



**ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO CINÉTICO DE HONGOS Y SU
RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS EN EL
PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ (*Coffea arabica*
L.) EN LA SIERRA NEVADA DE SANTA MARTA.**

Yuliana Menco Tapia

Universidad del Magdalena

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Santa Marta, Colombia

2020



**ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO CINÉTICO DE HONGOS Y SU
RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS EN EL
PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ (*Coffea arabica*
L.) EN LA SIERRA NEVADA DE SANTA MARTA**

Yuliana Menco Tapia

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:
Ingeniero Ambiental y Sanitario

Director (a):

Ing. Rosmery K. Cruz O'Byrne, MEng (c)

Codirector (a):

Ing. Nelson V. Piraneque Gambasica, PhD

Línea de Investigación:

Ciencias ambientales y agrarias

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación Suelo, Ambiente y Sociedad – GISAS

Universidad del Magdalena

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Santa Marta, Colombia

2020

Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad del Magdalena para optar al título de Ingeniero Ambiental y Sanitario

Jurado

Jurado

Santa Marta, ____ de ____ del _____

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a Dios por darme la sabiduría para la realización de este trabajo de investigación, por brindarme la oportunidad de vivir, siendo mi principal fuente de motivación y por estar siempre iluminando mi camino.

A la universidad del Magdalena, el programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, y el Grupo de Investigación Suelo, Ambiente y Sociedad (GISAS) por la oportunidad de realizar esta pasantía de investigación.

A la convocatoria FONCIENCIAS, por conceder la financiación del macroproyecto “CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN DIFERENTES PROCESOS DE FERMENTACIÓN DE CAFÉ EN EL DEPARTAMENTO DEL MAGDALENA” del cual hace parte este trabajo de investigación.

A mi directora del proyecto Rosmery Cruz por toda la enseñanza, por la confianza, las oportunidades, por la paciencia en el tiempo que se llevó a cabo la investigación y por todos los conocimientos adicionales adquiridos, además de esto, por ayudarme a potencializar mis virtudes en el camino de la ciencia.

A mi co-director Nelsón Piraneque y a la profesora Sonia Aguirre, por brindarme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación, por la dedicación y el apoyo durante el proyecto.

Al profesor Jorge Luna por su apoyo a través de mi directora y al personal de los laboratorios de Calidad del Agua y Biotecnología por el apoyo en esta investigación.

A mi mamá, Marina Tapia, por el amor, por estar siempre para mí y darme su apoyo incondicional, a mis familiares por todos los buenos consejos y por darme fuerza en los momentos difíciles, especialmente Pedro y Lorenis por brindarme de su ayuda y cariño.

A mi novio, Felipe, por estar siempre a mi lado, incentivándome a ser mejor cada día y por creer en mis propósitos de vida.

A todos mis amigos y colegas, en especial, Victoria, Sandra, Karla, Francisco, Albenis, Paula, Daniela, Jefferson. Y a mi compañero de investigación Stiven.

RESUMEN

La fermentación es uno de los procesos pos cosecha más importantes en la producción de café de calidad, en el cual los microorganismos utilizan como nutrientes diversos compuestos del mucílago produciendo sustancias líquidas y volátiles que inciden en las características sensoriales de la bebida. Este estudio tuvo como objetivo determinar la relación entre las características fisicoquímicas y el comportamiento cinético de hongos y levaduras en el proceso de fermentación de café en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM), llevado a cabo por 36 horas mediante método húmedo. Cada 6 horas se midieron los parámetros fisicoquímicos de pH, temperatura y grados Brix por triplicado y se enumeraron las poblaciones de hongos y levaduras por duplicado. Después de 36 horas, el pH de la masa fermentada disminuyó de 5,37 a 3,96, los grados Brix de 6,53 a 4,30 °Bx y la temperatura fluctuó entre los 14°C y 17°C en concordancia con la temperatura ambiente. La población de hongos pasó de 5,11 a 5,25 log UFC/g y las levaduras de 4,76 a 4,72 log UFC/g mostrando su población máxima a las 18 horas de fermentación con 6,92 log UFC/g en el caso de los hongos y levaduras con 6,01 log UFC/g. Las mayores dependencias fueron obtenidas entre el pH y los grados Brix, las poblaciones de hongos y levaduras, la temperatura ambiente y de la masa, la humedad y temperatura ambiente, la humedad ambiental y la temperatura de la masa, y entre las levaduras y la humedad ambiental. La caracterización de la fermentación de café de la SNSM contribuye a la generación de conocimiento específico del proceso en la región y se espera que sirva como herramienta para futuras investigaciones y para la toma de decisiones en la producción de café que permitan a los caficultores un valor agregado de su producto.

Palabras claves: Fermentación en húmedo, Fermentación espontánea, Hongos, Levaduras, Microbiota.

ABSTRACT

Fermentation is one of the most important post-harvest processes in the quality coffee production, in which microorganisms use various mucilage compounds as nutrients, producing liquid and volatile substances that affect the sensory characteristics of the beverage. This study aimed to determine the relationship between the physicochemical characteristics and the kinetic behavior of fungi and yeasts in the coffee fermentation process in the Sierra Nevada of Santa Marta (SNSM), performed for 36 hours by wet method. Every 6 hours the physicochemical parameters of pH, temperature and Brix degrees were measured in triplicate and the populations of fungi and yeasts were enumerated in duplicate. After 36 hours, the pH of the fermented mass decreased from 5.37 to 3.96, the Brix degrees from 6.53 to 4.30 °Bx and the temperature fluctuated between 14 °C and 17 °C in accordance with ambient temperature. The fungi population went from 5.11 to 5.25 log CFU/g and the yeasts from 4.76 to 4.72 log CFU/g showing its maximum population at 18 hours of fermentation with 6.92 log CFU/g in the case of fungi

and yeasts with 6.01 log CFU/g. The highest dependencies were obtained between pH and Brix degrees, fungal and yeast populations, ambient and mass temperature, humidity and environmental temperature, humidity and mass temperature, and between yeasts and humidity. The characterization of the coffee fermentation of the SNSM contributes to the generation of specific knowledge of the process in the region and is expected to serve as a tool for future research and for decision-making in coffee production that allow coffee growers an added value to their products.

Keywords: Wet fermentation, spontaneous fermentation, fungi, yeasts, microbiota.

CONTENIDO

RESUMEN	5
CONTENIDO.....	7
Lista de figuras.....	9
Lista de tablas	10
1- INTRODUCCIÓN	11
2- JUSTIFICACIÓN.....	13
3- OBJETIVOS.....	15
3.1- Objetivo general.....	15
3.2- Objetivos específicos.....	15
4- ESTADO DEL ARTE	16
5- MARCO CONCEPTUAL	24
5.1- Café arábico: <i>Coffea arabica</i> L.....	24
5.1.1- El fruto y su composición	24
5.2- Procesamiento del café.....	25
5.2.1- Método húmedo.....	25
5.3- Fermentación de café.....	26
5.3.1- Factores que influyen la fermentación de café.....	26
5.4- Factores fisicoquímicos en la fermentación	28
5.4.1- Temperatura	28
5.4.2- Grados Brix.....	28
5.4.3- pH.....	28
5.4.4- Tiempo	29
5.5- Microbiología de la fermentación del café	29
5.5.1- Hongos y levaduras	30
5.6- Controles y buenas prácticas para el desarrollo de las fermentaciones controladas de café.....	30
5.6.1- Temperatura.....	30
5.6.2- Tiempo	30
5.7- Cafés especiales.....	31
6- MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
6.1- Zona de estudio	32
6.2- Recolección de muestras	33
6.3- Medición de los parámetros fisicoquímicos	33
6.4- Aislamiento y recuento de microorganismos	33
6.5- Análisis estadístico.....	34
7- RESULTADOS	35
7.1- Análisis fisicoquímico	35
7.2- Análisis microbiológico	37
7.3- Relación características fisicoquímicas y microbiológicas	38

8- DISCUSION	41
8.1- Análisis fisicoquímico	41
8.2- Análisis microbiológico	42
8.3- Relación características fisicoquímicas y microbiológicas	42
9- CONCLUSIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Estructura de la cereza de café.	24
Figura 2. Procesamiento en húmedo del café.....	25
Figura 3. Procesos bioquímicos en la fermentación del café.	27
Figura 4. Factores en la fermentación del café.	27
Figura 5. Ubicación de la zona de estudio.	32
Figura 6. Comportamiento del pH y Grados Brix durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.....	36
Figura 7. Comportamiento de la temperatura y humedad durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.	37
Figura 8. Comportamiento de la población microbiana durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.	38
Figura 9. Correlación entre las variables fisicoquímicas y microbiológicas de la masa y las variables ambientales durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.	39
Figura 10. Correlación entre las variables fisicoquímicas, microbiológicas de la masa y las variables ambientales durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.	39

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Características fisicoquímicas durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.....	35
Tabla 2. Valores promedios de temperatura de la masa de fermentación, temperatura y humedad del ambiente durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.....	36
Tabla 3. Valores promedios de la población de hongos y levaduras durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.	37

1- INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo, solo superada por el agua. El mercado mundial de producción de café es enorme; Brasil se considera el principal productor de granos de café seguido de Vietnam y Colombia (Agronet, 2018; FAOSTAT, 2018; ICO, 2019). Colombia como tercer país productor presentó en 2018 una producción de 855.840 toneladas con un área cosechada de 742.373,5 hectáreas (Agronet, 2018; FAOSTAT, 2018). El café colombiano proviene casi exclusivamente de la especie *Coffea arabica* L., y es a menudo considerado como uno de los cafés de más alta calidad en el mundo (De Oliveira et al., 2019).

El departamento del Magdalena representó en 2018 el 1,26% de la producción nacional de café con 10.826,34 toneladas cosechadas en un área estimada de 17.414,32 hectáreas (Agronet, 2018). El cultivo de café de este departamento se ubica en las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta y se constituye como el reglón productivo más importante de la zona (Comité Departamental de Cafeteros del Magdalena, 2009). Su producción cafetera se caracteriza por presentar granos de mayor tamaño gracias a las constantes lluvias entre la floración y maduración del fruto, lo que favorece el precio recibido por los caficultores debido al buen factor de rendimiento y calidad (Comité Departamental de Cafeteros del Magdalena, 2009).

Los mercados internacionales siguen demandando café de alta calidad, siendo Colombia uno de los países más destacados debido a su característico café arábico suave lavado, por lo cual se seguirá trabajando en mantener los mayores esfuerzos de calidad del café para continuar conquistando mercados de alto valor y a su vez, mejorar la rentabilidad de la actividad cafetera (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2020b). El proceso de mejoramiento de la producción y beneficio de café debe ser continuo, donde conocer aquellos procesos que influyen en la calidad de la bebida es esencial para lograr la optimización y control en el procesamiento del grano.

Dentro de los procesos que determinan la calidad de la bebida se encuentra el proceso de fermentación que influye en los agradables aromas y sabores que caracterizan el tipo de café, lo cual lo hace único por su procesamiento y resultado final de la calidad (Puerta, 2012). Uno de los factores más importantes dentro de dicho proceso son asociados a la clase de microorganismos presentes los cuales dependen de la población inicial en los frutos y granos despulpados, a su vez de la actividad del agua, el pH, la temperatura externa, los grados Brix como indicador de la maduración del café, el tiempo transcurrido y la dilución del sustrato, los cuales son indicadores del proceso fermentativo de café teniendo como resultado un café agradable dependiendo de la calidad del proceso (Puerta, 2012).

En la fermentación se realiza la eliminación del mesocarpio (mucílago) adherido al pergamino mediante enzimas propias de los microorganismos como las levaduras y bacterias lácticas, además de otros hongos y bacterias. Éstas enzimas oxidan azúcares,

lípidos y proteínas convirtiéndolos en alcoholes, ácidos, ésteres y cetonas (Puerta & Echeverry, 2015). La microbiota presente durante la fermentación de los granos de café depende de la variedad de humedad de la planta y del grano, el método de procesamiento, la competencia de los sustratos, la capacidad enzimática de las especies colonizadoras, su actividad antimicrobiana y factores ambientales (por ejemplo, humedad, temperatura y microbiota del suelo) (Huch & Franz, 2015).

