



Evaluación de la fermentación controlada con inoculación de levadura (*Meyerozyma caribbica*) de café sin despulpar mediante el beneficio vía seca y su efecto en la calidad del café (*Coffea arabica*)

Valentina Escobar Ramírez

Juan David Torres Moreno

Universidad del Valle

Programa de Ingeniería de Alimentos (3753)

Directora

Cristina Ramírez Toro

Codirector

José Luis Plaza Dorado

Trabajo de grado para optar al título de Ingenieros de Alimentos

Julio de 2025

Tabla de contenido

Resumen.....	9
1 Introducción	11
2 Marco teórico	16
2.1 Café.....	16
2.2 Composición química del café	18
2.3 Fermentación del café.....	19
2.4 Microbiología de la fermentación del café	22
2.4.1 Levaduras.....	22
2.4.2 Bacterias	23
2.4.3 Hongos.....	24
2.5 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	25
3 Antecedentes	27
4 Problema de investigación	31
5 Pregunta de investigación.....	32
6 Justificación.....	32
7 Hipótesis.....	34
8 Objetivos	34
8.1 Objetivo general	34
8.2 Objetivos específicos.....	34
9 Materiales y métodos	35
9.1 Adecuación de materia prima	35
9.2 Microencapsulación de la levadura para el proceso de fermentación	35
9.3 Elaboración del microencapsulado	36
9.4 Viabilidad del microencapsulado.....	37
9.5 Caracterización microbiológica de la materia prima inicial	37
9.5.1 Recuento de mesófilos.....	38
9.5.2 Recuento de levaduras y hongos	38

9.5.3	Prueba presuntiva para coliformes totales (NMP).....	39
9.5.4	Prueba confirmativa para coliformes totales	39
9.6	Diseño experimental y parámetros para estudio del café mediante el proceso de fermentación por beneficio vía seca	40
9.6.1	Prueba preliminar	40
9.6.2	Diseño experimental	40
9.7	Fermentación del café.....	41
9.7.1	Parámetros microbiológicos	41
9.7.1.1	Recuento de colonias (bacterias ácido-lácticas, entéricas, hongos y levaduras).....	42
9.7.1.2	Prueba presuntiva coliformes totales (NMP) y confirmativa para coliformes fecales	42
9.7.1.3	Cinética de crecimiento (<i>Meyerozyma caribbica</i>).....	42
9.7.2	Parámetros fisicoquímicos.....	43
9.7.2.1	Humedad.....	43
9.7.2.2	Determinación del pH.....	43
9.7.2.3	Determinación de azúcares reductores y totales	43
9.7.2.4	Determinación de acidez titulable	44
9.7.2.5	Determinación de sólidos solubles totales.....	44
9.8	Prueba de escalamiento	45
9.8.1	Determinación de fenoles totales.....	46
9.8.2	Capacidad antioxidante.....	46
9.8.2.1	Método ABTS.....	46
9.8.2.2	Método DPPH	47
9.8.3	Determinación de ocratoxina A	48
9.8.4	Análisis sensorial.....	48
10	Resultados y discusión	49
10.1	Viabilidad del microencapsulado (ME).....	49
10.2	Análisis microbiológico de café inicial	50
10.3	Diseño experimental y pruebas preliminares a escala de laboratorio.....	53
10.4	Parámetros microbiológicos del café fermentado	56
10.4.1	Levaduras.....	56
10.4.2	Bacterias lácticas	61

10.4.3	Microorganismos mesófilos	64
10.4.4	Hongos.....	67
10.4.5	Enterobacterias	68
10.4.6	Cinética de crecimiento	73
10.5	Parámetros fisicoquímicos del café fermentado	75
10.5.1	Humedad.....	75
10.5.2	pH y acidez titulable	76
10.5.3	Azúcares reductores y totales	81
10.5.4	Sólidos solubles totales.....	86
10.6	Prueba de escalamiento	88
10.6.1	Análisis sensorial.....	90
10.6.2	Fenoles totales y capacidad antioxidante	93
10.6.3	Ocratoxina A.....	95
11	Conclusiones	97
12	Referencias bibliográficas	98

Lista de tablas

Tabla 1. Composición química de la cereza de café expresados en % materia seca.	18
Tabla 2. Revisión del estado del arte sobre la fermentación del café.	28
Tabla 3. Diseño experimental para el proceso de fermentación de café mediante el beneficio vía seca.	40
Tabla 4. Significancia estadística de los efectos del tiempo de fermentación, concentración de inóculo e interacción, sobre las variables de respuesta del diseño factorial.	53
Tabla 5. Evolución del comportamiento microbiano durante el proceso de fermentación, utilizando diferentes concentraciones de <i>Meyerozyma caribbica</i>	73
Tabla 6. Matriz de análisis	89
Tabla 7. Resultados de catación por la Taza de Juan S.A.S.	90
Tabla 8. Contenido fenólico total y capacidad antioxidante del café verde evaluada por los métodos ABTS y DPPH.	94
Tabla 9. Determinación de ocratoxina A del tratamiento de escalamiento.	96

Lista de Figuras

Figura 1. Anatomía del café cereza	17
Figura 2. Método de microencapsulación	37
Figura 3. Tratamientos del diseño experimental sometidos a fermentación	41
Figura 4. Sistema de fermentación controlada	45
Figura 5. Evaluación de la viabilidad de <i>Meyerozyma caribbica</i> en medio Malta Agar mediante recuento de colonias en dilución 10^{-6}	49
Figura 6. Colonias del café inicial, a. MRS con azul de anilina para bacterias ácido-lácticas (BAL), b. PCA para microorganismos mesófilos, c. Malta Agar para levaduras y hongos, d. MacConkey para enterobacterias.....	50
Figura 7. Resultado positivo para coliformes con formación de anillo rojo en tubos con caldo lauril sulfato de sodio	52
Figura 8. Prueba confirmativa para <i>E. coli</i> , resiembra en medio EMB 10^{-1} y 10^{-2}	53
Figura 9. Evolución del a. pH y de los b. sólidos solubles (°Brix) a diferentes tiempos de fermentación y a distintas concentraciones de inóculo	54
Figura 10. Tratamientos preliminares a escala de laboratorio sometidos a fermentación...	55
Figura 11. Colonias de cultivo iniciador <i>Meyerozyma caribbica</i> , a. Tinción con azul de metileno a 100x, b. vista bajo estereoscopio.....	57
Figura 12. Comportamiento de levaduras en la fermentación con diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de fermentación.....	58
Figura 13. a. Interacción factorial y b. efectos principales para la concentración de levaduras.	58

Figura 14. Crecimiento de bacterias ácido-lácticas en medio de cultivo MRS tras incubación.	62
Figura 15. Comportamiento de las bacterias ácido-lácticas de los tratamientos en estudio.	62
Figura 16. a. Interacción factorial y b. efectos principales para la concentración de bacterias ácido-lácticas.	63
Figura 17. Crecimiento de mesófilos aerobios en medio PCA.	64
Figura 18. Comportamiento de mesófilos durante la fermentación con diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de incubación.	65
Figura 19. a. Interacción factorial y b. efectos principales para la concentración de microorganismos mesófilos.	65
Figura 20. Crecimiento de enterobacterias en medio MacConkey: a. Tratamiento con 5% de inóculo a 48 horas, y b. tratamiento control a 48 horas.	69
Figura 21. Comportamiento de enterobacterias en la fermentación con diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de fermentación.	69
Figura 22. Tubos con producción de gas y prueba de indol negativa en la muestra control tras 48 horas de fermentación.	72
Figura 23. Cinética de crecimiento del microencapsulado <i>Meyerozyma caribbica</i> .	74
Figura 24. a. Interacción factorial y b. efectos principales para valores de pH.	77
Figura 25. Evolución del pH de los tratamientos durante la fermentación.	77
Figura 26. Evolución de la acidez titulable de los tratamientos durante la fermentación.	80
Figura 27. Correlación entre el pH y la acidez titulable del café en función del tiempo de fermentación y la concentración de inóculo.	80

Figura 28. a. Interacción factorial para valores de acidez titulable y b. efectos principales para valores de acidez titulable.....	81
Figura 29. Evolución de los azúcares reductores de los tratamientos durante la fermentación	82
Figura 30. a. Interacción factorial y b. efectos principales para azúcares reductores.	82
Figura 31. Evolución de los azúcares totales de los tratamientos durante la fermentación.	84
Figura 32. a. Interacción factorial y b. efectos principales para valores de azúcares totales.	84
Figura 33. a. Interacción factorial y b. Efectos principales para valores de sólidos solubles totales.....	87
Figura 34. Evolución de sólidos solubles totales de los tratamientos durante la fermentación.	87

Resumen

Investigaciones recientes han evidenciado el potencial de los cultivos iniciadores para mejorar la calidad del café. En este contexto, el presente estudio evaluó el efecto de la levadura *Meyerozyma caribbica* microencapsulada en un proceso de fermentación controlada por beneficio vía seca del café variedad Castillo, mediante un diseño factorial que consideró tiempos de fermentación de 48 y 72 horas, como concentraciones del cultivo iniciador de 3 %, 5 % y 8 %, incluyendo un tratamiento control para las respectivas comparaciones. La evaluación se realizó a partir del análisis de parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales. El análisis de varianza permitió identificar una interacción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre el tiempo de fermentación y la concentración de inóculo sobre las variables de acidez titulable, pH, azúcares totales y sólidos solubles. La concentración de inóculo, considerada como factor independiente, no mostró un efecto estadísticamente significativo sobre las variables de pH y acidez titulable ($p > 0,05$). De manera similar, el tiempo de fermentación no presentó significancia estadística sobre la variable de sólidos solubles ($p > 0,05$). Por otro lado, el análisis microbiológico evidenció una interacción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los factores en cuestión sobre las poblaciones de levaduras y enterobacterias. Por su parte, la concentración de inóculo, considerada de forma independiente, no presentó un efecto significativo ($p > 0,05$) sobre las poblaciones de bacterias ácido-lácticas y mesófilos. Finalmente, el tiempo de fermentación se consolidó como un factor determinante en el comportamiento de las poblaciones microbianas. En los tratamientos inoculados no se detectaron coliformes totales, mientras que los hongos filamentosos estuvieron ausentes en todas las muestras. Los resultados reflejan mecanismos clave como la degradación de azúcares, una elevada actividad metabólica e interacciones

entre poblaciones microbianas que modularon el proceso fermentativo. El tratamiento de escalamiento (5%, 48h) obtuvo 84,50 puntos según la SCA (Specialty Coffee Association), con atributos de fragancia a frutos rojos con sutil sensación de vino tinto, aroma a cereza y sabor a sandía con sensación a cereal con caña. Se obtuvieron valores de 2228,6 mg AG /100g y 4072,5 mg trolox/100 g como de 1939,2 mg trolox/100 g para contenido fenólico y capacidad antioxidante por metodologías ABTS y DPPH, respectivamente.

Palabras claves: Fermentación, microbiología, microencapsulación, *Meyerozyma caribbica*, beneficio vía seca.

1 Introducción

El consumo de café ha sido documentado desde hace al menos un milenio, consolidándose como una de las bebidas no alcohólicas de mayor consumo global (Elhalis et al., 2020; Orecchio et al., 2019). En este contexto, el informe Gerencial y de Exportaciones de la Federación Nacional de Cafeteros (FNC, 2024a, 2024b) señalan que, la caficultura colombiana constituye un eje estratégico tanto para la economía como para el desarrollo social del país, al posicionarse como el principal productor global de café arábigo suave lavado, una variedad altamente apreciada por su perfil sensorial diferenciado y su baja acidez. Durante el año cafetero 2023-24, Colombia alcanzó una producción de aproximadamente 13,9 millones de sacos de 60 kg, registrando su mejor cosecha en los últimos cinco años y exportó cerca de 12,33 millones de sacos, generando ingresos por más de USD 2.900 millones. En consecuencia, su destacada participación en el mercado internacional no solo lo posiciona como una fuente clave de divisas, representando cerca del 0,73 % del PIB y aportando el 33 % al crecimiento del PIB agrícola nacional, sino que también genera un impacto directo en el bienestar de aproximadamente 550.000 familias rurales que dependen de esta actividad (FNC, 2024a, 2024b).

Motato-Rocha et al. (2024) en su investigación resalta que a pesar de los avances tecnológicos y del conocimiento acumulado durante décadas en la industria cafetera colombiana, persisten limitaciones en la adopción y ejecución de prácticas de control en las etapas críticas del proceso postcosecha, especialmente en las fases de fermentación, lavado y secado a nivel de finca. De esta forma, la ausencia de protocolos estandarizados, sumada a la elevada variabilidad en las condiciones de manejo, incide directamente en la aparición de defectos físicos y sensoriales en el grano, lo que a su vez deteriora la calidad final del

producto y afecta negativamente la percepción del café colombiano en mercados especializados (Motato-Rocha et al., 2024). Esta pérdida de calidad, además, genera repercusiones económicas significativas para los productores, ya que restringe su acceso a nichos de mercado más exigentes y con mayores oportunidades comerciales (Guzmán Cano, 2021).

En este contexto, resulta fundamental capacitar a los pequeños caficultores en la implementación de prácticas estandarizadas de manejo postcosecha, con el propósito de mejorar la calidad y agregar valor al producto, atendiendo así las exigencias de los mercados internacionales, los cuales mantienen una demanda constante de cafés diferenciados y de alta calidad (Montoya Ramírez, 2017; Díaz Manrique & Córdoba Vargas, 2020). La estrategia de generación de valor agregado se plantea, por tanto, como una alternativa viable para que los productores incrementen su capacidad de negociación en la cadena de valor y mitiguen su exposición a la volatilidad del mercado y las fluctuaciones de la cotización internacional del café (Yepes Duque, 2018).

Como se ha mencionado previamente, la producción de café en Colombia se ha caracterizado principalmente por el uso de la variedad *Coffea arabica*, en combinación con el procesamiento por vía húmeda (Aristizábal et al., 2017; De Oliveira Junqueira et al., 2019). Según Haile y Kang (2019), el beneficio húmedo del café comienza con la clasificación de las cerezas mediante flotación en agua, una técnica que permite separar principalmente los frutos sobremaduros debido a su menor densidad. Luego, se realiza el despulpado mecánico, proceso en el cual se remueve la capa externa del fruto (exocarpio), dejando expuestas las semillas recubiertas de mucílago. Este recubrimiento se elimina mediante fermentación en medio acuoso, generalmente llevada a cabo en tanques de concreto, polietileno o acero

inoxidable, durante un periodo que varía entre 12 y 36 horas, dependiendo de las condiciones ambientales. Finalizada la fermentación, los granos se lavan para eliminar los residuos de mucílago remanentes y posteriormente se someten a un proceso de secado, que puede extenderse entre 5 y 10 días, con el fin de reducir su contenido de humedad hasta alcanzar niveles comprendidos entre el 10 % y el 12 %. Por otro lado, el beneficio por vía seca constituye un proceso predominantemente aeróbico, el cual permite una mayor retención de glucosa y fructosa en los frutos debido al menor consumo de estos azúcares en el metabolismo de las semillas. La acumulación de dichos compuestos, junto con las pectinas presentes en el mucílago, favorece el desarrollo de comunidades microbianas epífitas, conformadas principalmente por bacterias y levaduras, cuyo acceso a la pulpa es facilitado por la acción de enzimas pectinolíticas y celulolíticas, las cuales degradan las estructuras polisacáridicas de la cáscara aumentando la permeabilidad de los microporos contribuyendo a la proliferación microbiana (Evangelista et al., 2014).

La etapa de secado, junto con variables críticas como la temperatura, flujo de aire y el método aplicado, constituye una fase determinante en la preservación de la calidad y el perfil sensorial del grano, dado a que durante este proceso tienen lugar diversas reacciones químicas cuya cinética está significativamente influenciada por las variables mencionadas, conducentes a la formación de compuestos volátiles responsables del aroma y sabor característicos del café (Al-Ghamdi et al., 2024). Asimismo, los estudios señalan que el contenido de humedad óptimo para el café verde se sitúa entre el 10 % y el 12 %, con el propósito de prevenir tanto el secado excesivo, que compromete la integridad estructural y provoca la pérdida de compuestos aromáticos, como la humedad elevada, que favorece el desarrollo microbiano, especialmente de mohos (Al-Ghamdi et al., 2024).

Pese a que el procesamiento seco del café se considera el método menos sofisticado y de mayor duración en comparación con otros, proporciona un café de alta calidad, reflejándose en precios más elevados que los generados por el procesamiento semiseco o húmedo (Karim et al., 2019). En este sentido, estudios realizados por Athinuwat et al. (2024) concluyen que el uso de cepas de levaduras en la fermentación de café procesado por vía seca favorece la formación de compuestos que realzan el perfil sensorial del café, evidenciándose notas a caramelo dulce, frutos secos, vainilla y avellana.

En este contexto, resulta fundamental comprender el papel que desempeñan los cultivos iniciadores, considerando su interacción con la diversidad microbiana nativa presente en los frutos de café durante el proceso de fermentación, con el objetivo de evaluar su contribución a la calidad del café, particularmente en lo referente a atributos sensoriales como la acidez y el sabor, los cuales inciden directamente en la percepción organoléptica de la bebida y han mostrado una estrecha asociación con los procesos de fermentación controlada (Prakash et al., 2022; Bressani et al., 2021).

La Asociación de Cafés Especiales (SCA), por sus siglas en inglés Specialty Coffee Association, define el café de especialidad como una bebida de calidad superior, elaborada a partir de granos libres de impurezas y defectos, y caracterizada por atributos sensoriales específicos como fragancia/aroma, uniformidad, ausencia de defectos, dulzor, sabor, acidez, cuerpo, retrogusto, equilibrio y nota final que, al ser evaluados por catadores certificados (Q-graders) mediante metodologías estandarizadas por la SCA, deben alcanzar una puntuación superior a 80 puntos para ser clasificado dentro de esta categoría (Vale et al., 2023). Además, estos cafés deben contar con trazabilidad certificada y cumplir con criterios de sostenibilidad

que integren aspectos ambientales, sociales y económicos a lo largo de toda la cadena de producción (Giomo & Borém, 2011).

Investigaciones recientes se han enfocado en la selección de nuevas cepas de levaduras con el objetivo de optimizar la fermentación del café (Pereira et al., 2024). En el beneficio húmedo tradicional, la incorporación de levaduras específicas ha demostrado potenciar la degradación del mucílago, facilitando el secado posterior de los granos. De manera complementaria, en el procesamiento por vía seca, la inoculación por aspersión con levaduras seleccionadas ha permitido reducir significativamente el tiempo de secado al sol, que habitualmente se extiende hasta 30 días, además de contribuir a la estandarización de los perfiles sensoriales de las bebidas obtenidas (Ferreira et al., 2023). Por otra parte, estudios como el de Massawe & Lifa (2010) destacan la función de las levaduras como cultivos iniciadores con actividad de biocontrol, al contribuir a la inhibición de hongos filamentosos productores de ocratoxina A (micotoxina clasificada como posible carcinógeno para los humanos). Este efecto se debe, por un lado, al rápido crecimiento de las levaduras, que reduce la disponibilidad de nutrientes y sitios de colonización necesarios para la germinación de esporas, y por otro, a la producción de compuestos antifúngicos, tales como alcoholes superiores y ésteres, que interfieren en la síntesis de micotoxinas por especies del género *Aspergillus* (Dzialo et al., 2017).

En este sentido, el objetivo de la presente investigación fue llevar a cabo una fermentación controlada de café mediante el beneficio por vía seca con el inóculo de levadura *Meyerozyma caribbica* obtenida y seleccionada de otros procesos de fermentación de café (Chaspuengal & Silva, 2024), para determinar su eficacia de biocontrol frente a las especies productoras de ocratoxina, y su incidencia sobre la calidad en taza.

2 Marco teórico

2.1 Café

El género *Coffea*, perteneciente a la familia *Rubiaceae*, incluye algunas de las especies agrícolas más relevantes a nivel global debido a su papel en la producción de café, un cultivo predominante en regiones tropicales (Haile & Kang, 2019). Este género se clasifica en cuatro grupos principales que abarcan 66 especies: de grano grande (*C. liberica*), grano medio (*C. canephora*), grano pequeño (*C. arabica*) y el grupo *Eucoffea*, que incluye especies como *C. excelsa*. No obstante, únicamente *Coffea arabica* y *Coffea canephora* poseen una relevancia industrial significativa, ya que son las únicas especies cultivadas a gran escala para la elaboración de bebidas. *C. arabica* representa cerca del 70 % del volumen mundial de café comercializado y constituye la principal especie cultivada en Colombia, mientras que *C. canephora* (robusta) aporta la mayor parte del volumen restante (Saud & Salamatullah, 2021; De Oliveira Junqueira et al., 2019; Deshpande et al., 2019).

El cafeto es un arbusto perenne con una vida económica de hasta 30 años y puede alcanzar los 10 metros de altura. La floración inicia entre los 3 y 4 años, produciendo flores blancas y aromáticas agrupadas en racimos axilares. Tras la fecundación, dos óvulos fertilizados se desarrollan en el ovario, dando origen al fruto maduro entre seis y ocho meses después. El fruto, conocido como “cereza de café”, es ovalado, mide aproximadamente 18 mm de largo por 10–15 mm de diámetro, y adquiere un color rojo brillante o amarillo al madurar (Hoseini et al., 2021). Como se observa en la **Figura 1**, la estructura anatómica de la cereza de café consta de varias capas: el epicarpio (piel cerosa de color rojizo), el mesocarpio (pulpa, rica

en pectinas), el endocarpio o pergamino (capa rígida de polisacáridos) y, finalmente, la película plateada, que recubre directamente las semillas.” (Alves et al., 2017)

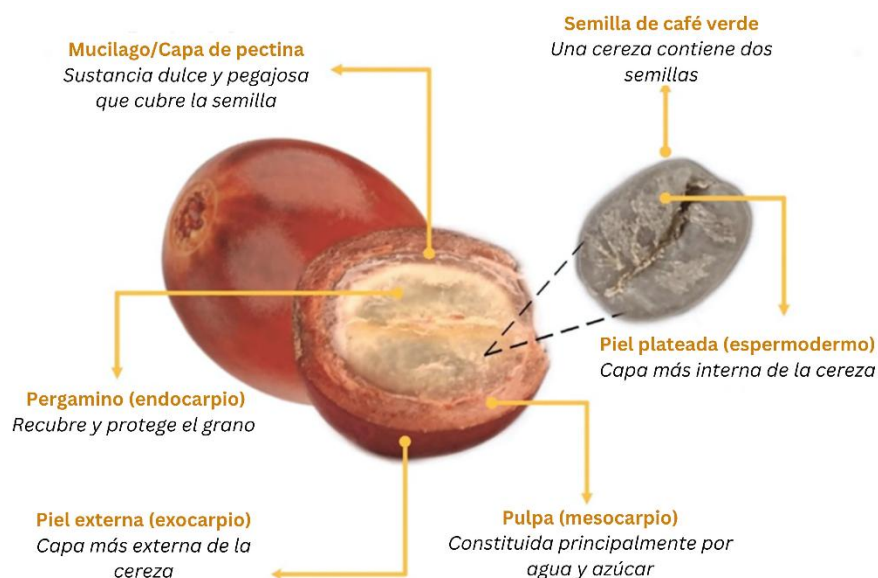


Figura 1. Anatomía del café cereza por Tsigkou et al. (2025).

La variedad *Coffea arabica* se distingue por su calidad superior, atribuida a sus propiedades organolépticas intrínsecas, entre las que se destacan una mayor intensidad aromática y un perfil sensorial más complejo en comparación con la variedad *Robusta* (Severini et al., 2018). Esta especie posee una composición química caracterizada por una concentración elevada de compuestos volátiles, los cuales se liberan durante el proceso de tostado y se manifiestan como notas aromáticas intensas y diferenciadas (Alamri et al., 2022). Estos compuestos, en conjunto con su acidez pronunciada, contribuyen de manera significativa a la diversificación y complejidad de su perfil sensorial (Carvalho Ferreira et al., 2023).

El cultivo de *Coffea arabica* en altitudes elevadas y bajo condiciones climáticas óptimas induce un desarrollo más lento de los granos, lo cual favorece una mayor acumulación de azúcares y compuestos aromáticos volátiles (Alamri et al., 2022). Esta maduración retardada

se asocia con una mejora en la calidad sensorial de la bebida final, caracterizada por un perfil más complejo y refinado que incluye desde notas florales y afrutadas hasta matices de chocolate y caramelo (Wongsa et al., 2019).

2.2 Composición química del café

A continuación, se presenta la caracterización fisicoquímica de los componentes de la cereza de café reportado por Tsigkou et al. (2025).

Tabla 1. Composición química de la cereza de café expresados en % materia seca.

Parámetro	Pulpa	Mucílago	Pergamino	Piel plateada
Sólidos totales	81.6–92.6	94.8–95.9	87.2–98.2	92.3–96.0
Sólidos volátiles	67.2–88.3	85.0–85.2	66.0–92.9	76.4–99.6
Cenizas	8.7–11.7	14.3–14.9	3.6–7.2	3.2–8.3
Proteína	10.5–17.4	0.9–18.5	11.1–13.7	14.2–20.8
Grasas y lípidos	1.0–2.4	0.1–0.7	0.5–1.5	1.6–3.7
Carbohidratos	45.3–52.7	75.5–86.0	47.1–64.5	8.0–42.0
Fibras	16.3–24.8	19.8–65.8	62.1–65.1	34.7–76.9
Celulosa	14.2–35.1	N.A	25.7–34.0	22.8
Hemicelulosa	3.5–24.1	N.A	12.0–28.9	19.3
Compuestos fenólicos	1.9–2.6	0.1–1.6	1.0	0.9
Cafeína	1.1–5.5	N.A	N.A	0.1–1.0
pH	4.3–5.1	3.7–5.9	4.7–6.5	5.3–8.5

El mucílago del café está compuesto principalmente por azúcares, agua y sustancias pécticas, cuya cantidad y composición dependen de la variedad del cultivo, el grado de madurez del fruto y las condiciones agronómicas. Además, este sustrato alberga una comunidad microbiana predominada por levaduras de los géneros *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* y *Rhodotorula*, así como bacterias ácido-lácticas de los géneros *Lactobacillus* y *Streptococcus*, junto con otras bacterias y hongos filamentosos (Tsigkou et al. 2025).

La pulpa del café, subproducto generado principalmente durante el proceso de fermentación húmeda, constituye una fuente valiosa de compuestos bioactivos. Entre estos destacan los polifenoles, con una elevada capacidad antioxidante y potenciales beneficios para la salud humana. Asimismo, contiene antocianinas con aplicaciones prometedoras como colorantes naturales en la industria alimentaria, así como pectinas, cafeína, proteínas y carbohidratos, lo que la convierte en un recurso de alto valor para el aprovechamiento integral del fruto (Munguía Ameca et al., 2018).

2.3 Fermentación del café

La fermentación es un proceso biológico complejo en el que intervienen diversos grupos de microorganismos, principalmente bacterias y levaduras, que degradan carbohidratos y otros compuestos orgánicos presentes en el mesocarpio mucilaginoso del fruto del café mediante múltiples rutas metabólicas, entre las que se incluyen la fermentación alcohólica, láctica y heteroláctica, la degradación de lípidos, la acetificación y la hidrólisis enzimática (Vale et al., 2023; Carvalho Ferreira et al., 2023). Este proceso, de naturaleza catabólica, implica la oxidación de sustancias orgánicas, especialmente azúcares, para producir energía y generar metabolitos simples como etanol, ácido láctico, ácido acético y ácido butírico (Elhalis et al., 2020). La actividad microbiana durante la fermentación no solo altera los compuestos intrínsecos del fruto, sino que también desempeña un papel clave en la generación de precursores de sabor que contribuyen al perfil sensorial final del café, dado que los granos poseen la capacidad de absorber los metabolitos producidos durante el metabolismo microbiano (Kusumah & Gonzalez de Mejia, 2022; Vale et al., 2023).

