Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Departamento de Agroindustria Alimentaria

Ingeniería en Agroindustria Alimentaria

Proyecto Especial de Graduación

Efecto de la inoculación, adición de azúcar y acidez, a través del tiempo, en las características fisicoquímicas y sensoriales del café (*Coffea arabica*) variedad Caturra.

Estudiantes

Elvia María Arriaza Gómez

Catalino Gonzalez Suira

Asesores

Jorge Alfredo Cardona Ph.D.

Yadira Domenech Ing.

Honduras, noviembre 2023

Autoridades

SERGIO ANDRÉS RODRÍGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora del Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros 5

Índice de Figuras 6

Resumen 8

Abstract 9

Introducción 10

Materiales y Métodos 13

Ubicación 13

Diseño Experimental 13

Fase I 14

Beneficio del Café 14

Análisis de pH y Temperatura de la Masa Fermentable 15

Análisis de Sólidos Solubles 15

Secado y Descascarillado 15

Clasificación 15

Tostado y Molido 16

Análisis Sensorial 16

Fase II 17

Análisis Químicos 17

Obtención del Extracto Acuoso del Café 17

Contenido de Polifenoles Totales 17

Determinación de Flavonoides Totales 18

Determinación de la Actividad Antioxidante 18

Análisis Estadísticos 19

Resultados y Discusión 20

Análisis de pH 20

Sólidos Solubles 23

Temperatura de la Masa Fermentable 25

Análisis Sensorial 26

Flavonoides Totales 32

Polifenoles Totales 33

Antioxidantes Totales 33

Conclusiones 36

Recomendaciones 37

Referencias 38

Anexos 43

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Descripción de tratamientos 13

Cuadro 2 Descripción de muestras analizadas 17

Cuadro 3 Comportamiento de el pH durante el periodo de fermentación 22

Cuadro 4 Comportamiento de sólidos solubles durante el período de fermentación 24

Cuadro 5 Comportamiento de la temperatura interna (°C) durante la fermentación 27

Cuadro 6 Resultados del análisis sensorial 31

Cuadro 7 Contenido de flavonoides y polifenoles totales en granos de café verde 34

Cuadro 8 Contenido de antioxidantes y actividad captora de radicales libres (%) 35

Índice de Figuras

Figura 1 Resultados de cataciones realizadas a los tratamientos.....30

Índice de Anexos

Anexo A Cuadro de probabilidad de pH.....43

Anexo B Cuadro de probabilidad de sólidos solubles.....44

Anexo C Cuadro de probabilidad de temperatura interna.....45

Anexo D Puntuación para atributos.....46

Anexo E Cuadro de probabilidades de actividad antioxidante.....47

Anexo F Cuadro de probabilidades de inhibición %.....48

Resumen

En la fermentación de café se están utilizando nuevas técnicas capaces de influir directamente en el perfil final de taza. En este estudio se evaluaron condiciones de fermentación controlada en café variedad Caturra, cuyo principal objetivo fue evaluar el efecto de inoculación con *Saccharomyces cerevisiae*, regulación de acidez y adición de azúcar en las características fisicoquímicas y sensoriales del café. El beneficiado y análisis sensorial se realizaron en la Finca Kotowa TRADICIONAL en Boquete, Panamá y los análisis químicos fueron efectuados en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano. La fermentación tuvo una duración de 24 horas en las cuales se realizaron mediciones de pH, temperatura interna, sólidos solubles y catación cada 6 horas. Al terminar el proceso se evidenció disminución en pH y sólidos solubles, mientras que la temperatura de la masa se mantuvo entre 18-23°C durante la fermentación. Posteriormente se realizaron los análisis sensoriales de cada muestra de café siguiendo el protocolo de la SCA. Durante la catación, se obtuvieron puntajes superiores a 84 y presentaron una amplia gama de atributos, entre los que se destacan: buena acidez, aroma a frutas maduras y licor, sabores a chocolate, panela y otros más herbales y cítricos. Los análisis químicos se realizaron a los mejores tratamientos de la fase I. No se encontraron diferencias significativas en la presencia de flavonoides y polifenoles y la capacidad antioxidante de los tratamientos evaluados. Se recomienda seguir evaluando inoculación, tiempos de fermentación y temperaturas en otras variedades de café y en diversas condiciones climáticas.

Palabras clave: atributos, beneficio, cata, fermentación, lavado, microorganismos.

Abstract

New techniques capable of directly influencing the final cup profile are being used in coffee fermentation. In this study, controlled fermentation conditions were evaluated in Caturra variety coffee, whose main objective was to evaluate the effect of inoculation with *Saccharomyces cerevisiae,* acidity regulation and sugar addition on the physicochemical and organoleptic characteristics of the coffee. Processing and sensory analysis were carried out at Finca Kotowa TRADITIONAL in Boquete, Panama and chemical analysis was performed at the Zamorano Food Analysis Laboratory. Fermentation lasted 24 hours, during which pH, internal temperature, soluble solids and tasting were measured every 6 hours. At the end of the process, a decrease in pH and soluble solids was observed, while the temperature of the dough remained between 18-23°C during fermentation. Subsequently, sensory analysis of each coffee sample was carried out following the SCA protocol. During cupping, scores above 84 were obtained and presented a wide range of attributes, including good acidity, ripe fruit and liquor aromas, chocolate, panela and more herbal and citrus flavours. Chemical analyses were performed on the best phase I treatments. No significant differences were found in the presence of flavonoids and polyphenols and the antioxidant capacity of the treatments evaluated. Further evaluation of inoculation, fermentation times and temperatures in other coffee varieties and under different climatic conditions is recommended.

Keywords: attributes, fermentation, microorganisms, processing, tasting, washing.

Introducción

El café es uno de los productos básicos agrícolas más comercializados a nivel mundial y constituye la base social y económica de muchos países tropicales en desarrollo, donde 25 millones de pequeños agricultores dependen de su cultivo y comercio a nivel global (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2023). Además, aproximadamente 125 millones de personas en todo el mundo forman parte de toda la cadena de valor del café (Ramalho et al., 2018). En la cosecha del periodo 2022-2023, se produjo a nivel mundial aproximadamente 172.8 millones (Orús, 2023). En Centroamérica y República Dominicana se produce cerca del 11% del café exportado mundialmente (Sistema de la Integración Centroamericana [SICA], 2023).

El café Caturra es una variedad de café originaria de Brasil, y es una mutación natural de la variedad Bourbon. Se caracteriza por ser una planta de café de tamaño pequeño, con un crecimiento compacto y una alta producción de granos de café (Velásquez, 2019). Los cafés de Panamá, incluyendo la variedad Caturra, son reconocidos mundialmente por sus altos puntajes de cata, lo que los convierte en una opción para los amantes del café especial. Esta variedad, de alta producción y buena calidad, se caracteriza por ser un café de mucho carácter, con un aroma dulce y floral, sabores suaves y equilibrados con notas de chocolate y frutos secos, con acidez brillante y cuerpo medio (Pazmiño-Arteaga y Ruíz-Márquez, 2022).

Panamá es uno de los pequeños productores de café del mundo, pero su producción se destaca por la calidad del café que produce. El grano que se produce mayormente, son variedades arábicas como Catuai, Caturra, Typica, Geisha y Pacamara. La mayoría de estos cafés panameños se procesan lavados, influyendo directamente la variedad y región de cultivo en las características organolépticas y sensoriales del grano final (Ameglio, 2022). Durante décadas, fue uno de los cafés más importantes desde el punto de vista económico de América Central, en la medida en que a menudo se usaba como un punto de referencia contra el cual se prueban nuevos cultivares (World Coffee Reseach [WCR], 2023).

La exigencia del mercado de café de especialidad no deja de crecer y los productores experimentan con nuevos procesos que les ayuden a cumplir e incluso superar las expectativas de los consumidores (Keen, 2022). En la fermentación de las cerezas ya se están utilizando nuevas técnicas capaces de influir directamente en el perfil final de la taza y no menos importante, en la diferenciación de los propios cafés (Sanchez-Pozuelo y Hoyos, 2020). Así mismo, se ha comprobado que el tiempo, la temperatura y el sistema de fermentación modifican las características, intensidades y frecuencias de los sabores especiales y de los compuestos químicos y volátiles presentes en el café (Puerta y Echeverry, 2015). Además, las fermentaciones con el empleo de levaduras presentan ventajas a la hora de caracterizar el producto final y su perfil organoléptico, permitiendo explorar alternativas de diferenciación, especialización y valoración en mercados de alta calidad (Sanchez-Pozuelo y Hoyos, 2020).