Pese a que se conoce que la Sierra Nevada es una de las zonas más importantes del país en temas de producción y calidad del café, no se han realizado investigaciones sobre el proceso de fermentación del fruto que ayuden a comprender las características importantes del proceso; específicamente las microbiológicas, las cuales son determinantes en la generación de bebidas de alta calidad. En otras zonas a nivel mundial se han realizado estudios microbiológicos en los procesos de fermentación de café, pero sus condiciones ambientales son diferentes a las de la Sierra Nevada de Santa Marta por lo que dichos estudios no son aplicables debido a que la microbiota presente en la fermentación es propia de cada nicho geográfico (De Oliveira et al., 2019). Esto resalta la necesidad de la realización de investigaciones en el proceso de fermentación de café bajo las condiciones propias de la región.

La presente investigación tiene como propósito la generación de nuevo conocimiento relacionando con la fermentación del café en la Sierra Nevada de Santa Marta; específicamente con sus características fisicoquímicas y microbiológicas, haciendo énfasis en el estudio de hongos y levaduras mediante la aplicación de conceptos de microbiología ambiental, utilizando técnicas de aislamiento de estas poblaciones microbianas las cuales podrían relacionarse con la calidad final de la bebida de café. De esta forma, se busca suministrar las bases necesarias para entender mejor el proceso de fermentación en la región y servir como herramienta para su control y ayudar a crear prontas soluciones en los procesos de beneficio del café que permitan a los caficultores de la región y el país un óptimo proceso de fermentación con una determinada población microbiana que influyeran la calidad del producto final.

2- JUSTIFICACIÓN

Las fermentaciones son procesos metabólicos de diferentes microorganismos como hongos, levaduras y bacterias que transforman compuestos químicos orgánicos, principalmente, azúcares, en otras sustancias orgánicas más simples (Puerta, 2010). En la fermentación del café ocurren varios procesos, básicamente las levaduras y las bacterias del mucílago del café mediante sus enzimas naturales oxidan parcialmente los azúcares y producen energía (ATP), etanol, ácido láctico, ácido acético, y dióxido de carbono. Además, se obtienen otros alcoholes como propanol, butanol, y sustancias olorosas como aldehídos, cetonas, y ésteres. También, se degradan los lípidos del mucílago del café y cambian el olor, color, la acidez, la densidad, los sólidos solubles, el pH, la temperatura y la composición química y microbiana de este sustrato (Puerta, 2012).

El tipo y la cantidad de las sustancias producidas en la fermentación dependen de los microorganismos, de la calidad del sustrato y de las condiciones del beneficio del café. Con las fermentaciones se conservan los alimentos debido al alcohol y a los ácidos producidos y se forman diversos compuestos que dan sabores, aromas y texturas únicos. A su vez, es importante realizar un adecuado proceso de fermentación ya que al realizarse un proceso inadecuado pueden ocurrir problemas como los granos vinagres, manchados y decolorados, y los aromas y sabores agrios, a cebolla, a sucio, rancio y el conocido nauseabundo o stinker, los cuales son más frecuentes que se originen por fermentaciones no controladas y que incidan en la calidad final del producto (Puerta, 2010).

Los microorganismos juegan un papel importante en este proceso debido que descomponen diversos compuestos y contribuyen con el equilibrio ambiental. Estos microbios requieren para su desarrollo agua, proteínas, carbohidratos, condiciones ambientales y propiedades específicas como temperatura, pH, potencial oxido-reducción y presencia o ausencia de oxígeno (Puerta, 2010). Uno de los principales factores que afecta a la calidad del café es la presencia de microorganismos en el procesamiento, ya que producen compuestos orgánicos que puede absorber el café verde (Franca et al., 2005).

Teniendo en cuenta la importancia de la fermentación en la producción de café de calidad, a nivel mundial se han realizado diferentes estudios fisicoquímicos y microbiológicos aplicados al proceso con el fin de entender sus dinámicas y suministrar bases para la toma de decisiones. Sin embargo, en el caso específico de la Sierra Nevada de Santa Marta, aún no se han llevado a cabo investigaciones al respecto y los resultados obtenidos de las investigaciones realizadas en otros lugares no son aplicables en la región debido a que la ubicación geográfica y las condiciones ambientales de cada lugar determinan las características del proceso (De Oliveira et al., 2019). La Sierra Nevada de Santa Marta posee una gran oferta ambiental para la producción de cafés especiales (Comité Departamental de Cafeteros del Magdalena, 2009), lo que hace que se requieran mayores procesos de control y de calidad en el beneficio del fruto del café. Por ello, es importante crear herramientas que permitan a los caficultores de la región desarrollar un proceso de

fermentación óptimo para que así no existan fallas en el proceso, sabiendo qué se debe hacer y cuáles son los factores necesarios para un buen proceso fermentativo. Pues las fallas en la fermentación pueden resultar en el desarrollo de microorganismos que afectan negativamente el carácter del café y sabor (de Melo et al., 2015).

A raíz de todo lo anterior, se ha planteado la realización de esta investigación en la Sierra Nevada de Santa Marta con el fin de estudiar el proceso de fermentación en relación a sus características fisicoquímicas (pH, temperatura y grados Brix) y microbiológicas (Hongos y Levaduras), lo que ayudaría a proporcionar más información y a su vez brindar bases para el desarrollo de herramientas para que los caficultores de la región logren un proceso de fermentación adecuado con una determinada población microbiana y a su vez, contribuir con el potencial de producción de cafés especiales en el departamento del Magdalena y del país.

3- OBJETIVOS

3.1- Objetivo general

Determinar la relación de las características fisicoquímicas y el comportamiento cinético de hongos y levaduras en el proceso de fermentación de mucílago de café en la Sierra Nevada de Santa Marta a las 0 horas, 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas y 36 horas.

3.2- Objetivos específicos

- Realizar análisis fisicoquímico en muestras de mucílago de café fermentado por 0 horas, 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas y 36 horas en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.
- Efectuar aislamiento de hongos y levaduras de muestras de mucílago de café fermentado por 0 horas, 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas y 36 horas en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.
- Identificar la relación que existe entre las características fisicoquímicas y la cantidad de hongos y levaduras presentes en muestras de mucílago de café fermentado por 0 horas, 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas y 36 horas en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

4- ESTADO DEL ARTE

Existen diferentes investigaciones a nivel mundial y nacional aplicadas a la fermentación de café con énfasis en sus características fisicoquímicas y microbiológicas. Evidenciando que dichas propiedades varían dependiendo de las características de la zona de estudio y los métodos de procesamiento usados, los resultados de las investigaciones no son aplicables a la Sierra Nevada de Santa Marta. Sin embargo, en el presente proyecto se tomaron como referencia investigaciones relacionadas al tema de estudio.

López et al. (2015). Estudio de algunas variables en el proceso de fermentación de café y su relación con la calidad de taza en el sur de Colombia.

La investigación se desarrolló por el Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible SurColombiano en el Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) en Huila, Colombia. La finalidad de esta investigación fue determinar el comportamiento de algunas variables del proceso de fermentación y la calidad del café bajo condiciones específicas en la finca donde se realizó la recolección de muestras. Se seleccionaron muestras de café variedad caturra en producción. El método de fermentación que se utilizó fue en seco, donde los granos de café fueron sometidos a un proceso de fermentación sin agua por un tiempo de ochenta (80) horas. Los resultados mostraron un promedio de 16 ° Brix, donde se registró una disminución en función de las horas de fermentación, siendo esto característico de los sistemas de fermentación sin agua donde los °Brix muestran un decrecimiento exponencial y son lentos al disminuir la temperatura externa. En la temperatura de la masa se registró un aumento en horas de la tarde y un descenso en horas de la noche, esto gracias a que durante la fermentación del café se presentan variaciones de la temperatura de los granos debido a procesos metabólicos de los microorganismos con la consecuente producción de energía. El comportamiento del pH durante la fermentación disminuyó más rápido en las 20 primeras horas de fermentación por la formación y disociación de ácidos, los valores promedios fueron de 3,71 y 3,62 para el pH del sustrato y el lixiviado, respectivamente. Se concluyó que la calidad del café puede incrementarse al aumentar las horas de fermentación, teniendo el respectivo cuidado de no sobrepasar el punto crítico en el cual la calidad decae, presentándose características indeseables en la bebida final.

Este documento se considera un eje de referencia importante en la presente investigación debido a que posee contenido relacionado con los procesos de fermentación, los factores que inciden y mejores prácticas para el control en las futuras producciones de café a nivel mundial.

Avallone et al. (2001). Estudio microbiológico y bioquímico de la fermentación del café.

Este estudio fue realizado por el Instituto de Ecología en Veracruz, México. El propósito de esta investigación fue describir cuantitativa y cualitativamente los parámetros bioquímicos y microbianos de la fermentación de café con el fin de mejorar y comprender el papel de

los microorganismos en la degradación del mucílago. El procesamiento de las cerezas de café fue mediante el método en húmedo durante 20 horas y tomaron muestras cada 5 horas. Durante las 10 primeras horas del proceso, el pH disminuyó lentamente debido que la temperatura externa era bastante fría (13°C), luego se observó una acidificación a causa del metabolismo de la microflora, seguido de esto, las variaciones de la temperatura del café fueron moderadas. Con relación a los recuentos microbianos (bacterias y levaduras), se informó a escala logarítmica que durante las 10 primeras horas la microflora inicial permaneció constante, esto a causa de las bajas temperaturas externas que imposibilitaron la adaptación de los microorganismos en su metabolismo. Entre las 10 y 15 horas, la microflora inicial aumentó de $2,5 \times 10^7$ a $13,5 \times 10^7$ UFC/ml. La microflora mesófila aeróbica (levaduras) disminuyó después de las 20 horas a razón del bajo pH, esto debido a su mayor resistencia a las condiciones ácidas. Adicionalmente, las levaduras podrían ser responsables del sabor alcohólico del café al final de la fermentación. Se concluye que los resultados microbiológicos y bioquímicos muestran que el mucílago es rico en monosacáridos, permite el crecimiento total de la microflora en el mucílago y no de microorganismos pectolíticos específicos.

de Carvalho et al. (2017). Diversidad de levaduras y características fisicoquímicas asociado a la fermentación de granos de café desde la región brasileña de Cerrado Mineiro.

Esta investigación fue realizada por el Instituto de Química de la Universidad Federal de Paraná en Curitiba, Brasil. El objetivo de esta investigación fue evaluar la diversidad de levaduras de los granos de café fermentados en la región productora del Cerrado Mineiro. Las cerezas de café fueron procesadas mediante método húmedo durante 48 horas y se tomaron muestras de la fracción líquida cada 12 horas en profundidad media del tanque de fermentación. Se observó inicialmente que el número promedio de levaduras fue de $6,60 \log \text{CFU.ml}^{-1}$, luego de 48 horas de fermentación aumentó a $7,89 \log \text{CFU.ml}^{-1}$. Este crecimiento se fue favoreciendo por la capacidad de células de la levadura para metabolizar azúcares de la pulpa de café, así como para adaptarse a las condiciones del ambiente y las condiciones de estrés que prevalecen en la fermentación del café. El crecimiento de las levaduras también fue acompañado por un consumo regular de azúcares en la pulpa (glucosa y fructosa), y su conversión en ácidos orgánicos. El ácido láctico fue el principal metabolito producido alcanzando una concentración de $3,28 \text{ g.L}^{-1}$ a 48 horas. Seguido del ácido acético y succínico con 1.27 y 0.30 g.L^{-1} . Se dice que la baja producción de ácido acético y la ausencia de ácido butírico y propiónico minimizan la formación de sabores desagradables en la bebida final. Finalmente, se concluye que los análisis fisicoquímicos mostraron que diferentes compuestos orgánicos presentes en muestras de café pueden derivarse del metabolismo microbiano durante el proceso de fermentación.

de Melo et al. (2014). Aislamiento, selección y evaluación de levaduras para su uso en fermentación de granos de café por procesamiento en húmedo.