En fermentaciones espontáneas, la variabilidad de las condiciones ambientales y de las prácticas higiénico-sanitarias durante el procesamiento del café favorece una elevada diversidad microbiana asociada a los frutos, lo que genera fluctuaciones en las propiedades sensoriales de la bebida (Tang et al., 2021). Esta diversidad está influenciada por la variación en la microflora endógena del café, la cual depende de la región geográfica (suelo, aire y agua), de las condiciones de manejo (incluido el equipo y el personal en contacto con los frutos), así como de las interacciones entre las sucesiones microbianas (De Carvalho Neto et al., 2018). Estos factores, en conjunto, dificultan la predicción de las características de calidad de la bebida (Ferreira et al., 2023). En contraste, la implementación de estrategias de control en el bioprocesamiento del café abarca una variedad de técnicas que pueden aplicarse de manera sinérgica, tales como la alternancia entre condiciones aeróbicas y anaeróbicas, el uso de cultivos iniciadores y el seguimiento de parámetros fisicoquímicos (Vale et al., 2023).

El fruto del café puede ser procesado mediante tres métodos principales de postcosecha: beneficio húmedo, beneficio seco y beneficio semiseco. La fermentación húmeda, actualmente el método más utilizado en el bioprocesamiento del café consiste en la inmersión de granos despulpados en agua, con o sin adición cultivos iniciadores, donde se produce una biotransformación microbiana y la migración de compuestos al pergamino. (Mahingsapun et al., 2022). En general, se ha observado que los cafés procesados por vía húmeda presentan mayor acidez y una expresión aromática más intensa en comparación con aquellos procesados por vía seca (Pereira et al., 2019). En el método semiseco, el fruto es despulpado para remover completamente el exocarpio y parcialmente el mesocarpio, y la fermentación se lleva a cabo de forma simultánea con el secado, durante un periodo de 10 a 15 días, hasta alcanzar un contenido de humedad entre 10 % y 12 % (Ribeiro et al., 2017). A diferencia de

los métodos húmedo y semiseco, en la fermentación seca no se eliminan la piel ni la pulpa del fruto. Tras la cosecha, los granos se lavan para descartar los defectuosos y posteriormente se fermentan en conjunto con el secado, habitualmente en plataformas o directamente sobre el suelo. Cabe destacar que, si bien este proceso se realiza tradicionalmente de forma espontánea, la fermentación en estado sólido puede ser controlada mediante el uso de tanques que permiten regular la concentración de oxígeno, así como monitorear la temperatura y la humedad internas. (Vale et al., 2024).

No obstante, además del método empleado, diversos factores como la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y la composición microbiana influyen significativamente en el desarrollo del proceso fermentativo y en la calidad sensorial del producto final (Vale et al., 2024). El empleo de condiciones anaeróbicas favorece la actividad metabólica de bacterias lácticas y levaduras, promoviendo la síntesis de metabolitos específicos (Pereira et al., 2019). En este sentido, Cassimiro et al. (2023) reportan que la fermentación en ambientes anaeróbicos incrementa la producción de ácido láctico, compuesto que contribuye a la percepción de acidez en la bebida. Asimismo, la ausencia de oxígeno induce rutas metabólicas alternativas que conllevan principalmente a la formación de dióxido de carbono (CO_2), etanol, glicerol, ácido pirúvico y ácido succínico.

Por el contrario, la fermentación natural en condiciones aeróbicas puede optimizarse mediante la incorporación de cultivos iniciadores seleccionados, capaces de modular tanto los atributos sensoriales como funcionales del café (Prakash et al., 2022). Compuestos bioactivos como la cafeína, la trigonelina y los ácidos clorogénicos, responsables de propiedades funcionales como el potencial antioxidante, pueden verse modificados en su

concentración como consecuencia de la fermentación dirigida con microorganismos iniciadores (Cassimiro et al., 2023).

2.4 Microbiología de la fermentación del café

2.4.1 Levaduras

Durante los procesos de fermentación natural, semiseco y húmedo del café, se ha observado una compleja sucesión de especies bacterianas y levaduras (Shen et al., 2025). Las fuentes de estos microorganismos son diversas y abarcan múltiples componentes del entorno, incluyendo la superficie de las cerezas de café, el suelo, el aire, el agua, la manipulación humana, así como equipos e insectos voladores. Tanto las especies microbianas aisladas durante la fermentación como sus cargas iniciales y concentraciones poblacionales presentan una notable variabilidad entre distintos ecosistemas, atribuida principalmente a factores ambientales (Elhalis et al., 2023).

Como se ha señalado previamente, las levaduras constituyen microorganismos ubicuos en los diversos procesos fermentativos del café, siendo las especies de los géneros *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula* particularmente representativas en el procesamiento húmedo (Elhalis et al., 2023). Estudios clásicos han reportado la presencia tanto de especies *Saccharomyces* como no *Saccharomyces*, entre ellas *Saccharomyces marxianus*, *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Candida guilliermondii* var. *membranifaciens*, *C. pelliculosa*, *Torulopsis fumata* y *Rhodotorula mucilaginosa*, con concentraciones que varían entre 3 y 7 log UFC/mL durante el desarrollo de la fermentación (Elhalis et al., 2023).

En el beneficio vía seca, se ha reportado una elevada diversidad de levaduras, destacándose *Pichia guilliermondii*, *P. anomala*, *P. ofunaensis*, *Debaryomyces hansenii* y especies del género *Starmerella* (Elhalis et al., 2023). En particular, *Arxula adeninivorans* fue identificada como la especie dominante, alcanzando concentraciones de hasta 6 log UFC/g (De Bruyn et al., 2016). En el proceso semiseco, las especies prevalentes incluyeron *Pichia anomala*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces sp.* y *Torulaspora delbrueckii*, con poblaciones comprendidas entre 3,4 y 6,9 log UFC/g (Vilela et al., 2010).

Las actividades metabólicas de las levaduras son determinantes para la calidad del café, ya que, a través de la degradación de los azúcares del mucílago, se generan metabolitos secundarios como alcoholes, ácidos, ésteres, aldehídos y cetonas, que migran al grano e influyen directamente en los atributos sensoriales (Elhalis et al., 2021). Además, estas levaduras contribuyen al control microbiológico mediante mecanismos de exclusión competitiva, inhibiendo el desarrollo de hongos productores de micotoxinas (Elhalis et al., 2023).

2.4.2 Bacterias

Durante la fermentación del café se ha identificado una diversidad de bacterias, especialmente del grupo de bacterias ácido-lácticas, cuya presencia y actividad varían según las condiciones del proceso (Elhalis et al., 2023). Especies como *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum* y *Lactobacillus spp.* se han aislado predominantemente en procesos húmedos y semisecos, donde las condiciones anaeróbicas favorecen su proliferación (4–5.7 log UFC/g) (Vilela et al., 2010). En cambio, en el método seco, la baja actividad de agua (0.7–0.8) limita su

presencia (Silva et al., 2008). La relevancia de estas bacterias radica en su capacidad para producir metabolitos secundarios, principalmente ácidos orgánicos como el láctico, acético y butanoico, los cuales, en concentraciones inferiores a 2 mg/mL, contribuyen a un perfil sensorial limpio y dulce en el producto final (Bertrand et al., 2012).

Paralelamente, se han identificado diversas bacterias no-LAB pertenecientes principalmente a la familia *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Escherichia*) y otros géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Acinetobacter*, cuyas poblaciones varían significativamente según el tipo de proceso de fermentación (Elhalis et al., 2023). Aunque estas bacterias alcanzan concentraciones considerables (6-9 log CFU/g en proceso seco, 7-8 log CFU/mL en húmedo), su contribución específica a la fermentación y calidad del café permanece poco definida, sugiriéndose principalmente su participación en la degradación del mucílago (Silva et al., 2014).

2.4.3 Hongos

Durante la fermentación del café, especialmente en los métodos seco y semiseco, se ha identificado una amplia variedad de hongos filamentosos, entre ellos especies de *Aspergillus* (*A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. westerdijkiae*, *A. tamarii*), *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. brevicompactum*), *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Cladosporium*. En contraste, su presencia es limitada en el proceso húmedo, debido al ambiente sumergido y al corto tiempo de fermentación, condiciones que favorecen el desarrollo de bacterias y levaduras (Silva, 2014). La presencia de hongos filamentosos pertenecientes a los géneros *Aspergillus sp*, *Fusarium sp* y *Penicillium sp* durante la fermentación del café plantea riesgos asociados a la producción de micotoxinas termoestables, como la ocratoxina A que prevalece tras la tostión, y a

alteraciones negativas del perfil sensorial, especialmente cuando se procesan frutos sobremaduros o contaminados (De Carvalho Neto et al., 2018; Iamanaka et al., 2014).

Sin embargo, algunos estudios han revelado que no todos los efectos de los hongos filamentosos son necesariamente negativos. Por ejemplo, *Penicillium crustosum* ha sido asociado con sabores mohosos y terrosos debido a compuestos como oct-1-en-3-ol, mientras que *P. brevicompactum* ha producido cetonas volátiles como octan-3-ona y pentadecan-2-ona, que pueden aportar notas herbales y florales al perfil sensorial del café (Iamanaka et al., 2014). Estos hallazgos sugieren que, bajo ciertas condiciones, algunos hongos podrían tener un rol positivo en la modulación del sabor, aunque su contribución específica al proceso fermentativo sigue siendo poco comprendida.

No obstante, algunos estudios indican que los hongos filamentosos no siempre generan efectos negativos. *Penicillium crustosum* ha sido asociado con compuestos como oct-1-en-3-ol, responsables de notas mohosas y terrosas, mientras que *P. brevicompactum* produce cetonas volátiles, como octan-3-ona y pentadecan-2-ona, vinculadas con atributos herbales y florales (Iamanaka et al., 2014). Estos datos sugieren un posible rol modulador del perfil sensorial, aunque su participación en la fermentación sigue sin estar completamente definida. (Elhalis et al., 2023).

2.5 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

Los granos de café constituyen una fuente significativa de diversos compuestos bioactivos con potencial relevancia farmacológica (Tan et al., 2023). A parte de la cafeína, el componente ampliamente caracterizado por la actividad estimulante del sistema nervioso, los granos contienen otros fitoquímicos de interés, incluyendo el ácido clorogénico (CGA),

cafestol y kahweol, los cuales han demostrado ejercer efectos biológicos y farmacológicos significativos en modelos experimentales relacionados con la salud humana (Açıklın et al., 2021; Tajik et al., 2017).

Los compuestos fenólicos presentes en el café poseen un alto potencial antioxidante, actuando como agentes neutralizantes de radicales libres y contribuyendo a la prevención de enfermedades degenerativas, cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer (De Paula & Farah, 2019). Desde los estudios pioneros de Farah & Donangelo (2006) hasta investigaciones más recientes como las de Wu et al. (2023), se ha documentado la presencia de concentraciones significativas de polifenoles en extractos de granos de café fermentados. Entre los compuestos más relevantes se encuentran el ácido feruloilquínico, el ácido dicafeoilquínico y diversas lactonas derivadas del ácido clorogénico. La composición cualitativa y cuantitativa de estos metabolitos bioactivos influye de forma sustancial en las propiedades organolépticas del café, afectando parámetros sensoriales como el sabor, el aroma y el amargor (Tan et al., 2023).

Por otro lado, con el objetivo de optimizar el contenido fenólico durante la fermentación, diversos estudios han evaluado el efecto de cepas de levaduras sobre la concentración de compuestos fenólicos totales en granos de café verde (Maskum et al., 2021). Haile y Kang (2019) reportaron un incremento de 0,76 a 0,90 mg GAE/mL tras la inoculación con levaduras del género *Saccharomyces* y *Saccharomycopsis*, mientras que Kwak et al. (2018) observaron un aumento aún más pronunciado, de 0,72 a 1,30 mg GAE/mL. Asimismo, el tiempo de fermentación se ha identificado como un factor crítico, evidenciándose que fermentaciones de 48 horas generan concentraciones más elevadas (0,90 mg GAE/mL) en comparación con aquellas de 24 horas (0,81 mg GAE/mL).

3 Antecedentes

La **Tabla 2** presenta una recopilación de estudios que ofrecen información sobre la fermentación del café utilizando diversos métodos y condiciones de proceso.

Tabla 2. Revisión del estado del arte sobre la fermentación del café.

Estudio	Condiciones de proceso	Resultados
Influencia de la inoculación de levaduras en la calidad del café fermentado (<i>Coffea arabica</i> var. <i>Mundo Novo</i>) procesado por procesos naturales y despulpados naturales (Bressani et al., 2021)	- Cultivos iniciadores: <i>M. caribbica</i>, <i>S. cerevisiae</i>, <i>C. parapsilosis</i> y <i>T. delbrueckii</i>. - Las cepas se cultivaron por separado en medio YEPG (20 g/L de glucosa, 10 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona de soja y pH 3,5, a 28 °C, se contaron en la cámara de Neubauer. -Cada tratamiento contenía 20 L de café natural (NAT) o natural despulpado (PN), y las cepas se inocularon por separado en cada procesamiento. -El procesamiento NAT consistió en la fermentación de frutos maduros de café en biorreactores estáticos de acero inoxidable. El procesamiento PN consistió en la remoción mecánica de la cáscara, pulpa y parte o todo el mucílago del fruto La fermentación duró 27 h, y el café se transfirió a terrazas suspendidas para su secado hasta alcanzar 11,5% de humedad.	Los tratamientos inoculados con <i>M. caribbica</i> y <i>C. parapsilosis</i> mostraron un comportamiento similar en el procesamiento de café natural, su población disminuyó hasta el final de la fermentación, mostrando diferencia significativa en ácidos cítrico, málico que están presentes en la fruta del café. No se detectaron ácidos lácticos, isobutírico e isovalérico al inicio de la fermentación. El ácido oxálico aumentó al final de la fermentación. Los granos de café inoculados mostraron mayores puntajes de dulzura y mayor complejidad y los cultivos iniciadores influyeron en los perfiles sensoriales a través de la síntesis de constituyentes volátiles específicos.
Fermentación de <i>Coffea canephora</i> inoculada con levaduras: Características microbiológicas, químicas y sensoriales (Silva et al., 2021)	- Frutos de café Conilon de variedad Robusta Tropical. - Cultivos iniciadores: <i>M. caribbica</i> y <i>P. kluyveri</i>, cultivados hasta alcanzar aproximadamente 10⁸ UFC/mL en 500 mL de caldo YPD, se centrifugó 2000 g durante 3 min y la biomasa de levadura se	Se observaron reducciones de 0,7 y 1,0 ciclos logarítmicos de los ciclos de hongos filamentosos, desde el inicio hasta el final de la fermentación, en las muestras inoculadas con <i>M. caribbica</i>

Fermentación de <i>Coffea canephora</i> inoculada con levaduras: Características microbiológicas, químicas y sensoriales (Silva et al., 2021)	suspendió en 225 mL de solución salina al 0,85 % (m/v). El recuento de levaduras del inóculo inicial se confirmó sembrando en agar YPD e incubando a 28 °C durante 5 días. - Los frutos de café fueron procesados por vía seca. Cada unidad experimental de frutos de café (5 kg) se inoculó por separado mediante aspersión de 225 mL de la suspensión de levadura.	Se detectaron ácidos acético, láctico, málico, oxálico y propiónico durante la fermentación del café de todos los tratamientos Las bacterias, levaduras y hongos están presentes durante el procesamiento del café y juegan un papel esencial en el desarrollo del sabor y el aroma del café. La población máxima de levaduras se alcanzó a las 48 h de fermentación, y su desarrollo fue fundamental para la fermentación del café porque ayudan a la despolimerización de las pectinas en el mucílago y la pulpa del café a través de la producción de pectinasas y celulasas
Microencapsulación de levaduras epífitas de café mediante secado por aspersión utilizando diferentes materiales de pared: Implementación en medio de café (Martins et al., 2022)	Cultivos iniciadores: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, <i>Torulaspora delbrueckii</i> aislados del <i>Coffea arabica</i> y <i>Meyerozyma caribbica</i> aislada del <i>Coffea canephora</i> Los aislados, almacenados a -80 °C, reactivados en líquido; melaza, cloruro de calcio, urea, polisorbato. Las levaduras se incubaron a 28 °C durante 48 h en un agitador orbital. Las células se recuperaron por centrifugación y se suspendieron en agua estéril	<i>M. caribbica</i> mostró ser más sensible al proceso de secado por aspersión, lo cual puede ocurrir porque la tolerancia de los microorganismos y la respuesta al estrés varían entre especies y cepas, durante la deshidratación y rehidratación de la levadura. La levadura <i>M. caribbica</i> no mostró diferencias significativas en los ácidos cítrico y málico. <i>M. Caribbica</i> micro encapsulada mostró una mayor producción de etanol y ácidos grasos.
Ácidos orgánicos producidos durante la fermentación y percepción sensorial en cafés especiales utilizando cultivos iniciadores de levadura (Bressani et al., 2020)	-Frutos de café de variedad Bourbon Amarelo y Canário Amarelo -Cultivos iniciadores:	Se presentaron diferentes ácidos orgánicos como; cítrico, málico, succínico, láctico, oxálico, isobutírico e isovalérico. Los tres primeros ácidos se presentaron en los comienzos de la fermentación, después de la

Ácidos orgánicos producidos durante la fermentación y percepción sensorial en cafés especiales utilizando cultivos iniciadores de levadura (Bressani et al., 2020)	<i>M. caribbica</i>, <i>S. cerevisiae</i>, <i>C. parapsilosis</i> y <i>T. delbrueckii</i>. Se reactivó en 5 mL de medio líquido YEPG (20 g/L de glucosa, 10 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona de soja y pH 3,5, a 28 °C, 100 rpm durante 24 h). Se procesaron 20 L de cerezas de café, inoculadas por separado con cada una de las cuatro cepas de levadura en recipientes de acero inoxidable. Se realizó la fermentación por aproximadamente 40 h, la temperatura varió de 15 a 27 °C para Canário Amarelo y de 18 a 28 °C para Bourbon Amarelo.	fermentación en todos los tratamientos se determinaron ácido cítrico y oxálico, compuestos volátiles que se encuentran predominantemente en la fermentación inicial del café. Los cafés con tratamiento con levaduras presentaron una acidez alta; <i>T. delbrueckii</i> tuvo una percepción de ácido málico, mientras que el tratamiento inoculado con <i>C. parapsilosis</i> presentó cuerpo denso. Los frutos rojos y los azúcares caramelizados fueron muy notorios en el tratamiento inoculado con <i>M. caribbica</i>. Características sensoriales como acidez alta, cuerpo y dulzor medio, ácido cítrico, final largo, azúcares caramelizados y frutas cítricas fueron notadas en <i>S. cerevisiae</i>.
Las levaduras previenen la contaminación por ocratoxina A en el café al desplazar al <i>Aspergillus carbonarius</i> (Souza et al., 2021)	Microorganismos: <i>Aspergillus carbonarius</i>, <i>Aspergillus ochraceus</i>. Cultivos iniciadores: <i>Candida guilliermondii</i>, <i>Candida parapsilosis</i>, <i>Candida krusei</i>, <i>Meyerozyma caribbica</i>, <i>Pichia guilliermondii</i>, <i>Pichia kluyveri</i> se realizaron experimentos <i>in vitro</i> para evaluar los mecanismos de control de levaduras a hongos y experimentos <i>in vivo</i> para probar las levaduras seleccionadas en la etapa anterior en frutos de café.	Ocho de las cepas analizadas produjeron compuestos orgánicos volátiles inhibidores de <i>Aspergillus ochraceus</i> y siete de <i>A. carbonarius</i>. Las pertenecientes a <i>Saccharomyces</i> spp produjeron compuestos orgánicos volátiles que obstaculizaron la producción de esporas y el crecimiento micelial de esos patógenos vegetales. Las cepas de <i>S. cerevisiae</i> fueron las más eficientes para inhibir hongos ocratoxigénicos <i>in vitro</i>. Las cepas de <i>S. cerevisiae</i> mostraron una eficiencia similar en ensayos de biocontrol <i>in vivo</i>, incluida la reducción de ocratoxina A <i>cerevisiae</i> al final del período de secado

4 Problema de investigación

El café es un producto agrícola de alta relevancia global, no solo por su amplio consumo, sino también por su papel fundamental en las economías de países productores como Colombia. A pesar de su importancia en el comercio internacional, los caficultores enfrentan serias dificultades asociadas a la volatilidad del mercado y al cumplimiento de estándares de calidad. Según la Organización Internacional del Café (ICO, 2021), esta inestabilidad económica se debe en gran parte a la fluctuación de precios, influenciada por factores externos como la tasa representativa del mercado (TRM), el diferencial y las cotizaciones bursátiles. Esta situación ha generado una marcada disparidad en la valorización comercial: mientras el café convencional se cotiza en torno a US\$ 2,5/kg, los cafés de especialidad, con atributos sensoriales superiores y trazabilidad certificada, pueden alcanzar hasta US\$ 20/kg en mercados diferenciados (Magalhães Júnior et al., 2021).

La producción de café de especialidad ofrece a los caficultores la posibilidad de mejorar significativamente sus ingresos; sin embargo, este proceso exige un manejo riguroso de múltiples etapas, entre las cuales la fermentación es crítica. Esta transformación bioquímica favorece el desarrollo de compuestos volátiles que definen el perfil sensorial del café (Cruz-O'Byrne et al., 2023). No obstante, la falta de estandarización en sus parámetros puede derivar en la formación de metabolitos indeseables como los ácidos butírico y propiónico e incluso micotoxinas, comprometiendo tanto la calidad como la inocuidad del producto final (De Carvalho Neto et al., 2018; Evangelista et al., 2014).

En el contexto colombiano, algunas unidades productivas han adoptado cultivos iniciadores en formulación líquida como estrategia para estandarizar la fermentación del café. Aunque

esta práctica muestra un potencial significativo, enfrenta limitaciones asociadas a la conservación, principalmente por el riesgo de contaminación microbiológica y la pérdida de viabilidad de los microorganismos funcionales (Martins et al., 2022). Estas deficiencias comprometen tanto la inocuidad alimentaria como el cumplimiento de los exigentes estándares de calidad del mercado internacional (Lessa da Silva et al., 2021).

5 Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto del microorganismo iniciador aislado del café y microencapsulado (*Meyerozyma caribbica*) sobre la calidad de café en taza producido por beneficio vía seca?

6 Justificación

Colombia cuenta con reconocimiento internacional por la calidad de su café; sin embargo, gran parte de su producción continúa comercializándose como un commodity, expuesto a las fluctuaciones del mercado global. En este contexto, la calidad sensorial del grano se posiciona como un criterio estratégico para acceder a mercados especializados que ofrecen mayores márgenes de rentabilidad. La Specialty Coffee Association (SCA) ha establecido protocolos estandarizados para la evaluación sensorial, facilitando procesos de comercialización más justos y orientados por atributos objetivos de calidad. De acuerdo con el Center for the Promotion of Imports from developing countries (CBI, 2020), los cafés especiales pueden alcanzar valores hasta ocho veces superiores a los del café convencional negociado en mercados bursátiles.

El proceso fermentativo representa una etapa crítica en la producción de cafés diferenciados, dado que durante esta fase se generan compuestos químicos directamente asociados con

perfiles sensoriales de alta calidad (Vale et al., 2023). Diversos estudios han demostrado que la inoculación con cepas específicas de bacterias y levaduras permite potenciar características organolépticas deseables y reducir la proliferación de hongos (Cruz-O'Byrne et al., 2023). En particular, *Meyerozyma caribbica* ha mostrado propiedades pectinolíticas destacables, facilitando la degradación del mucílago y la producción de precursores aromáticos clave (Carvalho Ferreira et al., 2023). Además, su acción competitiva contribuye a la inhibición de hongos patógenos, reduciendo así el riesgo de formación de micotoxinas (Mahmudiono et al., 2023).

No obstante, la viabilidad de estos microorganismos funcionales puede verse comprometida por las condiciones de almacenamiento, especialmente en formulaciones líquidas. En este sentido, la microencapsulación se presenta como una tecnología promisoría para preservar la estabilidad y funcionalidad de los cultivos iniciadores bajo condiciones adversas (Martins et al., 2022).

El presente proyecto tiene como objetivo desarrollar metodologías de beneficio optimizadas, basadas en procesos fermentativos pseudocontrolados, que permitan a productores diversificados mejorar la calidad sensorial de su café y posicionarse en mercados de café especial. En síntesis, esta propuesta busca fortalecer la competitividad del café colombiano mediante la implementación de estrategias biotecnológicas aplicables en entornos productivos reales.

7 Hipótesis

Hipótesis nula

El uso de la levadura *Meyerozyma caribbica* como inóculo iniciador en condiciones controlados de fermentación del grano no incrementará la calidad de café en taza e inhibirá el crecimiento de patógenos y productores de micotoxinas

Hipótesis alterna

El uso de la levadura *Meyerozyma Caribbica* como inóculo iniciador en condiciones controladas de fermentación del grano incrementará la calidad de café en taza e inhibirá el crecimiento de patógenos y productores de micotoxinas.

8 Objetivos

8.1 Objetivo general

Evaluar el proceso de fermentación controlada de café producido por beneficio vía seca y sin despulpar utilizando como cultivo iniciador la levadura *Meyerozyma caribbica* microencapsulada sobre la calidad del café.

8.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto del uso de la levadura *Meyerozyma caribbica* sobre los parámetros microbiológicos, fisicoquímicos, y sensoriales del café procesado mediante beneficio seco, sin etapa de despulpado.

Investigar la influencia del inóculo microencapsulado de *Meyerozyma caribbica* en la inhibición de hongos productores de ocratoxina A, así como en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del café.

9 Materiales y métodos

9.1 Adecuación de materia prima

Las cerezas de café (*Coffea arabica* var. Colombia) fueron recolectadas a una altitud de 1557 m s.n.m., en el municipio de Morales, Cauca (Colombia). Durante la cosecha, se realizó una selección manual basada en criterios de madurez fisiológica, descartando frutos verdes, sobremaduros o con defectos visuales. Posteriormente, los frutos seleccionados fueron lavados con abundante agua potable, con el fin de reducir la carga microbiana superficial adherida al exocarpio.

9.2 Microencapsulación de la levadura para el proceso de fermentación

Se emplearon los siguientes materiales: almidón de yuca de la variedad waxy (Ingredion Colombia S.A), alginato de sodio (con D-manurónico y L-gulurónico, con peso molecular de entre 80.000 – 120.000 g/mol) (Sigma-Aldrich) (Steinhein, Alemania), y cloruro de calcio (Agenquímicos) (Cali, Colombia), exopolisacárido producido por la bacteria *Weissella confusa* aislada del jugo de caña de azúcar (Gonzales, 2017), depositada en la colección del laboratorio MIBIA. El microorganismo encapsulado fue *Meyerozyma caribbica*, aislada y seleccionada de procesos fermentativos de café, y suministrada por la colección de cepas del laboratorio MIBIA de la Universidad del Valle.

9.3 Elaboración del microencapsulado

Se siguió la metodología descrita por Briceño-Vélez (2020), basada en la modificación del método de extrusión propuesto por Davarcı et al. (2017) y Shaharuddin y Muhamad (2015). Las cepas de levadura fueron activadas en medio MIBIA, medio desarrollado por el grupo de investigación MIBIA, preparado con 22,24 g de azúcar, 21,53 g de leche de soya, 19,41 g de suero de leche, 6 g de agar y 300 mL de agua por cada 15 mL de inóculo, incubado a 35 °C durante 20 horas. Posteriormente, el cultivo fue centrifugado a 4000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante fue retirado y el sedimento celular (botón) fue lavado con peptona al 0,1 %, hasta obtener suspensiones celulares con una concentración aproximada de 9 log UFC/mL, determinada por la escala MacFarland (Oxoid, 2020).