El procesamiento lavado es uno de los tipos de procesamiento más comunes y populares de la industria cafetalera; y por una buena razón. El café lavado es conocido por su limpieza y la capacidad de destacar los sabores naturales del café, como la acidez, dulzura y aromas florales. Cuando se aplica una fermentación controlada y exótica a café lavado, puede destacar aún más en sabor y ser similar a otros procesos en términos de frutalidad y acentuación (Coello, 2023). En este sentido, el lavado, secado, almacenamiento y tostado adecuados son prácticas esenciales para conservar los sabores especiales desarrollados durante la fermentación controlada (Puerta y Echeverry, 2015).

El control de las condiciones durante la fermentación del café es crucial para optimizar los tiempos y procesos en la finca, asegurando los sabores y aromas deseados y mejorando la calidad de la bebida final. Estudios han demostrado que la temperatura influye en la velocidad de degradación del mucílago de café durante la fermentación (Puerta-Quintero y Ríos-Arios, 2011). Una duración de fermentación de aproximadamente 24 horas brinda los mejores resultados. Se obtienen olores y sabores florales, herbales, cítricos y dulces (Bosche, 2022). En cuanto a la fermentación del café, diversos factores, como la calidad intrínseca del café, el pH del sustrato, la carga microbiana y el tipo

de sistema de fermentación, interactúan y contribuyen a los procesos que ocurren en esta etapa (Puerta, 2012).

Debido a la importancia de este proceso, es relevante investigar y evaluar las condiciones de fermentación y su efecto en la calidad de la taza, así como las variables que inciden en la calidad final del café variedad Caturra. En este sentido, los objetivos del estudio se centraron en evaluar el impacto de la inoculación, la regulación de azúcar y acidez a lo largo del tiempo en las características fisicoquímicas y sensoriales del café, al mismo tiempo que se analizó el comportamiento de sus propiedades físicas durante el proceso de fermentación. Además, se realizó la estimación de componentes químicos específicos, tales como los flavonoides y polifenoles totales, junto con la evaluación de la capacidad antioxidante, que se encuentran en el café verde fermentado.

Materiales y Métodos

Ubicación

La fase inicial del estudio que incluye fermentación, secado y catación se realizó en las instalaciones de la Planta de Procesamiento Kotowa, Boquete, Panamá. Las pruebas químicas se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), Honduras.

Diseño Experimental

Para los análisis microbiológicos y químicos, se utilizó un Diseño Completamente al Azar, con medidas repetidas en el tiempo. Se empleó un arreglo factorial (2 × 2 × 2) con dos procesos de regulación de pH (regulado y no regulado), dos condiciones de fermentación (con o sin inóculo) y dos tipos de adición o no de azúcar (0 y 4%). Se usó el café variedad Caturra de diferentes lotes de la Finca Duncan, se les dio ocho condiciones: a los primeros 4 tratamientos se les reguló el pH hasta 5.0, con ácido cítrico, en comparación a los otros 4 tratamientos que no se les reguló el pH. Teniendo un total de 8 tratamientos; cuatro con levadura, cuatro sin levadura, cuatro con azúcar añadida y cuatro sin azúcar añadida (Cuadro 1), obteniendo muestras a 0, 6, 12, 18 y 24 horas. Siendo así, 40 muestras por cada repetición. Se realizaron tres repeticiones, con un total de 120 unidades experimentales para la investigación.

Cuadro 1

Descripción de tratamientos

Inoculación	Acidez	Azúcar añadida	Horas
Con inoculación	Regulada	0%	0, 6, 12, 18, 24
		4%	
	Natural	0%	
		4%	
Sin inoculación	Regulada	0%	
		4%	
	Natural	0%	
		4%	

Nota. los tratamientos se llevaron a cabo en un ambiente con temperatura controlada.

Fase I

Beneficio del Café

El café fue cosechado en diferentes lotes de la Finca Duncan ubicada en Boquete, Panamá a 1,700-1,800 msnm con una precipitación promedio anual de 2,250 mm con lluvias principalmente del Pacífico, de mayo a noviembre y algunas del Atlántico de diciembre a febrero. La temperatura de la zona varía entre 15 y 26 °C. Se empleó café variedad Caturra, al cual se le aplicó ocho condiciones distintas de tratamiento a los sujetos del estudio. Se empleó café, cosechado en su punto óptimo de corte, el café fue recolectado en sacos limpios para disminuir la contaminación a nivel microbiológico de las cerezas.

Para asegurar la calidad del café, se realizó una limpieza exhaustiva de los granos, eliminando aquellos que presentaban tonalidades pintones o verdes, así como ramas y otros objetos extraños que pudieran haberse mezclado con las cerezas. Posteriormente, la despulpadora fue lavada minuciosamente antes de su uso con abundante agua para eliminar cualquier residuo presente. Luego, el café se despulpó mecánicamente en la despulpadora Penagos (Modelo UCBE-5000) y se empacó en sacos nuevos para, seguidamente, pesar lo obtenido y dividirlo equitativamente en los 8 cubos empleados para llevar a cabo el proceso de fermentación.

El paso de fermentación fue realizado con el objetivo de que el mucílago se desprenda del pergamino de forma natural. Cada tratamiento fue preparado con un proceso diferente: a los primeros 4 tratamientos se les reguló el pH hasta 5.0, con ácido cítrico (Agrolab group, 2018), en comparación a los otros 4 tratamientos que no se les reguló el pH. Se prepararon las muestras según el diseño experimental del Cuadro 1. Para la preparación del inóculo, se llevó a cabo por medio de una dilución de la levadura comercial *Saccharomyces cerevisiae* en agua a una temperatura de 15-30°C, con relación del 1:10 (g/mL), se dejó reposar por 20 minutos para activar la levadura. El inóculo fue añadido a la mezcla de café y agua, la dosis empleada para cada tratamiento se determinó según su peso, con la relación 1:1000 (g/g) de levadura: café. Para determinar la cantidad de azúcar a añadir,

se determinó según el peso del café, con la relación 4:100 (g/g) de azúcar: café. Se usó azúcar morena para el proceso de fermentación.

La fermentación se llevó a cabo en cubos abiertos, en un cuarto con temperatura entre 18-23 °C, para obtener una fermentación aeróbica. Se extrajeron muestras sólidas y líquidas para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos cada seis horas hasta finalizar la fermentación. Una vez terminado el enjuague, las muestras pasaron a secado.

Análisis de pH y Temperatura de la Masa Fermentable

Se realizaron comprobaciones de pH y temperatura interna de la masa fermentable utilizando un potenciómetro portátil HANNA (modelo HI 198128), cada hora hasta terminar el proceso de fermentación.

Análisis de Sólidos Solubles

Se realizaron mediciones mediante un refractómetro portátil Aichose (modelo HHTEC), cada hora hasta terminar el proceso de fermentación.

Secado y Descascarillado

Se realizó un secado controlado durante 4 días en un cuarto con deshumidificadores (DH70WKN Honeywell), a una temperatura de entre 24-30 °C, hasta reducir la humedad del grano a 10-12%, la cual se verificó con un medidor de humedad (AMTAST GM005). Una vez seco, el café se guardó en sacos limpios y secos para almacenarlo en bodega debidamente rotuladas, durante 3-4 días. Para el descascarillado (trillado o pilado) de las muestras, se utilizó la trilladora de laboratorio (INGESEC C200). Se realizó limpieza antes y después de trillar cada muestra.

Clasificación

Después de trilladas las muestras, se llevó a cabo la clasificación, eliminando todo grano quebrado o con broca, impurezas que no correspondían a granos de café y granos muy pequeños o grandes, de tal manera que quedara un café de primera calidad. Antes de ser tostadas, las muestras reposaron en bodega durante 3-4 días.