Este estudio fue desarrollado por el Instituto de Ingeniería de Procesos y Biotecnología, de la universidad Federal de Paraná en Curitiba, Brasil. Este estudio tuvo como objetivo la implementación de *P. fermentans* YC5.2 como cultivo iniciador para realizar fermentaciones controladas de café y se tuvo en cuenta una fermentación control (espontánea), utilizando el método en húmedo. La fermentación fue llevada a cabo durante 24 horas con una temperatura externa de 24-32°C en el día y durante la noche de 12-15°C, y las muestras fueron tomadas a las 0 y 24 horas. Se inocularon 144 levaduras mediante el método de inoculación superficial, incubándose a 30°C durante 48 horas seguida. Se obtuvo que durante el proceso de fermentación del café se observó que el 60% de los azúcares se utilizan como sustrato para el crecimiento microbiano que produce grandes cantidades significativas de etanol, ácido acético y láctico lo que resultó un bajo pH en de 5.5 a 6.0 y de 3.5 a 4.0. Por otra parte, la concentración de levaduras inicialmente era de 2,7 log UFC/ml, después de transcurridas las 40 horas de fermentación se obtuvo una población de 7,15 log UFC/ml y alcanzó valores de disminución al final de la fermentación de 5,2 log UFC/ml finalizadas las 48 horas de fermentación. Se concluye que las cepas seleccionadas tienen un gran potencial para su uso como cultivos iniciadores en procesamiento en húmedo del café y posiblemente ayuden a controlar y estandarizar el proceso de fermentación y producir bebidas de café con perfiles nuevos de sabor y deseables. Se concluyó que especies de levaduras como *P. fermentans*, son dominantes en los granos de café fermentados espontáneamente, además se pueden encontrar en otras áreas geográficas y en otros métodos de procesamiento. Por otra parte, especies del género *Pichia* inhiben el crecimiento de hongos filamentosos ocratoxigénicos durante la fermentación del café, actuando como un posible control biológico de la prevención de la ocratoxina A en el café.

Evangelista et al. (2015). Diversidad microbiológica asociada con el método húmedo espontáneo de fermentación de café.

Esta investigación fue realizada por el departamento de Biología de la Universidad Federal de Lavras en Lavras, Brasil. La finalidad de este estudio fue determinar la diversidad microbiana involucrada en la fermentación del café y analizar los metabolitos presentes en el proceso fermentativo. Los frutos fueron fermentados por duplicado durante 48 horas mediante método húmedo en dos fincas diferentes; siendo la primera una finca en Lavras (L) y la segunda en Monte Carmelo (MC). La fermentación en la granja L se llevó a una temperatura de 14 y 23 °C y la segunda en MC con una temperatura de 20 y 28°C. Las muestras se recogieron en tiempos diferentes (0, 6, 12, 24, 36 y 48h). Las bacterias y levaduras se enumeraron mediante recuento en placa. Se obtuvo que la población de levaduras en la granja de L varió de 2.5 a 4.9 log UFC/g y el de la granja MC varió de 2 a 4.8 log UFC/g. La población de bacterias mesófilas en la granja L varió de 3.8 a 8.5 log UFC/g y en la granja MC de 5.4 a 7.4 log UFC/g. Se obtuvo que la mayoría de la microbiota presente durante el procesamiento húmedo también se detectó en el fruto del café, por lo

que, además, el procesamiento húmedo favoreció el desarrollo de bacterias y levaduras que mostró un alto aumento de la población en ambas regiones. Se concluyó que la evaluación en estas dos granjas productoras de café contribuyó a una mejor comprensión de la microbiota presente en el café durante el procesamiento en húmedo.

Hosam et al. (2020). Diversidad ecológica, evolución y metabolismo de comunidades microbianas en la fermentación húmeda de granos de café australianos.

El estudio fue desarrollado por el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la escuela de Ingeniería Química en la Universidad of New South Wales en Sydney, Australia. El objetivo fue investigar la ecología microbiana y el metabolismo de la fermentación del café por medio del procesamiento en húmedo. Las cerezas del café fueron fermentadas por 36 horas a una temperatura ambiente de 20-30°C durante el día y 10-15°C durante la noche. Las cerezas de café se mezclaron manualmente cada 6 y 12 horas durante la fermentación y se tomaron muestras por triplicado en horas diferentes (0, 12, 24 y 36 h); el muestreo se tomó en tres puntos diferentes del tanque (inferior, medio y superior). Se realizó conteo en placa y se incubaron a 30°C durante 48 horas para las bacterias y 7 días para levaduras y hongos. El recuento total de las bacterias aerobias mesofílicas fue de 5 log UFC/g que creció después durante las 12 horas a 5,3 log UFC/g y finalmente alcanzó una población de 7,2 log UFC/g. La población inicial de levaduras fue de 4 log UFC/g y aumentó a 5,5 log UFC/g al final de la fermentación. El pH inicial fue de 5,40, el cual disminuyó a 4,95 después de 12 horas, a 4,27 a las 24 horas y finalizando el proceso de fermentación a las 36 horas, disminuyó a 3,60. La disminución en el pH se debe a la producción de ácido láctico producido por bacterias y levaduras, el cual generó la disminución del pH en la masa de fermentación, además de otros ácidos orgánicos como lo son los ácidos cítrico y málico. Adicional a esto, se descubrió que las capas de mucílago de los granos de café australianos eran ricas en azúcares, por lo que el pH disminuyó gradualmente a niveles bajos, ya que se utilizaron como fuente de carbono para el crecimiento microbiano durante la fermentación. Se concluyó que existe una gran diversidad microbiana compuesta por bacterias, levaduras y hongos filamentosos en la fermentación húmeda del café australiano y que las levaduras y bacterias crecieron significativamente durante la fermentación utilizando azúcares del mucílago y produciendo manitol, glicerol y ácido láctico lo que lleva a una disminución significativa del pH.

Velmourougane (2012). Impacto de la fermentación natural en las características fisicoquímicas y microbiológicas de calidad de la taza de café arábica y robusta.

La investigación fue desarrollada por el Consejo Indio de Investigación Agrícola en Maharashtra, India. El objetivo de este estudio fue comprender la dinámica fisicoquímica y microbiana durante la fermentación del grano de café arábica y robusta. El método de fermentación se realizó en seco por triplicado con una temperatura externa de 17 y 26°C. Los recuentos bacterianos se realizaron en placa estándar y fueron incubadas por dos días. Por otra parte, los hongos fueron incubados por cinco días. Se obtuvo que el pH disminuyó en los dos tipos de granos de café (arábica y robusta) a medida que avanzaba la fermentación. El pH en arábica pasó de 5,43 a 4,71 y en robusta de 5,54 a 4,05; ambos

desde las 0 horas hasta las 98 horas transcurridas del tiempo de fermentación. Esta disminución se atribuye principalmente a la degradación de sustancias orgánicas complejas (mucílago) en azúcares más simples por la propia acción de los microbios que producen los componentes ácidos en la masa de fermentación. Se registró un aumento de la temperatura de la masa, en arábica de 24°C a 29°C y en robusta de 25.3°C a 25.8°C. En ambos granos, se mostró un incremento cuantitativo y cualitativo en la sucesión microbiana inicialmente y luego se estabilizó con una ligera disminución. La levadura era la microflora dominante, seguido de las bacterias. Los hongos, se encontraron en menor abundancia durante la fermentación inicial, y fueron aumentando constantemente a medida que la fermentación avanzaba. La abundancia de levaduras se debe principalmente a la disponibilidad de mucilagos azucarados con óptimas condiciones. A su vez se encontraron diferencias significativas ($p=0.01$) en las calidades de la taza de café arábica y robusta con relación a la duración de la fermentación. En el café arábica se obtuvieron buenas características de taza después de 20 horas de fermentación. La disminución en la calificación de sabor se atribuyó al aumento de la población de hongos en la masa de fermentación. Se concluyó que la fermentación natural es uno de los requisitos previos para la producción de café pergamino de calidad a nivel de la finca, además de que el café arábica puede fermentarse en 20 horas y el café robusta 96 horas, requiriendo el café robusta más tiempo.

Mejia et al. (2016). Fermentación de café por vía semi húmeda para la obtención de café especial “Honey”.

Este estudio fue realizado por la facultad de Ingenierías en la Universidad de Gran Colombia en Armenia, Colombia. El objetivo de esta investigación fue evaluar la fermentación de café por vía semihúmeda para la producción de café especial “Honey”. El café “honey” o semi-lavado es producto de una fermentación en donde el fruto es despulpado pero no se le remueve el mucílago mediante fermentación o mecánicamente como se realiza tradicionalmente en Colombia, sino que se deja el mucílago en el grano y se seca con el fin de reducir el contenido de humedad del café pergamino entre el 10-12% (Mejia et al., 2016).

Para lograr el objetivo, se tomaron dos muestras de café de diferentes fincas, secándose a temperaturas de 30°C para la primera muestra y 45°C para la segunda. De estas muestras se evaluaron características fisicoquímicas y fueron aisladas e incubadas bacterias ácido lácticas y mesófilas a 37°C, y hongos y levaduras a 29°C. Se observó en las pruebas fisicoquímicas el descenso de los grados Brix; en la primera muestra del 11% al 9% y en la segunda muestra del 9% al 6%. La disminución de los grados Brix se atribuye a que los azúcares reductores aumentaron debido a una posible degradación de disacáridos a monosacáridos, haciendo que disminuyeran los grados Brix. En el caso del pH, para la primera muestra fue de 4,8 a 3,5 y para la segunda muestra de 5,47 a 3,7. Por otra parte, en la segunda muestra tuvo presencia de mesófilos y bacterias ácido lácticas en el tiempo 0, a medida que el secado avanzó no aumentó la población; además de que no se presentó crecimiento de levaduras ni de mohos por el descenso en la humedad y el

aumento en la temperatura. Se concluyó que el pH de las muestras bajó por la acción de las enzimas presentes en el mucílago (pectolíticas) y en el caso de la primera muestra por la acción de bacterias ácido lácticas presentes en el proceso de secado. Adicionalmente se encontró un café tipo “honey” que le da un valor agregado para el renglón de la economía nacional.

Feng et al. (2016). Métodos de investigación con métodos dependientes e independientes del cultivo de microorganismos predominantes asociados con el procesamiento en húmedo del café.

La investigación se desarrolló por la facultad de ciencia y tecnología de los alimentos en la Universidad agrícola de Yunnan en Yunnan, China. El propósito de este estudio fue aislar e identificar los microorganismos, utilizando el método y la tecnología PCR-DGGE para estudiar la ecología microbiana en el método húmedo de procesamiento del café en la provincia de Yunnan, China. Durante todo el proceso se cultivaron y aislaron 309 bacterias, 29 especies de levaduras y 50 colonias pertenecientes a hongos filamentosos. En los análisis de la temperatura y el pH se obtuvo que en la parte superior, media e inferior del tanque estaban en una tendencia ligeramente creciente con rangos de 15-19 °C, 16-23 °C y 16-23°C, respectivamente. La temperatura tuvo un ligero aumento durante toda la fermentación, ese fenómeno puede ser causado por la presencia de microorganismos aeróbicos que generan calor en el metabolismo microbiano. Comparado con la parte superior del tanque, que estuvo expuesto directamente al aire, y el fondo del tanque que no se pudo difundir a tiempo, lo que registra una temperatura más alta. El pH durante todo el proceso fue fluctuante con una tendencia de 4,1-5,3. El ambiente ácido del proceso de fermentación es causado por el metabolismo microbiano, que produce pectinasa para degradar pectina a ácidos orgánicos. Una gran cantidad de ácidos fue producida por levaduras y bacterias formadoras de ácido. La alteración del pH facilita la degradación del mucílago del café al hinchar y desprender la capa de polisacáridos presentes en el mucílago. Se concluye que los microorganismos dominantes identificados en este estudio son similares a los otros estudios realizados, proporcionando información importante para complementar estudios en otras regiones con el mecanismo de las cepas dominantes y sus efectos sobre la calidad del café.

Huch & Franz (2015). Café: Fermentación y microbiota.

Es importante tener en cuenta que uno de los factores que inciden en la fermentación es el tiempo, debido que un tiempo largo de fermentación va a favorecer el crecimiento de microorganismos de descomposición y hongos productores de micotoxinas debido a las condiciones ambientales inadecuadas como, por ejemplo, poca luminosidad solar o alta humedad en el entorno. Uno de los cambios más importantes en el proceso fermentativo es la descomposición de la pectina por el microbiota. El cambio más importante durante la fermentación del café es la descomposición de la pectina por el microbiota y la producción contaminante de ácidos orgánicos.

