetros estipulados por la SCA para posteriormente ser catadas, es de resaltar que dos muestras (TC bajo temperatura inicial de tuestión 180°C y T2 bajo temperatura inicial de tuestión 210°C) no alcanzaron el rango de tiempo determinado, se le atribuye a condiciones externas e internas del equipo y posiblemente al manejo por parte del tostador; sin embargo, les faltaron segundos para cumplir con estos tiempos establecidos. Frente a la investigación, una vez catadas todas las muestras de los tratamientos se encontró que las dos muestras bajo estos tratamientos (TC - 180°C y T2 - 210°C) dieron puntajes más bajos comparados con las muestras posteriores del tratamiento de cada una: TC (150 °C y 210°C) y T2 (150 °C y 180°C), se puede inferir que bajo las condiciones de tueste de estas muestras al ser tiempos cortos su proceso de desarrollo o subdesarrollo fue más rápido y por ende se lleva a encontrar descriptores asociados con calidad negativa.

3.6.1 Grado de tueste

El sabor de una taza de café está determinado por el grado de tostación. Así, las curvas de tuestión muestran el efecto de la temperatura a través del tiempo generando la reacción de Maillard, sabores específicos, cambios de color en la almendra. (TABLA 6).

TABLA 6. Resultados del color de las muestras tostadas en las 3 diferentes temperaturas

coordenadas de color							
Tratamiento	Temperatura	L*	a*	b*	c*	H*	Color
TC	210	40,05±0,16	9,88±0,03	15,60±0,09	18,46±0,08	57,71±0,15	
TC	180	40,84±1,06	9,90±0,39	16,71±0,78	19,42±0,86	59,32±0,32	
TC	150	49,30±0,01	11,74±0,03	20,52±0,01	23,64±0,01	60,19±0,07	
T1	210	48,35±0,01	10,44±0,02	18,70±0,01	21,48±0,01	60,66±0,04	
T1	180	46,47±0,0	11,51±0,01	17,88±0,01	21,26±0,01	57,20±0,04	
T1	150	36,33±0,02	10,61±0,01	16,97±0,0	20,01±0,01	57,93±0,03	
T2	210	41,77±0,28	10,74±0,15	16,91±0,04	20,03±0,05	57,57±0,42	
T2	180	47,62±0,01	10,45±0,02	19,43±0,01	22,06±0,01	61,74±0,05	
T2	150	42,08±0,01	10,81±0,02	17,34±0,01	20,44±0,0	57,98±0,07	
T3	210	42,92±0,01	10,15±0,03	18,35±0,03	20,99±0,01	60,77±0,12	
T3	180	45,49±0,0	10,74±0,03	18,28±0,02	21,21±0,01	59,55±0,09	
T3	150	45,27±0,01	10,95±0,01	17,59±0,01	20,72±0,0	58,14±0,03	

En el proceso de tostación de las muestras de café en los tratamientos inoculados, tostados a una temperatura de 150°C se presentaron mejores puntajes SCA con características sensoriales como herbal, dulce pronunciado, caramelo, acidez media, cuerpo medio que corresponden al proceso de tueste medio (Benítez & Campo, 2018). Los valores numéricos de L* en el espacio de color CIELAB en café tostado en grano, son similares a los presentados por Benítez & Campo en 2018 del perfil de tostación 3. Las coordenadas cromáticas a* y b* se ubican en un rango semejante a

lo publicado por Salazar-Hernández *et al*, 2020 con un grado de tueste medio realizado con un método artesanal.

Los valores de tono (H^*) y croma (c^*) son resultado de las coordenadas a^* y b^* , del espacio de color CIELAB, y permiten cuantificar la intensidad del color y el ángulo del tono para cada muestra, en su estado de tostación. Los valores de H^* y c^* obtenidos tienden a tonos rojizos-naranjas/amarillos.