Tostado y Molido

El maestro tostador siguió los parámetros impuestos por la Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA por sus siglas en inglés), combinándolos con su experiencia. El tiempo de tostado fue de 7 a 12 minutos por cada muestra de 120 gramos, utilizando una tostadora marca Joper CGR 100-1. El punto de tueste fue claro a claro-medio, medido según la escala del M-Basic (Gourmet) Agtron de aproximadamente 58 en el grano entero y 63 en grano molido, +/- 1 punto. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en bolsas plásticas y se dejaron reposar por 24 horas en un contenedor plástico para evitar la absorción de olores y la pérdida de las propiedades del café. La molienda media de las muestras se hizo en el molino (Grindmaster modelo 810) inmediatamente antes de la cata, pero con no más de 15 minutos antes de la infusión con agua, tal como lo establece la Specialty Coffee Association of America (2018).

Análisis Sensorial

El análisis sensorial se llevó a cabo en la sala de cata de Kotowa S.A, por dos catadores profesionales. Para la preparación de la infusión se usaron 12 gramos de café molido por cada muestra, fueron pesados en balanza (Etekcity EKS-l221-SUS). Se preparó la mesa de cata, colocando las muestras en las tazas para catación (Corona), rotuladas con códigos para evitar el sesgo. Primero se evaluó el aroma en seco, luego se calentó agua hasta temperatura de ebullición, en una tetera (Proctor Silex K4070Y), se procedió a verter el agua caliente en las tazas, hasta llegar al borde, evitando derramamientos, para evaluar nuevamente el aroma el café. Se limpió la taza dejándola sin espuma y se esperaron 10 minutos a que la temperatura disminuyera a 71 °C para iniciar la evaluación.

En este punto el sabor y el regusto se encuentran en su intensidad máxima. Luego cuando la temperatura era <71 °C fue evaluada la acidez, cuerpo y balance. Al llegar a temperatura ambiente se evaluó dulzura, uniformidad y limpieza. La evaluación final se realiza cuando alcanza los 21 °C. La puntuación siguió una escala de 0 a 100 y solo los cafés con más de 80 puntos son considerados de

especialidad. Se evaluaron los diez atributos primarios del café: fragancia, sabor, regusto, acidez, cuerpo, uniformidad, equilibrio, dulzura, limpieza y puntuación (SCAA, 2018).

Fase II

Es relevante destacar que las muestras empleadas en esta sección fueron aquellas que manifestaron las cualidades sensoriales más sobresalientes y alineadas con las expectativas de la compañía (Cuadro 2). Los mismos se detallan a continuación.

Cuadro 2

Descripción de muestras analizadas

Inoculación	Acidez	Azúcar añadida	Tiempo (hora)
Con inoculación	Regulada	0%	18
		4%	24
	Natural	0%	24
		4%	18
Sin inoculación	Regulada	0%	18

Nota. Los tratamientos que son aquellos que cumplieron con las expectativas sensoriales buscadas por la empresa.

Análisis Químicos

Obtención del Extracto Acuoso del Café

Todos estos análisis se llevaron a cabo utilizando café verde como punto de partida. La obtención del extracto acuoso de café verde siguió una metodología basada en el trabajo de Jeszka-Skowron et al. (2016), con algunas adaptaciones. Inicialmente, los granos de café verde se sometieron a molienda y se tamizaron a través de un tamiz de 425 µm (ASTM No. 40). Posteriormente, se pesó una cantidad de 1 gramo de este material y se colocó en tubos cónicos de centrifugación. Luego, se añadieron 50 mL de agua desionizada a una temperatura de 90 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 10 minutos utilizando un baño maría. El extracto resultante se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos y, finalmente, se filtró a través de papel filtro de café.

Contenido de Polifenoles Totales

El contenido total de polifenoles en el extracto acuoso de café verde fue determinado espectrofotométricamente utilizando el método de Folin-Ciocalteu, según lo descrito por Singleton et al. (1999) y Wolfe et al. (2003), con ciertas adaptaciones. Inicialmente, se mezclaron 60 µL de muestra

con 3 mL de agua destilada y 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (1 N). Después de reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente, se añadieron 750 µL de Na_2CO_3 al 20% y 950 µL de agua destilada.

El procedimiento continuó con un período de equilibrado de 30 minutos a temperatura ambiente. Luego, se midió la absorbancia a 720 nm y se interpoló con la curva de calibración del patrón de ácido gálico para determinar la cantidad de polifenoles en la muestra. Para cuantificar los compuestos fenólicos, se construyó una curva de calibración utilizando ácido gálico disuelto en agua a concentraciones de 100, 300, 400, 500, 700 y 1000 µg/mL (R^2=0.996). Los resultados se expresaron en miligramos de equivalente de ácido gálico por gramo de café verde.

Determinación de Flavonoides Totales

La cuantificación de los flavonoides totales se realizó siguiendo el protocolo descrito por Zhishen et al. (1999), con algunas adaptaciones. En primer lugar, se extrajeron 600 µL del extracto acuoso de cada muestra de café verde. A estas muestras se les agregaron 2.58 mL de la solución A, que consiste en 1.8 mL de $\mathrm{NaNO_2}$ al 5% y 24 mL de agua desionizada. Se permitió que las muestras reposaran durante 5 minutos antes de añadir 180 µL de $\mathrm{AlCl_3}$ al 10%. Luego, se dejó reposar durante 1 minuto antes de añadir 2.52 mL de la solución B, compuesta por 12 mL de NaOH 1M y 14.4 mL de agua desionizada.

La lectura de las muestras se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EUA) a una longitud de onda de 415 nm. Se generó una curva de calibración utilizando catequina (Sigma-Aldrich Inc, MO, EUA) con concentraciones de 50, 200, 400, 600 y 1000 ppm (R^2=0.9996), disueltas en agua desionizada. Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de catequina por gramo de café verde.

Determinación de la Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos de café se evaluó mediante la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH),y los resultados fueron reportados como porcentaje de inhibición. Siguiendo una metodología basada en Trandafir et al. (2013) y Ricci et al. (2019), con algunas

modificaciones. Se preparó una solución de DPPH (Sigma-Aldrich, MO, EUA) al 0.004% (w/v). Luego, se tomaron 2.50 mL de esta solución metanólica de DPPH y se les añadieron 50 µL del extracto acuoso de café, seguido de una agitación vigorosa. La mezcla resultante se incubó durante 30 minutos a 27 °C y posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm utilizando un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies).

La actividad antioxidante, expresada como la inhibición del radical DPPH, se calculó según la Ecuación 3 (Shen et al., 2013). Además, se generó una curva de calibración utilizando catequina con concentraciones de 10, 20, 30, 60 y 90 ppm de ácido gálico disueltos en agua desionizada (R^2= 0.9962). Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de café verde.

$$\%\ de\ inhibición = \left(\frac{Ao - As}{Ao}\right) * 100 \quad [1]$$

Donde:

A_o= Absorbancia inicial de DPPH al tiempo de 0 minutos

A_s= Absorbancia final al tiempo de 30 minutos

Análisis Estadísticos

Los parámetros (pH, sólidos solubles, temperatura del sustrato, contenido de polifenoles y flavonoides) fueron evaluados mediante el programa "Statistical Analysis System" (SAS Versión 9.6®) utilizando un Análisis de Varianza (ANOVA). Se realizaron comparaciones de medias ajustadas (LSMEANS) y separación de medias según el método de Duncan con un nivel de significancia del 95%

Para el análisis de color, se empleó una prueba de chi-cuadrado con un nivel de significancia del 95%.

Resultados y Discusión

Es importante determinar cuáles son los parámetros críticos de control que permiten identificar el momento en el cual interrumpir la etapa de fermentación. De acuerdo con Córdoba-Castro y Guerrero-Fajardo (2016), afirman que un proceso de fermentación de café no controlado puede generar defectos en taza que dan sabores a vinagre, fermento, piña o vino, cebolla, rancio o stinker, dependiendo del tiempo que el café pase sin lavar, ellos indican que el tiempo de fermentación puede oscilar entre 15 y 24 horas, el cual depende de la temperatura del lugar, calidad del agua, cantidad de mucílago en el grano, grado de madurez del café, entre otros factores. El control durante la fermentación común facilita la homogenización y puede aumentar la velocidad de eliminación del mucílago, dado que los componentes son en su mayoría solubles. Durante la fermentación, también se degradan los lípidos y cambian el color, el olor, la densidad, el pH, los sólidos solubles, la temperatura interna del grano y la composición química del mismo (Puerta, 2013).