Se han realizado muchos estudios ocupados de la microbiología en la fermentación del café en los cuales no se han utilizado métodos biológicos avanzados para una determinación exacta y su vez una específica caracterización de los microorganismos presentes en la fermentación. De igual forma, cabe aclarar que los estudios realizados dependen del tipo de café y las diferentes partes del mundo donde fueron realizados, ya que las condiciones climáticas de cada país varían. Se espera que en los futuros estudios realizados se pueda conocer exactamente la composición de la microbiota presente y los tipos de fermentación, de manera que se pueda mejorar la calidad del café y ayudar en el control de la producción del café conociendo los parámetros específicos.

Nasanit & Satyawut (2015). Estudio microbiológico durante la fermentación del café de *Coffea arabica* var. *chiangmai 80* en Tailandia.

La presente investigación se llevó a cabo por el departamento de biotecnología de la universidad de Silpakorn en Nakhon Pathom, Tailandia. Este estudio tuvo por objetivo determinar las comunidades microbianas de *Coffea arabica* var. *Chiangmai* por durante 80 horas de fermentación utilizando el método el húmedo. Los granos de café despulpados se recogieron cada 12 horas durante las 48 horas de fermentación, recogiendo tres muestras en puntos diferentes, tomándose a su vez la temperatura de la masa en cada punto de recogida. Los microorganismos se enumeraron mediante recuento en placa. Se incubaron por triplicado las placas de hongos y levaduras a 28°C durante 5 días, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias y se expresó como la media del logaritmo decimal UFC gramo por de peso seco de cereza fermentada. Se obtuvo valores medios para el pH y la temperatura en los cuatro tanques de fermentaciones. El pH disminuyó gradualmente durante las 48 horas de fermentación con valores de 6,27 a 4,0, por otra parte, la temperatura en los tanques de fermentación varió ya que la temperatura atmosférica variaba entre el día y la noche. Se concluyó que las levaduras y hongos fueron mínimos en comparación a las bacterias durante la fermentación. Sin embargo, alcanzaron valores máximos en el tiempo final de fermentación, el cual son capaces de producir micotoxinas.

Ribeiro et al. (2018). Características microbiológicas y químico-sensoriales de tres variedades de café procesadas por fermentación en húmedo.

Este estudio fue desarrollado por el departamento de biología de la Universidad Federal de Lavras, en Lavras, Brasil. El objetivo de esta investigación fue evaluar la diversidad bacteriana durante la fermentación del café en tres variedades, Mundo Novo (MO), Ouro Amarelo (OA) y Catuaí Vermelho (CV). Se realizó fermentación por duplicado a las tres muestras de café en tanques de fermentación, homogenizándose por 4 horas, seguido de esto se secó al sol alcanzando un 11-12% de humedad. Las bacterias se enumeraron mediante conteo en placa y se incubaron de 30°C a 35°C durante 72 horas. La temperatura de la masa de fermentación era de 21 a 16°C y la temperatura ambiente de 28 a 15°C y el pH al final de la fermentación alcanzó valores de 4. Se determinó que la temperatura del tanque de fermentación aumentó siguiendo la temperatura ambiente. En el análisis de los compuestos volátiles se observó que los granos de café sumergidos en tanque de

fermentación adsorben los compuestos resultantes del metabolismo microbiano de la degradación del mucílago; Además, las intensidades de los aromas y compuestos químicos presentes en el café podrían verse afectadas debido a factores ambientales. Se concluyó que uno de los principales problemas relacionados con la fermentación en húmedo es el control del proceso y la determinación del punto final de fermentación. En el presente estudio, el tiempo de fermentación fue entre las 18 y las 23 h, lo que generalmente se recomienda para el procesamiento húmedo. Un factor decisivo para lograr la calidad del café en proceso húmedo es el tiempo de fermentación; por tanto, fermentaciones con más de 40 h no son deseables.

5- MARCO CONCEPTUAL

5.1- Café arábico: *Coffea arabica* L.

La especie *Coffea arabica* L. fue descrita por primera vez por Linnaeus en 1753 (Batista et al., 2016). Las variedades más conocidas son 'Typica' y 'Bourbon', pero a partir de estas se han desarrollado muchos cultivares diferentes, como 'Caturra' (Brasil y Colombia), 'Mundo Novo' (Brasil), 'Tico' (Centroamérica), el enano 'San Ramón' y la 'Montaña Azul de Jamaica' (Batista et al., 2016). La planta de cafeto arábico es un arbusto grande con hojas ovaladas de color verde oscuro. Es genéticamente diferente de otras especies de café, ya que tiene cuatro juegos de cromosomas en lugar de dos. Los frutos son ovalados y maduran en 7-9 meses y por lo general contienen dos semillas planas (los granos de café) (Batista et al., 2016). *C. arabica* L. se cultiva en toda Latinoamérica, en África Central y Oriental, en la India y un poco de Indonesia (ICO, 2019), y produce una bebida con un sabor aromático dulce típico (Batista, et al., 2016).

5.1.1- El fruto y su composición

El fruto del café (también llamada baya o cereza), externamente consiste en una piel dura llamada “pericarpio” o también conocida como cáscara, generalmente con frutos verdes, el pericarpio, cambia a color rojo violeta o rojo intenso cuando está maduro (incluso amarillo o naranja en genotipos particulares). El pericarpio cubre el mesocarpio externo o pulpa. A esto le sigue una traslúcida capa de mucílago caracterizada por ser incolora, fina, viscosa y muy hidratada (Esquivel & Jimenez, 2012). Es importante recordar que el mucílago se somete a fermentación para su remoción. Seguido de esto, existe un endocarpio caracterizado por tener una capa delgada y de color amarillo, a este se le conoce también como pergamino. Finalmente, está el tegumento, conocido también como “piel plateada”, el cual cubre cada hemisferio del grano de café conocida como endosperma (Belitz & Grosch, 2009; Berbet et al., 2001; Esquivel & Jimenez 2012). En la Figura 1 se observa la constitución de la cereza de café.

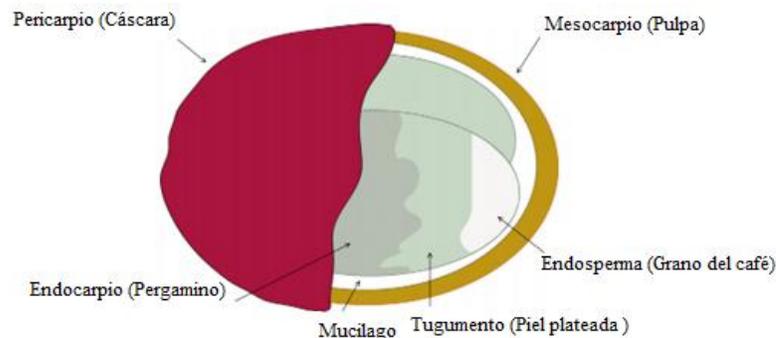


Figura 1. Estructura de la cereza de café.

Fuente: Esquivel & Jimenez (2012).

5.2- Procesamiento del café

El procesamiento (también llamado beneficio) es esencial para obtener café de calidad y requiere atención especial ya que influye en la calidad de la bebida (Siqueira & Patto, 2006). Los frutos del café deben procesarse para eliminar la cáscara, pulpa y mucílago con el fin de obtener los granos de café verde, que luego se secan y tuestan. El procesamiento se puede hacer utilizando tres métodos diferentes (seco, húmedo o semisecho) para obtener las semillas. La forma más fácil y antigua es el procesamiento en seco, que da como resultado el llamado café sin lavar o natural (Dolci et al., 2015). En el procesamiento húmedo, el cual es el aplicado en el presente proyecto, los granos de café se someten a un tanque de fermentación bajo el agua para que su mucílago sea desglosado y removido. Los azúcares presentes en el mucílago soportan microbios, especialmente levaduras y bacterias de ácido láctico (da Silva et al., 2019).

5.2.1- Método húmedo

El método húmedo es ampliamente utilizado en algunas regiones, incluyendo Colombia, América Central y Hawai (Vilela et al., 2010). En el método húmedo, que conduce a un café de mayor calidad, las bayas son fermentadas. Usando este método, las cerezas de café se clasifican vertiéndolas en agua, en donde las frutas inmaduras flotan y se retiran, mientras que las cerezas maduras se hunden hasta el fondo. Después de esto, las cerezas maduras son pasadas por un proceso mecánico de despulpado para eliminar el exocarpio, mientras que el mesocarpio se elimina por fermentación sumergida durante 12–36 h, seguido de lavado y secado durante 5–10 días, dependiendo sobre las condiciones climáticas (Batista et al., 2009; Dolci et al., 2015). En la Figura 2 se observa el procesamiento en húmedo del café.



Figura 2. Procesamiento en húmedo del café.

Fuente: Dolci et al. (2015).

Durante el procesamiento en húmedo, los frutos maduros del café experimentan una fermentación espontánea realizada por un complejo proceso microbiológico que implica las acciones de microorganismos como levaduras, bacterias y hongos filamentosos (Silva et al., 2008).

5.3- Fermentación de café

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación de sustancias orgánicas realizada por microorganismos para producir otros compuestos orgánicos y energía (Puerta, 2010). En la tecnología de la fermentación de café, se requiere realizar controles de la temperatura, la calidad del agua, la calidad y sanidad del café, y el tiempo del proceso (Puerta & Echeverry, 2015). Los microorganismos están presentes naturalmente durante el procesamiento del café y utilizan los diversos compuestos de la pulpa y el mucílago como nutrientes durante las etapas de fermentación. El metabolismo microbiano producido en este período ocasiona la producción de ácidos orgánicos y otros metabolitos que puede difundirse en los granos e influir en las características sensoriales finales de la bebida. Hay muchos factores que influyen en la bebida final, y la acción de los microorganismos es uno de ellos (Esquivel & Jimenez, 2012; Silva, 2014). De hecho, la diversidad microbiana en este proceso es alta y han sido identificadas ampliamente especies de bacterias, levaduras y hongos filamentosos (Silva et al., 2008).

Esta microbiota puede variar según varios factores: características regionales, la composición del fruto del café y el método de fermentación. Es importante conocer los microorganismos presentes durante el procesamiento del café, especialmente al seleccionar cultivos iniciadores que puedan utilizarse para producir productos finales diferenciados (Masoud & Jespersen, 2006; Massawe & Lifa, 2010; Silva et al., 2013).

5.3.1- Factores que influyen la fermentación de café

Durante la fermentación natural del café ocurren diferentes procesos bioquímicos, en los cuales las enzimas producidas por las levaduras y bacterias presentes en el mismo mucílago fermentan y degradan sus azúcares, lípidos, proteínas y ácidos, y los convierten en alcoholes, ácidos, ésteres y cetonas. Estas sustancias formadas cambian las características de olor, color, pH y composición del sustrato (el mucílago) y también de los granos de café (Puerta & Echeverry, 2015). En la Figura 3 se observa los procesos bioquímicos en la fermentación del café.

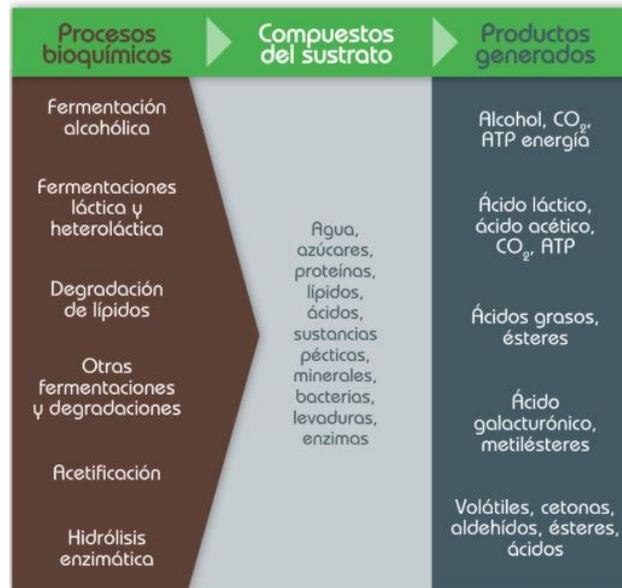


Figura 3. Procesos bioquímicos en la fermentación del café.