Los valores de luminosidad y coordenadas cromáticas (L^* , a^* , b^*) no presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al factor de tratamiento realizando análisis Anova Simple independiente con cada una de ellas ($P>0.05$), con un nivel de confianza del 95%, igualmente con el factor temperatura, lo cual indica que las muestras se mantuvieron homogéneas en el grado de tueste requerido y realizado por el tostador según su impresión y parámetros evaluados en las curvas de tueste, donde la transformación de azúcares y aminoácidos le proporcionan propiedades aromáticas y color característico debido a la reacción de Maillard

Sin embargo, se presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al análisis multifactorial involucrando ambos factores (tratamiento y temperatura) ($P<0.05$), con un nivel de confianza del 95%, lo cual indica que los cambios de color están influenciados por la inoculación o no de levaduras y las temperaturas de tostación. A partir de estos resultados, se considera que las diferencias en el contenidos de sólidos solubles en cada tratamiento al final de las 22 horas de fermentación influyen en los atributos generados en el café en cada uno de los tratamientos propuestos.

3.7 Análisis Sensorial

Una vez evaluadas las muestras mediante metodología de la Asociación de Cafés Especiales SCA, a partir de estos atributos y de los defectos presentes en la taza, se obtuvo el puntaje final promedio (TABLA 7.)

TABLA 7. Resultados del Análisis Sensorial

Tratamiento	Temperatura (°C)	Puntaje SCA
C	150	79,53±4,17
C	180	83,50±0,35
C	210	85,13±0,77
T1	150	83,88±1,12
T1	180	81,33±3,77
T1	210	83,58±0,47
T2	150	84,63±0,41
T2	180	83,63±1,24

T2	210	76,00±12,02
T3	150	84,28±0,08
T3	180	80,38±6,19
T3	210	80,75±3,89

Según la clasificación SCA (2015), la mayoría de las muestras analizadas se clasifican como café de especialidad con puntajes en taza mayores a 80 puntos ubicándose en las categorías de “Muy Bueno” de 80 a 84.99 y de “Excelente” de 85 a 89.99. De acuerdo con los resultados obtenidos, en unas de sus repeticiones, el tratamiento control (C1) con sus tres temperaturas iniciales de tuestión (150, 180 y 210 °C), el T2 y el T3 en las temperaturas iniciales de tuestión de 210°C y 180 °C respectivamente, se percibieron el defecto de fenol, el cual pudo originarse por presencia de granos brocados o negros (análisis físico) o contaminación cruzada durante el proceso de molienda, puesto que los granos de café con defectos deterioran la calidad de la bebida produciendo sabores extraños, ásperos, sucios, contaminados, fenólicos, químicos, entre otros (Puerta, 2015). En Las muestras se encontraron descriptores comunes como chocolate, cítrico, frutos amarillos, frutos rojos, caramelo, dulce, panela y frutos secos. Según lo publicado por Evangelista *et al.*, 2014 y Silva *et al.*, 2013, la inoculación de un cultivo iniciador influye positivamente en atributos como el sabor y aroma del café; además, disminuye el tiempo de procesamiento, secado y se incrementa el valor económico del producto.

Estas se destacaron en el atributo de dulzor como se observa en las FIGURAS 23, 24 y 25. En la temperatura de 150°C y 210°C los tratamientos tienen mejor balance, taza limpia y uniformidad frente al control. A pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos con respecto al análisis sensorial realizado (FIGURA 22), los tratamientos inoculados y sometidos a temperaturas iniciales de tuestión de 150 °C, fueron mejor puntuados que los del control a la misma temperatura, mejorando así su calidad en taza.

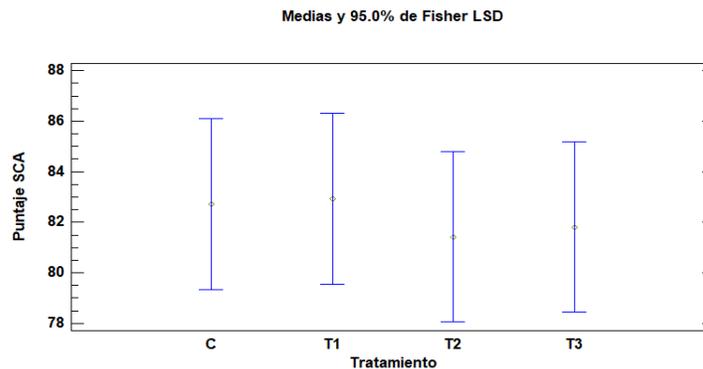


FIGURA 22. Gráfico de medias del puntaje SCA con respecto a los tratamientos.