Análisis de pH

El comportamiento del pH sirvió como un indicador del proceso de fermentación, para el control del tiempo adecuado de fermentación del café, sin generar problemas en la bebida, asociadas a este proceso (Córdoba-Castro y Guerrero-Fajardo, 2016). Se observaron interacciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las levaduras y el tiempo de fermentación con relación al pH de la solución empleada en el proceso de fermentación de los granos de café verde. El pH mostró una tendencia a disminuir en todos los tratamientos durante el proceso de fermentación, como se puede apreciar en el Cuadro 3. Al comienzo de la fermentación, se midió inmediatamente después de la inoculación de las levaduras (0 h), el pH promedio se situó en 5.03 y experimentó una disminución del 19% al concluir la fermentación (24 horas).

En general, el pH del estudio estuvo entre 3.97 hasta 4.11 al finalizar la fermentación. Esto coindice con los valores reportados por Puerta (2013), quien afirma que para los diferentes sistemas de fermentación los valores de pH del mucílago fermentado entre 3.7 y 4.1 son adecuados y seguros para interrumpir la fermentación y lavar el café.

Es importante destacar que el tratamiento con inoculación, sin regulación de acidez y sin la adición de azúcar, mostró diferencias a la hora 18 ya que el pH se encontró en 4.36, y al concluir el proceso, sus valores se igualaron con los demás. Esto se debe a que la actividad metabólica microbiana provoca una disminución del pH de 5.5-6.0 a 3.5-4.0 (Ferreira et al., 2023). Esto es confirmado por Jay et. al. (2005), quien mencionan que, durante la fermentación, las enzimas presentes en los microorganismos pueden catalizar reacciones que producen ácidos, lo que puede afectar el pH del medio. Así mismo, la variación del pH durante la fermentación del café es diferente dependiendo de la calidad del grano en baba, del sistema y de la temperatura externa (Puerta, 2012). De acuerdo con Martinez et al. (2021), se esperan valores de pH bajos, como los obtenidos en este trabajo, durante la fermentación ya que la composición pulpa-mucílago cambia y se producen ácidos. Estos ácidos, como el ácido láctico, acético, málico y cítrico, pueden influir en el sabor y la calidad de la bebida final (Evangelista et al., 2015).

En la fermentación del café se sugiere el uso de 0.1–10% de adición de microorganismos en función del peso del café para la formulación de mostos fermentativos con levadura *Saccharomyces cerevisiae*, esto provoca un aumento en la población microbiana en comparación con otras especies, debido a su hacinamiento cuando se agrega al proceso de fermentación, suprimiendo así las especies autóctonas que no pertenecen al género *Saccharomyces* para aumentar compuestos volátiles específicos y mejorar el aroma (Ciani et al., 2010). La inoculación de levaduras durante el procesamiento del café puede reducir la incidencia de hongos productores de Ocratoxina A, como *Aspergillus niger* y *Aspergillus ochraceus*, sin afectar la calidad de la bebida (Pereira et al., 2021).

Cuadro 3

Comportamiento de el pH durante el periodo de fermentación

[1]Inoculación	[2]Acidez	[3]Azúcar añadida	[4]Tiempo (Horas)				
			0	6	12	18	24
Con inoculación	Regulada	0%	5.00 ± 0.00 ^{abx}	4.88 ± 0.13 ^{ax}	4.43 ± 0.09 ^{ay}	4.16 ± 0.11 ^{bz}	4.08 ± 0.09 ^{az}
		4%	5.00 ± 0.00 ^{abx}	4.89± 0.09 ^{ax}	4.45 ± 0.05 ^{ay}	4.36 ± 0.34 ^{ay}	4.04 ± 0.02 ^{az}
	Natural	0%	5.04 ± 0.21 ^{abx}	4.93± 0.06 ^{ax}	4.44 ± 0.06 ^{ay}	4.17 ± 0.03 ^{bz}	4.11 ± 0.02 ^{az}
		4%	4.91 ± 0.34 ^{bx}	4.93 ± 0.09 ^{ax}	4.43 ± 0.07 ^{ay}	4.12 ± 0.03 ^{bz}	3.97 ± 0.09 ^{az}
Sin inoculación	Regulada	0%	5.00 ± 0.00 ^{abx}	4.99 ± 0.10 ^{ax}	4.48 ± 0.02 ^{ay}	4.23 ± 0.03 ^{abz}	4.10 ± 0.05 ^{az}
		4%	5.00 ± 0.00 ^{abx}	4.98 ± 0.09 ^{ax}	4.47 ± 0.03 ^{ay}	4.23 ± 0.06 ^{abz}	4.11 ± 0.06 ^{az}
	Natural	0%	5.17 ± 0.03 ^{aw}	4.99 ± 0.20 ^{ax}	4.47 ± 0.06 ^{ay}	4.20 ± 0.02 ^{abz}	4.09 ± 0.02 ^{az}
		4%	5.13 ± 0.05 ^{ax}	4.96 ± 0.18 ^{ax}	4.44 ± 0.05 ^{ay}	4.17 ± 0.02 ^{bz}	4.06 ± 0.02 ^{az}
[5]CV (%)			0.77	2.64	1.36	3.15	1.43

Nota. [1]Explica si fue asistido o no con inóculo. [2]Explica si fue regulado el pH de la fermentación o si se dejó de forma natural. [3]Explica el porcentaje de azúcar añadida al inicio de la fermentación. [4]Promedio y desviación estándar de tres repeticiones. [5]Coeficiente de variación expresada en porcentaje. $^{a-c}$ Valores seguidos de una letra diferente en cada columna, representan diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$). $^{w-z}$ Valores seguidos de una letra diferente en cada fila, representan diferencia estadística ($P < 0.05$).

Sólidos Solubles

En sistemas sumergidos, los grados Brix del medio aumentan a medida que transcurre la fermentación del café, debido a la disolución de las sustancias en el agua; al inicio, cuando se adicionó el 30% de agua al café en baba, los grados Brix eran de 4.2% en promedio, y a las 18 horas de fermentación aumentaron entre 5.8% a 7.8% (Puerta, 2012). En la fermentación se encontró que todos los parámetros del modelo tuvieron un efecto significativo ($p<0.05$) con respecto al comportamiento de los sólidos solubles. Así mismo, se encontró que a partir de las 18 horas los sólidos solubles se redujeron significativamente ($p<0.05$) en los tratamientos con inoculación; mientras que en los tratamientos que no tenían inoculación no hubo cambios significativos (Cuadro 4). La disminución pudo deberse al desdoblamiento y degradación de diferentes sustancias pécticas y azúcares las cuales derivan en otras sustancias como alcoholes y ácidos orgánicos si se prolongan las condiciones aeróbicas (Soto, 2010).

Se encontró una mayor diferencia significativa entre las 12 y 18 horas, ambos tiempos se vieron afectados significativamente ($p<0.05$) por la inoculación de levadura y la adición de azúcar. También, se observó que los valores más bajos de sólidos solubles se obtuvieron al finalizar la fermentación en los tratamientos con inoculación. Las levaduras experimentan la fermentación alcohólica, en este proceso, la glucosa (azúcar), en ausencia de oxígeno, se transforma en un alcohol denominado etanol y dióxido de carbono. La energía que libera la glucosa durante el proceso puede ser utilizado por microorganismos para cumplir sus funciones, como las de desarrollarse y multiplicarse (Facultad de Ingeniería Química [FIQ], 2023). Las levaduras son responsables por la fermentación alcohólica, cuya función como agentes fermentadores fue reconocida por Luis Pasteur, en 1856, demostró que las células viables de levaduras causan fermentación en condiciones anaeróbicas durante este proceso el azúcar presente en el mosto se convierte en etanol y dióxido de carbono (Argenbio, 2023).