Por otro lado, el almidón de maíz, el exopolisacárido (EPS) y el alginato de sodio fueron esterilizados en autoclave (Market Forget STM-EL, USA) a 121 °C durante 15 minutos. Luego, las soluciones de almidón, EPS y alginato de sodio se mezclaron con 10 mL de la suspensión celular activa en una plancha de agitación (Benchmark, H3760-H, USA). Las mezclas resultantes fueron sometidas a un proceso de aspersión utilizando un sistema de atomización (Discover LN-I; mini compresor Discover TC-06, USA) con una boquilla de 0,5 mm de diámetro, y recolectadas en una solución estéril de cloruro de calcio (CaCl_2) 0,1 M, utilizada como agente de reticulación. Tras 15 minutos de gelificación, el material fue centrifugado a 4000 rpm durante 10 minutos y posteriormente secado en un horno de convección natural a 40 °C durante 3 horas. Finalmente, el material seco fue molido y envasado para su uso posterior como inóculo iniciador. En la **Figura 2**, se muestra el procedimiento para la microencapsulación.

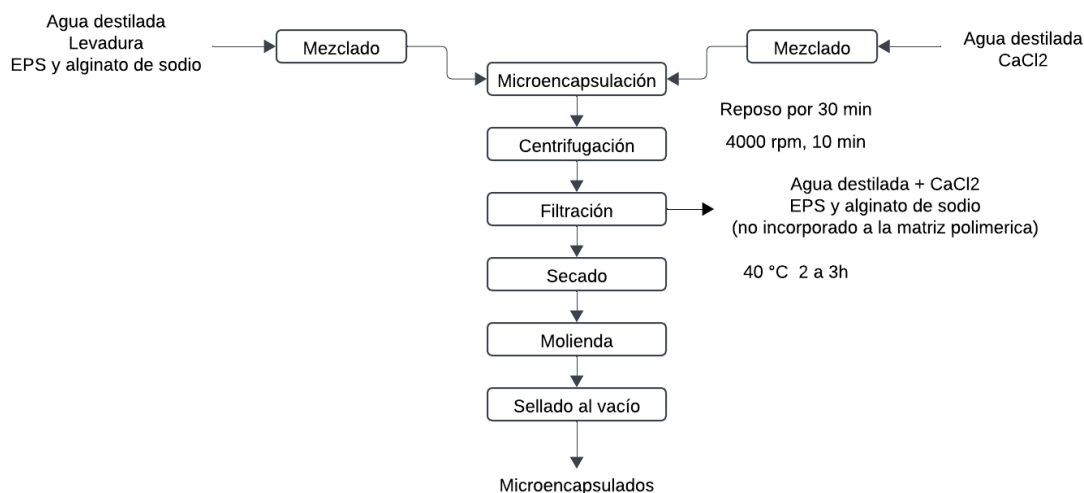


Figura 2. Método de microencapsulación. Fuente: Briceño-Vélez (2020).

9.4 Viabilidad del microencapsulado

Se determinó la viabilidad de la levadura *Meyerozyma caribbica* microencapsulada mediante la activación de 1 g de muestra en polvo en 9 mL de agua peptonada, seguida de agitación en vórtex para obtener una suspensión homogénea. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas transfiriendo 1 mL de la mezcla a tubos de ensayo con diluyente estéril, hasta alcanzar la sexta dilución. De las tres últimas diluciones, se tomaron 100 µL para sembrar en placas con medio de cultivo Extracto de Malta Agar, las cuales se incubaron a 37,5 °C durante 48 horas en incubadora Kryoven.

9.5 Caracterización microbiológica de la materia prima inicial

El análisis microbiológico de las cerezas de café se realizó conforme a las metodologías establecidas en las Normas Técnicas Colombianas (NTC) 4519, 4516 y 4132, correspondientes al recuento de coliformes totales, bacterias mesófilas y hongos,

respectivamente. Para la preparación de la muestra, se pesó 1 g de cereza y se transfirió a una bolsa estéril con 9 mL de agua peptonada. La mezcla fue homogeneizada en un Stomacher HETTICH, modelo Rotofix 32. A partir de esta dilución inicial (10^{-1}), se prepararon diluciones seriadas decimales hasta 10^{-5} , transfiriendo 1 mL de la dilución previa a un tubo con 9 mL de diluyente estéril, según el protocolo descrito por Samaniego (2019).

9.5.1 Recuento de mesófilos

Para el recuento mesófilos se emplearon diluciones comprendidas entre 10^{-3} y 10^{-5} , utilizando la técnica de siembra en superficie mediante perlas de vidrio. De cada dilución, se inocularon 1 mL por triplicado en placas de Petri con medio Plate Count Agar (PCA). Tras incubar a 37 °C durante 48 horas, se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) en cada placa. El recuento final (UFC/mL) se determinó considerando las placas con colonias entre 30 y 300. (Samaniego, 2019).

9.5.2 Recuento de levaduras y hongos

Se emplearon las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} para la siembra por esparcimiento en superficie con perlas de vidrio. De cada dilución, se inoculó 0,1 mL por triplicado en placas con medio Agar Potato Dextrose dextrosa (PDA), las cuales fueron incubadas a 37 °C durante 72 horas en incubadora Kryoven. Finalmente, se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) y se calculó la concentración microbiana (UFC/mL) según los criterios de Samaniego (2019).

9.5.3 Prueba presuntiva para coliformes totales (NMP)

Para el ensayo se emplearon diluciones de 10^{-1} a 10^{-3} en caldo lauril sulfato de sodio, utilizando tres tubos por dilución. Inicialmente, se homogenizó la muestra en una bolsa estéril con 9 mL de agua peptonada mediante Stomacher (Intersciencie/minimix®PCC® 100). Posteriormente, se transfirió 1 mL de esta suspensión (dilución 10^{-1}) a un tubo con 9 mL de diluyente para obtener la dilución 10^{-2} . Este proceso se repitió secuencialmente hasta alcanzar la dilución 10^{-3} . Todos los tubos se incubaron a 37 °C durante 48 horas. Finalmente, se registró la producción de gas mediante desplazamiento en los tubos Durham, evaluándose cada dilución en triplicado y verificándose en la tabla de número más probable (NMP).

9.5.4 Prueba confirmativa para coliformes totales

En los tubos que presentaron producción de gas, se tomó una alícuota para la siembra en medio EMB (Eosina Azul de Metileno). Posteriormente, se añadieron gotas de reactivo de Kovacs en los tubos con producción de gas. Tras una agitación suave para homogeneizar, se interpretó como resultado presuntivamente positivo para *E.coli* por la formación de indol, con la formación de un anillo rojo en la superficie, e interpretado como negativo la ausencia de cambio de color. Las colonias que se desarrollan en el medio EMB serían interpretadas como positivas si se presentan un verde metálico brillante.

9.6 Diseño experimental y parámetros para estudio del café mediante el proceso de fermentación por beneficio vía seca

9.6.1 Prueba preliminar

Previamente, se llevó a cabo una prueba preliminar con el objetivo de validar tanto las concentraciones de inóculo como los tiempos de fermentación predeterminados. Esta etapa permitió seleccionar los niveles más adecuados para ser evaluados en el diseño experimental principal, asegurando la viabilidad y coherencia del proceso fermentativo.

9.6.2 Diseño experimental

Se empleó un diseño factorial que consideró dos factores: la concentración de inóculo, con cuatro niveles (0%, 3%, 5% y 8%), y el tiempo de fermentación, con dos niveles (48 y 72 horas). Cada combinación experimental fue evaluada por triplicado. Para determinar la influencia significativa de la interacción factorial y de los factores de manera individual, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), estableciendo un nivel de significancia de $p < 0,05$. Las diferencias significativas entre tratamientos se analizaron mediante la prueba post-ANOVA de Tukey. Los análisis estadísticos se ejecutaron en el software Minitab V19.

Tabla 3. Diseño experimental para el proceso de fermentación de café mediante el beneficio vía seca.

Variables de procesos	Niveles	Variables de respuesta
Concentración inóculo (%P/P)	0	Sólidos solubles totales
	3	Azúcares totales y reductores
	5	pH
	8	Acidez titulable
Tiempo de fermentación (h)	48	Análisis microbiológico y sensorial
	72	

9.7 Fermentación del café

La fermentación del café se inició mediante la inoculación de levadura microencapsulada *Meyerozyma caribbica*, conforme a las concentraciones definidas en el diseño experimental (sección 9.6). Como se muestra en la **Figura 3**, los granos previamente seleccionados se transfirieron a biorreactores plásticos de 1 L, a los cuales se adicionó aproximadamente 300 mL de agua destilada para cubrir ligeramente las cerezas, con el fin de facilitar la activación y liberación del microorganismo iniciador. Posteriormente, los biorreactores se cerraron parcialmente e incubaron a 35 °C durante el tiempo de fermentación correspondiente a cada tratamiento, en triplicado. Posteriormente, los granos fueron sometidos a secado convectivo en horno a 37 °C durante tres días consecutivos, hasta alcanzar un contenido de humedad del 11 % y una actividad de agua de 0,55.



Figura 3. Tratamientos del diseño experimental sometidos a fermentación.

9.7.1 Parámetros microbiológicos

Se evaluó la dinámica microbiológica del café durante el proceso de fermentación mediante la aplicación de diluciones seriadas y siembra en medios de cultivo selectivos. Las muestras fueron procesadas para identificar y cuantificar los principales grupos microbianos presentes.

9.7.1.1 Recuento de colonias (bacterias ácido-lácticas, entéricas, hongos y levaduras)

Una vez preparadas las diluciones seriadas hasta alcanzar 10^{-6} , siguiendo los pasos indicados en el ítem 9.5, se tomaron 100 μL de las tres últimas diluciones para su siembra en distintos medios de cultivo: MRS con azul de anilina (para bacterias ácido-lácticas), VRB (para bacterias entéricas), PDA (para hongos) y Extracto de Malta Agar (para levaduras). Finalmente, las placas se incubaron a $37,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Kryoven) durante 48 horas para bacterias y 60 horas para hongos y levaduras.

9.7.1.2 Prueba presuntiva coliformes totales (NMP) y confirmativa para coliformes fecales

Se tomó una alícuota de 1 mL de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , las cuales se inocularon por separado en tubos de 9 mL con caldo lauril sulfato de sodio y a su interior, la campana de Durham con el fin de verificar la producción de gas. Los tubos fueron incubados a $37,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas (Kryoven). Transcurrido este tiempo, aquellos tubos que presentaron formación de gas (presencia de burbuja en la campana) fueron sometidos a la prueba del indol. Para ello, se adicionó el reactivo de Kovacs a cada tubo con el objetivo de confirmar la presencia de *Escherichia coli*. La formación de un anillo de color rojo fue interpretada como resultado positivo, mientras que su ausencia fue considerada como resultado negativo.

9.7.1.3 Cinética de crecimiento (*Meyerozyma caribbica*)

Se realizaron muestreos a las 0, 12, 24, 30, 36, 48, 60 y 72 horas. A partir de cada muestra se prepararon diluciones seriadas decimales, utilizando como rango las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y

10⁻⁵. La siembra se llevó a cabo mediante esparcimiento en superficie, empleando perlas de vidrio estériles para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

Se inocularon 0,1 mL por triplicado en placas Petri que contenían medio agar de malta. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 72 horas en una incubadora marca Kryoven. Finalizado el periodo de incubación, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y se calculó la concentración microbiana, expresada en UFC/mL, conforme a los criterios propuestos por Samaniego (2019).

9.7.2 Parámetros fisicoquímicos

9.7.2.1 Humedad

La determinación del contenido de humedad se realizó mediante el método gravimétrico descrito por la AOAC 930.15, también conocido como método de pérdida por secado (LOD, por sus siglas en inglés). Para ello, se utilizó una termobalanza OHAUS MB 23, operada a 105 °C durante un período de 16 horas.

9.7.2.2 Determinación del pH

Se tomaron 10 mL del licor de café homogenizado para medir su pH con un pH-metro (Orion, 710-A), previamente calibrado con soluciones patrón de pH 4, 7 y 10, a una temperatura de 25 °C. Las mediciones se realizaron por triplicado.

9.7.2.3 Determinación de azúcares reductores y totales

La cuantificación de azúcares reductores se realizó mediante el método de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), según la metodología descrita por Miller. Este procedimiento se

fundamenta en la capacidad de los grupos aldehído presentes en los azúcares reductores para reducir el DNS, formando un complejo de color rojo anaranjado cuya absorbancia se midió a 540 nm. La concentración de azúcares se determinó a partir de una curva de calibración construida con soluciones estándar de glucosa, obteniéndose una relación lineal entre absorbancia y concentración ($R^2 = 0,999$). Por otro lado, la determinación de azúcares totales se llevó a cabo utilizando el reactivo de Antrona, el cual reacciona con los carbohidratos presentes en un medio ácido bajo condiciones de calentamiento, dando lugar a la formación de un complejo coloreado de tonalidad azul verdosa. La intensidad del color desarrollado, proporcional a la concentración de carbohidratos, fue cuantificada mediante espectrofotometría a 620 nm. La concentración total de azúcares fue estimada a partir de una curva de calibración obtenida con soluciones estándar de glucosa, mostrando un ajuste lineal con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0,999$.

9.7.2.4 Determinación de acidez titulable

La acidez titulable se determinó según lo establecido en la norma NTC 4623 (ICONTEC, 1999). Se utilizó una muestra de 50 mL del líquido fermentativo, a la cual se adicionaron 0,5 mL de fenolftaleína como indicador. La titulación se llevó a cabo con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M, hasta observar una coloración rosada persistente durante al menos 30 segundos, bajo agitación constante. Los resultados se expresaron como miliequivalentes de ácido acético por litro.

9.7.2.5 Determinación de sólidos solubles totales

La determinación de los sólidos solubles totales se efectuó mediante un refractómetro digital (PCE Instruments, modelo PCE-DR, Hochsauerland, Alemania), previamente calibrado con

agua destilada. Utilizando un pipeta Pasteur, se aplicó una alícuota representativa de las muestras líquidas sobre el prisma del equipo, y las lecturas se obtuvieron directamente en unidades de grados Brix (°Brix).

9.8 Prueba de escalamiento

El tratamiento que presentó el mejor desempeño fisicoquímico y microbiológico fue escalado a un sistema de fermentación controlada, conformado por un fermentador hermético con capacidad de 70 litros y un módulo externo con control de temperatura, agitación, aireación, suministro de líquidos y luz UV. El sistema, diseñado por CubaBIOTEC, se muestra en la **Figura 4**. Para este ensayo se utilizaron 20 kg de café en cereza (*Coffea arabica*, variedad Castillo), previamente seleccionado y lavado.



Figura 4. Sistema de fermentación controlada.

Una vez finalizado el proceso de fermentación, y tras el periodo de secado y trillado previamente descrito, el café verde fue sometido a análisis fisicoquímicos complementarios con el objetivo de evaluar su calidad. Estos análisis permitieron investigar la influencia del

inóculo microencapsulado de *Meyerozyma caribbica* en la inhibición de hongos productores de ocratoxina A, así como en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del café.

9.8.1 Determinación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales se realizó mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Se preparó una solución madre de ácido gálico (0,5 mg/mL) a partir de la cual se elaboró una curva de calibración con concentraciones entre 20 y 300 µg. Para cada punto de la curva, se mezclaron 100 µL de la solución estándar con 400 µL de carbonato de sodio 0,07 N; la mezcla se dejó reaccionar durante 7 minutos. Posteriormente, se adicionaron 500 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó en vórtex y se incubó en oscuridad durante 2 horas. La absorbancia se midió a 760 nm y se construyó una curva de calibración ($Y = 0,099X - 0,1396$). Para las muestras, el extracto fue diluido 1:5 y se siguió el mismo procedimiento descrito para los estándares. Se incluyó un blanco de reactivos, preparado con la solución extractora en lugar del extracto, para corregir posibles interferencias.

9.8.2 Capacidad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó mediante dos metodologías complementarias, las cuales permitieron una caracterización integral de esta variable de interés.

9.8.2.1 Método ABTS

Para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS, se empleó una técnica espectrofotométrica basada en la estabilización del radical catión ABTS⁺. El

procedimiento consistió en preparar una solución madre de ABTS a una concentración de 7 mM, la cual se dejó reaccionar durante 16 horas en oscuridad. Posteriormente, se diluyó 1 mL de esta solución en 40 mL de etanol y se ajustó la absorbancia a 0.7 ± 0.02 a 734 nm. Paralelamente, se preparó una curva de calibración utilizando soluciones de Trolox en un rango de 20 a 250 μ M. Para ello, se mezclaron 50 μ L de cada concentración con 950 μ L de la solución de ABTS ajustada, se agitó la mezcla durante 30 segundos y se dejó reaccionar en oscuridad durante 7 minutos antes de realizar la lectura espectrofotométrica a 734 nm. A partir de estos datos, se obtuvo la ecuación de calibración: $Y = 0.2767x + 14.496$.

Para el análisis de las muestras, se tomaron 50 μ L del extracto diluido (1:40), los cuales se mezclaron con 950 μ L de la solución de ABTS ajustada, siguiendo el mismo procedimiento empleado en la curva de calibración. Se incluyó un blanco de reactivos utilizando la solución extractora sin muestra. El porcentaje de inhibición obtenido se interpoló en la curva de calibración y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox.

9.8.2.2 Método DPPH

La determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH se basó en una técnica espectrofotométrica orientada a medir la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). El procedimiento consistió en la preparación de una solución madre de DPPH a 0,25 mM (9,9 mg en 100 mL de metanol), la cual fue agitada en un baño ultrasónico. A partir de esta, se preparó una solución de trabajo a 0,05 mM (7–9 mL de la solución madre en 25 mL de metanol), ajustada a una absorbancia de $0,700 \pm 0,02$ a 517 nm. Paralelamente, se elaboró una curva de calibración utilizando una solución de Trolox (3,19 mM) en concentraciones comprendidas entre 0,02 y 15 mg. Para ello, se mezclaron 50 μ L de cada concentración con 950 μ L de la solución de DPPH ajustada,

se agitó la mezcla durante 30 segundos y se dejó reaccionar durante 30 minutos en oscuridad antes de realizar la lectura a 517 nm. A partir de los datos obtenidos, se construyó la ecuación de calibración: $Y = 717,51X - 5,121$.

Para el análisis de muestras, se tomaron 50 µL de la dilución 1:40 del extracto y se mezclaron con 950 µL de la solución de DPPH ajustada, siguiendo el mismo procedimiento utilizado en la curva de calibración. Se incluyó un blanco de reactivos utilizando la solución extractora sin muestra. El porcentaje de inhibición calculado se interpoló en la curva de calibración y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox.

9.8.3 Determinación de ocratoxina A

Se realizó la cuantificación de ocratoxina A como indicador de la inocuidad del café, siguiendo el método descrito por Guamán Collaguazo et al. (2018), mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). El análisis fue llevado a cabo en un laboratorio acreditado bajo la norma ISO/IEC 17025 (SynLab), garantizando la trazabilidad y confiabilidad de los resultados obtenidos.

9.8.4 Análisis sensorial

La empresa *La Taza de Juan S.A.S.*, ubicada en Sevilla, Valle del Cauca, fue el ente responsable de la catación del café, con análisis sensoriales a cargo del catador certificado Q Grader Juan Sebastián Gómez Ocampo, en donde la muestra se sometió a una tostión media, molienda media fina, garantizando el cumplimiento del protocolo propuesto por la asociación americana de café especial (SCA, 2017). Durante la catación, se evaluaron atributos como fragancia/aroma, sabor, acidez, cuerpo y balance.

10 Resultados y discusión

10.1 Viabilidad del microencapsulado (ME)

La **Figura 5** presenta la evaluación de la viabilidad de *Meyerozyma caribbica* cultivada en medio Malta-Agar, en donde se cuantificó el crecimiento de las unidades formadoras de colonia (UFC).



Figura 5. Evaluación de la viabilidad de *Meyerozyma caribbica* en medio Malta Agar mediante recuento de colonias en dilución 10^{-6} .

La concentración inicial y la viabilidad del inóculo iniciador *Meyerozyma caribbica* constituyen factores clave en el control del proceso fermentativo, dado que la cantidad de células vivas presentes incide directamente en la dinámica microbiana y en la eficiencia de la fermentación (Enciso Molano, 2019). Siedler et al. (2020) destacan que la presencia de concentraciones elevadas y sostenidas del inóculo a lo largo del tiempo favorece la exclusión competitiva y limita el crecimiento de microorganismos indeseables durante la fermentación. Júnior et al. (2020) destacan que la presencia de concentraciones elevadas y sostenidas del inóculo a lo largo del tiempo favorece la exclusión competitiva y limita el crecimiento de microorganismos indeseables durante la fermentación.

La viabilidad del inóculo *Meyerozyma c.* fue de $3,8 \times 10^8$ UFC/mL, un valor comparable al reportado por Martins et al. (2022), quienes, en su estudio sobre la microencapsulación de levaduras mediante secado por aspersión para su aplicación en medios fermentativos a base de café, emplearon inóculos con viabilidades del orden de 10^7 UFC/mL, destacando que una alta concentración inicial no solo optimiza la velocidad de fermentación, sino que también mejora la reproducibilidad del proceso y facilita su escalamiento.

10.2 Análisis microbiológico de café inicial

De acuerdo con Mercedes y Amorocho (2022), los frutos de café constituyen el principal sustrato para el crecimiento de levaduras, bacterias y hongos filamentosos, cuya composición microbiana está determinada por una variedad de factores que incluyen características intrínsecas del grano, condiciones ambientales y aspectos relacionados con el entorno y la manipulación postcosecha. En la **Figura 6** se presentan las placas correspondientes al análisis microbiológico del café inicial, utilizando distintos medios de cultivo: MRS con azul de anilina para bacterias ácido-lácticas (BAL), PCA para bacterias mesófilas aerobias, agar Malta para levaduras y hongos, y MacConkey para enterobacterias.

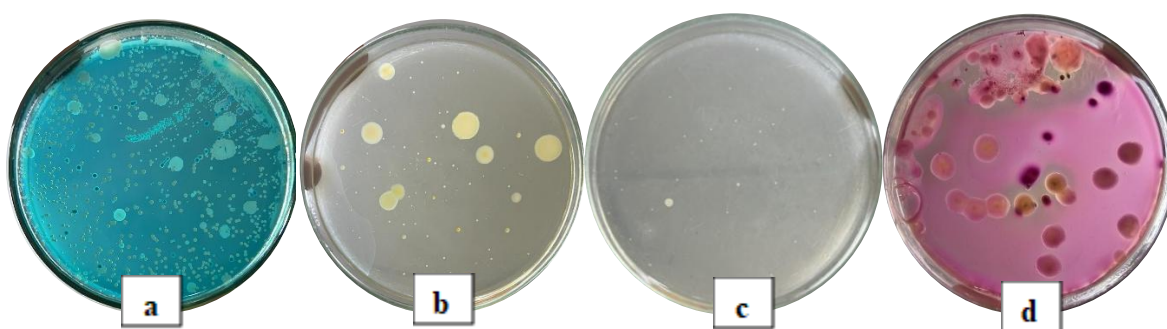


Figura 6. Colonias del café inicial, **a.** MRS con azul de anilina para bacterias ácido-lácticas (BAL), **b.** PCA para microorganismos mesófilos, **c.** Malta Agar para levaduras y hongos, **d.** MacConkey para enterobacterias.

El café de variedad Castillo empleado en la presente investigación fue sometido a una clasificación y selección manual por estado de madurez, descartando aquellos sobre frutos sobremaduros, verdes o con daños. Posteriormente se realizó un lavado con agua potable. La carga microbiana inicial para mesófilos, enterobacterias, levaduras y bacterias lácticas fue de $2,9 \times 10^6$ UFC/mL, $2,0 \times 10^6$ UFC/mL, $3,0 \times 10^6$ UFC/mL y $2,0 \times 10^6$ UFC/mL respectivamente. Resultados consistentes a los reportados por Sánchez-Riaño et al. (2024) quienes evaluaron la carga microbiana de la pulpa de café después del despulpado reportando así valores de $1,1 \times 10^6$ UFC/g para bacterias mesófilas, $1,8 \times 10^5$ UFC/g para hongos y levaduras; adicionalmente el estudio realizado por Li et al., (2025) en el cual se observó el análisis microbiológico del café después de la recolección y selección de la cereza mostró resultados de concentraciones de levaduras con una cuantificación de 10^3 UFC/g.

La ausencia de hongos en los medios de cultivo observada en el presente estudio podría atribuirse a la aplicación de buenas prácticas agrícolas, higiénicas y de manipulación durante la cosecha. Estudios como el de Sánchez-Riaño et al. (2024) han demostrado que la sanitización del café cereza con agua potable, combinada con una selección previa por densidad, favorece la estabilidad del proceso fermentativo sin alterar significativamente la microbiota inicial, ya que este procedimiento permite eliminar impurezas, residuos superficiales y granos defectuosos, contribuyendo a un mayor control del proceso. Adicionalmente, investigaciones como la de Díaz et al. (2018) han demostrado que una adecuada higienización y control de humedad del café durante la etapa de cosecha es un factor influyente en la reducción de contaminación por Ocratoxina A, un compuesto que está directamente relacionado con el crecimiento y actividad metabólica de los hongos.

En relación con la prueba presuntiva de coliformes, se obtuvo un NPM > 1100 , confirmando la presencia de coliformes totales. Estos hallazgos concuerdan con los reportados por Blandón Castaño et al. (1999) en muestras de pulpa, lo que sugiere que la carga microbiana en el café y sus subproductos sigue un patrón similar. Tal como señalan Moreno et al. (2020), el café, una vez cosechado, presenta una carga microbiana considerable, constituida por microorganismos que conducen el proceso fermentativo.

Por otro lado, las muestras con resultado positivo con producción de gas se sometieron a la prueba confirmativa del indol con reactivo de Kovacs sugiriendo la presencia de *Escherichia coli* en el café inicial (**Figura 7**). En la **Figura 8**, se muestra la resiembra en medio EMB con colonias desarrolladas y diferenciadas para las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} . En la dilución 10^{-1} se identificaron colonias con brillo verde metálico, característico de bacterias con alta eficiencia en la fermentación de lactosa, como *E. coli*, cuya actividad genera una marcada acidificación del medio (Carranza et al., 2012), mientras que en la dilución 10^{-2} se evidenciaron colonias de tonalidad vino-tinto, posiblemente correspondientes a otras enterobacterias que fermentan lactosa de forma más lenta (Lal y Cheeptham, 2007).



Figura 7. Resultado positivo para coliformes con formación de anillo rojo en tubos con caldo lauril sulfato de sodio.



Figura 8. Prueba confirmativa para *E. coli*, resiembra en medio EMB 10^{-1} y 10^{-2} .

10.3 Diseño experimental y pruebas preliminares a escala de laboratorio

A continuación, se presentan los p-valores obtenidos del análisis de varianza con nivel de confianza del 95%, correspondiente a la evaluación del efecto del tiempo de fermentación, la concentración del inóculo y su interacción, sobre las variables de respuesta consideradas en el estudio.

Tabla 4. Significancia estadística de los efectos del tiempo de fermentación, concentración de inóculo e interacción, sobre las variables de respuesta del diseño factorial.