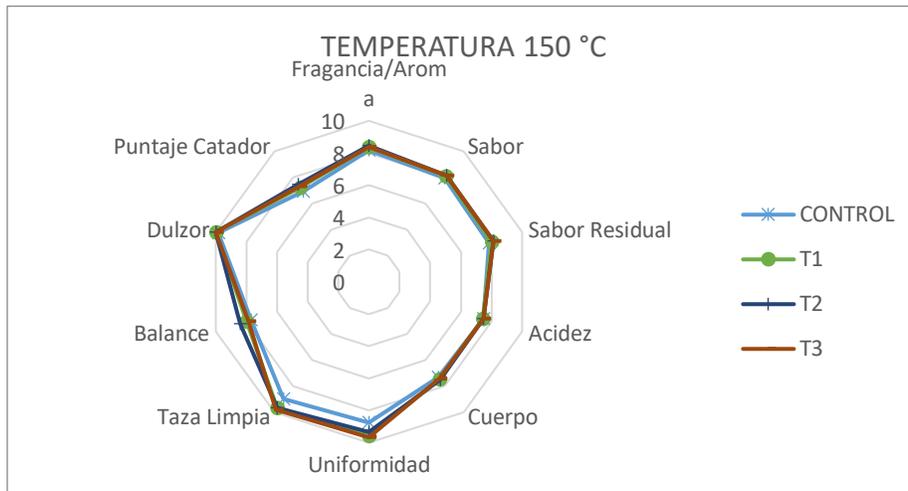


FIGURA 23. Diagrama sensorial a temperatura de 150°C

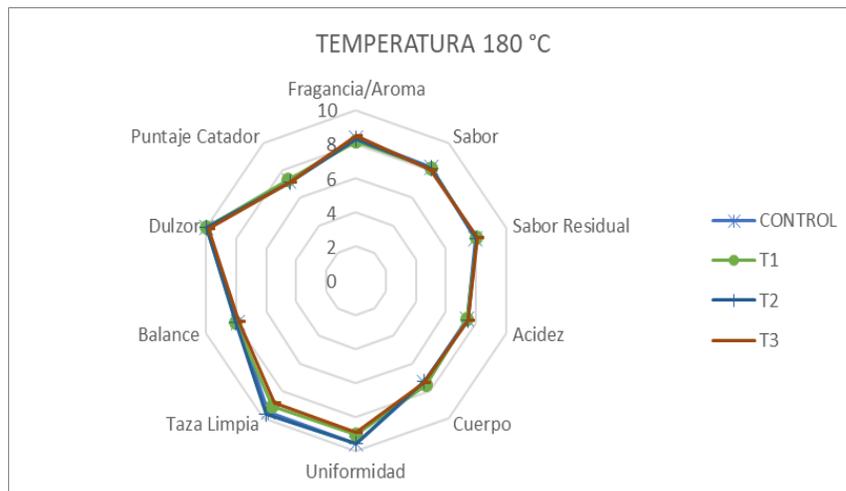


FIGURA 24. Diagrama sensorial a temperatura de 180°C

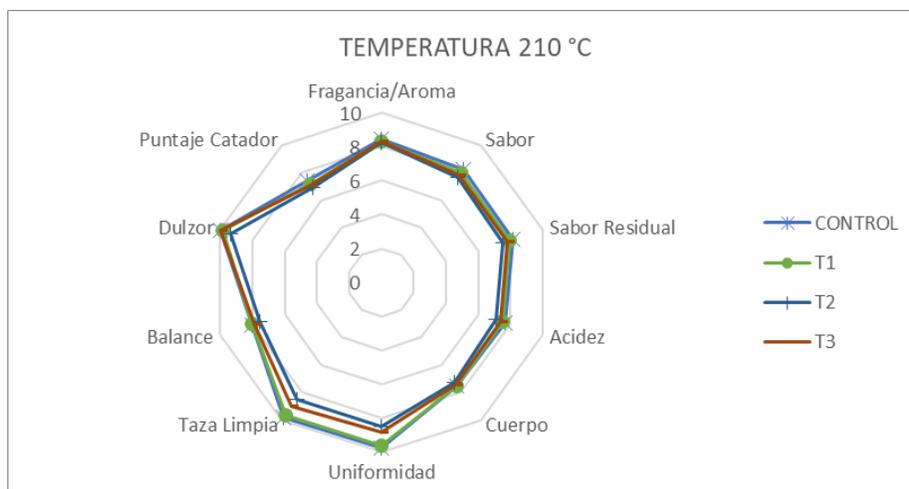


FIGURA 25. Diagrama sensorial a temperatura de 210°C

A continuación podemos observar los descriptores de cada tratamiento con su respectivo duplicado (TABLA 8), donde se detalla su fragancia, aroma, acidez, cuerpo y sabor apreciada en cada una de las muestras por el panel de catación, se resaltan en amarillo aquellos descriptores que son diferentes entre tratamientos.

TABLA 8. Descriptores del Análisis Sensorial

Muestra	DESCRIPCIÓN SENSORIAL
974 C1 150°C	Chocolate, dulce, caña, herbal fresca, cítrica pronunciada, frutos secos, mantequilla de maní, frutos rojos, caramelo, acidez media media astringente, cuerpo dulce, pesado, áspero, ligero fenol .
640 C1 180°C	dulce, panela, caramelo, galletas de leche , caña, cítrica, limón, tostado, acidez Media media dulce, un poco astringente, cuerpo dulce cremoso un poco áspero prolongado, frutos secos, avellana, almendra, chocolate, caramelo, ligero fenol
247 C1 210°C	dulce fresca, pronunciada, notas herbales, secas, limón, tostado, miel, panela, mora , frutos rojos, arequipe, acidez Media media limón mandarina en cítrica, cuerpo dulce cremoso persistente, manzana verde, ligero fenol .
103 T1-1 150°C	Herbal fresca, dulce pronunciada, vegetalosa crítica, limoncillo, acidez media media astringente, cuerpo cremoso dulce persistente, suave, dulce, cítrico, aceituna .
140 T1-1 180°C	chocolate amargo pronunciado, pesado, bagazo de caña , cáscara de naranja seca, herbal, picante, jalapeño, pepinillo , frutos secos, tomate deshidratado, frutos blancos, tostado, acidez Media media un poco

	<p>astringente, cuerpo dulce, cremoso prolongado, notas de avellana persistente, dulce suave agradable, cítrico.</p>