Cuadro 4

Comportamiento de sólidos solubles durante el período de fermentación

[1]Inoculación	[2]Acidez	[3]Azúcar añadida	[4]Tiempo (Horas)				
			0	6	12	18	24
Con inoculación	Regulada	0%	5.93 ± 1.94^{bx}	6.20 ± 1.97^{cx}	5.40 ± 1.77^{dxy}	4.40 ± 1.27^{dy}	3.57 ± 0.92^{dy}
		4%	12.5 ± 0.36^{ax}	12.2 ± 0.34^{ax}	11.6 ± 0.40^{axy}	10.47 ± 0.50^{by}	8.53 ± 1.02^{bz}
	Natural	0%	6.90 ± 0.52^{bx}	7.13 ± 0.23^{cx}	6.60 ± 0.52^{cx}	5.13 ± 0.23^{dy}	3.93 ± 0.11^{dy}
		4%	10.9 ± 1.65^{ax}	10.5 ± 1.17^{bxy}	9.60 ± 1.21^{bxy}	9.33 ± 1.15^{by}	7.40 ± 0.87^{bcz}
Sin inoculación	Regulada	0%	7.23 ± 0.51^{bx}	7.43 ± 0.49^{cx}	7.60 ± 0.40^{cx}	7.33 ± 0.49^{cx}	7.00 ± 0.52^{cx}
		4%	12.6 ± 0.41^{ax}	12.6 ± 0.40^{ax}	12.4 ± 0.00^{ax}	12.4 ± 0.52^{ax}	12.0 ± 0.90^{ax}
	Natural	0%	6.67 ± 0.58^{bx}	7.53 ± 0.30^{cx}	7.33 ± 0.41^{cx}	7.50 ± 0.36^{cx}	7.40 ± 0.52^{bcx}
		4%	11.5 ± 1.30^{ax}	11.7 ± 0.45^{abx}	12.0 ± 0.64^{ax}	12.0 ± 0.90^{ax}	11.9 ± 0.50^{ax}
[5]CV (%)			11.6	9.29	9.4	8.95	9.5

Nota. [1]Explica si fue asistido o no con inóculo. [2]Explica si fue regulado el pH de la fermentación o si se dejó de forma natural. [3]Explica el porcentaje de azúcar añadida al inicio de la fermentación. [4]Promedio y desviación estándar de tres repeticiones. [5]Coeficiente de variación expresada en porcentaje. [a-c] Valores seguidos de una letra diferente en cada columna, representan diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$). [x-z] Valores seguidos de una letra diferente en cada fila, representan diferencia estadística ($P < 0.05$).

Temperatura de la Masa Fermentable

Los microclimas dentro de territorio panameño son ideales para la producción de un buen número de variedades de café Specialty, lo cual permite un acceso oportuno y económico a dichas variedades (Madera, 2016). Florentino Café (2021) menciona que el café arábico *(Coffea arabica)*, es una especie cultivada desde la antigüedad. Entre sus propiedades más resaltantes, se le atribuyen el buen aroma y una acidez que es suave y agradable al gusto. El origen, el clima y la altura de cultivo, tienen un impacto directo en el sabor, la forma y el tamaño de los granos de café, el café arábico crece, generalmente, a alturas entre los 800 y 2100 metros en climas fríos (Cafés Orús, 2017).

La interacción del proceso de fermentación con el tiempo tuvo un efecto significativo ($p<0.05$) en el comportamiento de temperatura interna de la masa fermentable (Cuadro 5). La región Noreste de Boquete, Palo Alto se encuentra a una altura de 1,300 a 1,400 msnm, presenta en promedio temperaturas que oscilan entre 19.7 y 20.5 °C, para los meses entre enero-marzo del año 2023 (Instituto de Meteorología e Hidrología de Panamá [IMHPA], 2023); y una precipitación promedio de 2,250 mm (Kotowa, 2023). Según lo indicado por Valdespino y Jaramillo (2011), las condiciones óptimas para producir café de alta calidad se encuentran en altitudes que oscilan entre los 1,000 y 1,600 metros sobre el nivel del mar.

El café recién cosechado se dejó reposar por una noche a temperatura ambiente y después fue despulpado, logrando eliminar el calor de campo; como consecuencia de este proceso, la temperatura al inicio de la fermentación fue la más baja (21.1 °C). Durante las primeras 6 horas no se encontraron cambios de temperatura de la masa fermentable ($p>0.05$), sin embargo, en el lapso de 6 a 12 horas si se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) y finalmente después de las 12 horas ya no se evidenciaron cambios en la temperatura de la masa fermentable ($p>0.05$). Estas variaciones se debieron, a que los tratamientos se mantuvieron en un rango de temperatura que oscilaba entre 18-23°C y una humedad relativa promedio de 81%, durante 24 horas. Así mismo, Puerta (2012), explica que durante este proceso se presentan variaciones de la temperatura de los granos debido a los

procesos metabólicos de los microorganismos con la consecuente producción de energía. De esa manera, en algunos momentos la temperatura del sistema puede ser mayor que la temperatura del aire externo.

Para este estudio se registró que la temperatura promedio durante la fermentación fue de 21.2 °C, esto coincide en los resultados de los estudios realizados por Puerta y Echeverry (2015). que sugieren que para lograr buena calidad del café procesado por fermentaciones sumergidas la temperatura debe oscilar entre 20 y 23°C, y fijar un tiempo entre 18 y 30 h. La temperatura de la masa de café aumentó conforme avanza el proceso de fermentación, debido a que las reacciones bioquímicas que producen los microorganismos son exotérmicas en condiciones aeróbicas (Peñuela-Martínez, 2010). Puerta (2022), destacó que las velocidades de fermentación no son constantes, dependen de la temperatura y el tiempo; la velocidad de la fermentación del café se acelera conforme sube la temperatura, cabe recalcar que este estudio se realizó en un cuarto con temperatura controlada que oscilaba entre 18 y 23 °C.

Análisis Sensorial

El análisis o evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para describir, medir, analizar e interpretar aquellas características de los cafés, que son percibidas por los sentidos (vista, olfato, gusto, tacto y oído). Es un proceso integrado del sistema sensorial del cuerpo (cerebro y sistema nervioso) para medir y evaluar los atributos del producto (Cola, 2023). La cata es cuando los Q graders evalúan una muestra de café y le otorgan un puntaje según protocolos establecidos. En el mundo del café Arábica, la autoridad es la Asociación de Cafés Especiales (Mutono, 2020).

Cuadro 5

Comportamiento de la temperatura interna (°C) durante la fermentación

[1]Inoculación	[2]Acidez	[3]Azúcar añadida	[4]Tiempo (Horas)				
			0	6	12	18	24
Con inoculación	Regulada	0%	20.1 ± 1.84 ^{ax}	20.6 ± 0.87 ^{axy}	22.2 ± 0.45 ^{aby}	21.9 ± 0.36 ^{ay}	22.0 ± 1.20 ^{ay}
		4%	19.8 ± 1.17 ^{ax}	20.5 ± 0.87 ^{axy}	21.8 ± 0.20 ^{by}	21.2 ± 0.61 ^{ay}	21.3 ± 1.11 ^{ay}
	Natural	0%	20.2 ± 1.24 ^{ax}	20.5 ± 0.96 ^{ax}	22.3 ± 0.36 ^{aby}	21.9 ± 0.62 ^{ay}	22.1 ± 1.51 ^{ay}
		4%	20.5 ± 1.65 ^{ax}	20.4 ± 1.06 ^{ax}	22.0 ± 0.28 ^{bx}	21.3 ± 0.64 ^{ax}	21.2 ± 1.19 ^{ax}
Sin inoculación	Regulada	0%	20.1 ± 1.36 ^{ax}	20.6 ± 1.08 ^{ax}	22.3 ± 0.30^{aby}	21.7 ± 0.91 ^{ay}	21.3 ± 1.15 ^{ay}
		4%	20.0 ± 1.35 ^{ax}	20.7 ± 1.0 ^{axy}	22.0 ± 0.05 ^{by}	21.3 ± 0.65 ^{ay}	21.4 ± 0.92 ^{ay}
	Natural	0%	20.5 ± 1.70 ^{ax}	20.7 ± 0.75 ^{ax}	22.6 ± 0.23 ^{ay}	22.3 ± 0.87 ^{ay}	22.6 ± 1.0 ^{ay}
		4%	20.5 ± 1.82 ^{ax}	20.9 ± 1.01 ^{ax}	22.0 ± 0.20 ^{bx}	21.4 ± 0.70 ^{ax}	21.5 ± 0.87 ^{ax}
[5]CV (%)			1.54	4.66	1.29	3.2	1.13

Nota. [1]Explica si fue asistido o no con inóculo. [2]Explica si fue regulado el pH de la fermentación o si se dejó de forma natural. [3]Explica el porcentaje de azúcar añadida al inicio de la fermentación. [4]Promedio y desviación estándar de tres repeticiones. [5]Coeficiente de variación expresada en porcentaje. $^{a-b}$ Valores seguidos de una letra diferente en cada columna, representan diferencia estadística entre tratamientos (P < 0.05). $^{x-y}$ Valores seguidos de una letra diferente en cada fila, representan diferencia estadística entre los tiempos evaluados (P < 0.05).