Variables de respuesta	Modelo	Lineal	Tiempo de fermentación (h)	Concentración inóculo (%p/p)	Interacción factorial
Acidez titulable	0,000	0,000	0,000	0,064	0,000
Azúcares reductores	0,000	0,000	0,004	0,000	0,130
Azúcares totales	0,000	0,000	0,000	0,003	0,046
pH	0,000	0,000	0,000	0,503	0,000
Sólidos solubles	0,000	0,000	0,728	0,001	0,003
Levaduras	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Bacterias lácticas	0,016	0,007	0,001	0,190	0,228
Bacterias mesófilas	0,021	0,009	0,010	0,037	0,277
Enterobacterias	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Con el objetivo de determinar los tiempos óptimos de fermentación, se realizaron ensayos preliminares en los que se evaluaron cuatro niveles del factor en estudio (Figura 10). Durante estos ensayos, se monitoreó la evolución del pH y los sólidos solubles a lo largo del proceso fermentativo, parámetros que permitieron identificar tendencias clave en la dinámica de la fermentación. Estas tendencias, representadas en las **Figura 9**, sirvieron como base para el establecimiento del objetivo experimental planteado.

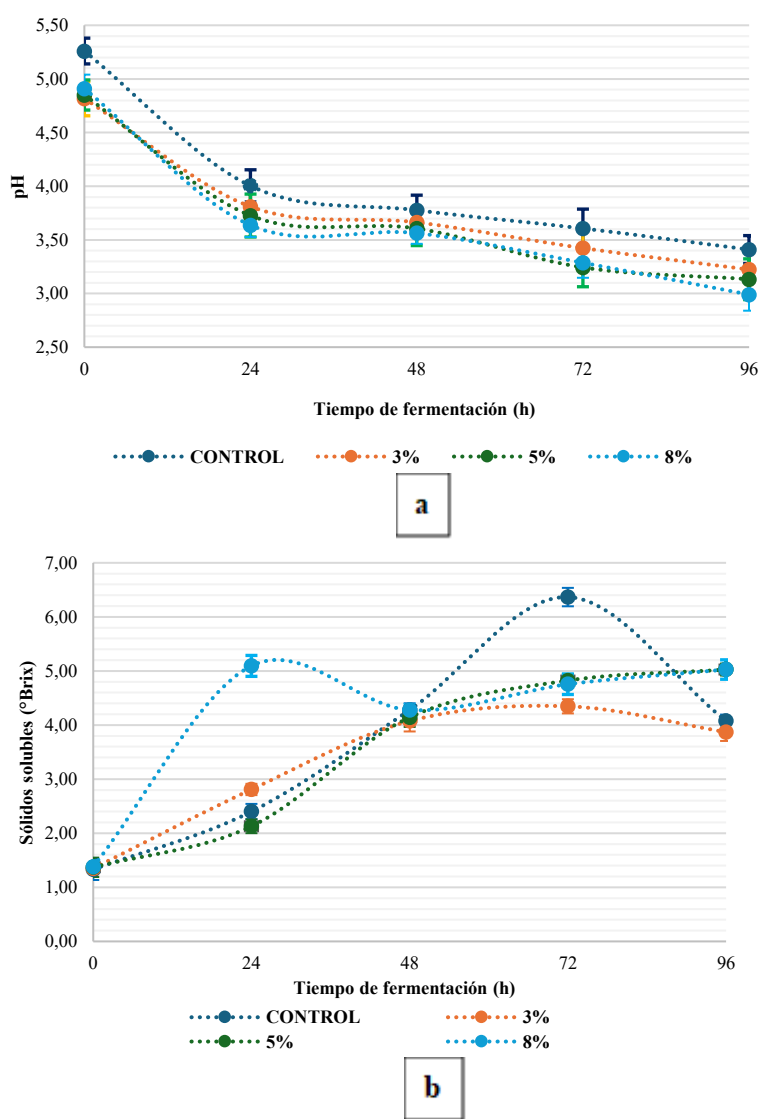


Figura 9. Evolución del a. pH y de los b. sólidos solubles (°Brix) a diferentes tiempos de fermentación y a distintas concentraciones de inóculo.



Figura 10. Tratamientos preliminares a escala de laboratorio sometidos a fermentación.

La evaluación de los sólidos solubles representada en la **Figura 9**, indicó que un periodo de fermentación de 24 horas resulta insuficiente, dado que el bajo contenido en la variable refleja un aprovechamiento limitado de los azúcares presentes tanto en la pulpa como en el mucílago de la cereza, restringiendo así la formación de metabolitos de interés (Puerta, 2013). Del mismo modo, la extensión del proceso hasta las 96 horas provocó una caída pronunciada del pH, superando los umbrales reportados por Puerta (2013), comprometiendo el perfil sensorial de la bebida.

En contraste, durante los periodos de fermentación de 48 y 72 horas se observó una mayor solubilización de azúcares simples, favoreciendo el metabolismo microbiano para la síntesis de precursores aromáticos (Cordoba Castro & Guerrero Fajardo, 2016). Adicionalmente, los valores de pH registrados durante estos intervalos se mantuvieron dentro del rango óptimo reportado por Puerta (2015).

Más aún, investigaciones previas de Palumbo et al. (2024) y Vale et al. (2023) reportan que periodos fermentativos prolongados (48 y 72 h) potencian la generación de metabolitos claves durante la fermentación vía seca, destacando diversos alcoholes (1-Hexanol, 2-Heptanol, alcohol bencílico, alcohol feniletílico y 3-octanol) y ésteres (acetato de etilo y acetato de amilo), que contribuyen al desarrollo de perfiles sensoriales caracterizados por notas caramelizadas, vino tinto y frutales, en comparación con los obtenidos tras periodos de fermentación cortos (24 h).

De este modo, los tiempos de fermentación de 48 y 72 horas se consolidan como los niveles adecuados para su posterior evaluación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.

10.4 Parámetros microbiológicos del café fermentado

10.4.1 Levaduras

En la **Figura 11b**, se observa la morfología de la levadura *Meyerozyma caribbica* mediante estereoscopio, permitiendo evaluar su uniformidad y características fenotípicas macroscópicas (Smith, 2020). Las colonias presentan una forma circular, bordes regulares y superficie convexa, con una apariencia lisa y brillante y un color blanco cremoso, lo cual concuerda con lo reportado por (Ebabhi et al., 2013), quien trabajó con esta misma levadura y describió una morfología de colonia lisa brillante, ovoide o irregular. Así mismo, en la **Figura 11a**, se evidencian las células de levadura con estructuras ovaladas a redondeadas, dispuestas generalmente de forma individual o en pequeños grupos, lo cual es indicativo de un proceso de gemación activo (Ebabhi et al., 2013).

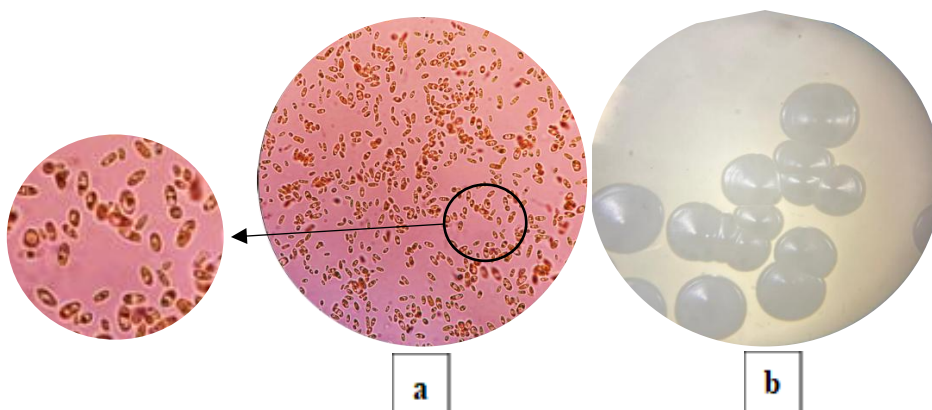


Figura 11. Colonias de cultivo iniciador *Meyerozyma caribbica*, **a.** Tinción con azul de metileno a 100x, **b.** vista bajo estereoscopio.

Diversos estudios han identificado la presencia de géneros como *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces* y *Torulaspora* a lo largo de las distintas etapas del procesamiento del café, lo que evidencia que este sustrato constituye un entorno natural propicio para el desarrollo de estos microorganismos (De Carvalho Neto et al., 2017).

La **Figura 12** presenta el conteo promedio de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de levaduras durante la fermentación de café sin despulpar, comparando diferentes porcentajes de inóculo (Control, 3%, 5% y 8%) a dos tiempos de fermentación (48 y 72 horas).

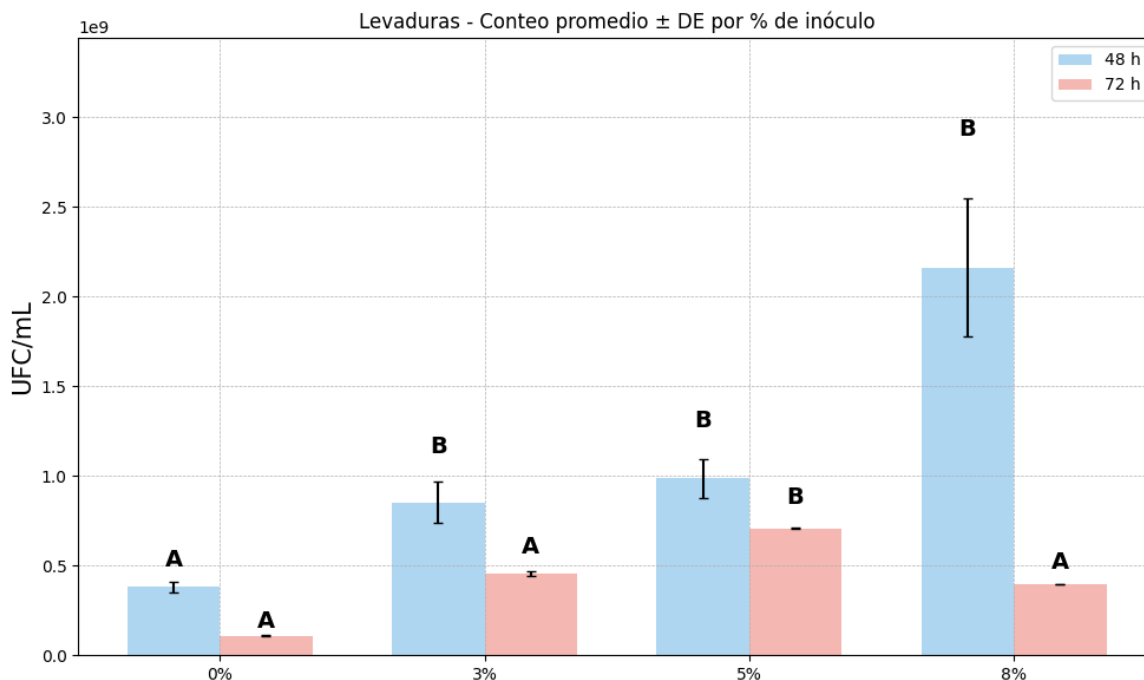


Figura 12. Comportamiento de levaduras en la fermentación con diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de fermentación. Las barras con la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), mientras que barras con letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de medias.

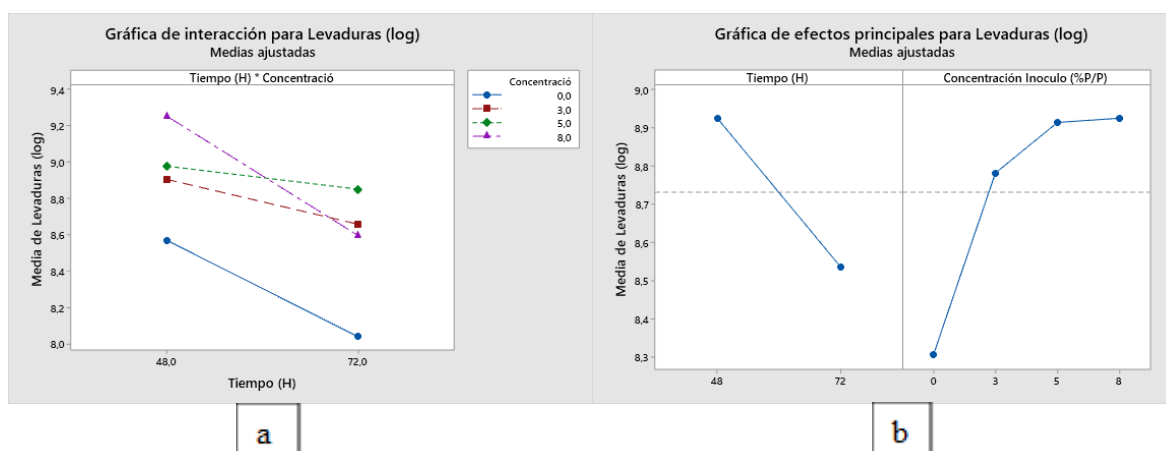


Figura 13. a. Interacción factorial y **b.** efectos principales para la concentración de levaduras.

Los tratamientos evaluados mostraron diferencias significativas, tal como se observa en la **Tabla 4**, tanto en los efectos principales (tiempo de fermentación y concentración de inóculo) como en su interacción, lo que influyó directamente en la población de las levaduras. En la **Figura 13b**, se evidenció una disminución en la concentración de levaduras a medida que avanzó el tiempo de fermentación, este fenómeno es explicado por Stanley et al. (2010), en donde se vinculó con el agotamiento parcial del sustrato disponible, el incremento en la competencia microbiana y la acumulación progresiva de metabolitos inhibitorios, como el etanol, el cual es un compuesto que puede interferir con diversas funciones celulares de las levaduras, al incorporarse en sus membranas y aumentar su permeabilidad, afectando finalmente la actividad enzimática y el equilibrio iónico de la pared celular del inóculo.

Por otro lado, a las 48 horas se registró un mayor conteo poblacional a mayores concentraciones de inóculo alcanzando el pico poblacional máximo con valores significativamente superiores respecto al conteo registrado en el tratamiento control, este comportamiento también se ve influenciado por las condiciones del sistema fermentativo. Antonio y Agüera (2020) señalan que el tipo de fermentación afecta significativamente la viabilidad y dinámica de las levaduras; en sistemas cerrados, la acumulación de CO₂ induce adaptaciones fisiológicas que permiten a ciertas cepas mantener su viabilidad, mientras que, en sistemas abiertos, la presencia de oxígeno favorece el metabolismo aeróbico, contribuyendo a la estabilidad poblacional durante fases prolongadas del proceso. Con respecto a la **Figura 13a**, se observa que la pendiente de la recta correspondiente al tratamiento control y al tratamiento con 8% de inóculo indica una mayor velocidad de reducción poblacional de levaduras a lo largo del tiempo, en comparación con los demás tratamientos. Esta disminución más pronunciada sugiere que, en ausencia de inóculo o con

una concentración excesiva, las condiciones del sistema podrían no favorecer la estabilidad de las levaduras durante la fermentación.

A las 72 horas, los tratamientos Control, 3% y 8% no presentaron diferencias significativas, lo que sugiere que en dicho periodo, el tratamiento con 3% de inóculo no proporcionó una carga microbiana suficiente de células viables para sostener la fermentación, mientras que la elevada densidad celular en el tratamiento con 8% de inóculo podría haber provocado un rápido agotamiento de los sustratos disponibles, limitando así el crecimiento posterior, tal como lo sustentan Westman., et al (2015), en donde en procesos fermentativos con concentraciones celulares elevadas, la eficiencia puede verse comprometida debido a restricciones de disponibilidad de nutrientes y oxígeno, lo que reduce la eficacia global del proceso fermentativo. La población de levaduras observada en el tratamiento con un 5 % de inóculo, evaluada a las 48 y 72 horas, reflejó un equilibrio entre la disponibilidad de sustratos y la actividad microbiana, lo que sugiere una mayor estabilidad del proceso fermentativo. Este comportamiento concuerda con los hallazgos de Kaur et al. (2020), quienes reportaron que concentraciones elevadas de inóculo no necesariamente incrementan la producción, e incluso pueden reducir la eficiencia fermentativa debido a la competencia por nutrientes y al agotamiento del sustrato.

Mercedes y Amorocho (2022) destacan el papel fundamental de las levaduras en la fermentación del café, particularmente en la degradación de la pectina presente en el mucílago y la pulpa mediante enzimas extracelulares como poligalacturonasa, pectina liasa y pectina metilesterasa. La pectina liasa rompe la pectina liberando ácidos galacturónicos insaturados; la poligalacturonasa hidroliza los enlaces α -1,4 del ácido poligalacturónico; y la pectina metilesterasa cataliza la desesterificación de grupos metoxilo, generando ácido

péctico y metanol, procesos que son reproducidos por levaduras como *Meyerozyma caribbica* y *Pichia kluyveri*, aisladas de cafés *arábica* y *canephora*, las cuales han demostrado realizar estos procesos enzimáticos, modificando la concentración de carbohidratos solubles, ácidos orgánicos y compuestos volátiles en la pulpa y favoreciendo la formación de precursores aromáticos (Silva et al., 2021).

10.4.2 Bacterias lácticas

Shen et al. (2025) señalan que las bacterias ácido-lácticas constituyen una proporción significativa de la microbiota del fruto del café, ya que su actividad metabólica es clave en la degradación del mucílago, la generación de compuestos volátiles y la modificación del pH. En la **Figura 14**, se observa el desarrollo de bacterias ácido-lácticas en medio MRS con azul de anilina como indicador cromático sensible a los cambios de pH (BIOMÉRIEUX, 2015). Las placas muestran un crecimiento de colonias puntiformes distribuidas sobre la superficie del agar; muchas de estas colonias están rodeadas por un halo de color azul intenso, lo cual indica una elevada producción de ácido láctico y la actividad metabólica de las bacterias lácticas (Paixão et al., 2019).

La **Figura 15** presenta el conteo promedio de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) de Bacterias mesófilas durante la fermentación de café sin despulpar, comparando diferentes porcentajes de inóculo (Control, 3%, 5% y 8%) a dos tiempos de fermentación (48 y 72 horas).



Figura 14. Crecimiento de bacterias ácido-lácticas en medio de cultivo MRS tras incubación.

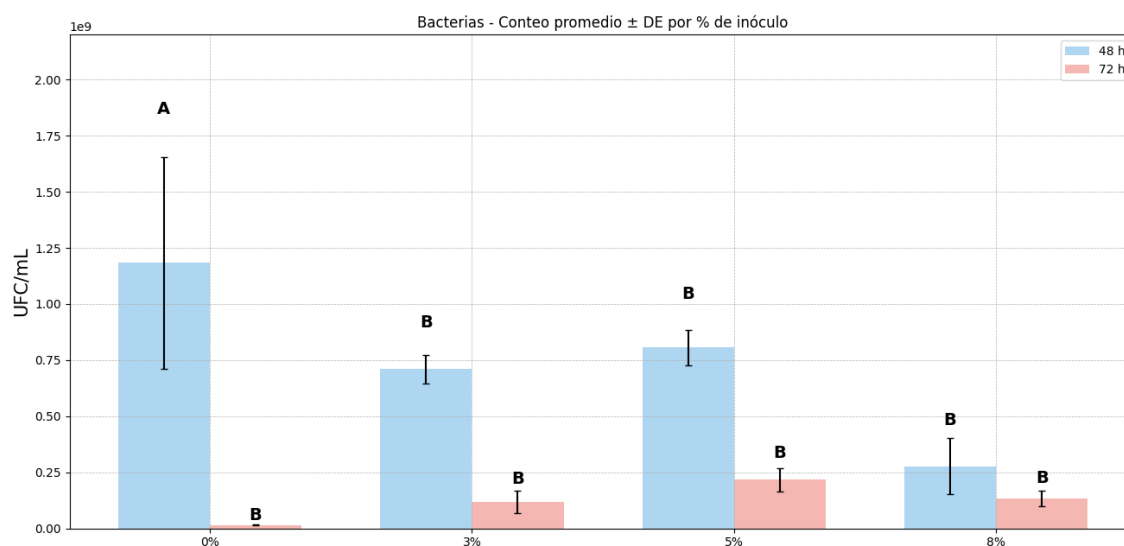


Figura 15. Comportamiento de las bacterias ácido-lácticas de los tratamientos en estudio. Las barras con la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), mientras que barras con letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de medias.

El tiempo de fermentación se consolidó como el único factor estadísticamente significativo ($p < 0,05$), evidenciándose un descenso en la población de bacterias ácido-lácticas en la extensión del tiempo de fermentación (**Figura 16 (a, b)**). En este sentido, Gutiérrez-Sarmiento et al. (2015), afirman que las BAL alcanzan su tasa de crecimiento óptima en

condiciones de pH cercanas a la neutralidad y con la incorporación controlada de oxígeno, por medio de una agitación moderada. Así, la reducción significativa en la concentración de BAL observada en el tratamiento control a las 72 horas de fermentación puede asociarse principalmente con los valores de pH más bajos registrados, en comparación con los tratamientos inoculados.

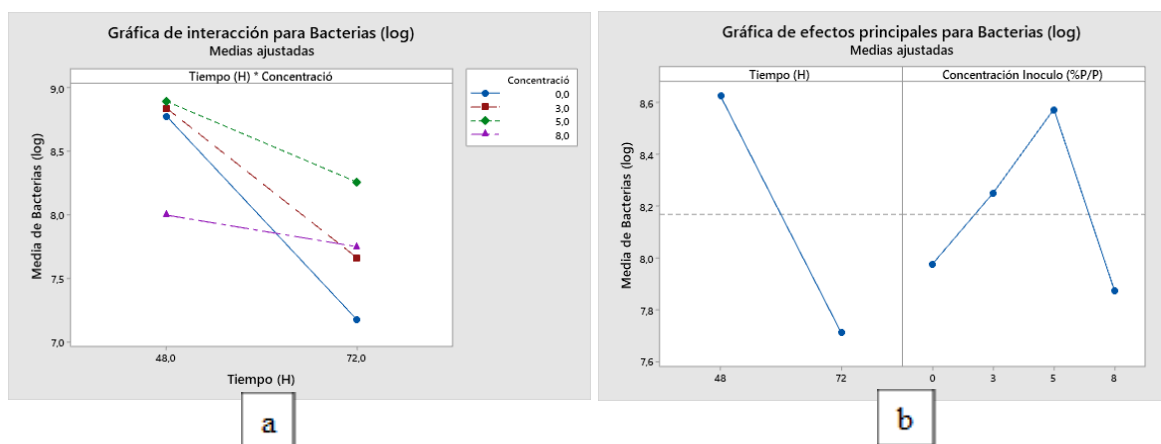


Figura 16. a. Interacción factorial y **b.** efectos principales para la concentración de bacterias ácido-lácticas.

Por otro lado, la estabilidad de la población de BAL en los tratamientos inoculados se refuerza al considerar lo expuesto por Pereira et al. (2024), quien señala que las bacterias ácido-lácticas exhiben mecanismos de cooperación metabólica durante la fermentación, dado que los aminoácidos producidos por las levaduras como glutamina, glutamato, prolina y fenilalanina constituyen nutrientes esenciales para su desarrollo; estas, a su vez, contribuyen a la acidificación del medio, lo que favorece el crecimiento de las levaduras y, con ello, la producción de pectinasas y otros metabolitos implicados en la degradación del mucílago del café (Costa et al., 2024).

Finalmente, Mercedes y Amorocho (2022) destacan la importancia de las bacterias ácido-lácticas por su función de biocontrol, ya que liberan ácidos orgánicos que inhiben el

crecimiento fúngico mediante la acidificación del medio y la alteración de su composición química.

10.4.3 Microorganismos mesófilos

Los microorganismos mesófilos constituyen la población microbiana total responsable de la descomposición de materia orgánica durante la fermentación (Biyada et al., 2021). Incluyen aerobios estrictos y facultativos, con un rango óptimo de crecimiento entre 20 °C y 40 °C (Caballero Benitez , 2019). En la **Figura 17**, se observa la placa de cultivo PCA, donde se determinó el crecimiento de colonias mesófilas, evidenciando la diversidad morfológica encontrada durante la fermentación.



Figura 17. Crecimiento de mesófilos aerobios en medio PCA.

La **Figura 18** presenta el conteo promedio de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) de Microorganismos mesófilos durante la fermentación de café sin despulpar, comparando diferentes porcentajes de inóculo (Control, 3%, 5% y 8%) a dos tiempos de fermentación (48 y 72 horas).

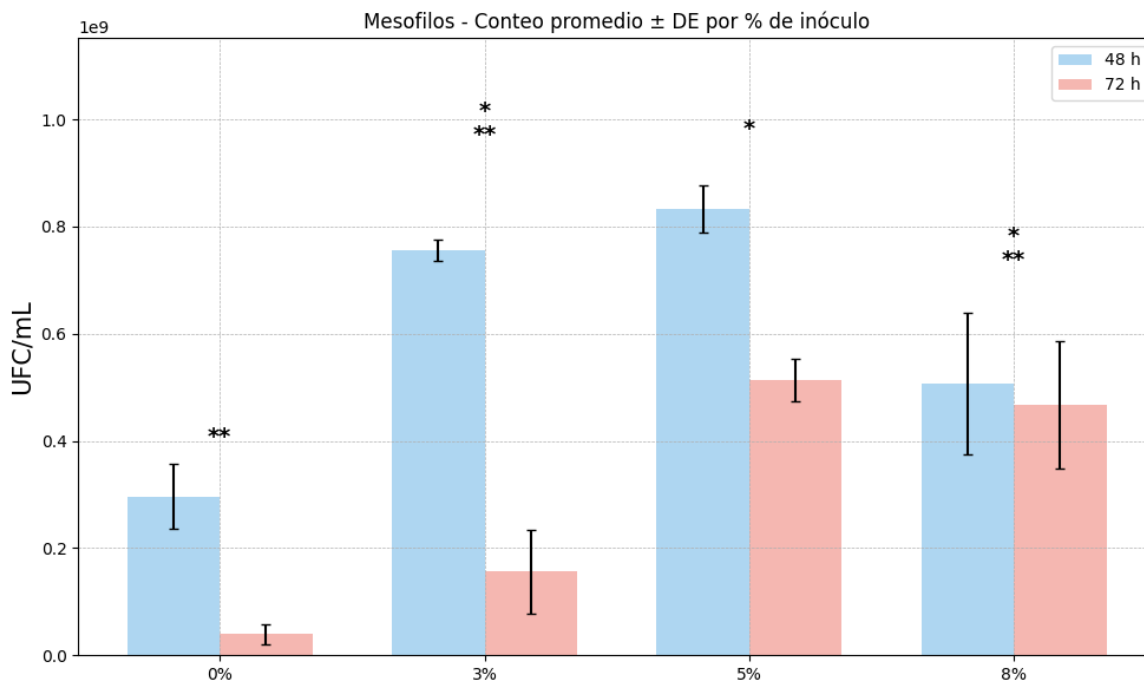


Figura 18. Comportamiento de mesófilos durante la fermentación con diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de incubación. Las barras acompañadas por los mismos símbolos no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), mientras que símbolos distintos indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de medias. En particular, los asteriscos representan diferencias significativas asociadas al efecto del porcentaje de inóculo.

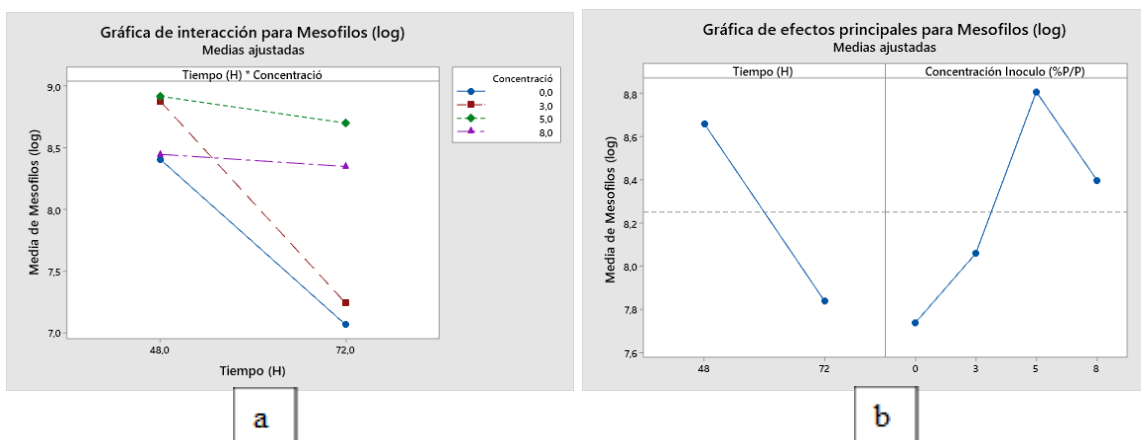


Figura 19. a. Interacción factorial y **b.** efectos principales para la concentración de microorganismos mesófilos.