624 T1-1 210°C	<p>Panela, dulzón, cítrico, herbal, aromático, afrutado, toronja, dulce, suave, frutos en conserva, chocolate, mentolado, floral, galleta, frutos rojos, cítrico, tostado, acidez Media media astringente, cuerpo Medio medio dulce, cremoso, un poco astringente prolongado, agradable, frutos secos, vegetativo, herbal, especiado.</p>
788 T2-1 150°C	<p>Dulce suave, chocolate, frutos amarillos, perfumada, herbal, fresca pronunciada, caramelo, apanelado, frutos secos, miel, leche, azúcar morena, acidez media media astringente, cuerpo dulce cremoso persiste, pero se torna un poco pesado, áspero, cítrico.</p>
464 T2-1 180°C	<p>dulce, herbal, aromática, frescas cítricas persistente, chocolate persistente, canela, acidez Media media astringente, cuerpo dulce cremoso prolongado, notas a hojas de tabaco fresco, malta tostada, dulce suave, dulce apanelado, cítrico.</p>
916 T2-1 210°C	<p>Dulzón, envejecido, maderosa, pesada, cítrica, vegetalosa, notas herbales, cítricas, naranja, suave, delicada, crema whisky, floral, frutos secos, plátano, caramelo, especiado, madera mojada, acidez Media media pesada, Químico fenol, cuerpo sucio, ocre, fenol pesado, pesada, fenol, químico, chocolate, apanelado, dulce especiado.</p>
352 T3-1 150°C	<p>herbal, cítrica, naranja, fresca, perfumada, dulce, pimienta, tomillo, chocolate amargo, caramelo, miel, maple, acidez media media astringente, cuerpo dulce cremoso prolongado persistente, agradable, cítrico, cremoso, caramelo, panela.</p>
853 T3-1 210°C	<p>dulce, brevas maduras, fresca, herbal, vegetalosa, caña, cítrico, limoncillo, acidez Media media dulce agradable, cuerpo cremoso agradable persistente, chocolate, frutos amarillos, melocotón, caramelo.</p>
262 T3-1 210°C	<p>dulce, panela, herbal, arequipe, cítrica, naranja fresca, avellanas, chocolatina, frutos secos, caramelo, tostado, especiado, chocolate, acidez Media media dulce cítrica, cuerpo medio medio cremoso, notas a malta prolongado, suave cremoso, cítrico, mantequilla</p>
673 C2 150°C	<p>Dulce, cítrica, frutos rojos, paneloso, especiado, vegetalosa, acidez media media astringente, cuerpo medio medio dulce áspero, notas a ocre.</p>