El formulario de catación es un formato estandarizado por la SCAA (Specialty Coffee Association of America), el uso de este formulario provee un idioma común sobre los cafés y sus cualidades (perfiles de taza), proporciona un medio para registrar importantes atributos de sabor del café: fragancia/aroma, sabor, regusto, acidez, cuerpo, equilibrio, uniformidad, taza limpia, dulzor, defectos y general; los tributos de sabor específicos son puntuaciones positivas de calidad; los defectos son puntuaciones negativas; la puntuación global se basa en la experiencia de cada catador (SCAA, 2018). Estas puntuaciones se basan en una escala de 16 puntos que representan niveles de calidad en incrementos de un cuarto de punto entre los valores numéricos de 6 a 9.

Durante la evaluación el atributo que más destaco fue el de taza limpia, ya que todos tratamientos tuvieron un puntaje de 10, de acuerdo con la cuarta edición del manual para catadores Coffee Cupper's HandbooK, sustentado por la SCAA (2018), asegura que, si los granos de café se conservan e en un ambiente sucio, la grasa en los granos de café absorberá los olores de las partículas de suciedad, lo cual dará como resultado un sabor "terroso", de esta manera se asegura que durante todo el proceso se mantuvo un correcto manejo de las muestras.

El tratamiento con mayor puntaje fue, con inoculación, acidez natural y azúcar añadida (Figura 1); aunque, no se encontraron diferencias estadísticas ($p>0.05$), sin embargo, a nivel sensorial si hubo diferencias entre tratamientos. Los catadores, describieron aquellos tratamientos con inoculación, con una buena acidez, cuerpo más suave, sabores más herbales y cítricos, chocolate, vainilla, aroma a frutas maduras, licor tenue, mandarina, nuez y toronja; mientras que los tratamientos sin inoculación presentaban sabores a frutas maduras, jugoso, almendra, chocolate, acidez alta, un suave sabor a caramelo, manzana verde, dulce de leche, floral, mantequilla tenue y panela; también describieron aquellos tratamientos con azúcar añadida, con notas de caramelización y aquellos con acidez regulada, con notas a limón, cítricas y herbales. Al obtener descriptores tan amplios y diversos, podemos asegurar que un mínimo cambio durante el proceso de café puede afectar significativamente al perfil de taza de este; lo que concuerda con lo encontrado por Juárez González

et al. (2021), se puede establecer que la calidad del café está asociada a diversos factores que involucran aspectos fisicoquímicos, físicos y sensoriales, los cuales se relacionan estrechamente y dependen principalmente del método de beneficio o procesamiento de los granos, en donde las condiciones de selección, secado y almacenamiento tienen gran relevancia.

A pesar de tener puntajes de catación muy similares entre los tratamientos, a nivel técnico si hubo diferencias en los atributos evaluados (Cuadro 6), a pesar de que dos muestras o más tengan el mismo puntaje, su diferencia radica en los diferentes descriptores obtenidos, lo que difiere al tipo de mercado al cual pueden dirigirse. Así mismo, todos los tratamientos tuvieron puntajes superiores a 8.0 en todos sus atributos, por lo que se les puede considerar cafés de calidad excelente, estos puntajes actúan como control de calidad para la industria; permiten a los productores determinar si su café es de calidad especial o de grado comercial, y también fijar los precios de acuerdo con el puntaje (PDG 2020). Por otra parte, el tratamiento con azúcar añadida, acidez regulada y sin inoculación, fue el único que presento diferencias significativas ($p<0.05$) con respecto al atributo aroma; se le denomina coloquialmente azúcar de mesa a la sacarosa, la cual es un disacárido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa (Llopart, 2014), esto concuerda con lo descrito por la SCAA (2018), que microbiológicamente, una duración elevada de la fermentación potenciaba el papel de la hipoxia a través del metabolismo endógeno de los granos, afectando a las concentraciones de hidratos de carbono simples como la glucosa y fructosa, estos compuestos pueden actuar como precursores principales en una serie de reacciones químicas durante la tostación, especialmente la reacción de Maillard, generando un aroma característico en el café.

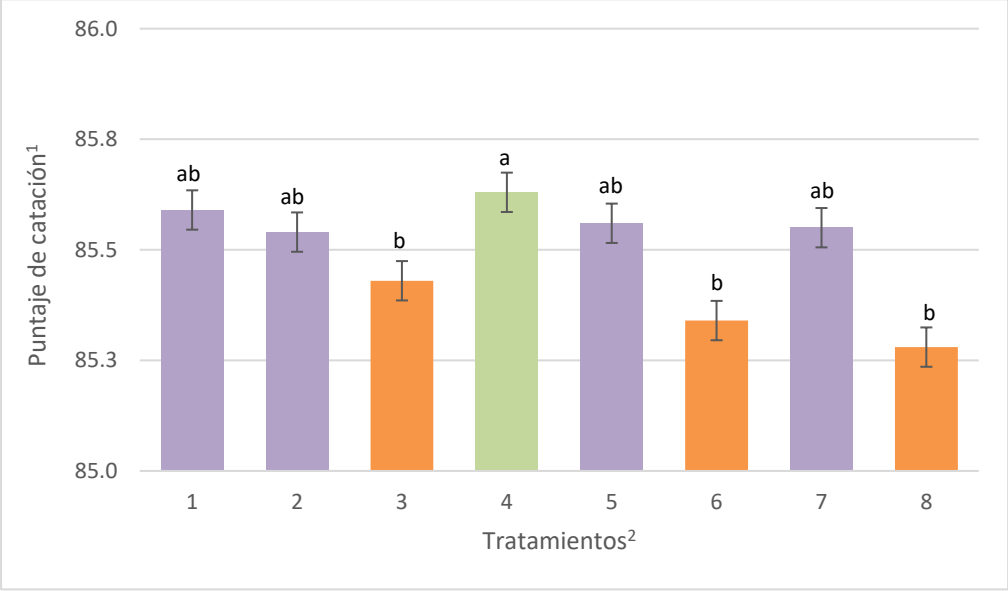
Así mismo, el tratamiento con inoculación, sin acidez regulada y sin azúcar añadida, obtuvo el nivel más bajo con respecto al atributo dulzor, existen microorganismos con distintos metabolismos con los que se pueden obtener diversos perfiles de sabor, el uso de microorganismos que se alimentan de manera lenta es porque se busca incrementar el dulzor, sin embargo, los microorganismos que se alimentan de manera rápida presentan perfiles más bajos (Aimone, 2023); *Saccharomyces cerevisiae*

es una levadura que puede tener un metabolismo lento o rápido, dependiendo de las condiciones en las que se encuentre, pueden crecer rápidamente en temperaturas entre 25 y 37 °C o más bajas (Vital López y Larralde Corona, 2016), ya que la fermentación se llevó a cabo en un cuarto con temperatura controlada que oscilaba entre 18 y 23 °C, por lo que se le brindo la temperatura adecuada para su desarrollo.

Ruta y Farcasanu (2021), encontraron que la fermentación del café mediante la inoculación aumenta la producción de compuestos volátiles y, en consecuencia, mejora el sabor y el aroma de la bebida, así mismo el café inoculado con S. cerevisiae tuvo un sabor extra a caramelo.

Figura 1

Resultados de cataciones realizadas a los tratamientos.



Nota. Escala de puntuación de 0 – 100. [2]Tratamientos: 1 inoculado con acidez regulada y 0% de azúcar añadida, 2 inoculado con acidez regulada y 4% de azúcar añadida, 3 inoculado con acidez natural y 0% de azúcar añadida, 4 inoculado con acidez natural y 4% de azúcar añadida, 5 sin inoculado con acidez regulada y 0% de azúcar añadida, 6 sin inoculado con acidez regulada y 4% de azúcar añadida, 7 sin inoculado con acidez natural y 0% de azúcar añadida, 8 sin inoculado con acidez natural y 4% de azúcar añadida. [a-c] Valores seguidos de una letra diferente en cada columna, representan diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$). Barras con los mismos colores indican que los tratamientos son iguales.