En la **Figura 18**, se muestra la evolución de las bacterias mesófilas en los distintos tratamientos. Tanto la **Figura 19 (a)** como la **(b)**, evidencian una disminución en la población

de mesófilos a medida que avanza el tiempo de fermentación. Los análisis estadísticos indican que tanto el tiempo de fermentación como el porcentaje de inóculo tienen efectos significativos ($p < 0,05$). Sin embargo, la ausencia de interacción entre estos factores sugiere que sus efectos son independientes, lo que implica que ciertas combinaciones pueden generar resultados similares, ya que los efectos individuales de cada factor tienden a equilibrarse entre sí.

A las 48 horas de fermentación, la concentración de mesófilos fue superior en todos los tratamientos inoculados en comparación con el tratamiento control. No obstante, a las 72 horas se evidenció una disminución generalizada de estos microorganismos. Esta tendencia ha sido documentada por Puerta et al. (2012), quienes señalan que la producción de ácidos orgánicos durante el proceso fermentativo provoca una acidificación progresiva del medio, generando un entorno desfavorable para el desarrollo de mesófilos; más aún, los mecanismos de competencia microbiana y la disponibilidad de nutrientes contribuyeron a la disminución observada.

Estudios como el de Peñuela-Martínez et al., (2023) evidencian que la población de mesófilos se mantiene estable a lo largo del proceso fermentativo, especialmente en condiciones de temperatura controlada a 30 °C, lo que se atribuye a su termo tolerancia, lo que justificaría las altas concentraciones observadas. Por otro lado, la tendencia general sugiere que la inoculación con levadura favoreció el crecimiento de mesófilos, posiblemente como resultado de la producción de metabolitos que estimulan su desarrollo. Esta interacción puede explicarse por mecanismos de sinergia metabólica entre las levaduras y los mesófilos, que incluyen bacterias ácido-lácticas (BAL) como parte importante de esta población microbiana.

De acuerdo con Pereira et al. (2024), las levaduras liberan aminoácidos, los cuales constituyen nutrientes esenciales para el crecimiento y actividad de las BAL.

10.4.4 Hongos

Los hongos constituyen un grupo microbiano relevante en múltiples procesos biotecnológicos debido a su capacidad para sintetizar enzimas y metabolitos secundarios (Rosenboim, 2024). De esta forma, en el contexto de la fermentación del café, su desarrollo está influenciado por condiciones ambientales y biológicas propias del ecosistema fermentativo, incluyendo la presencia de vectores naturales como la broca del café (*Hypothenemus hampei*) (Saldaña & Franco, 2024). Algunas especies fúngicas, como *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Pestalotia spp.* y *Paecilomyces spp.*, pueden participar en el proceso fermentativo mediante la degradación del mucílago, sin embargo, estudios como el de Shen et al. (2025) reportan que, en fermentaciones por vía seca, la población de hongos tiende a incrementarse progresivamente desde la cosecha hasta el secado, lo que favorece la posible contaminación del café con micotoxinas. Esta contaminación se debe principalmente al desarrollo de hongos filamentosos durante la etapa de beneficio y secado, siendo los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Fusarium* los principales agentes implicados (Souza et al., 2021). Entre estas micotoxinas, la Ocratoxina A destaca por su alta toxicidad, siendo clasificada como teratogénica, cancerígena, hepatotóxica, neurotóxica y nefrotóxica, de acuerdo con diversos estudios citados por Saldaña y Franco (2024).

En el presente estudio no se detectó crecimiento fúngico en ninguno de los tratamientos evaluados, resultado que podría atribuirse a la ausencia inicial de hongos o a la competencia microbiana en el medio fermentativo, que habría inhibido su desarrollo (Valero et al., 2007).

Investigaciones previas reportan que la presencia de levaduras y bacterias ácido-lácticas (BAL) puede limitar el crecimiento de hongos mediante la producción de metabolitos con actividad antifúngica, tales como 2-feniletanol, alcohol isoamílico, 4-hidroxifeniletanol, acetato de isoamilo y acetato de etilo, los cuales actúan inhibiendo tanto el crecimiento micelial como la producción de micotoxinas (Omar et al., 2018; Wu et al., 2024).

Algunas levaduras actúan como agente de control biológico mediante la producción de enzimas líticas, tales como proteasas, quitinasas y glucanasas, las cuales degradan componentes estructurales de otros microorganismos, limitando su desarrollo y contribuyendo a su control (Souza et al., 2021). *Meyerozyma caribbica* ha demostrado ser una antagonista eficaz, mostrando un notable efecto de control biológico en frutos como kiwi, mango, azufaifo y maracuyá (Wu et al., 2024). Según Salazar-Hernández et al. (2020), *M. caribbica* tiene la capacidad de secretar enzimas hidrolíticas, tales como quitinasa, β -1,3-glucanasa y N-acetil- β -D-glucosaminidasa, las cuales inhiben el crecimiento de hifas fúngicas.

10.4.5 Enterobacterias

Las enterobacterias constituyen un grupo de microorganismos patógenos que representan un riesgo significativo para la salud humana (Jiménez Balderas, 2024). En este contexto, Braga et al. (2023) reportan que estas bacterias están presentes de forma natural tanto en las fincas como en los cafetos. En su estudio, identificaron que la familia *Enterobacteriaceae*, que incluye géneros como *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp. y *Pantoea* sp., fue predominante en las muestras analizadas durante el proceso de fermentación del café.

En la **Figura 20** se presenta dos placas de Petri con el crecimiento de enterobacterias en medio MacConkey para el tratamiento con 5% de inóculo a 48 horas y el tratamiento control a 48 horas.

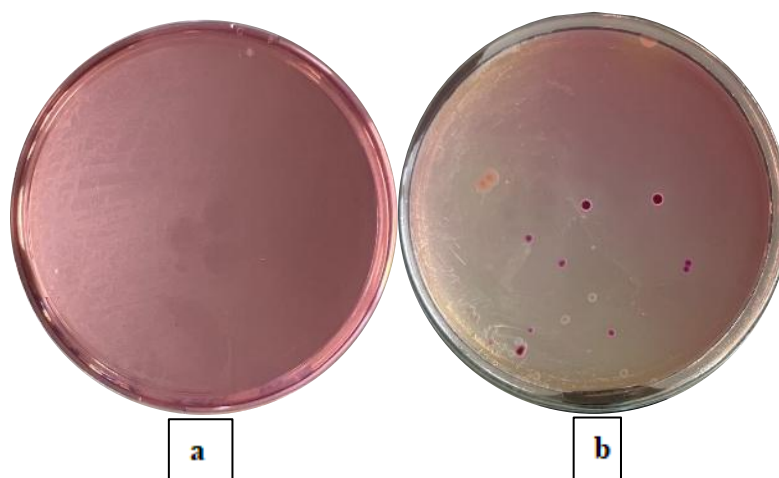


Figura 20. Crecimiento de enterobacterias en medio MacConkey: **a.** Tratamiento con 5% de inóculo a 48 horas, y **b.** tratamiento control a 48 horas.

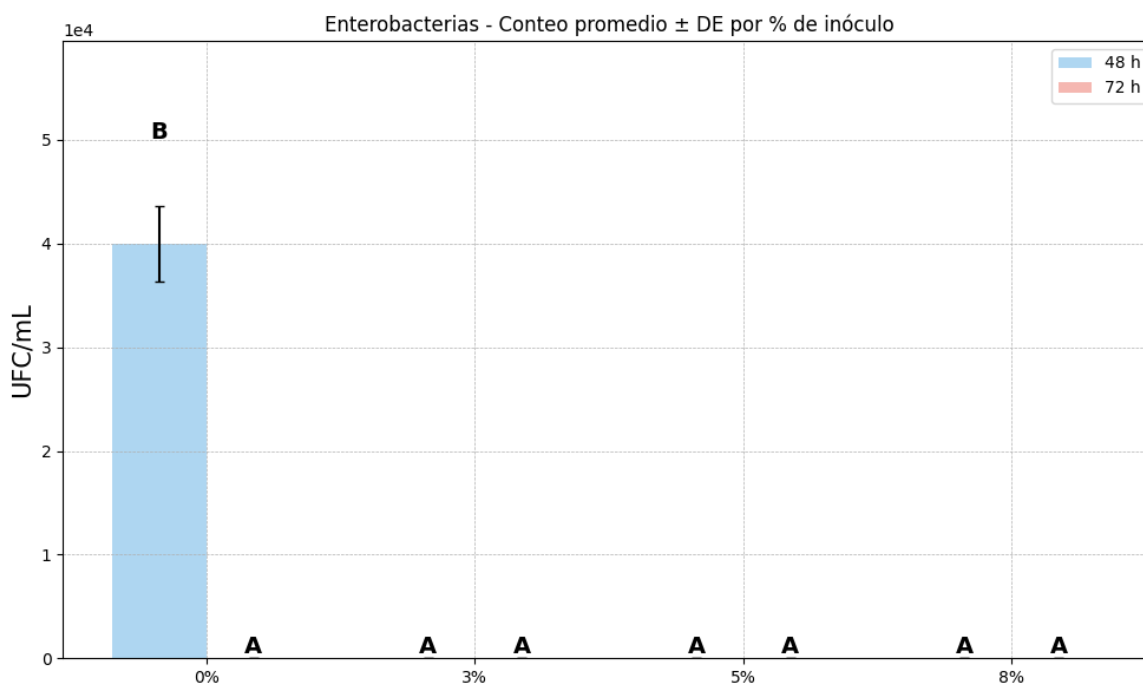


Figura 21. Comportamiento de enterobacterias en la fermentación con diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de fermentación. Las barras con la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$), mientras que barras con letras

distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de medias.

Según lo mostrado en la **Figura 21**, a las 48 horas de fermentación el tratamiento control presentó una concentración de enterobacterias de $4,00 \times 10^4$ UFC/mL, mientras que en los tratamientos inoculados con *Meyerozyma caribbica* no se evidenció crecimiento. Este comportamiento sugiere que ciertas levaduras podrían desempeñar un papel en la inhibición de bacterias, posiblemente mediante la producción de metabolitos con actividad antimicrobiana o a través de la competencia por nutrientes. En un estudio realizado por Olstorpe et al. (2012), se demostró que algunas levaduras, como *Hansenula anomala* (también conocida como *Pichia anomala*), ejercen actividad antimicrobiana contra enterobacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii* y *Serratia marcescens*. Esta inhibición se atribuyó principalmente a la producción de compuestos volátiles con efecto antimicrobiano, entre ellos el acetato de etilo, el cual ha demostrado ser eficaz en la supresión tanto de mohos como de bacterias. Asimismo, Braga et al. (2023) señalan que enterobacterias como *Klebsiella sp.* y *Enterobacter sp.* pueden participar activamente en la fermentación del café mediante la vía de Embden-Meyerhof, liberando CO₂, H₂, acetonas y 2,3-butanodiol, compuestos que impactan negativamente el perfil sensorial de la bebida.

Se ha documentado que especies de bacterias como *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.* y *Pantoea sp.* poseen diversas capacidades metabólicas, entre ellas la producción de enzimas como pectinasas, xilanasas y pectina metilesterasas, las cuales son reconocidas por facilitar la descomposición de carbohidratos complejos y promover la liberación de azúcares simples (Vale et al., 2024). No obstante, en el tratamiento donde estas bacterias fueron predominantes,

no se evidenció un incremento significativo en la concentración de azúcares reductores, lo que sugiere que este grupo de microorganismos presentan una baja actividad enzimática con respecto al inóculo iniciador.

Los coliformes, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, son ampliamente utilizados como indicadores microbiológicos de contaminación fecal, ya que su detección suele interpretarse como evidencia de deficiencias en las prácticas higiénicas a lo largo de la cadena productiva, comprometiendo tanto la calidad como la inocuidad del producto final (Guamán Sagñay, 2024).

En la **Tabla 5**, se presenta la evolución de los coliformes totales en los diferentes tratamientos evaluados. A las 48 horas de fermentación, el tratamiento control registró una concentración de 192 NMP/mL, mientras que en los tratamientos inoculados no se detectó la presencia de estos microorganismos, lo que sugiere un posible efecto inhibitorio del cultivo iniciador sobre los coliformes. Esta observación concuerda con lo reportado por Susá Gómez (2015), quien señala que levaduras del género *Saccharomyces* producen compuestos con actividad antimicrobiana, como ácidos orgánicos, inhibiendo el crecimiento de coliformes por medio de la acidificación del medio. La ausencia de coliformes en todos los tratamientos a las 72 horas coincide con lo descrito por Puerta (2012), quien indica que el descenso del pH genera un ambiente hostil para los coliformes mientras que favorece el desarrollo de microorganismos acidófilos como levaduras y bacterias ácido-lácticas.

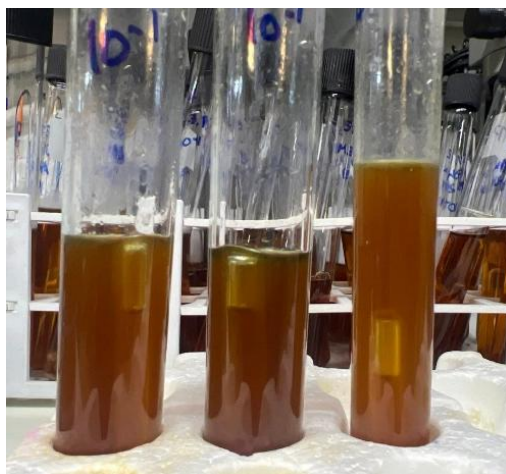


Figura 22. Tubos con producción de gas y prueba de indol negativa en la muestra control tras 48 horas de fermentación.

Asimismo, la reacción negativa en la prueba de indol observada en el tratamiento control a las 48 horas (**Figura 22**), sugiere la ausencia de *Escherichia coli* en la muestra, dado que esta especie se caracteriza por su capacidad de producir indol a partir del triptófano (Baldeón Beltran, 2013). Esta ausencia podría atribuirse a la inhibición del crecimiento de *E. coli* como consecuencia del ambiente ácido generado durante la fermentación, así como a la competencia por nutrientes con otros microorganismos presentes en el sistema (Kazemipoor et al., 2012). No obstante, la presencia de gas en el medio indica que existen bacterias coliformes fermentadoras de lactosa activas en el sistema, ya que diversas enterobacterias no fecales, como *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Enterobacter cloacae*, también pueden fermentar lactosa y producir gas sin generar indol (Niemi et al., 2003).

La **Tabla 5** presenta la evolución del comportamiento microbiológico del café sin despulpar durante el proceso de fermentación, utilizando diferentes concentraciones del cultivo iniciador *Meyerozyma caribbica* (0%, 3%, 5% y 8%) a dos tiempos de fermentación (48 y 72 horas). Se reportan las concentraciones promedio de levaduras, hongos filamentosos,

bacterias lácticas, mesófilos aerobios y enterobacterias expresadas en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

Tabla 5. Evolución del comportamiento microbiano durante el proceso de fermentación, utilizando diferentes concentraciones de *Meyerozyma caribbica*.

Tiempos de fermentación (h)	Concentración de inóculo (%P/P)								
	0%			3%		5%		8%	
	Inicial	48	72	48	72	48	72	48	72
Levaduras (UFC/mL)	3,0×10 ⁶	3,8x10 ⁸	4,0x10 ⁷	8,5x10 ⁸	1,6x10 ⁸	9,9x10 ⁸	2,4x10 ⁸	2,2x10 ⁹	4,0x10 ⁹
Hongos (UFC/mL)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Mesófilos (UFC/mL)	2,9x10 ⁶	3,0x10 ⁸	3,9x10 ⁷	7,6x10 ⁸	1,6x10 ⁸	8,3x10 ⁸	5,1x10 ⁸	5,1x10 ⁸	4,7x10 ⁸
Bacterias lácticas (UFC/mL)	2,0x10 ⁶	1,2x10 ⁹	1,6x10 ⁷	7,1x10 ⁸	1,2x10 ⁸	8,1x10 ⁸	2,2x10 ⁸	2,8x10 ⁸	1,4x10 ⁸
Enterobacterias (UFC/mL)	2,0x10 ⁶	4,0x10 ⁴	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Coliformes totales (NMP/mL)	>1100	192	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3

Nota: Nd ausencia.

10.4.6 Cinética de crecimiento

Las concentraciones establecidas del cultivo iniciador influyeron de manera directa en el desarrollo del proceso fermentativo, determinando tanto la carga microbiana como la permanencia de los microorganismos a lo largo del tiempo. Este proceso estuvo, a su vez, modulado por diversos factores, entre ellos la producción de metabolitos y péptidos con actividad antimicrobiana, así como la competencia por sustratos disponibles en la matriz del café (Jespersen et al., 2005; Silva et al., 2008).

La **Figura 23** presenta la evolución de la concentración de *Meyerozyma caribbica* (UFC/mL) a lo largo del tiempo de fermentación del café sin despulpar, utilizando tres diferentes

porcentajes de inóculo (3%, 5% y 8%). Esta representación gráfica permite visualizar el comportamiento dinámico de la levadura en función del tiempo y la concentración inicial.

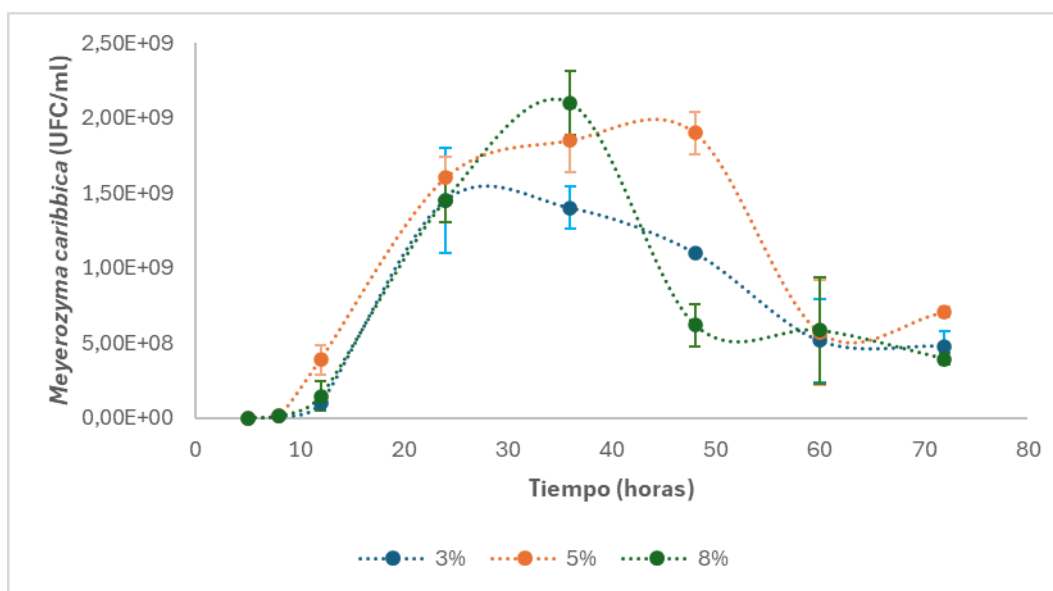


Figura 23. Cinética de crecimiento del microencapsulado *Meyerozyma caribbica*.

En la **Figura 23**, se observó el comportamiento poblacional de las levaduras inoculadas a tres concentraciones diferentes (3 %, 5 % y 8 %) en el transcurso de la fermentación. En todos los tratamientos se evidenció una fase exponencial hasta alcanzar un pico máximo, seguido por una fase estacionaria y un declive. Particularmente, el tratamiento con 8 % de inóculo alcanzó la concentración más alta de levaduras a las 36 horas ($2,10 \times 10^9$ UFC/mL), posteriormente, se observó una disminución pronunciada en la densidad celular sugiriendo que la levadura habría agotado gran parte de los azúcares disponibles o que la acumulación de metabolitos inhibitorios limitó su capacidad de proliferación (Stanley et al., 2010).

En el tratamiento con 5 % de inóculo, la población microbiana exhibió una fase exponencial hasta las 24 horas, seguida de una fase estacionaria que alcanzó su pico a las 48 horas ($1,90 \times 10^9$ UFC/mL), para luego entrar en una fase de declive gradual, reflejando así, una

estabilidad del sistema fermentativo. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Lessa da Silva et al. (2021), quienes también observaron una máxima población a las 48 horas en fermentaciones de café, momento crítico para la despolimerización de la pectina presente en el mucílago y la pulpa, mediante la acción de enzimas como pectinasas y celulasas.

A las 24 horas, el tratamiento con 3% de inóculo alcanzó su máximo poblacional con $1,5 \times 10^9$ UFC/mL, período hasta el cual la velocidad de crecimiento microbiano coincidió con el tratamiento de 8%. Posteriormente, la población celular comenzó a disminuir de manera progresiva, comportamiento que podría atribuirse a una menor disponibilidad de biomasa inicial, limitando tanto la velocidad de colonización como la producción de metabolitos (Ginovart et al., 2011).

10.5 Parámetros fisicoquímicos del café fermentado

10.5.1 Humedad

Las determinaciones de materia seca mostraron contenidos de humedad en base húmeda de $68,39 \% \pm 0,0133$ y $67,23 \% \pm 0,0105$ para la almendra y la cereza de café, respectivamente, valores que se encuentran dentro del rango reportado por Pereira et al. (2019) para frutos de café cosechados, y que coinciden con lo señalado por Coelho et al. (2024), quienes indican que, al momento de la cosecha, los valores de humedad de la cereza varían entre el 30 % y el 65 % en base húmeda, dependiendo de su grado de madurez. La ligera reducción en el contenido de humedad observada en la muestra de cereza entera, en comparación con la almendra, se explica por la inclusión de tejidos adicionales, principalmente la pulpa y el mucílago, los cuales presentan una proporción de materia seca, con valores de

aproximadamente 29 % y 5 % en peso seco, respectivamente. De esta forma, la presencia de los tejidos señalados con contenido de sólidos incrementa la fracción total de materia seca de la muestra, provocando una disminución relativa del porcentaje de humedad en base húmeda. (Elhalis et al., 2023).

10.5.2 pH y acidez titulable

La medición del pH representa un parámetro fisicoquímico potencialmente fiable para lograr mayor consistencia y control durante el proceso de fermentación, lo que permite prevenir tanto la subfermentación como la sobrefermentación, condiciones que impactan directamente la calidad final del café (Lee et al., 2015).

A partir de la **Tabla 4**, la interacción entre tiempo de fermentación y concentración de inóculo demostró ser estadísticamente significativa ($p < 0,05$), lo que indicó que el efecto de la concentración de inóculo sobre el pH depende del tiempo de fermentación, y de manera recíproca, el efecto del tiempo de fermentación depende de la concentración de inóculo. Esta significativa interacción explica los patrones observados en la **Figura 24a**, donde las tendencias de pH variaron notablemente entre las 48 y 72 horas a diferentes concentraciones. El tiempo de fermentación se identificó como un factor estadísticamente significativo (Figura 8b), lo que confirma que la duración del proceso afectó de manera consistente el pH del medio, independientemente de la concentración de inóculo utilizada. Esta tendencia se observa en la **Figura 24b**, donde los valores de pH registrados a las 72 h fueron inferiores a los obtenidos a las 48 h en todos los tratamientos evaluados. En contraste, la concentración de inóculo por sí sola no mostró un efecto estadísticamente significativo ($p > 0,05$), sugiriendo que las variaciones en la cantidad de inóculo no producen cambios significativos en el pH cuando se analiza este factor de manera independiente. Este hallazgo indica que las

diferencias observadas en el pH a distintas concentraciones están principalmente mediadas por su interacción con el tiempo de fermentación.

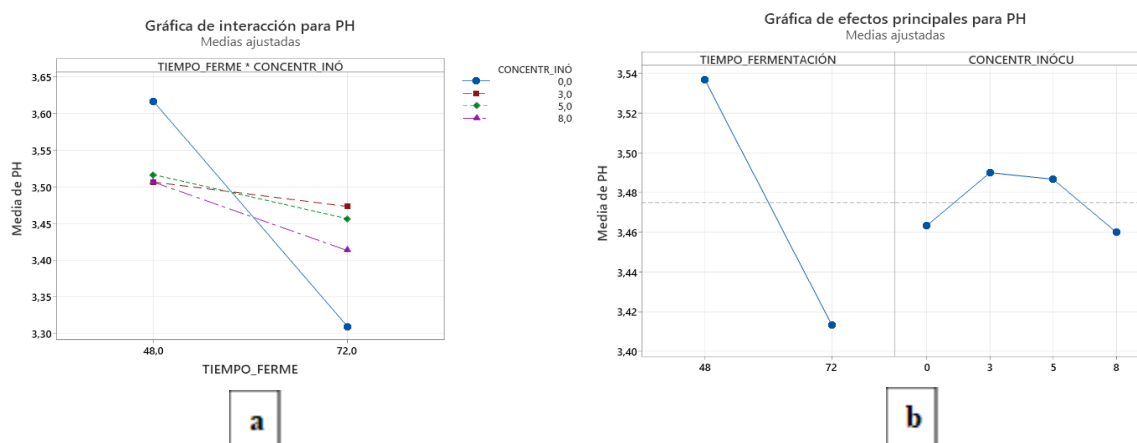


Figura 24. a) Interacción factorial y b) efectos principales para valores de pH.

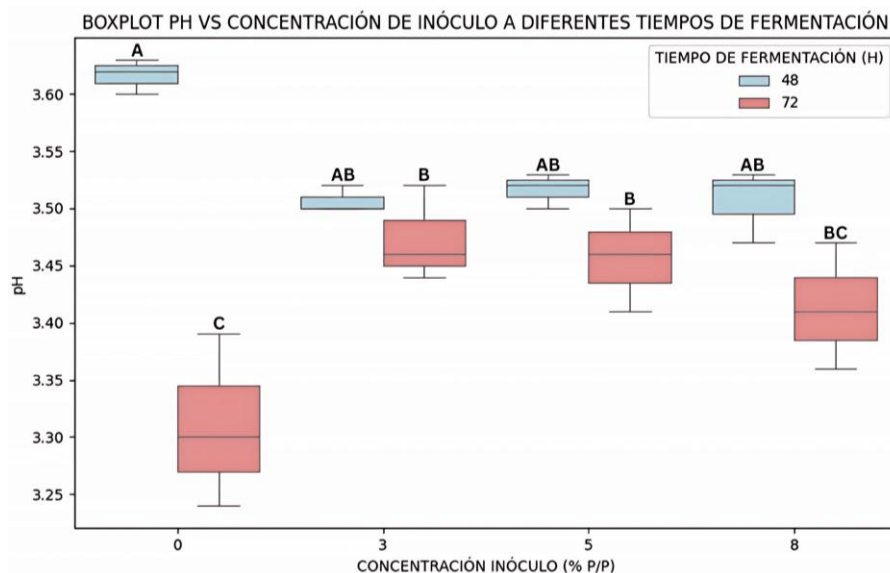


Figura 25. Evolución del pH de los tratamientos durante la fermentación. Los boxplots que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$).