607 C2 180°C	dulce, panela, chocolate, cítrico herbal, afrutado, acidez media astringente, cuerpo sedoso , caramelo, cítrico áspero.
034 C2 210°C	chocolate amargo, mantequilla, frutos secos, cítrico, limón, afrutado, miel, nuez, acidez media alta, cuerpo medio alto aguado, canela, dulce.
632 T1-2 150°C	dulce, frutos amarillos, cítrica-toronja, caramelo, melón , papaya , acidez media alta, cuerpo medio medio un poco áspero prolongado.
956 T1-2 180°C	dulce, cítrica, limón, jarabe , herbal pronunciada, frutos secos, acidez media cítrica astringente, cuerpo dulce persistente cremoso y prolongado, especiado, panela.
050 T1-2 210°C	cítrica, chocolate, dulce, jengibre , miel, acidez media media, astringente, cuerpo Medio medio dulce afrutado, maní.
573 T2-2 150°C	dulce, herbal, panela, floral, caramelo, guanábana , acidez media media cítrica, cuerpo medio alto dulce persistente, frutos blancos.
763 T2-2 180°C	dulce cítrica limón, pronunciada, chocolate ciruelas verdes , frutos amarillos, acidez media media astringente, cuerpo dulce pesado, biche, un poco astringente, suave delicado.
684 T2-2 210°C	Azúcar morena, caramelo, cítrico, panela, mandarina, chocolate, cáscaras secas , amaranto, cáscara manzana verde , acidez Media baja, cítrica, cuerpo Medio alto, dulce, biche.
930 T3-2 150°C	dulce, kiwi , cítrica, limoncillo, mentolada , floral, nuez, manzana verde, chocolate amargo, acidez media media un poco astringente, almendras, manzana.
794 T3-2 180°C	dulce, cítrica, herbal fresca, floral perfumada. Notas a vainilla, acidez media alta astringente, cuerpo dulzón, astringente pesado cerealoso , fenol , frutos rojos, ácido áspero, ocre fenol
361 T3-2 210°C	Dulce, panela, caramelo, frutos amarillos, cítrico, limoncillo, caña fresca, chocolate amargo, afrutado, acidez media media astringente, cuerpo medio medio, dulce, áspero corto fugaz, canela.

Cada uno de los tratamientos contenía una población diferente de levaduras; sin embargo, el análisis estadístico estableció que no habían diferencias significativas ($p > 0.05$) y al realizar el análisis multifactorial en el análisis de color considerando variables como temperatura y tratamientos se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0$); lo cual nos lleva a inferir que habían diferencias entre tratamientos dado que la cantidad de levaduras es directamente proporcional al contenido de azúcares metabolizados como glucosa, y para procesar la sacarosa se requería de una alta temperatura y condiciones ácidas para el rompimiento del enlace o-glucosídico para liberar glucosa y fructosa, está última en caso de no ser metabolizada por la enzima glucosidasa producida por la levaduras queda en la matriz contribuyendo en el producto en

características como cuerpo. Así, su presencia va a influir en los compuestos formados en el proceso de tostación como la reacción de Maillard, etapa de caramelización y por tanto, en los atributos percibidos en la calidad en taza.