Fuente: Puerta & Echeverry (2015).

La velocidad y la clase de productos generados en la fermentación del café dependen de factores que afectan el metabolismo mismo de los microorganismos como la temperatura externa, el tipo de sistema de fermentación, el tiempo de proceso, la calidad del café en baba, la acidez del sustrato, la disponibilidad de oxígeno y la higiene (Puerta & Echeverry 2015). En la Figura 4 se observan los factores en la fermentación del café.



Figura 4. Factores en la fermentación del café.

Fuente: Puerta & Echeverry (2015).

5.4- Factores fisicoquímicos en la fermentación

5.4.1- Temperatura

Los microorganismos fermentadores del café son mesófilos. La mayoría de las levaduras crecen entre 5 y 39°C, con temperatura óptima de 28 a 35°C; algunas se desarrollan entre 3 y 10°C y todas mueren por encima de 50°C. Las bacterias lácticas crecen entre 25 y 30°C, pero pueden reproducirse a 0°C, mientras que las bacterias entéricas se desarrollan entre 22 y 37°C (Puerta, 2012)

Por su composición microbiana y química, el mucílago se fermenta en forma natural en las condiciones ambientales de las zonas cafeteras que presentan temperatura del aire entre la noche y el día de 12 a 34°C, según la altitud, con promedios en la temperatura mínima de 16,4°C, media de 20,7°C y máxima de 26,2°C (Puerta, 2012). Durante la fermentación del café se presentan variaciones de la temperatura de los granos debido a los procesos metabólicos de los microorganismos con la consecuente producción de energía, así que en algunos momentos la temperatura del sistema es mayor que la temperatura del aire externo (Puerta, 2012).

5.4.2- Grados Brix

Los grados Brix (°Bx) expresa el porcentaje de azúcares contenidos en los sólidos solubles presentes en una sustancia y se miden mediante un refractómetro. No obstante, en un producto, los sólidos solubles en agua no están conformados sólo de azúcares. En café, los sólidos solubles del mucílago contienen principalmente sacarosa, glucosa, fructosa, ácidos málico, láctico, acético, succínico, oxálico, fórmico, fosfórico, galacturónico, etanol y otros alcoholes, ésteres, polisacáridos, proteínas y cenizas. Los grados Brix del mucílago de café fresco son un indicador de la madurez del grano despulpado y su medición durante la fermentación permite hacer seguimiento y control del proceso (Puerta, 2012). Al analizar el comportamiento de diferentes variables durante la fermentación del café, López et al. (2015) observaron los sólidos solubles totales, obteniendo una tendencia descendente a medida que la transcurre la fermentación.

5.4.3- pH

El valor del pH se mide con un potenciómetro o pH- metro y mediante tiras de color que están impregnadas de reactivos indicadores especiales. El pH del café en baba fresco es ácido, con valores que dependen de la madurez, del tiempo entre la recolección y el despulpado, y de la manipulación de los frutos y granos en baba (Puerta, 2012).

Durante la fermentación del café, el pH del sustrato disminuye más rápido en las primeras 20 horas, por la formación y disociación de ácidos, principalmente el ácido láctico que se genera en las fermentaciones lácticas, el ácido acético que se produce en las heterolácticas y en la acetificación del alcohol, por el ácido málico presente en los granos

de café y otros ácidos generados en el metabolismo celular como el cítrico, oxálico, fórmico, fosfórico y succínico; también por el ácido propiónico cuando se fermenta el ácido láctico y por el butírico de la fermentación butírica. Es más fuerte el efecto en el pH del ácido láctico que del ácido acético (Puerta, 2012).

En la fermentación del café, el pH del mucílago disminuye hasta un valor que depende del sistema y de la temperatura de fermentación. Posteriormente, el pH del mucílago de café fermentado aumenta debido a la fermentación del ácido láctico, a la eliminación del dióxido de carbono, a la producción de otros ácidos más débiles, a sales y sustancias básicas que se disuelven y por otras degradaciones (Puerta, 2012).

5.4.4- Tiempo

En las fermentaciones controladas del café, a medida que pasa el tiempo de fermentación, dentro de un rango límite, se favorece que los granos de café inmersos en el sustrato sólido o sumergido adsorban los compuestos resultantes de la fermentación del mucílago. De esta manera, según el tiempo, la temperatura y el sistema de fermentación se modifican las características, intensidades y frecuencias de los sabores especiales y de los compuestos químicos y volátiles presentes en el café. (Puerta & Echeverry, 2015).

5.5- Microbiología de la fermentación del café

La microbiota presente durante la fermentación de los granos de café depende de la humedad de la planta y del grano, el método de procesamiento, la competencia de los sustratos, la capacidad enzimática de las especies colonizadoras, su actividad antimicrobiana y factores ambientales (por ejemplo, humedad, temperatura y microbiota del suelo) (Batista et al., 2009; Silva et al., 2008; Vilela et al., 2010). El cambio más importante durante la fermentación del café es la descomposición de la pectina por la microbiota y la concomitante producción de ácidos orgánicos. Un tiempo de fermentación demasiado largo debido a circunstancias ambientales inadecuadas, por ejemplo, falta de sol o alta humedad, puede favorecer mayormente el crecimiento de microorganismos de descomposición y hongos productores de micotoxinas (Silva et al., 2000).

El recuento y la clase de microorganismos presentes en un momento dado de la fermentación del café dependen de la población inicial en los frutos y granos despulpados, de las condiciones ambientales como la temperatura, los gases como el CO₂, la actividad del agua, el pH, el potencial redox, la higiene, del tiempo transcurrido y del sistema y la dilución del sustrato (Puerta, 2012).

Generalmente, la microbiota de fermentación está representada por una sucesión de bacterias, levaduras y hongos filamentosos (Silva et al., 2008). El papel de los microorganismos en los defectos de la taza de café es un tema de debate. Los defectos más graves son "El sabor fermentado", "amargo" y "apestosos", que a menudo se atribuyen a problemas durante la fermentación (Franca et al., 2005).

5.5.1-Hongos y levaduras

Los hongos son organismos eucariotas microscópicos, poseen su propio núcleo, una membrana nuclear, un retículo endoplásmico mitocondrias y un aparato secretor. Muchos hongos son aerobios obligados o facultativos. Se caracterizan por ser distintos de las plantas y los animales y se reproducen sexual y asexualmente. Los hongos, son heterótrofos, es decir, dependen por completo de otros organismos para que les proporcionen alimentos, ya que no pueden fabricar su propia fuente de carbono orgánico mediante la fotosíntesis (Plummer, 2003). Los hongos están altamente adaptados para degradar una amplia variedad de compuestos complejos, incluidos muchos productos vegetales que los animales no pueden digerir. Por esta razón, los hongos son actores cruciales en el ciclo de nutrientes. La mayoría de los hongos viven de materia orgánica muerta y se conocen como saprobios. Algunos hongos no son exclusivamente sapróbicos y pueden atacar a las plantas vivas (Plummer, 2003).

Las levaduras son microhongos unicelulares eucariotas que se encuentran ampliamente distribuidos en el medio natural (Walker, 2009). Se reproducen asexualmente por gemación o fisión y sexualmente por formación de esporas (Joseph & Bachhawat, 2014). Se conocen alrededor de 1000 especies de levaduras, pero esto representa solo una fracción de la biodiversidad de levadura en la Tierra. Las actividades fermentativas de las levaduras han sido explotadas por los seres humanos durante milenios en la producción de cerveza, vino y pan (Walker, 2009).

5.6- Controles y buenas prácticas para el desarrollo de las fermentaciones controladas de café

5.6.1- Temperatura

La temperatura en la fermentación de café se puede controlar y mantener constante con equipos de acondicionamiento y refrigeración del aire circundante; también pueden usarse fermentadores con chaquetas y medios aislantes y refrigerantes. En las fincas ubicadas en zonas cafeteras altas se dispone naturalmente de temperaturas bajas para las fermentaciones controladas, no obstante, debido a la menor radiación solar es necesario que se disponga de secadores mecánicos para el secado adecuado del café (Puerta, 2012).

5.6.2- Tiempo

Para lograr una buena calidad del café procesado por fermentación en húmedo a temperaturas entre 20 y 23°C se recomienda fijar un tiempo entre 18 y 30 h y para temperaturas de 13 a 17°C se puede fermentar hasta 42 h (Puerta, 2012).

5.7- Cafés especiales

Los cafés especiales son aquellos que superan un puntaje mayor de ochenta puntos al llevarse a cabo el protocolo de catación de la Asociación de Cafés Especiales, el cual se mide mediante estándares establecidos por diferentes pautas que garantizan la capacidad de evaluar con mayor precisión la calidad del café. En este protocolo, se evalúan atributos como el aroma del café, el sabor, el gusto, la acidez, la calidad del cuerpo del café, el balance, la dulzura, la transparencia en la taza del café, la uniformidad, el aspecto y los sabores negativos que restan valor a la calidad del café, es decir, los defectos (SCAA, 2015).

Los cafés especiales son cafés diferenciados por características de origen, preparación o sostenibilidad en su producción (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2020). Son aquellos que conservan una consistencia en sus características físicas (forma, tamaño, humedad, apariencia y defectos), sensoriales (olfativas, visuales y gustativas), prácticas culturales (recolección, lavado, secado) y en sus procesos finales (tostión, molienda y preparación); características que los distinguen del común de los cafés y por las cuales los clientes están dispuestos a pagar un precio superior (Valencia, 2007). El café especial puede existir de manera constante gracias a la dedicación que las personas han hecho en su vida por brindar una máxima calidad en el café; la especialidad ocurre cuando todos los involucrados en la cadena de valor del café trabajan en armonía y mantienen un gran enfoque en los estándares de experiencia de principio a fin (Speciality Coffee Association, 2020).

6- MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos propuestos en la presente investigación, se trabajó bajo diferentes procedimientos para determinar y cuantificar las características fisicoquímicas (pH, temperatura y grados Brix) y las poblaciones microbianas (levaduras y hongos) presentes en el proceso fermentativo y a su vez determinar la correlación entre ellos.

6.1- Zona de estudio

La investigación se realizó en la planta de beneficio de café llamada “La María” de la finca “Barlovento” ubicada en la vereda la Tagua, corregimiento de Minca, Municipio Santa Marta en el departamento del Magdalena; estribación de la Sierra Nevada de Santa Marta (Figura 5).

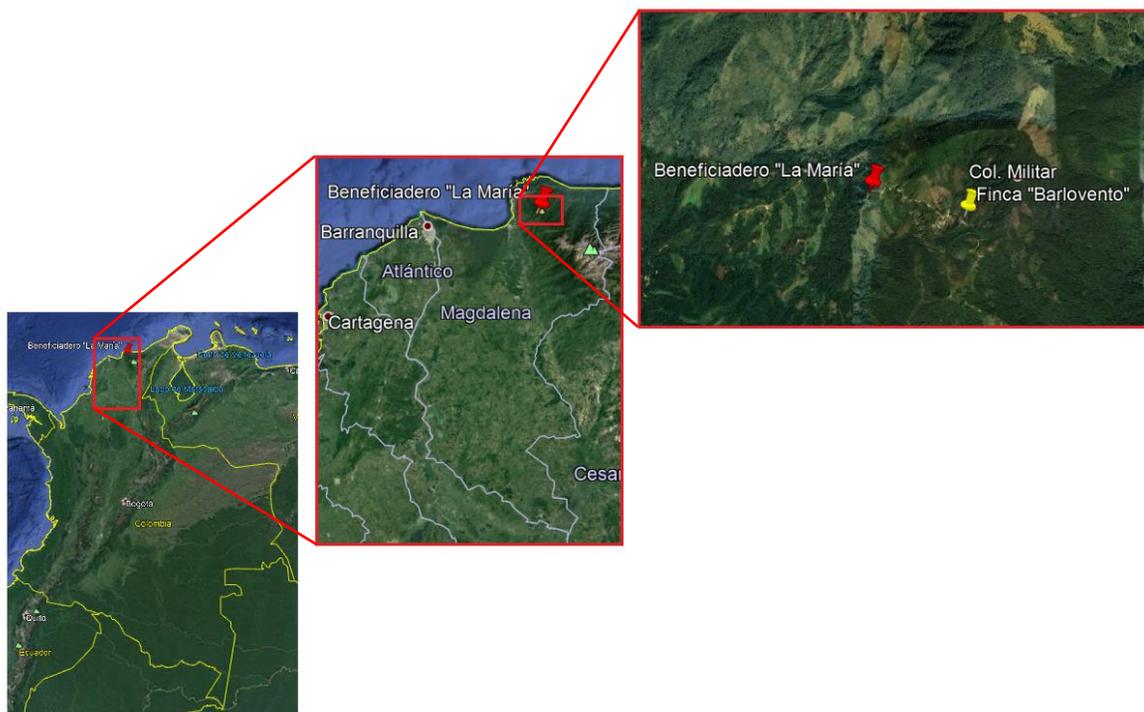


Figura 5. Ubicación de la zona de estudio.