Como se muestra en la **Figura 25**, la ausencia de inóculo a las 72 horas generó los valores de pH más bajos (pH: 3,30), resultados que presentan similitud con los reportados por Galarza y Figueroa (2022) en fermentaciones espontáneas, donde se registró un pH de 3,5

para el mismo periodo. Según estos autores, la reducción del pH se atribuye a la alta actividad de bacterias endófitas principalmente mesófilas presentes en la cereza, las cuales degradan sustratos presentes en la pulpa y el mucilago que incluyen celulosa, sustancias pécticas con alto grado de esterificación metílico (ácidos galacturónicos) y azúcares (simples y complejos) mediante actividad enzimática extracelular y acidificación del mucilago (Elhalis et al., 2023; Silva et al., 2021).

En el tratamiento control, la tasa de acidificación fue significativamente más elevada en comparación con los tratamientos inoculados. Este efecto podría atribuirse a la ausencia del inóculo iniciador *Meyerozyma caribbica*, lo que permitió el predominio de la microflora acidificante nativa durante la fermentación. Esta condición favoreció una mayor liberación de ácidos y, en consecuencia, una reducción más rápida del pH (Elhalis et al., 2020). Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Elhalis et al. (2020), quienes demostraron que la inhibición del crecimiento de levaduras mediante un antifúngico en fermentación húmeda provocaba un incremento en las concentraciones de ácidos orgánicos, particularmente acético y butírico. En contraste, la adición de inóculo en concentraciones moderadas (3–5 %) ralentizó la disminución del pH, lo que sugiere la existencia de mecanismos de exclusión competitiva y adaptación fisiológica por parte de las levaduras introducidas (Evangelista et al., 2014; Bressani et al., 2018). Según Elhalis et al. (2023), las levaduras compiten de manera eficaz por nutrientes y limitan la actividad pectinolítica de las bacterias, reduciendo así, la producción de metabolitos acidificantes por parte de la microbiota autóctona, compuesta principalmente por bacterias ácido-lácticas, como *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Leuconostoc*, así como por bacterias ácido-acéticas del género *Gluconobacter* y *Acetobacter* (Nakyinsige et al., 2025; Holguín-Sterling et al., 2023; De Bruyn et al., 2016). Esta ventaja

competitiva se ve reforzada por la elevada tolerancia de las levaduras a ambientes ácidos, lo que les permite prosperar en condiciones de bajo pH, al tiempo que inhiben el crecimiento de bacterias acidosisensibles (Lee et al., 2015).

Sin embargo, a mayor concentración de inóculo (8%) y mayor tiempo de fermentación (72h), el pH vuelve a descender, lo que sugiere que una alta densidad poblacional de microorganismos conduce a una mayor actividad pectinolítica en la fermentación. Esta hipótesis encuentra respaldo en el estudio de Lessa da Silva et al. (2021), quienes demostraron que, durante la fermentación del café por vía seca, el desarrollo y la población máxima de levaduras son factores determinantes para la despolimerización e hidrólisis eficiente de la pectina presente en el mucílago y la pulpa. Este proceso se asocia específicamente a la síntesis y acción sinérgica de enzimas pectinolíticas como poligalacturonasa, pectina liasa y pectina metilesterasa y celulasas, principales responsables de la degradación de estos compuestos.

La preferencia de los microorganismos por el consumo de azúcares simples en lugar de polisacáridos favoreció la producción de ácidos orgánicos, principalmente láctico y acético, lo que provocó un incremento en la acidez titulable a medida que se extendió el tiempo de fermentación, como se muestra en la **Figura 26**. Este comportamiento describe una correlación inversa característica con el pH, evidenciada en la **Figura 27** (Galarza & Figueroa, 2022; Elhalis et al., 2023). Esta relación obedece a que, como indican Nakyinsige et al. (2025) y Martins et al. (2019) el aumento de la acidez titulable se atribuye a la degradación microbiana de la pectina a azúcares simples que luego son metabolizados por enzimas microbianas para la producción final de ácidos orgánicos. Otros autores, como Bressani et al. (2018), reportan la presencia de diversos ácidos orgánicos como acético,

cítrico, málico, succínico, láctico, isobutírico y propiónico durante la fermentación por vía seca con inoculación de levadura, destacando el ácido acético como el más abundante.

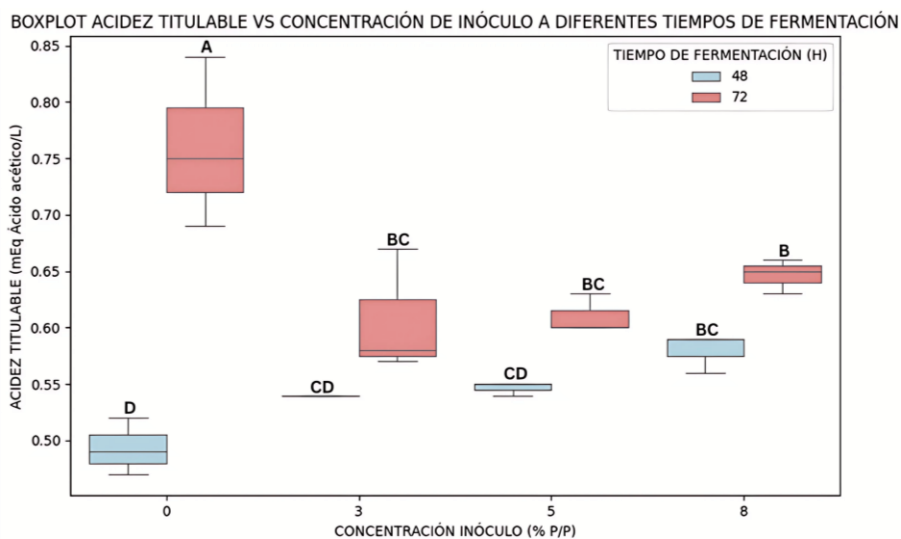


Figura 26. Evolución de la acidez titulable de los tratamientos durante la fermentación. Los boxplots que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p>0.05$).

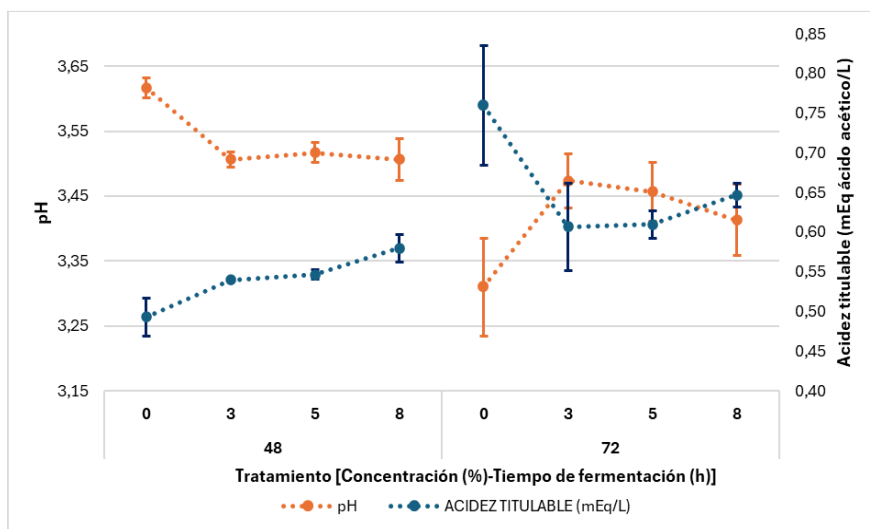


Figura 27. Correlación entre el pH y la acidez titulable del café en función del tiempo de fermentación y la concentración de inóculo.

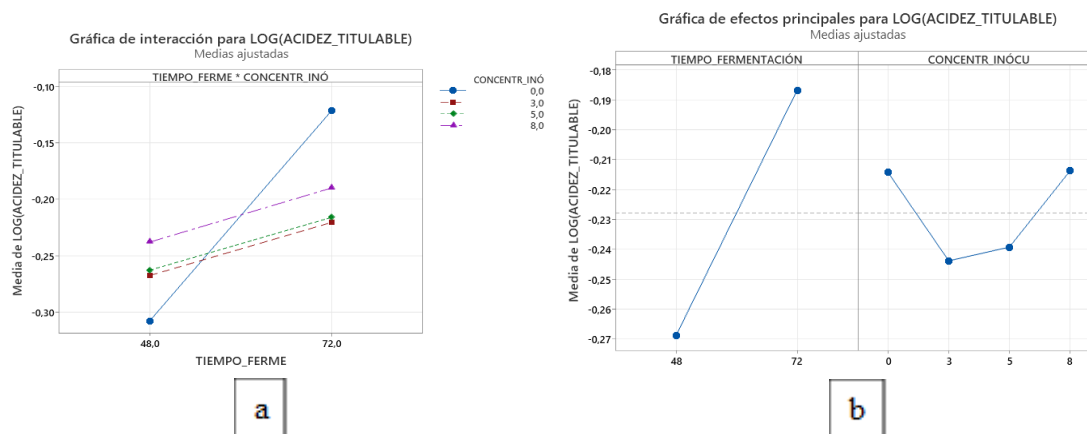


Figura 28. a) Interacción factorial para valores de acidez titulable y **b)** efectos principales para valores de acidez titulable.

10.5.3 Azúcares reductores y totales

El análisis estadístico de azúcares reductores indicó que la interacción entre el tiempo de fermentación y la concentración de inóculo no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$). Sin embargo, ambos factores mostraron efectos estadísticamente significativos de forma independiente, como se observa en la **Figura 30**, tanto en el análisis de interacción factorial como en los efectos principales. Esto confirma que cada factor por sí solo influyó de manera determinante en la concentración de azúcares reductores.

El efecto altamente significativo de la concentración de inóculo explica la clara progresión ascendente en los valores de azúcares reductores conforme aumentó la concentración (**Figura 30 y Figura 29**). Este comportamiento sugiere que una mayor concentración de levadura potencia la hidrólisis de polisacáridos complejos como pectina, celulosa y sacarosa mediante la acción de la invertasa, incrementando la liberación de monómeros simples como fructosa, glucosa y ramnosa (Prakash et al., 2022). Los presentes hallazgos son congruentes con lo reportado por Elhalis et al. (2020), quienes indican que la presencia de levaduras facilita la

degradación de carbohidratos complejos en monosacáridos, proceso estrechamente asociado a sus rutas metabólicas, principalmente catabólicas.

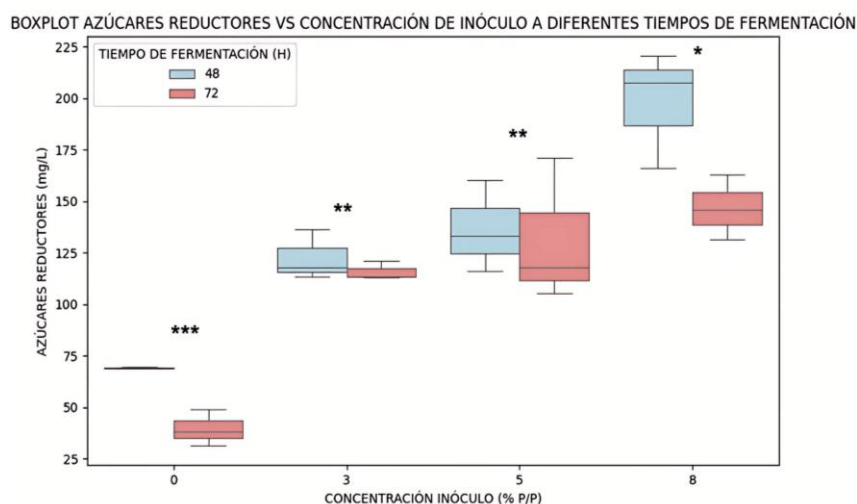


Figura 29. Evolución de los azúcares reductores de los tratamientos durante la fermentación. Las concentraciones que presentan la misma cantidad de asteriscos sobre los boxplots no muestran diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p > 0.05$).

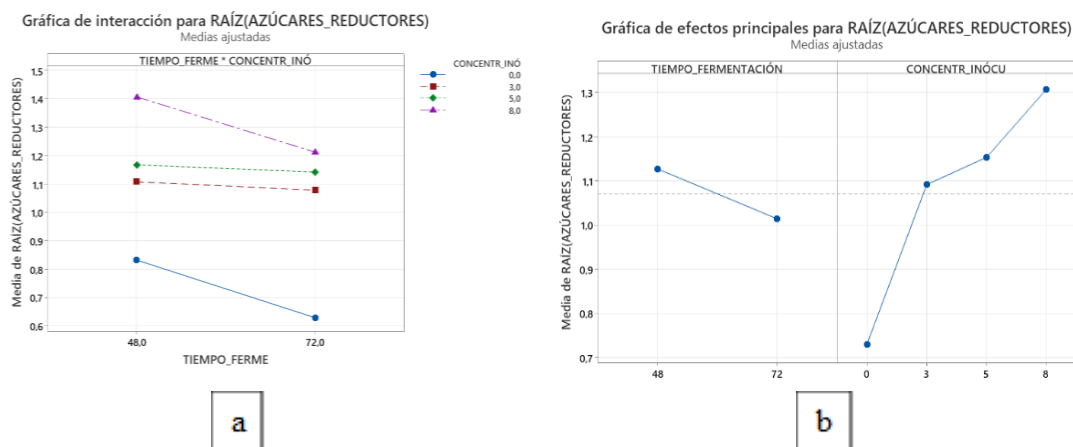


Figura 30. a) Interacción factorial y b) efectos principales para azúcares reductores.

Por otro lado, el efecto significativo del tiempo de fermentación se manifestó en una disminución gradual de la concentración de azúcares reductores a medida que transcurrió el

proceso fermentativo (**Figura 29**). La reducción observada a las 72 horas, particularmente marcada en las concentraciones del tratamiento control y con 8% de inóculo, sugiere un consumo progresivo de azúcares reductores por parte de los microorganismos durante la fase prolongada de fermentación. Este descenso gradual estaría asociado a la utilización de estos compuestos como principal fuente de carbono para el crecimiento microbiano (Elhalis et al., 2020). En este contexto, estudios como el de Pereira et al. (2019) destacan que los cultivos de levaduras producen diversos compuestos de bajo peso molecular como ésteres, alcoholes superiores, aldehídos, cetonas y terpenoides durante la remoción del mucílago, como resultado de la metabolización de los azúcares simples.

En los frutos maduros de *Coffea arabica*, los polisacáridos de la pared celular (CWP, por sus siglas en inglés), principalmente galactomananos y arabinogalactanos, constituyen entre el 48 % y el 60 % de la materia seca, siendo los principales compuestos de reserva del fruto (Joët et al., 2010). Durante la fermentación, la disminución significativa de azúcares totales entre las 48 y 72 horas, representada en la **Figura 29** y en la **Figura 31** para todas las concentraciones de inóculo, refleja la progresión del metabolismo microbiano y la consiguiente degradación tanto de los CWP como de la sacarosa (Joët et al., 2010).

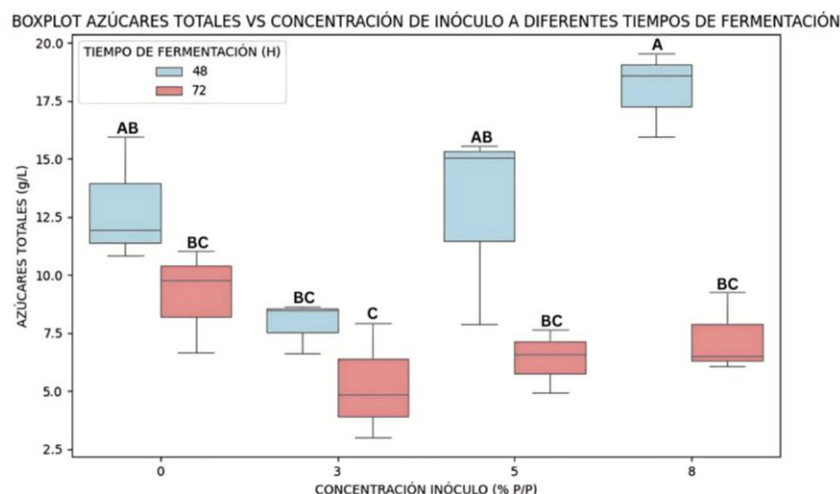


Figura 31. Evolución de los azúcares totales de los tratamientos durante la fermentación. Los boxplots que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p>0.05$).

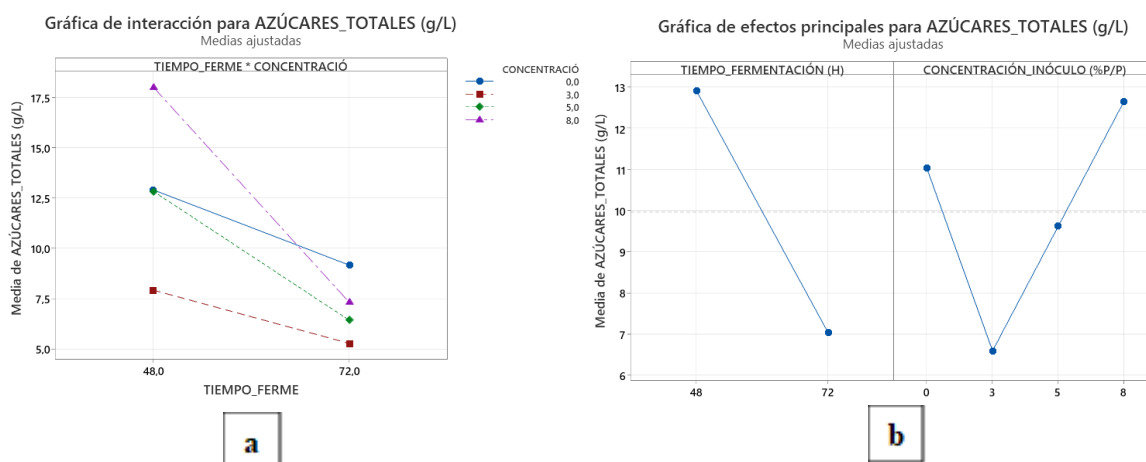


Figura 32. a) Interacción factorial y b) efectos principales para valores de azúcares totales.

Durante las primeras 48 horas, los microorganismos parecen favorecer la hidrólisis de compuestos complejos, liberando azúcares simples e incrementando la concentración de azúcares totales, especialmente a altas concentraciones de inóculo (8%). Este patrón se articula con lo señalado por Prakash et al. (2022), quien sostiene que los azúcares son los

primeros sustratos metabolizados durante la fermentación del café, siendo las levaduras los principales agentes responsables de su asimilación a través de una predominancia de enzimas hidrolíticas, como las amilasas, pectinasas y celulasas, donde la pulpa del café constituye la principal fuente de sustrato.

Al extenderse el tiempo de fermentación a 72 horas, la marcada reducción en la concentración de azúcares totales indica un cambio en el equilibrio metabólico hacia el consumo de estos azúcares para el crecimiento celular y la síntesis de metabolitos volátiles asociados con las características aromáticas y el perfil sensorial en taza (Pereira et al., 2015). Esta transición metabólica es consistente con el comportamiento característico de microorganismos fermentativos, los cuales tras agotar los nutrientes fácilmente asimilables intensifican la degradación de fuentes alternativas de carbono como respuesta adaptativa frente a condiciones de estrés, desencadenando así mecanismos de regulación. (a et al., 2021). De manera similar Polanía et al. (2024) observaron que, durante la fermentación, los azúcares fueron utilizados para el crecimiento microbiano, mientras que se detectaban cantidades significativas de metabolitos secundarios, entre ellos alcoholes como el etanol y ácidos como el acético y el láctico. Sin embargo, De Bruyn et al. (2016) señalan que, en fermentaciones prolongadas, la disminución de los azúcares totales también puede deberse, en parte, a la anoxia provocada por la inmersión en agua, en donde esta condición induce la germinación de los endospermos y activa una respuesta metabólica anaeróbica, caracterizada por el consumo progresivo de carbohidratos a través de la glucólisis, lo que contribuye de forma significativa a su reducción.

En este sentido, la elevada concentración de azúcares totales observada con un 8% de inóculo podría atribuirse a una mayor actividad hidrolítica durante las etapas iniciales del proceso,

en contraste con las concentraciones intermedias (3%), donde la menor liberación de azúcares podría explicarse por un desequilibrio entre la producción de enzimas y la disponibilidad del sustrato, como lo indican Mardhatilah et al. (2023), cuyos hallazgos muestran que una concentración limitada de levadura conduce a una degradación insuficiente de los carbohidratos a glucosa. Por otro lado, la evaluación del tratamiento control a las 48 h reveló la presencia de microflora nativa con actividad hidrolítica comparable a la registrada a concentraciones intermedias (5%) de inóculo iniciador, mientras que la reducción más pronunciada a 8% comparada con la reducción a 3% sugiere que la tasa de consumo de azúcares es proporcional a la densidad poblacional (Mardhatilah et al., 2023)

10.5.4 Sólidos solubles totales

La cuantificación de los sólidos solubles totales (SST) constituye un criterio relevante para determinar la finalización del proceso fermentativo, dado que su concentración no solo refleja la presencia de azúcares, sino también la de otros compuestos en menor proporción, como ácidos orgánicos, vitaminas, aminoácidos y pectinas fenólicas, cuya variación se encuentra estrechamente asociada con la degradación del mucílago y el progreso de la fermentación (Prakash et al., 2022; Silva et al., 2014).

El análisis estadístico de los sólidos solubles totales durante la fermentación reveló que tanto la concentración de inóculo ($p < 0,05$) como su interacción con el tiempo de fermentación ($p < 0,05$) fueron estadísticamente significativas. En contraste, el tiempo de fermentación considerado como factor independiente, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (**Figura 33b**). La interacción entre inóculo y tiempo explica los patrones no lineales observados en la **Figura 33a**, en donde a las 48 horas, el tratamiento con

8 % de inóculo registró los valores más altos de SST (5,8–6,0 °Brix), mientras que, a las 72 horas, el tratamiento control presentó la mayor concentración (5,3 °Brix) en los SST, como se muestra en la **Figura 34**.

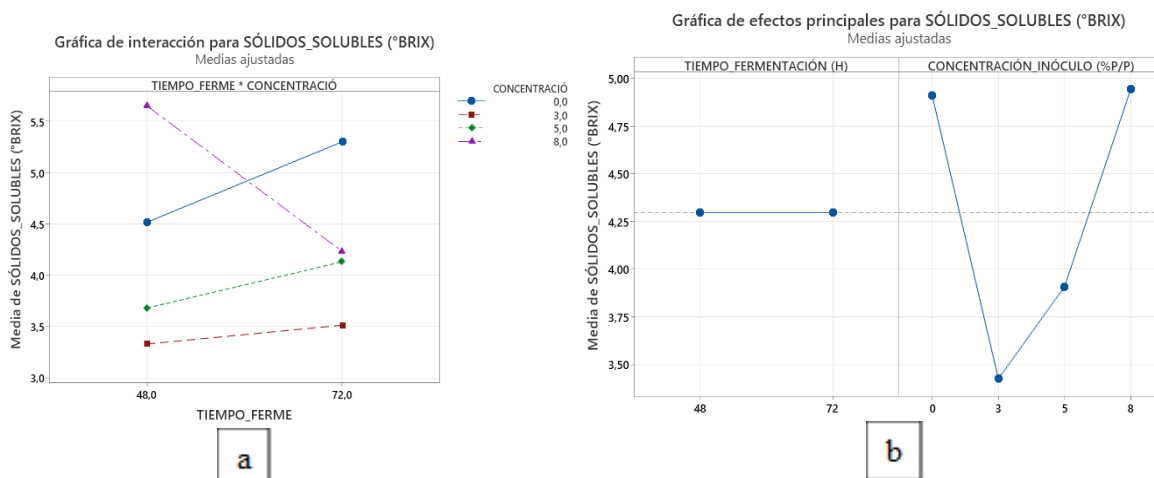


Figura 33. a. Interacción factorial y b. Efectos principales para valores de sólidos solubles totales.

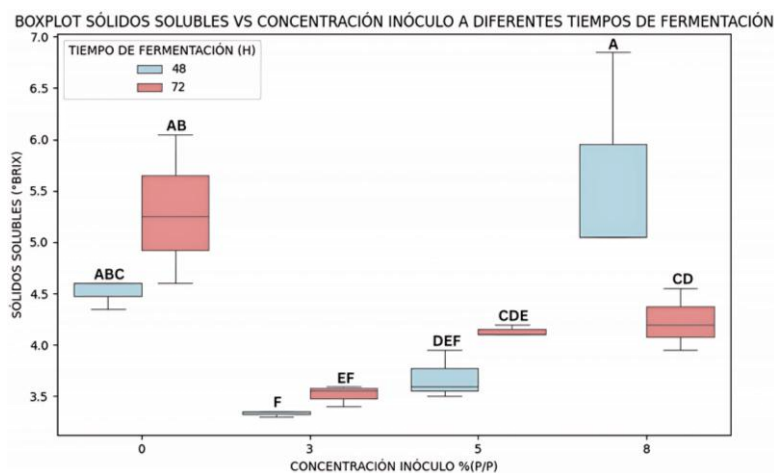


Figura 34. Evolución de sólidos solubles totales de los tratamientos durante la fermentación. Los boxplots que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$).

El comportamiento diferencial en función de la concentración de inóculo reveló dinámicas metabólicas específicas, mediadas principalmente por la diversidad microbiana y la densidad poblacional de los microorganismos involucrados en la fermentación, tal como lo señala Nakyinsige et al. (2025) en el contexto de fermentaciones espontáneas. En particular, la

concentración de 8 % mostró una intensa actividad enzimática durante las primeras 48 horas, lo que favoreció la rápida solubilización de azúcares al medio fermentativo, proceso que estuvo seguido por una fase de conversión metabólica hacia alcoholes por la acción de las levaduras, lo que se tradujo en una disminución significativa reducción de los SST a las 72 horas (Tirado-Kulieva et al., 2024). En contraste, los tratamientos Control, 5 % y 3 % mostraron un incremento en los sólidos solubles totales (SST) entre las 48 y 72 horas, con velocidades de liberación decrecientes en ese mismo orden. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Nakyinsige et al. (2025), quienes atribuyen las variaciones en los niveles de SST a diferencias en la tasa de degradación microbiana de azúcares hacia ácidos orgánicos. Por su parte, Polanía et al. (2024) señalan que la estabilidad del contenido de SST podría explicarse dada la selectividad de las bacterias ácido-lácticas por ciertos azúcares, como la glucosa, y a su limitada capacidad para degradar otros, como la sacarosa o la fructosa, también presentes en el café.

Finalmente, es relevante señalar que factores como el grosor de la pulpa y la capa del mucilago, así como la diferencias en el tamaño y la densidad de los granos en las muestras de cada tratamiento, incidieron directamente en las fluctuaciones de los compuestos asociados con los sólidos solubles durante la fermentación (Peñuela-Martínez et al., 2023).

10.6 Prueba de escalamiento

Con base en los resultados fisicoquímicos y microbiológicos previamente analizados, se evaluaron las interacciones entre las variables de respuesta mediante una matriz (**Tabla 6**). Esta metodología permitió identificar el tratamiento óptimo para su escalamiento y realizar

análisis posteriores focalizados en compuestos fenólicos, Ocratoxina A, capacidad antioxidante y catación.