Cuadro 6

Resultados del análisis sensorial

[1]Inoculación	[2]Acidez	[3]Azúcar añadida	[4]Atributos										
			Fragancia/Aroma	Sabor	Residual	Acidez	Cuerpo	Uniformidad	Balance	Taza limpia	Dulzor	Puntaje catador	Puntaje final
Con inoculación	Regulada	0%	8.8 ± 0.18^{b}	7.9 ± 0.36^{ab}	7.8 ± 0.4^{a}	7.9 ± 0.38^{ab}	8.7 ± 0.24^{a}	8.6 ± 0.20^{ab}	8.6 ± 0.21^{ab}	10 ± 0.00^{a}	8.7 ± 0.20^{b}	8.5 ± 0.08^{ab}	85.6 ± 0.45^{ab}
		4%	8.7 ± 0.16^{b}	8.0 ± 0.23^{ab}	7.8 ± 0.14^{a}	8.0 ± 0.18^{ab}	8.6 ± 0.16a^{b}	8.6 ± 0.12^{ab}	8.6 ± 0.12^{b}	10 ± 0.00^{a}	8.6 ± 0.14^{bc}	8.5 ± 0.07^{ab}	85.6 ± 0.34^{ab}
	Natural	0%	8.7 ± 0.23^{b}	8.1 ± 0.27^{a}	7.9 ± 0.39^{a}	8.0 ± 0.37^{a}	8.6 ± 0.23^{b}	8.5 ± 0.21^{b}	8.5 ± 0.18^{b}	10 ± 0.00^{a}	8.5 ± 0.19^{c}	8.5 ± 0.10^{ab}	85.4 ± 0.69^{b}
		4%	8.7 ± 0.14^{b}	8.1 ± 0.33^{a}	7.9 ± 0.28^{a}	7.9 ± 0.24^{ab}	8.6 ± 0.13^{ab}	8.6 ± 0.11^{ab}	8.6 ± 0.10^{b}	10 ± 0.00^{a}	8.7 ± 0.15^{b}	8.5 ± 0.06^{ab}	85.7 ± 0.50^{a}
Sin inoculación	Regulada	0%	8.8 ± 0.21^{b}	7.8 ± 0.51^{b}	7.7 ± 0.47^{ab}	7.8 ± 0.44^{b}	8.7 ± 0.30^{a}	8.7 ± 0.26^{a}	8.7 ± 0.25^{ab}	10 ± 0.00^{a}	8.8 ± 0.22^{ab}	8.6 ± 0.09^{a}	85.6 ± 0.62^{ab}
		4%	9.0 ± 0.37^{a}	7.6 ± 0.63^{b}	7.5 ± 0.62^{b}	7.7 ± 0.40^{b}	8.8 ± 0.30^{a}	8.7 ± 0.27^{a}	8.7 ± 0.27^{ab}	10 ± 0.00^{a}	8.8 ± 0.33^{a}	8.5 ± 0.03^{ab}	85.3 ± 0.43^{b}
	Natural	0%	8.8 ± 0.14^{b}	7.8 ± 0.26^{b}	7.8 ± 0.33^{a}	7.9 ± 0.27^{ab}	8.7 ± 0.20^{a}	8.7 ± 0.16^{a}	8.7 ± 0.20^{a}	10 ± 0.00^{a}	8.7 ± 0.21^{bc}	8.5 ± 0.03^{ab}	85.5 ± 0.33^{ab}
		4%	8.8 ± 0.34^{b}	7.8 ± 0.40^{b}	7.6 ± 0.52^{ab}	7.9 ± 0.27^{ab}	8.7 ± 0.22^{ab}	8.7 ± 0.18^{a}	8.7 ± 0.20^{ab}	10 ± 0.00^{a}	8.7 ± 0.25^{b}	8.5 ± 0.02^{b}	85.3 ± 0.42^{b}
[5]CV (%)			2.73	5.08	5.44	4.22	2.69	2.31	2.36	0	2.56	0.83	0.57

Nota. **[1]**Explica si fue asistido o no con inóculo. **[2]**Explica si fue regulado el pH de la fermentación o si se dejó de forma natural. **[3]**Explica el porcentaje de azúcar añadida al inicio de la fermentación. **[4]**Promedio y desviación estándar de tres repeticiones. **[5]**Coeficiente de variación expresada en porcentaje. **[a-c]** Valores seguidos de una letra diferente en cada columna, representan diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$).

Flavonoides Totales

No hubo interacciones significativas ($p > 0.05$) entre los extractos de café fermentado con levadura, regulación de acidez, adición de azúcar y las horas de fermentación con respecto a los contenidos de flavonoides totales de los extractos de café. Los datos recopilados en el presente estudio revelan un promedio de 34.68 mg equivalente de catequinas (flavonoides totales) por gramo de café verde. Estos resultados sugieren una consistencia en el contenido de flavonoides en las muestras analizadas, ya que las diferencias entre los valores medios se mantienen dentro de un margen estrecho. Además, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 7), lo que indica que dichos tratamientos no tienen un impacto significativo en el contenido de flavonoides ($p>0.05$).

De la misma forma, los hallazgos de Camaño Flores (2021) en el contenido de flavonoides son consistentes con los obtenidos en este estudio, con valores que oscilan entre 22.00 y 35.16 mg EC/g de café verde. Así mismo, Pacheco-Coello et al. (2020), reportaron valores de 32.01 mg EC/g café verde cultivados en el estado Miranda, Venezuela. Finalmente, Gomes (2015), reportó un contenido de flavonoides significativamente más alto, con un valor de 41.9 mg EC/g en granos de café verde en Cabo Verde. Esto sugiere que factores como la ubicación geográfica, las condiciones específicas de cultivo, variedad, la tecnología de procesamiento y el grado de maduración del grano tiene un impacto importante en el contenido de flavonoides (Parras et al., 2007; Vega et al., 2017).

Williamson (2022), mencionó que los flavonoides poseen propiedades que desempeñan un papel importante en la prevención de la formación de coágulos sanguíneos. Además, pueden contribuir a la prevención del cáncer, la reducción del riesgo de enfermedades cardíacas y la preservación de la función cerebral. Adicionalmente, Jennings et al. (2021) demostraron que los flavonoides influyen en la composición del microbioma intestinal de manera que contribuye a la reducción de la presión arterial. Por esta razón, el contenido de flavonoides en el café es una variable de estudio de gran importancia.

Polifenoles Totales

No hubo interacciones significativas ($p > 0.05$) entre los extractos de café fermentado con levadura, regulación de acidez, adición de azúcar y las horas de fermentación con respecto a los contenidos de polifenoles totales de los extractos de café.

En el presente estudio, se encontró que la cantidad promedio de polifenoles en los granos verde de café fue de 61.12 mg equivalente de ácido gálico/g de café verde, con un rango que variaba entre 55 y 63 mg EAG/g de café verde (Cuadro 7), los cuales no presentaron diferencias estadísticas entre tratamiento ($p>0.05$). Estos datos son consistentes con los obtenidos por Pérez-Hernández et al. (2013), quienes informaron que la cantidad de fenoles totales en los granos de café alcanza valores de 65.19 mg EAG/g de café verde.

Sin embargo, es importante destacar que estudios previos arrojaron resultados variados. Lee et al. (2015) reportaron un valor promedio de 31.01 mg EAG/g de café verde, mientras que Stelmach et al. (2015) determinaron un contenido de 28.4 mg EAG/g de café verde. Además, en el estudio de Bobková et al. (2020), obtuvieron que el caturra colombiano tiene variante que se encuentra entre 52.3 a 53.17 mg EAG/g de café verde. Esta discrepancia en los resultados podría atribuirse a la variedad, región de cultivo, al estadio de desarrollo del grano. Es decir, el grado de maduración del café al momento de la cosecha podría influir en los niveles de polifenoles detectados (Dybkowska et al., 2017; Gomes, 2015).

Antioxidantes Totales

El café es una rica fuente de antioxidantes de la familia de los ácidos hidroxicinámicos y otros compuestos biológicamente activos con importante potencial antioxidante (Komes y Bušić, 2014). Muchas especies reactivas de oxígeno son radicales libres. Un radical libre es cualquier especie química que tiene uno o más electrones no apareados (Benítez-Estrada et al., 2020).