La Finca “Barlovento” cuenta con un cultivo de café (*Coffea arabica* L.) distribuido en 4 hectáreas a una altura entre 1583 y 1759 msnm. El fruto ya maduro es recolectado manualmente por trabajadores de la finca y son empacados en sacos de yute que son cargados en mulas para transportarse a la planta de beneficio “La María” ubicada a unos pocos kilómetros.

La planta de beneficio que recibe los sacos se llama “La María” y está ubicada a 1618 msnm. En dicho lugar se realiza la clasificación y selección del fruto, el despulpado, la fermentación por método húmedo durante 36 horas y el secado.

6.2- Recolección de muestras

Durante el proceso de fermentación, se tomaron por duplicado muestras de 50 g de café fermentado a las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas, y fueron almacenadas en tubos cónicos de polipropileno estériles. Dichas muestras fueron almacenadas en hielo seco durante el transporte hasta su lugar de almacenamiento a -20°C en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad del Magdalena para la realización de los respectivos análisis microbiológicos.

6.3- Medición de los parámetros fisicoquímicos

Se midieron *In Situ* los parámetros fisicoquímicos por triplicado. El pH y la temperatura fueron determinados con ayuda de un potenciómetro multiparámetro edge (HI-2020), y los grados Brix con un refractómetro Abbe de mesa (0 – 95 Brix $^{\circ}$) al momento de tomar las muestras de café en fermentación a las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas. Los resultados obtenidos se registraron en una base de datos. A la vez, se tuvieron en cuenta las condiciones de temperatura y humedad del ambiente.

6.4- Aislamiento y recuento de microorganismos

Se realizó el aislamiento de hongos y levaduras por duplicado tomando como base los procedimientos consignados por Luna (2012, 2020).

Se tomaron 10 g de cada una de las muestras y se homogeneizaron en 90 ml de agua peptonada al 0,1% en su respectivo Erlenmeyer, que correspondía a la dilución 10^{-1} . Seguido de esto, se procedió a realizar diluciones seriadas en tubos falcon de 15 ml que contenían 9 ml de agua peptonada cada uno. Inicialmente se tomó 1 ml de la dilución 10^{-1} que se adicionaron a un tubo falcon que correspondía a la dilución 10^{-2} , de esta dilución se tomó 1 ml que se agregó a un nuevo tubo para una dilución 10^{-3} y así sucesivamente llegando hasta a la última dilución que corresponde a 10^{-5} . Cabe agregar que se mezclaron minuciosamente las soluciones antes de comenzar cualquier dilución.

Seguido de esto se procedió a preparar los medios de cultivo en frascos Erlenmeyer de 200 ml siguiendo las recomendaciones de los fabricantes; para los hongos se utilizó el agar sabouraud y para las levaduras el agar extracto de levadura. Una vez preparados, los medios fueron esterilizados en un autoclave a 15 libras de presión (121°C) por un tiempo de 15 minutos y se dejaron reposar hasta alcanzar una temperatura aproximada de 45°C .

Para el aislamiento de los microorganismos se utilizó el método de siembra en profundidad; se tomó 1 ml de cada dilución que fueron depositados en cajas Petri estériles previamente

rotuladas y se agregó 15 ml de agar fundido mantenido a 45°C. Luego, se homogeneizaron los medios rotando las cajas con suavidad en el sentido de las manecillas del reloj y en sentido contrario. Finalmente, al solidificarse los medios, se llevaron a la incubadora a una temperatura de 27°C durante 5 días.

Después de pasado los días de incubación, se realizó el correspondiente recuento total de las poblaciones de hongos y levaduras, donde se seleccionaron las cajas que contenían entre 30 y 300 colonias. Una vez contadas las colonias, se sacó el promedio de los duplicados y se multiplicó por el factor de dilución correspondiente obteniendo las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) sobre gramo de muestra (UFC/g). Estos resultados fueron expresados como log UFC/g para una mayor comprensión.

6.5- Análisis estadístico

Inicialmente, a cada una de las características fisicoquímicas se les realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar si las diferentes horas muestran diferencias estadísticas significativas en la característica a evaluar. A su vez, se efectuó la prueba de Fisher para establecer si los resultados de las distintas horas de muestreo son significativamente diferentes entre ellas.

Además de esto, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las medias de las características fisicoquímicas (pH, temperatura y grados Brix) y las características microbiológicas (levaduras y hongos).

7- RESULTADOS

7.1- Análisis fisicoquímico

En la Tabla 1 se muestran los valores promedios obtenidos con su respectiva desviación estándar de las características fisicoquímicas en los diferentes tiempos de fermentación. El conjunto de datos consignados en la Tabla 1 presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 1. Características fisicoquímicas durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

Fermentación Tiempo (h)	CARACTERISTICAS FISICOQUÍMICAS		
	pH	Temperatura (°C)	Grados Brix (°Bx)
0	5,37 ± 0,16 D	22,50 ± 0,26 D	6,53 ± 0,12 C
6	5,17 ± 0,12 D	19,47 ± 0,12 B	6,40 ± 0,17 C
12	4,75 ± 0,14 C	19,13 ± 0,60 B	5,00 ± 0,00 B
18	4,31 ± 0,11 B	20,87 ± 0,25 C	4,93 ± 0,06 B
24	4,10 ± 0,11 AB	22,57 ± 0,31 D	4,27 ± 0,65 A
30	4,07 ± 0,12 A	19,27 ± 0,40 B	4,30 ± 0,00 A
36	3,96 ± 0,09 A	17,30 ± 0,26 A	4,30 ± 0,00 A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) según el test LSD fisher de Infostat.

El pH inicial fue de 5,37 el cual disminuyó a 4,75 después de 12 horas de fermentación. Las muestras en el tiempo de fermentación de 0 a 6 horas no son significativamente diferentes, sin embargo, en la hora 12 se observa una disminución en el pH por lo que es significativamente diferente a comparación de las primeras horas de fermentación (Tabla 1). En el tiempo de fermentación de las 24, 18 y 24 horas se observa una similitud en el comportamiento del pH y ya finalizado el proceso de fermentación a las 36 horas disminuyó significativamente a 3,96.

Se observa que la temperatura fue de 22,50 y finalizado el proceso registró valores de 17,30. Con relación a los grados Brix (°Bx), inicialmente fue de 6,53 y en las últimas horas del proceso de fermentación se registraron valores de 4,30.

Se evidencia que el pH y los grados Brix disminuyen en función del tiempo desde las 0 horas hasta las 36 horas de fermentación, mostrándose una tendencia decreciente en ambas variables (Figura 6).

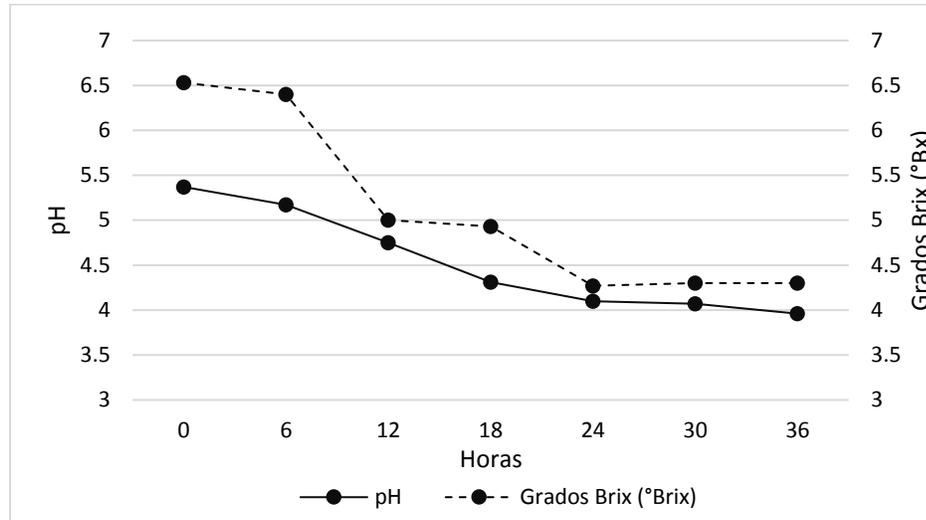


Figura 6. Comportamiento del pH y Grados Brix durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

Tabla 2. Valores promedio de temperatura de la masa de fermentación, temperatura y humedad del ambiente durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

Fermentación Tiempo (h)	VALORES PROMEDIO		
	Temperatura Masa (°C)	Temperatura Ambiente (°C)	Humedad (%)
0	22,50	17,0	81,00
6	19,47	15,0	83,00
12	19,13	14,0	79,00
18	20,87	19,0	72,00
24	22,57	19,0	69,00
30	19,27	16,0	87,00
36	17,30	14,0	84,00

Es evidente de la Tabla 2 que la temperatura de la masa y la temperatura ambiente fue fluctuante en todo el proceso de fermentación hasta finalizar a las 36 horas. Por otro lado, la humedad mostró valores altos en todo el proceso de fermentativo (Figura 7).

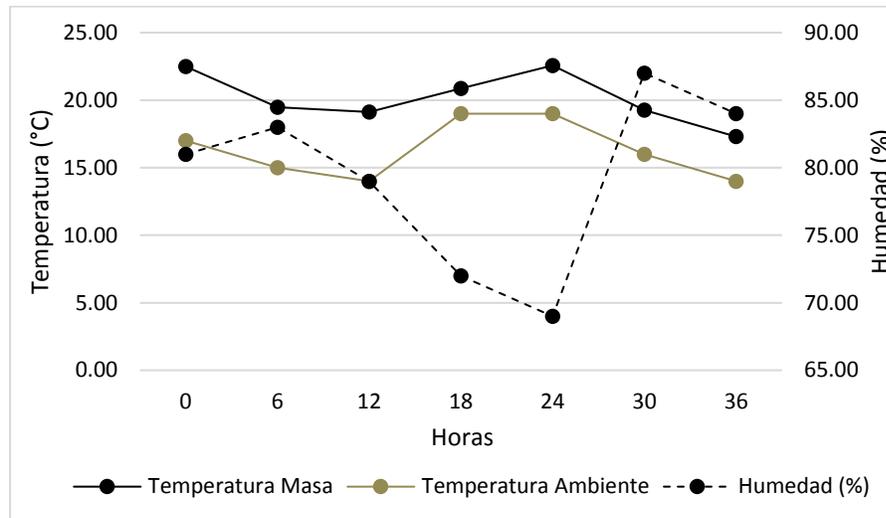


Figura 7. Comportamiento de la temperatura y humedad durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

Se puede apreciar en la Figura 7 que en las 36 horas del proceso de fermentación la humedad se mantuvo fluctuante, situándose entre 81-84% la mayoría del tiempo fermentativo. Por otra parte, la temperatura registró un comportamiento variable con relación a las condiciones climáticas, es decir que, con temperaturas de ambiente bajas, la temperatura de la masa fermentativa también disminuía.

7.2- Análisis microbiológico

En la Tabla 3. Valores promedios de la población de hongos y levaduras durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta. se muestran los valores promedios de las características microbiológicas en los diferentes tiempos de fermentación.