La presente investigación en sus resultados sensoriales fue compartida al caficultor que proporcionó la materia prima, quien realizó modificaciones en sus procesos de cosecha, postcosecha y secado para corregir los defectos que se encontraron en algunas muestras. Lo cual lo llevó a mejorar y al participar en competiciones de café especial a nivel Colombia en septiembre de 2022 logró posicionarse con su producto entre los mejores consiguiendo mejor pago.

CONCLUSIONES

Los tratamientos con inoculación a diferentes concentraciones de levadura CBS-03D *Candida krusei/inospicua*, no mostraron diferencias frente al tratamiento control, en cuanto a la población de viables, esto es atribuido a que el co-cultivo (cultivo iniciador y las levaduras nativas) generaron competencias por nutrientes; ciertamente, la población de levaduras a través del tiempo de fermentación disminuyó por lo que se sugiere a un par de intervalos permitir el acceso de oxígeno atmosférico, control de temperatura y pH para favorecer el rompimiento de enlaces de los disacáridos y polisacáridos haciendo posible la disponibilidad de glucosa para favorecer el crecimiento de las levaduras presentes. En cuanto a la evaluación física del café mostró un buen rendimiento y en la evaluación sensorial no se encontraron diferencias, pero la curva de tuestión de 150 °C indicó que los tratamientos con levadura tuvieron un buen comportamiento en taza. Adicionalmente, en los estudios de los hongos ambientales y de las muestras de café pergamino seco, evidencian la importancia de capacitar a los caficultores, extensionistas en la necesidad de realizar un proceso de cosecha, beneficio, secado, almacenamiento con higiene por parte del personal que manipula el producto, los equipos e implementos empleados, superficies de secado a cierta altura del piso, controlando la calidad del aire, realizando un proceso de fermentación sostenible donde no se generen aguas residuales con altas DBO y DQO, para lo que el procesamiento de café honey propuesto en esta investigación contribuye positivamente en el cuidado del ambiente, mostrando la necesidad de proponer una norma de calidad que considere las características de los cafés con procesamientos diferentes al lavado. Además, resaltar que el proceso de tuestión está orientado al desarrollo de los atributos de un café de calidad y no es una etapa de esterilización de microorganismos patógenos, sus metabolitos y toxinas. De esta manera, es de resaltar la importancia de continuar trabajando y fortaleciendo las relaciones entre el sector productivo cafetero y la academia, a través de la investigación se pueden abordar problemáticas relacionadas con la agroindustria, biotecnología y microbiología del café.

REFERENCIAS

Amorocho-Cruz, C., Soto- Mora, J., Charry-Roa, S. Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial de vino de curuba (*Passiflora mollissima* var. Bailey). Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 20, n. 2, 2022, p. 45-59. Doi: <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n2.2022.1562>.

Benítez, O., Campos, D. Evaluación de la calidad el café tostado utilizando herramientas de procesamiento digital de imágenes. (2018). Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, 1(30), 32–43. Recuperado a partir de <https://revistaaccb.org/r/index.php/accb/article/view/153>

Betancur, J & Zurita, M. 2020. Evaluación de la fermentación controlada con inoculación de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y su efecto en la calidad del café (*Coffea arabica*) . Tesis de ingeniería, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/1cf1773e-2fa6-47f3-b057-d4dd663fbae9/content>

Bokulich, N., Charles, W. (2017). Microbiología cervecera: investigación actual, ómicas y ecología microbiana. Caister Academic Press

Carrillo, L. (2003). Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, Salta. ISBN 13 978-987-9381-19-9

Cenicafé (2006). Avances Técnicos 352. La humedad controlada del grano preserva la calidad del café. ISSN-0120-0178 recuperado de <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/418/1/avt0352.pdf>

Córdoba N, Guerrero J. 2016. Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café en el departamento de Nariño. R. Bio. Agro. 14(2):75–83. ISSN 1692-3561. DOI: I:10.18684/BSAA(14)75-83

Daugovish, O; Smith, R; Cahn, M; Koike, S; Smith, H; Aguiar, J; Quiros, C; Cantwell, M; Takele, E. 2008. Celery production in California. The Regents Division of Agriculture and Natural Resources, University of California. Publication 7220:4 p.