Tabla 6. Matriz de análisis

CRITERIOS DE DECISIÓN	TRATAMIENTOS							
	48 h				72 h			
	Control	3%	5%	8%	Control	3%	5%	8%
Viabilidad y estabilidad de <i>Meyerozyma c</i> durante la fermentación	N/A	2	3	1	N/A	2	3	1
Actividad antagonista de <i>Meyerozyma c</i> frente a enterobacterias	N/A	3	3	3	N/A	3	3	3
Consorcio poblacional entre <i>Meyerozyma c.</i> - <i>BAL</i>	N/A	2	3	1	N/A	1	3	2
pH óptimo (pH:3,5)	2	3	3	3	1	2	2	1
Degradación de azúcares complejos (sólidos solubles)	2	1	1	3	2	1	1	3
Tasa de aprovechamiento de azúcares complejos y simples de la <i>Meyerozyma c.</i> para la producción de ácidos orgánicos (pH, acidez tituble)	N/A	1	2	3	N/A	2	3	3
CONSOLIDADO DE VALORACIÓN	4	12	15	14	3	11	15	13

Nota: La escala de valoración empleada en esta tabla se estructura jerárquicamente en tres niveles: 3 (Bueno), 2 (Medio) y 1 (Bajo).

A partir de los resultados presentados en la **Tabla 6**, el tratamiento con 5 % de *Meyerozyma caribbica* a las 48 horas se destaca como la opción más adecuada para ser escalada, al obtener el mayor puntaje en el consolidado de valoración (15 puntos). Este tratamiento mostró un desempeño superior en variables clave como viabilidad y estabilidad de la levadura durante la fermentación, actividad antagonista frente a enterobacterias, formación de un consorcio equilibrado con bacterias ácido-lácticas, mantenimiento del pH en niveles óptimos, así como una alta eficiencia en la degradación y aprovechamiento de azúcares para la producción de ácidos orgánicos. Más aún, el tratamiento a 48 horas ofrece ventajas adicionales al permitir

una reducción del tiempo de fermentación, lo que se traduce en una optimización del proceso desde el punto de vista técnico y operativo, sin comprometer la calidad del producto final.

10.6.1 Análisis sensorial

El análisis sensorial realizado al escalamiento clasificó el producto como un café de especialidad, conforme a los estándares establecidos por la Specialty Coffee Association (SCA). La evaluación fue conducida por un catador certificado Q Grader del laboratorio 'La Taza de Juan S.A.S.', obteniéndose una puntuación final de 84,50 puntos.

Tabla 7. Resultados de catación por la Taza de Juan S.A.S.

Ítem	Características	Clasificación	Diagrama de perfil de sensorial del Café
1	Fragancia/Aroma	8,25	
2	Sabor	8,00	
3	Sabor residual	7,50	
4	Acidez	7,75	
5	Cuerpo	7,50	
6	Uniformidad	10,0	
7	Dulzor	10,0	
8	Taza limpia	10,0	
9	Balance	7,50	
10	Puntaje de catador	8,00	
	Puntaje final	84,50	
Notas	<i>Fragancia a frutos rojos con sutil sensación de vino tinto, aroma a cereza, sabor sutil a sandía con sensación cereal y caña, residual sutil a vino tinto, cuerpo sedoso con textura arenosa, acidez cítrica brillante</i>		

Los atributos de uniformidad, taza limpia y dulzor alcanzaron la puntuación máxima de 10,0, lo que refleja las condiciones controladas del proceso fermentativo, la adecuada selección de cerezas en su punto óptimo de maduración, la aplicación de buenas prácticas de laboratorio y la pureza del cultivo iniciador (Sánchez-Riaño et al., 2024).

El parámetro de fragancia/aroma obtuvo una calificación de 8,25 puntos, destacándose la percepción de notas frutales como cereza, frutos rojos y vino tinto. En concordancia con estos resultados, Bressani et al. (2020) reportaron que la presencia de la levadura *Meyerozyma caribbica* potencia la generación de aromas asociados a frutos rojos y azúcares caramelizados. De manera complementaria, Pereira et al. (2019) señalan que cepas de *Meyerozyma caribbica* pueden intervenir en la síntesis de compuestos volátiles, tales como ácidos orgánicos, alcoholes superiores (feniletilalcohol) y ésteres (como benzil benzoato y etil hexadecanoato), los cuales están estrechamente relacionados con perfiles sensoriales frutales y florales descritos en la bebida final. El papel clave de las levaduras en la mejora del perfil sensorial del café ha sido demostrado por Liu et al. (2021). En su estudio, destacaron que *Saccharomyces cerevisiae*, empleada como cultivo iniciador, generó compuestos volátiles como el 3-metilbutanol y el 2-feniletanol los cuales son precursores de acetato de isoamilo y el acetato de 2-feniletilo, compuestos íntimamente vinculados a notas de frutas maduras, cereza y matices florales.

Respecto al atributo del sabor, Gómez et al. (2024) destacan que este surge de la interacción entre las sensaciones gustativas y los aromas retronasales. En el presente estudio, este parámetro alcanzó una calificación de 8,0, destacándose un sabor sutil a sandía con una sensación complementaria a cereal con caña. Estos últimos descriptores podrían asociarse a

la presencia de pirroles, compuestos volátiles que, según Puerta (2011), se podrían haber generado principalmente durante la tostión del grano.

La acidez obtuvo una puntuación de 7,75 y fue descrita como brillante y cítrica. En el estudio desarrollado por Echeverri-Giraldo et al. (2024), utilizando café *Arabica* variedad Castillo, se identificó el ácido láctico, fosfórico y el 3,5-di-cafeoilquínico (3,5-di-CQA) como compuestos clave en la discriminación de este atributo sensorial, debido a sus correlaciones significativas con la percepción de acidez. Asimismo, se observaron en concentraciones elevadas en los granos de café verde, lo que sugiere su contribución directa a la acidez percibida en la bebida final.

Por otro lado, el sabor residual alcanzó una puntuación de 7,50, lo que refleja la duración de las cualidades positivas de sabor y aroma tras la degustación (Gómez et al., 2024). En este caso, se detectó una persistencia gustativa de nota sutil a vino tinto. Efecto que podría asociarse, en parte, a la presencia de lactonas derivadas de ácidos clorogénicos, como la 3,4-O-cafeoil- γ -quinida, que Según Lin et al. (2022), son compuestos que impactan la estabilidad del sabor del café, incluso a concentraciones subumbral, mediante interacciones gustativas y cruzadas que afectan la percepción global del sabor

El cuerpo, definido como la sensación táctil del café en la cavidad bucal (Gómez et al., 2024), obtuvo una calificación de 7,50, descrito como sedoso con una textura ligeramente arenosa. Este atributo puede vincularse a múltiples factores: Bressani et al. (2020) demostraron que la fermentación con *Meyerozyma caribbica* genera un cuerpo denso y estructurado, mientras que Díaz et al. (2018) señalaron que la descomposición térmica de fenoles durante el tostado libera cafeína, compuesto clave para aportar intensidad y cuerpo. Asimismo, Lara-Estrada (2005) vinculó los ácidos clorogénicos con una mayor percepción de amargor y cuerpo

denso. De esta forma, la interacción entre la composición bioquímica de la variedad, la fermentación y la tostión podría explicar la textura sedosa con matices arenosos descritos.

Finalmente, el atributo de balance recibió una calificación de 7,50 sugiriendo una interacción adecuada entre los atributos descritos anteriormente, contribuyendo a una percepción global positiva. (Gómez et al., 2024).

Por otro lado, la catación de muestras de café Var. Castillo sometidas a fermentación espontánea, analizadas por Polanía et al. (2024), alcanzaron una puntuación de 81,75, lo que permitió establecer una comparación con los resultados del presente estudio. Las diferencias en la calidad sensorial final se evidenciaron principalmente en atributos de fragancia/aroma, sabor, acidez y balance, así como en las notas específicas de frutos rojos, vino tinto, cereza, sandía, cuerpo sedoso y acidez cítrica brillante. Esta variabilidad resalta el impacto del proceso fermentativo y las condiciones específicas de cada estudio en el perfil organoléptico del café.

10.6.2 Fenoles totales y capacidad antioxidante

Los compuestos fenólicos se caracterizan por poseer uno o más grupos fenol, enlazados a estructuras aromáticas o alifáticas, y comprenden una diversidad estructural con más de 8.000 compuestos identificados (Oomah et al., 2005). Estos metabolitos secundarios se asocian a diversas actividades biológicas, incluyendo funciones antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas (Therdtatha et al., 2023). En el café verde, destacan los ácidos clorogénicos y cafeicos, los cuales, además de su actividad biológica, contribuyen a propiedades sensoriales como la astringencia y el amargor, siendo los ácidos clorogénicos relevantes en la percepción sensorial (Castillo Avilés et al., 2023). También cumplen funciones de defensa

frente a factores de estrés como infecciones y radiación ultravioleta (Paucar Anchirayco, 2010).

El tostado y el beneficio del café afectan directamente los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, alterando el contenido de los polifenoles totales y, por ende, la capacidad antioxidante (Hečimović et al., 2011). La reacción de Maillard y la formación de melanoidinas durante el tostado contribuyen a la disminución de estos compuestos (Pérez-Hernández et al., 2012). Los cafés de tostado claro conservan una mayor cantidad de polifenoles debido a una menor degradación térmica junto a la concentración de compuestos fenólicos por pérdida de humedad (Huaccha-Herrera et al., 2024). Por otro lado, Acosta-Arbeláez (2020) indicó que el método de procesamiento tiene un impacto en el contenido de compuestos fenólicos, de esta forma, el procesamiento por vía húmeda tiene una mayor concentración de ácidos clorogénicos en comparación con el beneficio natural y honey. Esto se debe al mayor tiempo de remojo y fermentación, lo que favorece una mejor extracción enzimática y menor degradación de estos compuestos.

A continuación, se presentan los resultados de las determinaciones de compuestos fenólicos y de capacidad antioxidante, esta última evaluada mediante las metodologías de ABTS y DPPH.

Tabla 8. Contenido fenólico total y capacidad antioxidante del café verde evaluada por los métodos ABTS y DPPH.

Muestra	Contenido fenólico total (mg AG/100 g muestra)	Capacidad antioxidante ABTS (mg trolox/100 g muestra)	Capacidad antioxidante DPPH (mg trolox/100 g muestra)
	2475,7	4519,2	2184,0
Café verde	2129,6	4136,6	1869,3
	2080,5	3561,8	1764,4
Promedio	2228,6 ± 215,4	4072,5 ± 481,9	1939,2 ± 218,4

Las concentraciones de contenido fenólico total obtenidas en este estudio (**Tabla 8**), son comparables con las reportadas por Trandafir et al. (2013), cuyos valores se encontraron entre 1980 y 4190 mg AG/100 g. De manera similar, Wu et al. (2022) informaron un máximo de 2397 mg AG/100 g en cafés de tueste claro, mientras que Tan et al. (2020) alcanzaron hasta 3352 mg AG/100 g en muestras sometidas a fermentación con cultivos iniciadores.

Por otro lado, según Díaz Muñoz (2021), la lectura de capacidad antioxidante puede variar según la metodología empleada para su cuantificación, debido a las diferencias en la sensibilidad y especificidad de cada ensayo, de esta forma, el método ABTS tiende a reportar valores más altos al detectar tanto antioxidantes hidrosolubles como liposolubles, mientras que el ensayo DPPH presenta mayor afinidad por compuestos lipofílicos, limitando su capacidad de detección. En este sentido, los valores obtenidos mediante los métodos ABTS y DPPH son comparables con los reportados por Therdtatha et al. (2023), quienes observaron lecturas de 4142,6 mg de trolox/100 g y 2315,3 mg de trolox/100 g, respectivamente, en una fermentación inoculada con *L. plantarum* y un consorcio de levaduras. Estos resultados respaldan la alta actividad antioxidante observada en el presente estudio.

10.6.3 Ocratoxina A

Uno de los principales factores que limita el comercio internacional del café es su contaminación con ocratoxina A (OTA) (Yazdanfar et al., 2022). Estudios exhaustivos han estimado que aproximadamente el 10 % de los lotes de café presentan niveles detectables de esta micotoxina (Vatinno et al., 2008). En este contexto, la presencia de OTA constituye un aspecto crítico que compromete tanto la calidad como la seguridad alimentaria del producto, afectando negativamente sus características sensoriales y reduciendo su aceptación en

mercados especializados (Yazdanfar et al., 2022). Por ello, su monitoreo y control garantizan la inocuidad del café, en un entorno regulatorio internacional cada vez más riguroso.

Tabla 9. Determinación de ocratoxina A del tratamiento de escalamiento.

Análisis	Unidad	Especificación	Resultado	Método
Ocratoxina A	N/A	Máximo 5.0 µg/kg	No detectables	HPLC-FL-207

Los resultados del análisis de ocratoxina A (OTA) indican que no se detectaron niveles cuantificables de esta micotoxina en la muestra, encontrándose por debajo del límite de detección del método empleado (HPLC-FL-207). Este hallazgo es especialmente relevante considerando que la Comisión Europea establece un límite máximo de 3 µg/kg para los granos de café tostado y 5 µg/kg para el café soluble, por lo que la ausencia de OTA confirma el cumplimiento con los estándares internacionales de inocuidad alimentaria (Commission Regulation (EU) 2023/915, 2023).

La ausencia de OTA también sugiere un manejo poscosecha adecuado, que evitó condiciones favorables para el desarrollo de hongos filamentosos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Esto cobra particular importancia dado que la OTA es una micotoxina termoestable, que no se degrada completamente incluso a temperaturas de hasta 250 °C (Lobeau et al., 2005; Hajok et al., 2019), por lo que su presencia en el grano verde compromete de forma irreversible la calidad del producto final. Además, factores como la temporada de cosecha, el tiempo y las condiciones de almacenamiento influyen significativamente en la acumulación de OTA (Hajok et al., 2019). Por ello, el control efectivo de esta micotoxina no depende únicamente de una fermentación controlada, sino también de la implementación de buenas prácticas durante las etapas de secado y

almacenamiento de los granos. Estas medidas son esenciales para garantizar una actividad de agua óptima en el producto, condición clave para inhibir el desarrollo fúngico y, con ello, minimizar el riesgo de contaminación por Ocratoxina A (Estrada-Bahena et al., 2022).

11 Conclusiones

La aplicación de cultivos iniciadores en la fermentación del café se propuso como una estrategia para reducir el tiempo del proceso, mejorar su control y optimizar la calidad sensorial del producto final. En este contexto, el uso de *Meyerozyma caribbica* microencapsulada, aislada del propio fruto y aplicada a una concentración del 5 % durante 48 horas, permitió completar adecuadamente la fermentación sin inducir fenómenos de sobrefermentación, como fue evidenciado por parámetros fisicoquímicos, especialmente el pH. La microencapsulación contribuyó además a prolongar la vida útil del cultivo hasta por seis meses, facilitando su manejo y aplicación en condiciones controladas, y reduciendo el riesgo de contaminación. Este control microbiológico se reflejó positivamente en atributos sensoriales clave como dulzor, limpieza de taza, uniformidad, aroma, sabor, cuerpo, retrogusto, equilibrio y puntuación global. Adicionalmente, el uso de pulpa como sustrato en la fermentación por beneficio vía seca contribuye a la reducción de residuos orgánicos, promoviendo el aprovechamiento integral del fruto. Por tanto, esta estrategia representa una alternativa prometedora para convertir un proceso tradicionalmente variable en una propuesta tecnológicamente controlada, centrada en la mejora de la calidad en taza y en la sostenibilidad del proceso. Se recomienda que futuras investigaciones profundicen en la caracterización de los aislados microbianos involucrados y en la definición de condiciones óptimas a escala

industrial que permitan acortar aún más los tiempos de fermentación mediante el uso de cultivos iniciadores seleccionados.

12 Referencias bibliográficas

- Açikalın, B., & Sanlier, N. (2021). Coffee and its effects on the immune system. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 625-632. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.023>
- Acosta-Arbeláez, J. M. (2020). *Composición química asociada al perfil de taza de un café especial variedad Castillo® proveniente de Barbosa Antioquia y beneficiado bajo diferentes procesos de fermentación* (Doctoral dissertation, Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/79377>).
- Alamri, E., Rozan, M., & Bayomy, H. (2022). A study of chemical Composition, Antioxidants, and volatile compounds in roasted Arabic coffee. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3133-3139. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.025>
- Al-Ghamdi, S., Alfalfi, B., Elamin, W., & Lateef, M. A. (2024). Advancements in Coffee Manufacturing: From Dehydration Techniques to Quality Control. *Food Engineering Reviews*, 16, 513–539 <https://doi.org/10.1007/s12393-024-09383-5>
- Alves, R. C., Rodrigues, F., Nunes, M. A., Vinha, A. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2017). Chapter 1 - State of the art in coffee processing by-products. In *Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications* (pp. 1–26). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811290-8.00001-3>
- Antonio, J., & Agüera, P. (2020). *Efecto de la sobrepresión de CO₂ endógeno sobre el proteoma de levaduras vínicas durante la segunda fermentación en la elaboración*

- de cava* [Trabajo de fin de máster, Universidad de Córdoba]. Helvia. <http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/20347>
- Aristizábal, V. M., Chacón, M. A., & Cardona, C. A. (2017). The biorefinery concept for the industrial valorization of coffee processing by-products. En M. A. Farah (Ed.), *Handbook of coffee processing by-products: Sustainable applications* (pp. 61–88). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811290-8.00003-7>
- Athinuwat, D., Klomchit, A., Phonwong, K., Nachalaem, P., Thammakulrajang, R., & Brooks, S. (2024). Assessing the Impact of Yeast Fermentation in Dry Processing on Coffee Quality from *Coffea arabica* cv. Caltimor, *C. arabica* cv. Bourbon and *C. canephora* cv. Robusta. *Trends in Sciences*, 21(10), 8132. <https://doi.org/10.48048/tis.2024.8132>
- Baldeón Beltran, J. R. (2013). *Calidad bacteriológica del agua de cultivo de Oncorhynchus mykiss del centro piscícola “EL INGENIO”, Huancayo - Junín* [Tesis de pregrado/maestría, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional del Centro del Perú. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/1237>
- Bertrand, B., Boulanger, R., Dussert, S., Ribeyre, F., Berthiot, L., Descroix, F., & Joët, T. (2012). Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. *Food Chemistry*, 135(4), 2575–2583. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.060>
- BIOMÉRIEUX. (2015). *Medio de cultivo de microorganismos que comprende el ácido para-aminobenzoico como agente selectivo* (Patente ES2529132T3). Oficina Europea de

- Patentes. Inventor: Jean-Marc Roche. Agente: María Isabel Lehmann Novo.
<https://patents.google.com/patent/ES2529132T3/es>
- Biyada, S., Merzouki, M., Dëmčenko, T., Vasiliauskienė, D., Ivanec-Goranina, R., Urbonavičius, J., Marčiulaitienė, E., Vasarevičius, S., & Benlemlih, M. (2021). Microbial community dynamics in the mesophilic and thermophilic phases of textile waste composting identified through next-generation sequencing. *Scientific Reports*, 11(1), 23624. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03191-1>
- Blandón Castaño, G., Dávila Arias, M. T., & Rodríguez Valencia, N. (1999). Caracterización microbiológica y fisicoquímica de la pulpa de café sola y con mucílago, en proceso de lombricompostaje. *Revista Cenicafé*, 50(1), 5–23.
<https://www.cenicafe.org/es/publications/arc050%2801%29005-023.pdf>
- Braga, A. V. U., Miranda, M. A., Aoyama, H., & Schmidt, F. L. (2023). Study on coffee quality improvement by self-induced anaerobic fermentation: Microbial diversity and enzymatic activity. *Food Research International*, 165, 112528.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112528>
- Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Evangelista, S. R., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2018). Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. *LWT*, 92, 212–219.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.029>
- Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Sarmiento, A. B. I., Borém, F. M., & Schwan, R. F. (2021). Influence of yeast inoculation on the quality of fermented coffee (*Coffea arabica* var. Mundo Novo) processed by natural and pulped natural processes. *International*

Journal of Food Microbiology, 343, 109107.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109107>

Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Sarmiento, A. B. I., Borém, F. M., & Schwan, R. F. (2020). Organic acids produced during fermentation and sensory perception in specialty coffee using yeast starter culture. *Food Research International*, 128, 108773.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108773>

Briceño-Vélez, D. (2020). *Efecto de las bacterias lácticas microencapsuladas en la calidad microbiológica y en las propiedades fisicoquímicas de salchichas cocidas* [Universidad del Valle].

Caballero Benitez, M. (2019). *Determinación de los Factores Extrínsecos e Intrínsecos que Afectan la Calidad del Café de Inversiones Galavis en el 2018-2019* [Tesis de pregrado, Universidad de Santander].

Carranza, C., León, R., Falcón, N., Neumann, A., & Kromm, C. (2012). Characterization and distribution of potentially avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from broilers in Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP)*, 23(2), 209–219.

Carvalho Ferreira, L. J., de Souza Gomes, M., Maciel de Oliveira, L., & Diniz Santos, L. (2023). Coffee fermentation process: A review. *Food Research International*, 169, 112793. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112793>

Cassimiro, D. M. J., Batista, N. N., Fonseca, H. C., Naves, J. A. O., Coelho, J. M., Bernardes, P. C., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2023). Wet fermentation of *Coffea canephora* by lactic acid bacteria and yeasts using the self-induced anaerobic fermentation (SIAF) method enhances the coffee quality. *Food Microbiology*, 110, 104161.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104161>

- Castillo Avilés, G. A., Hofmann, T. A., & Cardona, J. (2024). Identificación de levaduras nativas en café Geisha (*Coffea arabica*) y su efecto como cultivo iniciador en las características sensoriales y químicas de café lavado. *Ceiba*, 57(1), 29-50. <https://doi.org/10.5377/ceiba.v57i1.18140>
- Centre for the Promotion of Imports from developing countries. (2020). *European market potential for speciality coffee*. Recuperado de <https://www.cbi.eu/market-information/coffee/specialty-coffee/market-potential>
- Chaspuengal, E. Y., & Silva, A. S. (2023). *Obtención de café de alta calidad mediante procesos de fermentación controlada utilizando bacterias lácticas y levaduras encapsuladas* [Trabajo de grado]. Universidad del Valle.
- Coelho, E. G., Bertarini, P. L. L., Gomes, M. S., Amaral, L. R., Zotarelli, M. F., Santos, L. D., & Santana, R. C. (2024). Physicochemical and sensory properties of *Arabica* coffee beans of Arara cv. dried using different methods. *Foods*, 13, 642. <https://doi.org/10.3390/foods13050642>
- Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006, 2023 O.J. (L 119) 103–157. <http://data.europa.eu/eli/reg/2023/915/oj>
- Cordoba Castro, N. M., & Guerrero Fajardo, J. E. (2016). Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café en el departamento de Nariño. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 14(2), 75-83. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6190623>

- Costa, G. X. R., Silva, L. C. F., Oliveira, L. M., & Santos, L. D. (2024). Microbiota of arabica coffee: insights from soil to fruit. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(10), 308. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04110-y>
- Cruz-O'Byrne, R., Gamez-Guzman, A., Piraneque-Gambasica, N., & Aguirre-Forero, S. (2023). Genomic sequencing in Colombian coffee fermentation reveals new records of yeast species. *Food Bioscience*, 52, 102415. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102415>
- Davarcı, F., Turan, D., Ozcelik, B., & Poncelet, D. (2017). The influence of solution viscosities and surface tension on calcium-alginate microbead formation using dripping technique. *Food Hydrocolloids*, 62, 119-127. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.029>
- De Bruyn, F., Zhang, S. J., Pothakos, V., Torres, J., Lambot, C., Moroni, A. V., Callanan, M., Sybesma, W., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2016). Exploring the impacts of postharvest processing on the microbiota and metabolite profiles during green coffee bean production. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), e02398-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02398-16>
- De Carvalho Neto, D. P. de, Pereira, G. V. de M., Finco, A. M. O., Letti, L. A. J., da Silva, B. J. G., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2018). Efficient coffee beans mucilage layer removal using lactic acid fermentation in a stirred-tank bioreactor: Kinetic, metabolic and sensorial studies. *Food Bioscience*, 26, 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.005>
- De Carvalho Neto, D. P., Pereira, G. V. de M., Tanobe, V. O. A., Soccol, V. T., da Silva, B. J. G., Rodrigues, C., & Soccol, C. R. (2017). *Yeast diversity and physicochemical*

- characteristics associated with coffee bean fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro region*. *Fermentation*, 3(1), 11. <https://doi.org/10.3390/fermentation3010011>
- De Oliveira Junqueira, A. C., de Melo Pereira, G. V., Coral Medina, J. D., Alvear, M. C. R., Rosero, R., de Carvalho Neto, D. P., Enríquez, H. G., & Soccol, C. R. (2019). First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 8794. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45002-8>
- De Paula, J., & Farah, A. (2019). Caffeine consumption through coffee: Content in the beverage, metabolism, health benefits and risks. *Beverages*, 5(2), 37. <https://doi.org/10.3390/beverages5020037>
- Deshpande, S., Singh, S., Panneerselvam, A., & Rajeswari, V. D. (2019). Nutrients in caffeinated beverages—An overview. En *Caffeinated and Cocoa Based Beverages: Vol. 8. The Science of Beverages* (pp. 367–389). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815864-7.00011-8>
- Díaz Manrique, M. A., & Córdoba Vargas, C. A. (2020). Estudio de la estructura del agroecosistema cafetero mediante el diagrama de ciclos causales: Estudio de caso (Cundinamarca, Colombia). *Ager: Revista de Estudios sobre Despoblación y Desarrollo Rural*, 28, 135–160. <https://doi.org/10.4422/ager.2019.08>
- Díaz Muñoz, M. de los Ángeles. (2021). *Estudio comparativo de los métodos DPPH y ABTS para la determinación de la actividad antioxidante de la pulpa de maracuyá (Passiflora edulis)* [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional de la Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/58435>

- Díaz, A., Silva, M., & Dávila, J. (2018). Relación entre las buenas prácticas de higiene y la ocurrencia de ocratoxina A en café (*Coffea arabica* L.) orgánico de las principales zonas cafetaleras del Perú. *Scientia Agropecuaria*, 9(2), 177-187. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.02.02>
- Díaz, F. O., Ormaza, A. M., & Rojano, B. A. (2018). Efecto de la tostión del café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el perfil de taza, contenido de compuestos antioxidantes y la actividad antioxidante. *Información Tecnológica*, 29(4), 4000031. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-076420180004000031>
- Dzialo, M. C., Park, R., Steensels, J., Lievens, B., & Verstrepen, K. J. (2017). Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(Supp_1), S95–S128. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux031>
- Ebabhi, A. M., Adekunle, A. A., Okunowo, W. O., & Osuntoki, A. A. (2013). Isolation and characterization of yeast strains from local food crops. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 4(4), 38–43. <https://doi.org/10.5897/JYFR2013.0112>
- Echeverri-Giraldo, L. F., Osorio Pérez, V., Tabares Arboleda, C., Vargas Gutiérrez, L. J., & Imbachí Quinchua, L. C. (2024). Content of acidic compounds in the bean of *Coffea arabica* L., produced in the Department of Cesar (Colombia), and its relationship with the sensorial attribute of acidity. *Separations*, 11(2), 52. <https://doi.org/10.3390/separations11020052>
- Elhalis, H., Cox, J., & Zhao, J. (2023). Coffee fermentation: Expedition from traditional to controlled process and perspectives for industrialization. *Applied Food Research*, 3(1), 100253. <https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2022.100253>

- Elhalis, H., Cox, J., Frank, D., & Zhao, J. (2020). The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. *International Journal of Food Microbiology*, 333, 108796. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108796>
- Elhalis, H., Cox, J., Frank, D., & Zhao, J. (2021). Microbiological and biochemical performances of six yeast species as potential starter cultures for wet fermentation of coffee beans. *LWT*, 137, 114030. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.114030>
- Enciso Molano, M. (2019). *Evaluación del efecto de la inoculación de cultivos iniciadores sobre las características organolépticas del café durante su proceso de fermentación seca* [Tesis de pregrado o maestría]. Universidad de Santander. <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/3752>
- Estrada-Bahena, E. B., Salazar, R., Ramírez, M., Moreno-Godínez, M. E., Jiménez-Hernández, J., Romero-Ramírez, Y., & Alvarez-Fitz, P. (2022). Influence of water activity on physical properties, fungal growth, and ochratoxin A production in dry cherries and green-coffee beans. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(2), e16226.
- Evangelista, S. R., Pedrozo Miguel, M. G. da C., Cordeiro, C. de S., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M., & Schwan, R. F. (2014). Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. *Food Microbiology*, 44, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.013>
- Fadai, N. T., Melrose, J., Please, C. P., Shulman, A., & Van Gorder, R. A. (2017). A heat and mass transfer study of coffee bean roasting. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 104, 787–799. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.08.083>

- Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 23-36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Dirección de Investigaciones Económicas. (2024b). *Informe mensual de exportaciones: Diciembre 2024*. [Informe]. Recuperado de <https://federaciondecafeteros.org/wp/informemensualdeexportaciones/>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2024a). *Informe del gerente general al 93 Congreso Nacional de Cafeteros*. <https://www.federaciondecafeteros.org/>
- Ferreira, L. J. C., Gomes, M. de S., de Oliveira, L. M., & Santos, L. D. (2023). Coffee fermentation process: A review. *Food Research International*, 169, 112793. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112793>
- Galarza, G., & Figueroa, J. G. (2022). Volatile Compound Characterization of Coffee (*Coffea arabica*) Processed at Different Fermentation Times Using SPME–GC–MS. *Molecules*, 27(6), 2004. <https://doi.org/10.3390/molecules27062004>
- Ginovart, M., Prats, C., Portell, X., & Silbert, M. (2011). Analysis of the effect of inoculum characteristics on the first stages of a growing yeast population in beer fermentations by means of an individual-based model. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 38(1), 153–165. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0840-4>
- Giomo, G. S., & Borém, F. M. (2011). Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. *Informe Agropecuário-Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais*, 32(263), 7-13.
- Gómez, J. D., Martínez, L. A., & Rodríguez, P. M. (2024). Effects of geographical origin and post-harvesting processing on the bioactive compounds in green coffee beans. *Food Research International*, 186, 114346. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114346>

- Guamán Collaguazo, C. E., Peraile Muñoz, I., Fernández Martínez, C., Cabria Ramos, J. C., & Gil García, M. (2018). Desarrollo de un método de detección de Ocratoxina a (OTA) mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector de Masas en Tiempo de Vuelo. *Sanidad Militar*, 74(4). <https://dx.doi.org/10.4321/S1887-85712018000400003>
- Guamán Sagñay, E. J. (2024). *Evaluación nutricional y microbiológica de chorizo crudo que se expende en el mercado La Condamine de la ciudad de Riobamba*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Gutiérrez-Sarmiento, W., De Lourdes, I. M., Coutiño, T., & Lucia, M. C. (2015). *Evaluación de factores extrínsecos sobre el crecimiento de Lactobacillus plantarum y su producción de ácido láctico en un reactor de tanque agitado*. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/339711479_EVALUACION_DE_FACTORES_EXTRINSECOS SOBRE EL CRECIMIENTO DE Lactobacillus plantarum Y SU PRODUCCION DE ACIDO LACTICO EN UN REACTOR DE TANQUE AGITADO
- Guzmán Cano, D. (2021). *Potencial tecnológico de cepas nativas de levaduras aisladas en procesos de fermentación natural de café para la producción de cafés especiales* [Tesis de maestría, Universidad de Antioquia]. Repositorio Institucional de la Universidad de Antioquia. <http://hdl.handle.net/10495/21397>
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019). The Harvest and Post-Harvest Management Practices' Impact on Coffee Quality. En D. T. Castanheira (Ed.), *Coffee - Production and Research*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89224>

- Hajok, I., Kowalska, A., Piekut, A., & Ćwieląg-Drabek, M. (2019). A risk assessment of dietary exposure to ochratoxin A for the Polish population. *Food Chemistry*, 284, 264–269.
- Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*, 129(3), 991–1000.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059>
- Holguín-Sterling, L., Pedraza-Claros, B., Pérez-Salinas, R., Ortiz, A., Navarro-Escalante, L., & Góngora, C. E. (2023). Physical-Chemical and Metataxonomic Characterization of the Microbial Communities Present During the Fermentation of Three Varieties of Coffee from Colombia and Their Sensory Qualities. *Agriculture*, 13(10), 1980.
<https://doi.org/10.3390/agriculture13101980>
- Hoseini, M., Cocco, S., Casucci, C., Cardelli, V., & Corti, G. (2021). Coffee by-products derived resources. A review. *Biomass and Bioenergy*, 148, 106009.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106009>
- Huaccha-Herrera, C., Ordoñez-Gómez, E., & Villanueva-Tiburcio, J. E. (2024). Efecto del proceso de tostado en el contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante y evaluación sensorial del café producido en Perú. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 25(3), 3508. https://doi.org/10.21930/rcta.vol25_num3_art.3508
- Iamanaka, B. T., Teixeira, A. A., Teixeira, A. R. R., Copetti, M. V., Bragagnolo, N., & Taniwaki, M. H. (2014). The mycobiota of coffee beans and its influence on the coffee beverage. *Food Research International*, 62, 353–358.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.033>

- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (1999). *Productos de frutas y verduras. Determinación de la acidez titulable* (NTC 4623).
- International Coffee Organization. (2021). *Trade statistics tables: Coffee production by exporting countries*. Recuperado de http://www.ico.org/trade_statistics.asp
- Jespersen, L., Nielsen, D. S., Hønholt, S., & Jakobsen, M. (2005). Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. *FEMS Yeast Research*, 5(4), 441–453. <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.11.002>
- Jiménez Balderas, D. (2024). *Identificación molecular de enterobacterias portadoras de genes de virulencia asociado a ExPEC* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Querétaro. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9862>
- Joët, T., Laffargue, A., Descroix, F., Doubeau, S., Bertrand, B., de Kochko, A., & Dussert, S. (2010). Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry*, 118(3), 693–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.048>
- Karim, M. A., Wijayanti, F., & Sudaryanto, A. (2019). *Comparative studies of coffee processing methods for decision making in appropriate technology implementation*. En *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2114, No. 1, p. 020015). AIP Publishing.
- Kaur, S., Kaur, K., Bhushan, B., Kaur, M., & Hans, M. (2020). Inoculum Size and Age Studies on Single and Mixed Strain Fermentation of Grape Juice. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(3), 2137-2145. <https://doi.org/10.22207/JPAM.14.3.54>

- Kazemipoor, M., Radzi, C. W. J. M. W. M., Begum, K., & Yaze, I. (2012). *Screening of antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from fermented vegetables against food borne pathogens*. arXiv. <https://arxiv.org/abs/1206.6366>
- Kusumah, J., & Gonzalez de Mejia, E. (2022). Coffee constituents with antiadipogenic and antidiabetic potentials: A narrative review. *Food and Chemical Toxicology*, 161, 112821. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112821>
- Kwak, H. S., Jeong, Y., & Kim, M. (2018). Effect of Yeast Fermentation of Green Coffee Beans on Antioxidant Activity and Consumer Acceptability. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2018/5967130>
- Lal, A., & Cheeptham, N. (2007). *Eosin-Methylene Blue Agar Plates Protocol*. American Society for Microbiology.
- Lara-Estrada, L. (2005). *Efectos de la altitud, sombra, producción y fertilización sobre la calidad del café (Coffee arabica L. var. Caturra) producido en sistemas agroforestales de la zona cafetalera norcentral de Nicaragua* [Tesis de Maestría, University of Greenwich]. ResearchGate. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3780.3286>
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., & Liu, S. Q. (2015). Coffee fermentation and flavor – An intricate and delicate relationship. *Food Chemistry*, 185, 182-191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.124>
- Lessa da Silva, B., Vargas Pereira, P., Diirr Bertoli, L., Lima Silveira, D., Nara Batista, N., Fontes Pinheiro, P., de Souza Carneiro, J., Freitas Schwan, R., de Assis Silva, S., Moreira Coelho, J., & Campos Bernardes, P. (2021). Fermentation of *Coffea canephora* inoculated with yeasts: Microbiological, chemical, and sensory

- characteristics. *Food Microbiology*, 98, 103786.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103786>
- Lin, H., Tello, E., Simons, C. T., & Peterson, D. G. (2022). Identification of Non-Volatile Compounds Generated during Storage That Impact Flavor Stability of Ready-to-Drink Coffee. *Molecules*, 27(7), 2120. <https://doi.org/10.3390/molecules27072120>
- Liu, Y., Yuan, W., Lu, Y., & Liu, S. Q. (2021). Biotransformation of spent coffee grounds by fermentation with monocultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lachancea thermotolerans* aided by yeast extracts. *LWT*, 138, 110751.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110751>
- Lobeau, M., De Saeger, S., Sibanda, L., Barna-Vetró, I., & Van Peteghem, C. (2005). Development of a new clean-up tandem assay column for the detection of ochratoxin A in roasted coffee. *Analytica Chimica Acta*, 538(1-2), 57–61.
- Magalhães Júnior, A. I. de, Ferraz, J. A., Costa, L. R. da, Lani, P. G. D., & Oliveira, J. B. de. (2021). *CoffeeFermentationProcess Review*. Scribd. [Sección que menciona los precios]. Recuperado de
<https://www.scribd.com/document/699882726/CoffeeFermentationProcess-Review>
- Mahingsapun, R., Tantayotai, P., Panyachanakul, T., Samorsorn, S., Dolsophon, K., Jiamjariyatam, R., Lorliam, W., Srisuk, N., & Krajangsang, S. (2022). Enhancement of Arabica coffee quality with selected potential microbial starter culture under controlled fermentation in wet process. *Food Bioscience*, 48, 101819.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101819>
- Mahmudiono, T., Fakhri, Y., Sarafraz, M., Mehri, F., Hoseinvandtabar, S., & Khanegah, A. M. (2023). The prevalence and concentration of ochratoxin A in green coffee-based

- products: A worldwide systematic review, meta-analysis, and health risk assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 122, 105423. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105423>
- Mardhatilah, D., Padama, F., & Ngatirah. (2023). Development of sustainable arabica coffee fermentation using yeast starter. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1241(1), 012078. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1241/1/012078>
- Martins, P. M. M., Batista, N. N., Santos, L. D., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2022). Microencapsulation of epiphytic coffee yeasts by spray drying using different wall materials: Implementation in coffee medium. *International Journal of Food Microbiology*, 379, 109839. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109839>
- Martins, P. M. M., Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. C. P., Evangelista, S. R., & Schwan, R. F. (2019). Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9820>
- Maskum, A., Wijonarko, G., Purbowati, I. S. M., & Anggriawan, R. (2021). Optimization of phenolic compounds in robusta green beans coffee through the wet fermentation process with the response surface methodology. *AGROINTEK*, 15(3), 825-832. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i3.10585>
- Massawe, G. A., & Lifa, S. J. (2010). Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 2(1), 41-82. <https://doi.org/10.1504/IJPTI.2010.038187>
- Mercedes, A., & Amorocho, C. (2022). *Microorganismos presentes en el café cereza, su impacto en la calidad y características organolépticas* [Tesis de pregrado,

<https://repositoriousco.co/bitstream/123456789/3600/1/0004.pdf>

Montoya Ramírez, M. (2017). Creación de cultura generadora de valor agregado en la actividad cafetera. *Gestión & Región*, 23, 83–102.

<https://revistas.ucp.edu.co/index.php/gestionyregion/article/view/122>

Moreno, J. B., Sebastián, M., Sarzosa Escuela, Z., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2020).

Evaluación de la fermentación controlada con inoculación de levaduras (Saccharomyces cerevisiae) y su efecto en la calidad del café (Coffea arabica).

Motato-Rocha, K. E., González-Montero, V., & Román-Morales, M. O. (2024).

Identification of microorganisms in wet coffee fermentation Coffea arabica Var Catimor and Castillo in Jardín, Antioquia-Colombia, using culture-dependent methods. *Vitae*, 31(1), 1–11. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v31n1a351373>

Munguía Ameca, G., Ortega Cerrilla, M. E., Zetina Córdoba, P., Díaz Cruz, A., Soto

Hernández, M., & Herrera Haro, J. (2018). Chemical composition and antioxidant capacity of coffee pulp. *Ciência e Agrotecnologia*, 42(3), 307–313.

<https://doi.org/10.1590/1413-70542018423000818>

Nakyinsige, K., Mugerwa, F., Tabula, A., Mugampoza, D., Matovu, M., & Bamuwamye, M.

(2025). The influence of spontaneous microbial fermentation isolates on physicochemical properties and cup quality of wet processed Arabica coffee (Coffea arabica). *LWT - Food Science and Technology*, 216, 117343.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117343>

Niemi, R. M., Mentu, J., Siitonen, A., & Niemelä, S. I. (2003). Confirmation of *Escherichia*

coli and its distinction from *Klebsiella* species by gas and indole formation at 44 and

- 44.5 degrees C. *Journal of Applied Microbiology*, 95(6), 1242–1249.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02125.x>
- Olstorpe, M., Schnürer, J., & Passoth, V. (2012). Growth inhibition of various *Enterobacteriaceae* species by the yeast *Hansenula anomala* during storage of moist cereal grain. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(1), 292–294.
<https://doi.org/10.1128/AEM.06024-11>
- Omar, R., Cruz, P., Estuardo, J., Padilla Escuela, C., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2018). Evaluación del efecto de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la caracterización sensorial del café en dos sistemas de fermentación.
- Oomah, B. D., Cardador-Martinez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935–942.
- Orecchio, S., Amorello, D., & Barreca, S. (2019). Analysis of contaminants in beverages. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Quality control in the beverage industry* (pp. 225–258). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816681-9.00007-2>
- Oxoid. (2020, febrero). *McFarland Equivalence Turbidity Standards* (Instrucciones de uso AT00477A). <https://www.oxoid.com/ifu>
- Paixão, P. E. G., Couto, M. V. S., Sousa, N. C., Abe, H. A., Dias, J. A. R., Meneses, J. O., Cunha, F. S., Mouriño, J. L. P., Martins, M. L., & Fujimoto, R. Y. (2019). In vitro selection of autochthonous lactic acid bacterium from clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture Research*, 00, 1–4. <https://doi.org/10.1111/are.14396>

- Palumbo, J. M. C., Martins, P. M. M., Salvio, L. G. A., Batista, N. N., Ribeiro, L. S., Borém, F. M., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2024). Impact of different fermentation times on the microbiological, chemical, and sensorial profile of coffees processed by self-induced anaerobiosis fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(3), 2253–2266. <https://doi.org/10.1007/S42770-024-01370-6/FIGURES/4>
- Paucar Anchirayco, J. A. (2010). *Influencia del tostado en los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de granos de café (Coffea arabica L.) de Satipo*.
- Peñuela-Martínez, A. E., García-Duque, J. F., & Sanz-Urbe, J. R. (2023). Characterization of fermentations with controlled temperature with three varieties of coffee (*Coffea arabica* L.). *Fermentation*, 9(11), 976. <https://doi.org/10.3390/fermentation9110976>
- Pereira, G. V. de M., de Carvalho Neto, D. P., Magalhães Júnior, A. I., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B. P., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2019). Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. *Food Chemistry*, 272, 441–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>
- Pereira, G. V. de M., de Mello Sampaio, V., Wiele, N., da Silva Vale, A., de Carvalho Neto, D. P., Souza, A. de F. D. de, Nogueira dos Santos, D. V., Ruiz, I. R., Rogez, H., & Soccol, C. R. (2024). How yeast has transformed the coffee market by creating new flavors and aromas through modern post-harvest fermentation systems. *Trends in Food Science & Technology*, 151, 104641. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2024.104641>
- Pereira, G. V. de M., Neto, E., Soccol, V. T., Medeiros, A. B. P., Woiciechowski, A. L., & Soccol, C. R. (2015). Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: Growth, metabolic analyses and sensorial

- effects. *Food Research International*, 75, 348–356.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.027>
- Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. A., & Gámez Meza, N. (2012). Phenolic Characterization, Melanoidins, and Antioxidant Activity of Some Commercial Coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(4), 430–435
- Polanía Rivera, A. M., López Silva, J., Torres-Valenzuela, L. S., & Plaza Dorado, J. L. (2024). Development of Starter Inoculum for Controlled Arabica Coffee Fermentation Using Coffee By-Products (Pulp and Mucilage Broth), Yeast, and Lactic Acid Bacteria. *Fermentation*, 10(10), 516.
<https://doi.org/10.3390/FERMENTATION10100516/S1>
- Prakash, I., Shankar, S. R., Sneha, H. P., Kumar, P., Om, H., Basavaraj, K., & Murthy, P. S. (2022). Metabolomics and volatile fingerprint of yeast fermented robusta coffee: A value added coffee. *LWT*, 154, 112717. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112717>
- Puerta Q., G. I., Marín M., J., & Osorio B., G. A. (2012). Microbiología de la fermentación del mucílago de café según su madurez y selección. *Cenicafé*, 63(2), 58–78.
<http://hdl.handle.net/108778/536>
- Puerta Quintero, G. I. (2011). *Composición química de una taza de café* (Avance Técnico No. 414). Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
<https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/340/1/avt0414.pdf>
- Puerta Quintero, G. I. (2012). *Factores, procesos y controles en la fermentación del café*.
www.cenicafe.org

- Puerta Quintero, G. I. (2015). *Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad*. www.cenicafe.org
- Puerta, G. I. (2013). *Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café*. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- Puerta, G., Echeverry, J. (2015). Fermentación Controlada del Café: Tecnología para agregar valor a la calidad. *Avances técnicos* 454, Cenicafé. 2-12 pág.
- Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. da C. P., Evangelista, S. R., Martins, P. M. M., van Mullem, J., Belizario, M. H., & Schwan, R. F. (2017). Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. *Food Research International*, 92, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.011>
- Rosenboim, L. (2024). The importance of fungal enzymes in industry and biotechnology. *Fungal Genomics & Biology*, 14(4), 267. <https://doi.org/10.35248/2165-8056.24.14.267>
- Salazar-Hernández, M. F., Lona-Ramírez, J. A., Rivera-Domínguez, C., Sánchez-Núñez, V. M., Rosales-Bravo, H., & Caudillo-Ortega, N. A. (2020). Evaluación de compuestos químicos de la variedad Típica de *Coffea arabica* durante el proceso del tostado artesanal. *Investigación y Ciencia*, 29(81), 32-39. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67466172004>
- Saldaña, J. M., & Franco, K. V. (2024). *Ocurrencia de ocratoxina A en café producido en Colombia y el mundo* [Monografía]. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/61596>

- Samaniego, M. A. (2019). *Evaluación de maceración carbónica y adición de levaduras (Saccharomyces cerevisiae) durante el lavado de café Geisha (Coffea arabica)* (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2019.).
- Sánchez-Riaño, A. M., Vega-Oliveros, C., Ladino-Garzón, W. L., Bahamón-Monje, A. F., Gutiérrez-Guzmán, N., & Amorcho-Cruz, C. M. (2024). Effects of cherries sanitization methods and fermentation times on quality parameters of coffee beans. *Heliyon*, 10(13), e033508.
- Saud, S., & Salamatullah, A. M. (2021). Relationship between the chemical composition and the biological functions of coffee. *Molecules*, 26(24), 7634. <https://doi.org/10.3390/molecules26247634>
- Severini, C., Derossi, A., Ricci, I., Caporizzi, R., & Fiore, A. (2018). Roasting conditions, grinding level and brewing method highly affect the healthy benefits of a coffee cup. *International Journal of Clinical Nutrition & Dietetics*, 4, 127. <https://doi.org/10.15344/2456-8171/2018/127>
- Shaharuddin, S., & Muhamad, I. I. (2015). Microencapsulation of alginate-immobilized bagasse with *Lactobacillus rhamnosus* NRRL 442: Enhancement of survivability and thermotolerance. *Carbohydrate Polymers*, 119, 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.045>
- Shen, X., Wang, Q., Wang, H., Fang, G., Li, Y., Zhang, J., & Liu, K. (2025). Microbial characteristics and functions in coffee fermentation: A review. *Fermentation*, 11(1), 5. <https://doi.org/10.3390/fermentation11010005>
- Siedler, S., Rau, M. H., Bidstrup, S., Vento, J. M., Aunsbjerg, S. D., Bosma, E. F., McNair, L. M., Beisel, C. L., & Neves, A. R. (2020). Competitive exclusion is a major

- bioprotective mechanism of lactobacilli against fungal spoilage in fermented milk products. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(9), e02312-19.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02312-19>
- Silva, B. L. da, Pereira, P. V., Bertoli, L. D., Silveira, D. L., Batista, N. N., Pinheiro, P. F., Carneiro, J. de S., Schwan, R. F., Silva, S. de A., Coelho, J. M., & Bernardes, P. C. (2021). Fermentation of *Coffea canephora* inoculated with yeasts: Microbiological, chemical, and sensory characteristics. *Food Microbiology*, 98, 103786.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103786>
- Silva, C. F., Batista, L. R., Abreu, L. M., Dias, E. S., & Schwan, R. F. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, 25(8), 951–957.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.07.003>
- Silva, P. A., Rabelo, V. M., Calixto, J. M. R., & Coelho, P. de O. (2014). Quality assessment of coffee grown in Campos Gerais, Minas Gerais State, Brazil. *Acta Scientiarum Technology*, 36(4), 739–744. <https://doi.org/10.4025/actasciencitechnol.v36i4.19765>
- Silva, P. A., Rabelo, V. M., Calixto, J. M. R., & Coelho, P. O. (2014). Quality assessment of coffee grown in Campos Gerais, Minas Gerais State, Brazil. *Acta Scientiarum Technology*, 36(4), 739–744. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v36i4.19765>
- Smith, J. (2020). *A laboratory manual customized for Morton University: Microbiology*. Morton Publishing Company. Recuperado de https://www.morton-pub.com/wp-content/uploads/2020/12/customlab_cover_wpages_micro.pdf
- Souza, M. L., Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. C. P., Batista, L. R., Schwan, R. F., Medeiros, F. H., & Silva, C. F. (2021). Yeasts prevent ochratoxin A contamination in coffee by

- displacing *Aspergillus carbonarius*. *Biological Control*, 155, 104512.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104512>
- Specialty Coffee Association. (2017). [*Protocolo de Cata / Estándares de Calidad de Café / Coffee Standards*]. [<https://sca.coffee/research/coffee-standards>]
- Stanley, D., Bandara, A., Fraser, S., Chambers, P. J., & Stanley, G. A. (2010). The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology*, 109(1), 13–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04657.x>
- Susá Gómez, J. M. (2015). *Aplicación sinérgica de agentes orgánicos en la inhibición y reducción de carga microbiana para harinas de pescado para exportación* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)]. DSpace ESPOL.
<http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/31407>
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2021). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: A comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*, 56(7), 2215–2244.
<https://doi.org/10.1007/s00394-017-1379-1>
- Tan, Y., Wu, H., Shi, L., Barrow, C., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. R. (2023). Impacts of Fermentation on the Phenolic Composition, Antioxidant Potential, and Volatile Compounds Profile of Commercially Roasted Coffee Beans. *Fermentation*, 9(10), 918. <https://doi.org/10.3390/fermentation9100918>
- Tang, V. C. Y., Sun, J., Cornuz, M., Yu, B., & Lassabliere, B. (2021). Effect of solid-state fungal fermentation on the non-volatiles content and volatiles composition of *Coffea*

- canephora* (Robusta) coffee beans. *Food Chemistry*, 337, 128023.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128023>
- Therdthatha, P., Jareontanahun, N., Chaisuwan, W., Yakul, K., Paemane, A., Manassa, A., Moukamnerd, C., Phimolsiripol, Y., Sommano, S. R., & Seesuriyachan, P. (2023). Production of functional Arabica and Robusta green coffee beans: Optimization of fermentation with microbial cocktails to improve antioxidant activity and metabolomic profiles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 53, 102869.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102869>
- Tirado-Kulieva, V., Quijano-Jara, C., Avila-George, H., & Castro, W. (2024). Predicting the evolution of pH and total soluble solids during coffee fermentation using near-infrared spectroscopy coupled with chemometrics. *Current Research in Food Science*, 9, 100788. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100788>
- Trandafir, I., Nour, V., & Ionica, M. E. (2013). Antioxidant capacity, phenolic acids and caffeine contents of some commercial coffees available on the Romanian market. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(1), 87-94.
- Tsigkou, K., Demissie, B. A., Hashim, S., Ghofrani-Isfahani, P., Thomas, R., Mapinga, K. F., Kassahun, S. K., & Angelidaki, I. (2025). Coffee processing waste: Unlocking opportunities for sustainable development. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 210, 115263. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2024.115263>
- Vale, A. da S., Balla, G., Rodrigues, L. R. S., Neto, D. P. de C., Soccol, C. R., & Pereira, G. V. de M. (2023). Understanding the effects of self-induced anaerobic fermentation on coffee beans quality: Microbiological, metabolic, and sensory studies. *Foods*, 12(1), 37. <https://doi.org/10.3390/foods12010037>

- Vale, A. da S., Pereira, C. M. T., Lindner, J. de D., Rodrigues, L. R. S., El Kadri, N. K., Pagnoncelli, M. G. B., Brar, S. K., & de Melo Pereira, G. V. (2024). Exploring Microbial Influence on Flavor Development during Coffee Processing in Humid Subtropical Climate through Metagenetic-Metabolomics Analysis. *Foods*, 13(12), 1871. <https://doi.org/10.3390/foods13121871>
- Valero, A., Marín, S., Ramos, A. J., Sanchis, V. (2007). *Effect of yeast and lactic acid bacteria on growth and ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius in grape must*. International Journal of Food Microbiology, 113(3), 281–288. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31785405/>
- Vatinno, R., Aresta, A., Zambonin, C. G., & Palmisano, F. (2008). Determination of Ochratoxin A in green coffee beans by solid-phase microextraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1187(1-2), 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.02.020>
- Vilela, D. M., Pereira, G. V. de M., Silva, C. F., Batista, L. R., & Schwan, R. F. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology*, 27(8), 1128–1135. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.024>
- Westman, J. O., & Franzén, C. J. (2015). Current progress in high cell density yeast bioprocesses for bioethanol production. *Biotechnology Journal*, 10(8), 1185-1195. <https://doi.org/10.1002/biot.201400581>

- Wongsa, P., Khampa, N., Horadee, S., Chaiwarith, J., & Rattanapanone, N. (2019). Quality and bioactive compounds of blends of Arabica and Robusta spray-dried coffee. *Food Chemistry*, 283, 579–587. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.01.088>
- Wu, H., Barrow, C., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. R. (2023). Phenolic bioaccessibility, antioxidant, and antidiabetic effects of indigenous fermented coffee beans after simulated gastrointestinal digestion and colonic fermentation. *Food Bioscience*, 54, 102920. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102920>
- Wu, H., Lu, P., Liu, Z., Sharif-Rad, J., & Suleria, H. A. R. (2022). Impact of roasting on the phenolic and volatile compounds in coffee beans. *Food Science & Nutrition*, 10(7), 2408-2425. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2849>
- Wu, Y., Ji, C., Jiang, Y., Hu, H., Yu, T., & Yan, F. (2024). Mechanisms of *Meyerozyma caribbica* isolated from Tibetan soil to inhibit *Aspergillus ochraceus* on grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 210, 112797. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2024.112797>
- Yazdanfar, N., Mahmudiono, T., Fakhri, Y., Mahvi, A. H., Sadighara, P., Mohammadi, A. A., & Yousefi, M. (2022). Concentration of ochratoxin A in coffee products and probabilistic health risk assessment. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(12), 104376. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104376>
- Yepes Duque, M. C. (2018). *El papel de las políticas públicas y las estrategias sectoriales en la transición del café como commodity hacia cafés especiales: El caso del Suroeste Antioqueño* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín]. Repositorio Institucional UNAL. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/64744>