Tabla 3. Valores promedios de la población de hongos y levaduras durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

Fermentación Tiempo (h)	VALORES PROMEDIOS (Log UFC/g)	
	Hongos	Levaduras
0	5,11	4,76
6	6,38	5,91
12	6,19	5,91
18	6,92	6,01
24	5,18	5,32
30	4,95	4,51
36	5,25	4,72

Se puede observar que hubo variaciones de la microflora en todo el proceso de fermentación notándose una población alta en las 6, 12 y 18 horas del proceso, pero después de las 24 horas de fermentación ambas poblaciones microbianas empiezan a disminuir proporcionalmente hasta finalizar el proceso (**Tabla 3**). Adicional a esto, la población de hongos fue un poco más alta que la población de levaduras, pero las diferencias no son muy significativas entre ambas Figura 8.

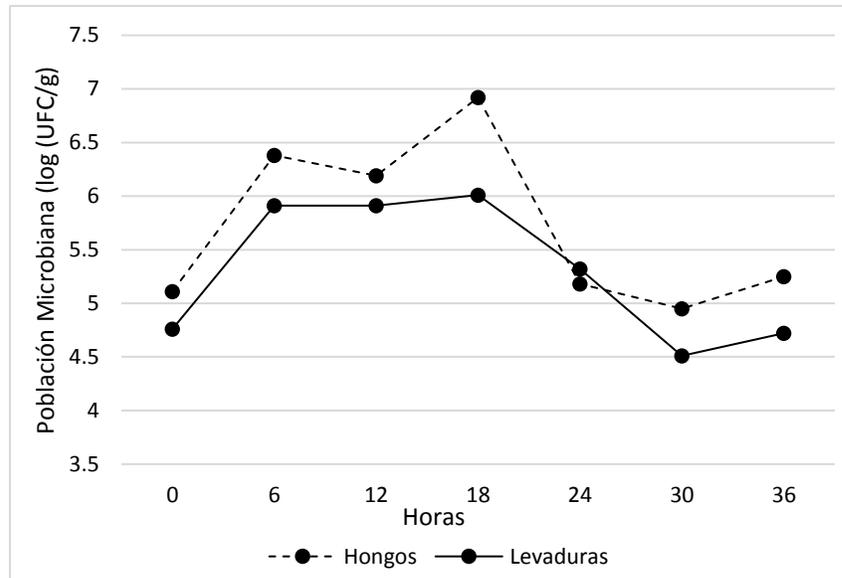


Figura 8. Comportamiento de la población microbiana durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

Se observa que al inicio del proceso de fermentación la población de hongos y levaduras no son significativamente diferentes y presentan variaciones durante todo el proceso. A las 6, 12 y 18 horas, el crecimiento de hongos y levaduras aumentó significativamente. Sin embargo, a las 24, 30 y 36 horas de fermentación, la población microbiana de hongos y levaduras disminuyó. La población de hongos y levaduras tenían concentraciones parecidas en los diferentes tiempos de fermentación, las diferencias de cada una no son muy significativas entre sí.

7.3- Relación características fisicoquímicas y microbiológicas

En la Figura 9 se evidencia la correlación entre las características fisicoquímicas y microbiológicas de la masa de fermentación, así como también de las variables ambientales durante el muestreo. Las correlaciones se pueden visualizar de manera gráfica en la **Figura 10**.

	pH	T.M	Bx	Hongos	Levaduras	T.A	H.A
pH	1.0000000	0.32663235	0.96920606	0.22974392	0.27292242	-0.14497408	0.1588715
T.M	0.3266323	1.00000000	0.30323550	-0.08815510	0.08055024	0.81573221	-0.6410560
Bx	0.9692061	0.30323550	1.00000000	0.25941597	0.24234009	-0.08593976	0.1857392
Hongos	0.2297439	-0.08815510	0.25941597	1.00000000	0.91699298	0.07344667	-0.3321072
Levaduras	0.2729224	0.08055024	0.24234009	0.91699298	1.00000000	0.11695275	-0.5140166
T.A	-0.1449741	0.81573221	-0.08593976	0.07344667	0.11695275	1.00000000	-0.7565402
H.A	0.1588715	-0.64105601	0.18573918	-0.33210719	-0.51401662	-0.75654019	1.0000000

Figura 9. Correlación entre las variables fisicoquímicas y microbiológicas de la masa y las variables ambientales durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

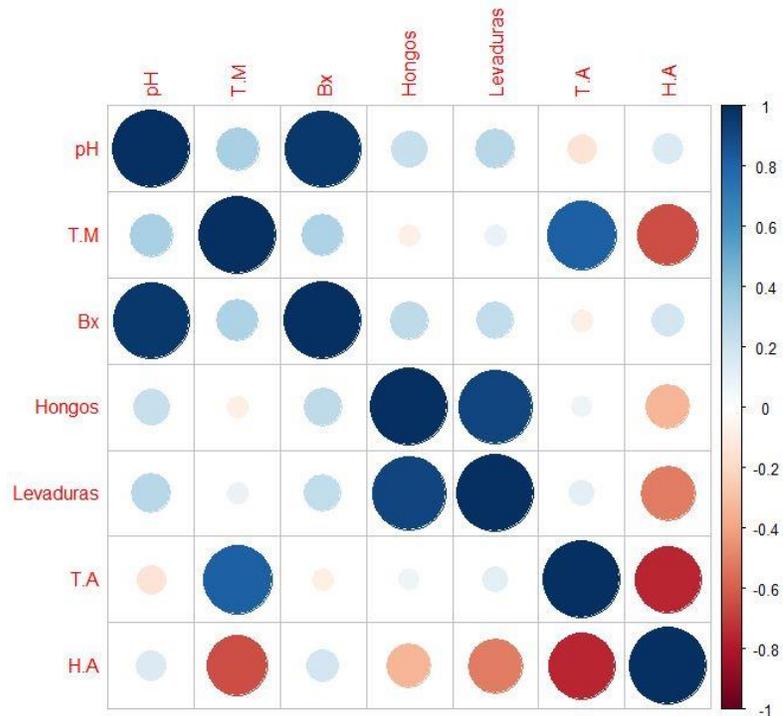


Figura 10. Correlación entre las variables fisicoquímicas, microbiológicas de la masa y las variables ambientales durante el proceso de fermentación de café en finca de la Sierra Nevada de Santa Marta.

En el gráfico se pueden observar las diferentes variables fisicoquímicas (pH, grados Brix ($^{\circ}$ Bx) y temperatura) de la masa de fermentación, la temperatura y humedad ambiental durante el muestreo y las variables microbiológicas (levaduras y hongos). Siendo así, T.A (Temperatura Ambiente), H.A (Humedad del ambiente), T.M (Temperatura de la muestra) y Bx (Grados Brix).

Se observa una alta dependencia con relación directa entre el pH y los grados Brix ($r=0,97$). En las poblaciones de hongos y levaduras se observa de igual forma una correlación

positiva ($r = 0,92$). Entre la temperatura ambiente y la temperatura de la masa también existe una correlación significativa con valores de R cercanos a uno ($r = 0,82$).

La humedad y la temperatura ambiente evidencian una correlación negativa con valores próximos a -1 ($r = -0,76$). De igual forma, entre la humedad del ambiente y la temperatura de la muestra se observa una correlación negativa ($r = -0,64$).

Además, se observa una ligera dependencia de correlación negativa entre las levaduras y la humedad del ambiente con un $r = -0,51$.

8-DISCUSSION

8.1- Análisis fisicoquímico

El valor del pH en el proceso de fermentación registró inicialmente un valor promedio de 5,37 unidades, esto se da porque el pH del café en baba fresco es ácido y a su vez son valores representativos en sistemas sumergidos que oscilan en valores de 5,3 a 5,5 (Puerta, 2010). Se evidenció que a medida que transcurría el tiempo en el proceso fermentativo, los valores del pH disminuyen. Autores como Puerta (2012) afirman que este comportamiento se da principalmente porque los microorganismos usan el mucílago del café como sustrato y empiezan a degradar los azúcares, lípidos y proteínas presentes produciendo otros compuestos como ácidos orgánicos, alcoholes, ésteres, cetonas y otros metabolitos. Disminuciones en el pH a través del tiempo de fermentación han sido también reportados en investigaciones realizadas por López et al. (2015) donde observaron que el comportamiento del pH durante la fermentación disminuyó en las 20 primeras horas de fermentación por la formación y disociación de ácidos y en el estudio llevado a cabo por Hosam et al. (2020) en el cual encontraron que la disminución del pH se debía a la producción de ácido láctico producido por bacterias y levaduras, lo que generó la disminución del pH en la masa de fermentación, además de otros ácidos orgánicos como lo son los ácidos cítrico y málico que se encontraron en menor proporción.

Los cambios fluctuantes de la temperatura de la masa de fermentación durante el proceso se vieron condicionada por la temperatura ambiente, por lo que son proporcionales ambas variables en cuánto una aumenta, la otra aumenta. En la investigación realizada por Nasanit & Satayawut (2015) encontraron que la temperatura varió en los tanques de fermentación ya que la temperatura atmosférica variaba entre el día y la noche y esta incidía en la temperatura de la masa directamente.

En los grados Brix (°Bx) hubo una disminución a través del tiempo hasta las 36 horas del proceso de fermentación a causa de la reducción de ciertas azúcares, esto debido a que los microorganismos utilizan azúcares en su metabolismo y a su vez los degradan (Esquivel & Jimenez, 2012; Silva et al., 2014). En la investigación realizada por Mejia et al. (2016) determinaron la disminución de los grados Brix se atribuye a que los azúcares reductores aumentaron debido a una posible degradación de disacáridos a monosacáridos, haciendo que estos disminuyeran. Otros autores como López et al. (2015) afirman que hubo una disminución en los grados Brix, ya que es característico de los sistemas de fermentación, mostrando un decrecimiento exponencial y lentos al disminuir la temperatura externa. La diferencia en la concentración de azúcares, especialmente los azúcares reductores dentro de los frijoles, podría tener un impacto significativo en el desarrollo del color, aroma y sabor del café después tostado (Fischer et al., 2001; Hosam et al., 2020; Knopp et al., 2006).

8.2- Análisis microbiológico

Al comienzo del proceso de fermentación las levaduras y hongos representaban valores parecidos con una población de 5,11 y 4,76 log UFC/g, respectivamente. Entre las 6, 12 y 18 horas se observó un incremento significativo en la microflora de hongos de 6,38, 6,19, 6,92 log UFC/g, a su vez hubo un aumento de igual forma para las levaduras de 5,91, 5,91 y 6,01 log UFC/g, respectivamente. Después de las 24, 30 y 36 horas transcurridas del proceso de fermentación, se observa un descenso en la microflora de hongos de 5,18, 4,95 y 5,25 log UFC/g, y para las levaduras de igual forma se registra una disminución de 5,32, 4,51 y 4,72 log UFC/g.

En un estudio realizado por Avallone et al. (2002) indicaron que la microflora permaneció constante en las primeras horas a causa de las bajas temperaturas externas que imposibilitaron la adaptación de microorganismos en su metabolismo. Luego de cierto tiempo, la población de microorganismos aumentó a causa del bajo pH, esto debido a su mayor resistencia a las condiciones ácidas. Por otra parte, en una investigación realizada por de Carvalho et al. (2017), el crecimiento de microorganismos se favoreció por la capacidad de células de la levadura para metabolizar azúcares de la pulpa de café, así como para adaptarse a las condiciones del ambiente y las condiciones de estrés que prevalecen en la fermentación del café. Así, cuándo la célula se ha adaptado al nuevo entorno y comienza la fermentación, otros factores estresantes se vuelven relevantes a medida que se acumulan ácidos orgánicos y alcoholes, la temperatura cambia y el ambiente se acidifica (Avallone et al., 2002; de Melo et al., 2014).