Enciso, M. 2019 Evaluación Del Efecto De La Inoculación De Cultivos Iniciadores Sobre Las Características Organolépticas Del Café Durante Su Proceso De Fermentación Seca. (Tesis Pregrado) Universidad De Santander

Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. Food Research International, 46(2), 488–495. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>

Evangelista, S., Ferreira, C., Pedrozo da Cruz, M. De Souza, C., Marques, A., Ferreira, C., Freitas, R. (2014). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process, Food Research International, Volume 61, Pages 183-195, ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.033>

Evangelista, S., Da Cruz Pedrozo, M., De Souza, C., Ferreira, C., Marques, A., Freitas, R. (2014). Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process, Food Microbiology, Volume 44, Pages 87-95, ISSN 0740-0020, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.013>

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (FNC). (2022). Aprenda a vender su café. Recuperado de <https://federaciondecafeteros.org/wp/servicios-al-caficultor/aprenda-a-vender-su-cafe>.

García, A. (2016) Marco Conceptual Sobre La Influencia De La Temperatura Y La Humedad Relativa En La Fermentación Sólida Del Grano De Café Arábica Sobre El Contenido Del Ácido 5-O-Cafeoilquínico. (Tesis Maestría), Universidad Pontificia Bolivariana. Recuperado de <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/3150/Marco%20conceptual%20sobre%20la%20influencia%20de%20la%20temperatura%20y%20la%20humedad%20relativa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Guzmán, D. (2021) Potencial tecnológico de cepas nativas de levaduras aisladas en procesos de fermentación natural de café para la producción de Cafés Especiales. (Tesis) Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias y Facultad de Ciencias Agrarias. recuperado de https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/21397/1/GuzmanDaniel_2021_FermentacionesCaf%C3%A9Levaduras.pdf

IDEAM: Características climatológicas de ciudades principales y municipios turísticos. {En línea}. {9 julio de 2022} disponible en: (<http://institucional.ideam.gov.co/descargas?com=institucional&name=pubFile7982&downloadname=1Sitios%20turisticos2.pdf>)

Ladino, W. (2017). Caracterización de las bacterias ácido lácticas (bal), hongos y levaduras que inciden durante el proceso de fermentación de café arábica (*coffea arábica*) y su influencia en el análisis sensorial y calidad de la taza. *Ingeniería y Región*, 108.

Liu, X., Huang, K., Zhou, J., Meng, L., Wang, Y. and Zhang, L. (2012), Identification and antibacterial characteristics of an endophytic fungus *Fusarium oxysporum* from *Lilium lancifolium*. *Letters in Applied Microbiology*, 55: 399-406. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03306.x>

Luna, M., Lozada Y., Trigos A. (2010). Aislamiento de cepas de *Aspergillus niger*, productoras de ocratoxina A, en café verde (*Coffea arábica*) almacenado. *Rev. Mex. Mic [revista en la Internet]*. [citado 2022 Feb 11] ; 32: 63-68. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802010000200008&lng=es.

Maldonado, C. (2003) Determinación de la actividad antifúngica *In Vitro* de Quitosano Carbamato de Etilo sobre cepas de *Candida Albicans* (Tesis) Universidad Austral De Chile, Facultad de Ciencias Escuela de Química y Farmacia. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/318693238_ACTIVIDAD_ANTIFUNGICA_DE_QUITOSANO_CARBAMATO_DE_ETILO_EN_Candida_albicans

Martinez, S. J., Bressani, A. P. P., Miguel, M. G. D. C. P., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2017). Different inoculation methods for semi dry processed coffee using yeasts as starter cultures. *Food Research International*, 102, 333-340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.096>

Nout MJR, Aidoo KE. Alimentos asiáticos fermentados con hongos. En Hofrichter M. _ (editor) *Aplicaciones industriales*, 2ª ed. vol. 10 Berlín, Heidelberg: The Mycota, Springer; 2010 págs. 30–58 https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Asian+fungal+fermented+food&author=MJR+Nout&author=KE+Aidoo&journal=Industrial+Applications&pages=30-58&publication_year=2010&

Oviedo Arbeláez, M., Lozano Vera, J., & Amorocho Cruz, C. M. (2018). Caracterización fisicoquímica y microbiológica del vino de mora (*Rubus glaucus* Benth), El Hobo (Huila). *Dyna*, 85(207), 107–112. <https://doi.org/10.15446/dyna.v85n207.72957>

Pabón, J., & Osorio, V. (2019). Factores e indicadores de la calidad física, sensorial y química del café. En Centro Nacional de Investigaciones de Café (Ed.), *Aplicación de ciencia tecnología e innovación en el cultivo del café ajustado a las condiciones particulares del Huila* (pp. 162–187). Cenicafé. https://doi.org/10.38141/10791/0005_7

Pajoy-Trujillo, M. (2020). Evaluación de la adición de levaduras en el proceso de fermentación de café (*coffea arabica*) y su incidencia en la calidad en taza.

Pardi, G., Cardozo, E. (2002) Algunas consideraciones sobre *Candida Albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta Odontológica Venezolana*, 40(1), 9-17. Recuperado en 04 de julio de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652002000100003&lng=es&tlng=es.

Pivaral, R., Cruz, J. (2018). Evaluación del efecto de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la caracterización sensorial del café en dos sistemas de fermentación (Tesis), Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/41078b23-0459-42fd-afaa-7887c9f2c892/content>

Puerta, G. (2006). La humedad controlada del grano preserva la calidad del café. *Cenicafé*, 352, 1–8. Retrieved from <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/418/1/avt0352.pdf>

Puerta, G. I. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. *Cenicafé*, 89.

Puerta, G., Ríos, S. (2011). Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. *Cenicafé*. 62(2), 23-40.

Puerta G, 2012. Factores, procesos y controles en la fermentación del café. *Avances técnicos cenicafé*. No. 422. 12 p. Recuperado de <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/327/1/avt0422.pdf>

Puerta G, 2015. Buenas prácticas para la prevención de los defectos de la calidad del café: fermento, reposado, fenólico y mohoso. ISSN - 0120 - 0178 cenicafe. No. 461 [consultado el 29 de jul. de 2022]. <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0461.pdf>

Puerta G, Marín M, Osorio G. 2015. Microbiología de la fermentación del mucílago de café según su madurez y selección. In 0120-0275. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/536>.

Retana, K., Ramírez-Coché, J., Castro, O., Blanco-Meneses, M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP.Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 42(1), 115-126. <https://dx.doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199>

Salazar-Hernández, M., Lona-Ramírez, J., Rivera- Domínguez, C., Sánchez-Núñez, V., Rosales-Bravo, H., Caudillo-Ortega, N. Evaluación de compuestos químicos de la variedad Típica de *Coffea arabica* durante el proceso del tostado artesanal Investigación y Ciencia, vol. 29, núm. 81, 2021, pp. 32-39 Universidad Autónoma de Aguascalientes Aguascalientes, México. ISSN 1665-4412, E-ISSN 2521-9758.

Salazar-Hernández, C., Salazar-Hernandez, M., Juárez-Ríos, H., Caudillo-González, M., Rocha, A. (2014) Estudio del control de crecimiento de *C. albicans* con sistemas de griseofulvina adsorbida en SiO₂- porosa obtenida de la cascara de arroz, Revista Iberoamericana de Ciencias, ISSN 2334-2501. Recuperado de <http://www.reibci.org/publicados/2014/julio/4569378.pdf>

SCAA. (16 de diciembre de 2015). Cupping Specialty Coffee . Obtenido de SCAA Protocols: <https://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>

Silva, L., Da Cruz, M., Reis, S., Machado, P., van Mullem, J., Honorio, M., Freitas, R. (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*, Volume 92, Pages 26-32, ISSN 0963-9969. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.011>

Zumbado, W., Esquivel, P., Wong-González, E. (2006). Selección De Una Levadura Para La Producción De Biomasa: Crecimiento En Suero De Queso, *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 151-160. 2006 ISSN: 1021-7444. recuperado de <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/5155/4955>