8.3- Relación características fisicoquímicas y microbiológicas

El pH y los grados Brix (°Bx) mostraron una correlación positiva con un $r = 0,96$, es decir que, si los grados Brix aumentan, el pH proporcionalmente aumenta y en caso contrario, si el pH disminuye, los grados Brix de igual forma disminuyen. Esto se da debido al consumo regular de azúcares por parte de los microorganismos en el mucílago del café y formación de ácidos orgánicos (Puerta & Echeverry, 2015; Silva et al., 2000). A medida que los microorganismos descomponen el azúcar, se produce una formación de ácidos, por ende, el pH va a tender acidificarse. En un estudio realizado por el investigador Velmourougane (2012) encontró que la disminución del pH se atribuye principalmente a la degradación de sustancias orgánicas complejas (mucílago) en azúcares más simples por la propia acción de los microbios que producen los componentes ácidos en la masa de fermentación.

Por otra parte, la temperatura ambiente y la temperatura de la masa de fermentación mostraron de igual forma, una correlación positiva con un $r = 0,82$, siendo estas dos variables proporcionales entre sí. Esto se explicaría con que la temperatura externa (temperatura ambiente) determina la temperatura de la masa de fermentación. En una investigación realizada por Ribeiro et al. (2018) encontraron que la temperatura del tanque de fermentación aumentó proporcionalmente aumentaba la temperatura ambiente. Sin

embargo, en otra investigación realizada por Feng et al. (2016) concluyeron que la temperatura tuvo un ligero aumento durante la fermentación, pudiendo ser causado por la presencia de microorganismos aeróbicos que generan calor en el metabolismo microbiano. Además de esto, la temperatura ambiente también tuvo incidencia en la masa de fermentación ya que se encontraba expuesta en la parte superior a temperatura atmosférica y registró valores bajos de temperatura. Por lo que no solamente la temperatura ambiente va a condicionar la temperatura de la masa de fermentación sino que también la población microbiana puede incidir directamente durante el proceso fermentativo por la generación de calor en su metabolismo.

En los hongos y levaduras se observó, una correlación positiva con un $r = 0,92$. Esta relación directa entre las dos poblaciones obedece a que las levaduras son microhongos y por ello, el aumento o disminución es proporcional de ambas partes, como se pudo observar en el proceso de fermentación cuándo inicialmente ambas se encontraban en valores de crecimiento parecido, y después de cierto tiempo la microflora de hongos y levaduras empezó a aumentar y al finalizar el proceso se registró una disminución para las dos.

En las correlaciones negativas se pudo identificar que la humedad y la temperatura del ambiente mostraron un $r = -0,76$. Es decir, cuándo la temperatura ambiente aumenta la humedad disminuye. Por otra parte, la humedad y la temperatura de la masa de fermentación también evidenciaron una correlación negativa ($r = 0,64$).

9- CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas de la fermentación del café mediante método húmedo en la Sierra Nevada de Santa Marta evidenciaron una disminución del pH y los grados Brix después de 36 horas de fermentación debido a que los microorganismos empiezan a degradar azúcares y otros compuestos presentes en el mucílago del café produciendo ácidos orgánicos. Por otra parte, la temperatura ambiente condicionó la temperatura de la masa de fermentación. En las características microbiológicas se observó que las poblaciones de hongos y levaduras aumentaron gracias a su adaptación ante condiciones ácidas alcanzando su población máxima a las 18 horas de fermentación. A su vez parámetros como temperatura de la masa y ambiente, hongos y levaduras, grados Brix y pH presentaron una correlación positiva. Parámetros como la humedad ambiental con la temperatura ambiente, la temperatura de la masa y la población de levaduras presentaron correlaciones negativas. Se espera que este estudio sirva como base para futuras investigaciones y tenga un impacto positivo en la producción cafetera del departamento y del país al ser la primera investigación llevada a cabo en el proceso de fermentación de café en la Sierra Nevada de Santa Marta respecto a sus características fisicoquímicas y el conteo de poblaciones de hongos y levaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- Agronet. (2018). *Producción y área cosechada de café en el Magdalena en 2018*.
<https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>
- Avallone, S., Guyot, B., Brillouet, J., Olguin, E., & Guiraud, J. (2001). Microbiological and Biochemical Study of Coffee Fermentation. *Current Microbiology*, *42*, 252–526.
- Avallone, S., Guyot, B., Brillouet, J., Olguin, E., & Guiraud, J. (2002). Fermentation, Involvement of pectolytic microorganisms in coffee fermentation. *International Journal of Food Science and Technology*, *37*, 191–198.
- Batista, L., Chalfoun, S., Silva, & Schwan, R. (2016). Coffee: Types and Production. In F. T. Benjamin Caballero, Paul M. Finglas (Ed.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 244–251). Academic Press.
- Batista, L., Chalfoun, S., Silva, C., Cirillo, M., Varga, E., & Schwan, R. (2009). Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. *Food Control*, *20*, 784–790.
- Belitz, H., Grosch, W., & S. (2009). *Food chemistry* (4. ed). Springer.
- Berbet, P., Quieroz, D., Sousa, E., Molina, M., Melo, E., & Faroni, L. (2001). PH— Postharvest Technology: Dielectric Properties of Parchment Coffee. *Journal of Agricultural Engineering Research*, *80*, 65–80.
- Comité Departamental de Cafeteros del Magdalena. (2009). *Informe Comités Departamentales*. Federación Nacional de Cafeteros.
- D. de Carvalho., G. de Melo., J. de Carvalho., V. Soccol., & C. S. (2017). Yeast Diversity and Physicochemical Characteristics Associated with Coffee Bean Fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro Region. *Fermentation*, *11*, 1–11.
- da Silva, A., de Melo, G., de Carvalho, D., Rogrigues, C., Pagnoncelli, M., & Soccol, R. (2019). Effect of Co-Inoculation with *Pichia* fermentans and *Pediococcus acidilactici* on Metabolite Produced During Fermentation and Volatile Composition of Coffee Beans. *Fermentation*, *5*, 1–17.
- de Melo, G., Socol, V., Pandey, A., Pedroni, A., Rodrigues, J., Gollo, A., & Soccol, C. (2014). Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. *International Journal of Food Microbiology*, *188*, 60–66.
- de Oliveira, A., de Melo, G., Coral, J., Alvear, M., Rosero, R., de Carvalho, D., Enríquez, H., & Soccol, C. (2019). First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon

- sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
- De Oliveira, A., De Melo, G., Coral, J., Alvear, M., Rosero, R., De Carvalho, D., Enríquez, H., & Soccol, C. (2019). First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon sequencing. *Scientific Reports*, 9(1–10).
- Dolci, P., Alessandria, V., Rantsiou, K., & Cocolin, L. (2015). Advanced methods for the identification, enumeration, and characterization of microorganisms in fermented foods. In W. Holzapf (Ed.), *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits* (pp. 157–176). Woodhead.
- Esquivel, P., & Jimenez, V. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46, 488–495.
- FAOSTAT. (2018). *Producción y área cosechada de Café en el mundo en 2018*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2020a). *Cafés especiales*. <https://caldas.federaciondecafeteros.org/programas/cafes-especiales/>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2020b). *Producción de café de Colombia cerró el 2019 en 14,8 millones de sacos*. <https://federaciondecafeteros.org/wp/listado-noticias/produccion-de-cafe-de-colombia-cerro-el-2019-en-148-millones-de-sacos/>
- Feng, X., Dong, H., Yang, P., Yang, R., Lu, J., Lv, J., & Sheng, J. (2016). Culture-Dependent and -Independent Methods to Investigate the Predominant Microorganisms Associated with Wet Processed Coffee. *Current Microbiology*, 73, 190–195.
- Fischer, M., Reimann, S., Trovato, V., & Redgwell, R. (2001). Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. *Carbohydrate Research*, 330, 93–101.
- Franca, A., Mendonça, J., & Oliveira, S. (2005). Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT - Food Science and Technology*, 38, 709–715.
- G. de Melo., E. Neto., v. Soccol. A. Pedroni., A. L. & c. S. (2015). Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: Growth, metabolic analyses and sensorial effects. *Food Research International*, 75, 1–9.
- Hosam, E., Cox, H., & Zhao, J. (2020). Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 1–11.
- Huch, M., & Franz, C. (2015). Coffee: Fermentation and microbiota. In W. Holzapf (Ed.),

- Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits* (pp. 501–513). Woodhead.
- ICO. (2019). *International Coffee Organization*. http://www.ico.org/es/new_historical_c.asp
- Joseph, R., & Bachhawat, A. K. (2014). Yeasts: Production and Commercial Uses. In Carl A. Batt & Mary Lou Tortorello (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* (pp. 823–830). Academic Press.
- Knopp, S., Bytof, G., & Selmar, D. (2006). Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *Eur. Food Res. Technol*, 223, 195–201.
- Kulandaivelu Velmourougane. (2012). Impact of Natural Fermentation on Physicochemical, Microbiological and Cup Quality Characteristics of Arabica and Robusta Coffee. *Coffee Fermentation and Cup Quality*, 83, 233–239.
- López, C., Rojas, P., Montaña, L., Tovar, E., Rojas, Y., Arcos, C., Ordoñez, C., & Vega, G. (2015). Estudio de algunas variables en el proceso de fermentación de café y su relación con la calidad de taza en el sur de Colombia. *Agroecología: Ciencia y Tecnología*, 3, 7–12.
- Luna, J. (2012). *Manual de prácticas de laboratorio: Microbiología general y aplicada*. Unimagdalena.
- Luna, J. (2020). *Métodos analíticos de microbiología general y aplicada*. Unimagdalena.
- Masoud, W., & Jespersen, L. (2006). Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 291–296.
- Massawe, G., & Lifa, S. (2010). Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 2, 41–82.
- Mejia, F., Acero, N., Duque, L., & Serna, J. (2016). FERMENTACIÓN DE CAFÉ POR VÍA SEMI HÚMEDA PARA LA OBTENCIÓN DE CAFÉ ESPECIAL “HONEY.” *Vitae*, 23, 656–660.
- Nasanit, R., & Satyawut, K. (2015). Microbiological Study During Coffee Fermentation of *Coffea arabica* var. *chiangmai 80* in Thailand. *Kasetsart*, 49, 32–41.
- Plummer, K. M. (2003). DISEASES | Fungal Diseases. In Brian Thomas (Ed.), *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (pp. 223–230). Academic Press.
- Puerta, G., & Echeverry, J. (2015). *Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad*. Cenicafé.
- Puerta, G. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café.

- Avances Técnicos Cenicafé*, 402, 1–13.
- Puerta, G. (2012). *Factores, Procesos Y Controles En La Fermentación Del Café*. Cenicafé.
- Ribeiro, L., Evangelista, S., da Cruz, M., Mullem, J., Ferreira, C., & Freitas, R. (2018). Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. *Annals of Microbiology*, 68, 705–716.
- S. Evangelista., C. Silva., M. Pedrozo., C. de Souza., Pinheiro, A., Ferreira, W., & Freitas, R. (2014). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*, 61, 183–195.
- S. Evangelista., C. Silva., M. Pedrozo., C. de Souza., Pinheiro, A., Ferreira, W., & Freitas, R. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 210, 102–112.
- SCAA. (2015). *Cupping Specialty Coffee* (SCAA (ed.)).
- Silva, C., Batisa, L., Magalhaes, L., Souza, E., & Freitas, R. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, 25, 951–957.
- Silva, C., Marques, D., de Souza, C., Ferreira, W., Ribeiro, D., & Freitas, R. (2013). Evaluation of a Potential Starter Culture for Enhance Quality of Coffee Fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 235–347.
- Silva, C., Schwan, R., Sousa, E., & Wheals, A. (2000). Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 60, 251–260.
- Silva, C. (2014). Microbial activity during coffee fermentation. In G. H. Schwan, R.F., Fleet (Ed.), *Cocoa and Coffee Fermentation* (pp. 398–493). CRC Press.
- Siqueira, H., & Patto, C. (2006). Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. *Ciência e Agrotecnologia*, 30, 112–117.
- Speciality Coffee Association. (2020). *What is Specialty Coffee?* <https://sca.coffee/research/what-is-specialty-coffee>
- Valencia, F. (2007). Cafés especiales. In *Sistemas de producción de café en Colombia* (pp. 234–254). Cenicafé.
- Vilela, D., Pereira, G., Silva, C., Batista, L., & Schwan, R. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology*, 27, 1128–1135.

Walker, G. (2009). Yeasts. In Moselio Schaechter (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)* (pp. 478–491). Academic Press.