Cuadro 7

Contenido de flavonoides y polifenoles totales en granos de café verde

Inoculación	Acidez	Azúcar añadida	Tiempo (hora)	FT (mg EC/g)	PT (mg EAG/g)
Con inoculación	Regulada	0%	18	40.00 ± 1.97	61.69 ± 3.53
		4%	24	35.06 ± 4.89	63.28 ± 7.23
	Natural	0%	24	34.26 ± 2.03	64.46 ± 5.36
		4%	18	33.45 ± 3.32	60.44 ± 1.96
Sin inoculación	Regulada	0%	18	30.62 ± 5.25	55.74 ± 7.96
CV (%)				10.83	11.28

Nota. D.E.: El promedio de cada variable proviene de medidas de 3 repeticiones. FT: Flavonoides. PT: Polifenoles totales. EC: equivalente de catequina. EAG: equivalente de ácido gálico. CV (%): porcentaje de coeficiente de variación. El factor de dilución utilizado fue de 150 mL por cada gramo de muestra.

Los resultados obtenidos en el presente estudio revelan que la capacidad antioxidante en los granos de café verde se encuentra en un rango de 17.02 a 21.59 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de café verde. El Cuadro 8 proporciona una visualización de estos datos y muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas en la capacidad antioxidante entre los tratamientos de los granos de café verde analizados ($p>0.05$).

Es importante destacar que los resultados obtenidos en este estudio son inferiores a los reportados por (Camaño Flores, 2021), quien informó de una capacidad antioxidante en un rango de 29.67 a 32.26 mg EAG/g de café verde. Esta discrepancia en los valores de capacidad antioxidante podría deberse a diferencias en las condiciones de cultivo, el procesamiento de los granos de café o los métodos de medición utilizados en los estudios (Chan et al., 2023). Así mis sugieren, que el aumento de la capacidad de DPPH después del proceso de fermentación muestra que la fermentación probablemente tiene un gran potencial para generar algunos metabolitos con una actividad superior de eliminación de radicales

Actividad Captadora de Radicales

La actividad captadora de radicales se define como la propiedad de una molécula de origen biológico o sintético para neutralizar la acción ejercida por un radical libre (Guija-Poma et al., 2015). Los radicales libres son un factor importante en daños biológicos y el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

(DPPH) se ha utilizado para evaluar la actividad captadora de radicales libres de antioxidantes naturales (Zhu et al., 2001).

En este estudio, se observó que las muestras de café verde evaluadas mostraron una variación en la inhibición que se situó entre el 40.59 -51.97% (Cuadro 8). La máxima inhibición de DPPH (51. 97%) resultó del tratamiento fermentado por 24 horas con inoculación de levadura, con acidez natural y sin adición de azúcar. Estos datos son inferiores a los obtenidos por Masek et al. (2020), quienes concluyeron que la inhibición del extracto de café verde fue del 63.9% para el etanol y del 69.6% para el agua. Además, en el estudio de Bobková et al. (2020), obtuvieron que el caturra colombiano tiene una capacidad antioxidante variante que se encuentra entre 62.23 %. Hečimović et al. (2011) destacan que la actividad antioxidante varía por distintos motivos como el tipo de café (Arábica o Robusta), el tipo de fermentación y su prolongación, el procedimiento de extracción y el ensayo antioxidante.

Cuadro 8

Contenido de antioxidantes y actividad captora de radicales libres (%)

Inoculación	Acidez	Azúcar añadida	Tiempo (hora)	Act. Antiox. (mg EAG/g)	% IN (mg/g)
Con inoculación	Regulada	0%	18	18.96 ± 3.42	45.43 ± 8.51
		4%	24	20.06 ± 3.00	48.15 ± 7.46
	Natural	0%	24	21.59 ± 1.78	51.97 ± 4.42
		4%	18	21.51 ± 2.91	51.75 ± 7.24
Sin inoculación	Regulada	0%	18	17.02 ± 4.62	40.59 ± 11.50
CV (%)				15.57	17.03

Nota. El promedio de cada variable proviene de medidas de 3 repeticiones. Act. Antioxactividad antioxidante medida por DPPH. % IN: actividad captora de antioxidantes. EAG: equivalente de ácido gálico. CV (%): porcentaje de coeficiente de variación. El factor de dilución utilizado fue de 150 mL por cada gramo de muestra.

Conclusiones

La inoculación, la adición de azúcar y regulación acidez a lo largo del tiempo tuvieron un efecto en los parámetros de pH, sólidos solubles y temperatura interna.

Todos los tratamientos presentaron puntaje final de taza mayor a 85 puntos, catalogándose dentro de cafés especiales. Además, presentaron una amplia gama de atributos, entre los que se destacan: buena acidez, aroma a frutas maduras y licor, sabores a chocolate, panela, cítricos y herbales.

Se demostró que los contenidos totales de polifenoles, flavonoides, actividad antioxidante y la capacidad reductora de radicales no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, siendo así que la inoculación, regulación de acidez y adición de azúcar no tienen un efecto sobre las concentraciones de estos.

Recomendaciones

Realizar recuentos e identificación de los microorganismos (Bacterias, levaduras y hongos) que intervienen en la fermentación para conocer si estos generan un efecto en el perfil de la taza.

Replicar las condiciones del estudio en diferentes variedades de café con el fin de determinar si se obtienen resultados similares o diferentes.

Realizar un análisis para determinar el perfil de ácidos orgánicos presentes en etapa de fermentación con el fin de evaluar qué proporción genera un cambio en las características sensoriales.

Evaluar el efecto del secado en camas africanas en ambientes controlados y su impacto en la calidad de taza.

Identificar que componente del terroir tiene mayor significancia en la calidad de la taza.

Referencias

Agrolab group. (2018). *Acidulantes Fundamentales en la Industria Alimentaria.* AGROLAB. https://www.agrolab.com/es/actualidades/1390-acidulantes-fundamentales-en-la-industria-alimentaria.html#:~:text=%C3%81cido%20c%C3%ADtrico%20(E%2D330)&text=En%20la%20industria%20alimenticia%20se,bebidas%20refrescantes%2C%20enlatados%20y%20otros

Aimone, F. (2023). *Guía sobre la creación de inóculos y los activadores de fermentación.* Perfect Daily Grind. https://perfectdailygrind.com/es/2023/10/09/creacion-inoculos-y-activadores-fermentacion/

Ameglio, R. (2022). *Café de Panamá.* ForumCafe. http://www.forumdelcafe.com/noticias/cafe-panama

Argenbio. (2023). *La biotecnología*. https://www.argenbio.org/biotecnologia/la-biotecnologia?start=2

Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R. y Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, *23.* https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244

Bobková, A., Hudáček, M., Jakabová, S., Belej, Ľ., Capcarová, M., Čurlej, J., Bobko, M., Árvay, J., Jakab, I., Čapla, J. y Demianová, A. (2020). The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, *55*(5), 495–500. https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1724660

Bosche, K. (2022). *¿Por cuántas horas se debe fermentar el café?* Perfect Daily Grind. https://perfectdailygrind.com/es/2022/05/05/por-cuantas-horas-fermentar-el-cafe/

Cafés Orús. (2017). *¿Cómo influye la altura de cultivo en el sabor del café?* https://cafesorus.es/2017/10/como-influye-la-altura-de-cultivo-en-el-sabor-del-cafe/#:~:text=El%20origen%2C%20el%20clima%20y,2100%20metros%20en%20climas%20fr%C3%ADos

Camaño Flores, N. N. (2021). *Cuantificación de flavonoides totales, azúcares y capacidad antioxidante de los granos de café verde (Coffea arabica var) desmucilaginados y remojados en agua con ácidos orgánicos* [Proyecto Especial de Graduación]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/0bd9a48b-99f1-457a-9759-bd70763c216a/content

Chan, M. Z. A., Tan, L. T., Heng, S. W. Q. y Liu, S. Q. (2023). Effect of Co-Fermentation of Saccharomyces boulardii CNCM-I745 with Four Different Probiotic Lactobacilli in Coffee Brews on Cell Viabilities and Metabolic Activities. *Fermentation*, *9*(3), 219. https://doi.org/10.3390/fermentation9030219

Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I. y Domizio, P. (2010). Controlled mixed culture fermentation: A new perspective on the use of non-Saccharomyces yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Research*, *10*(2), 123–133. https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00579.x

Coello, J. (2023). *Fermentaciones exóticas: cómo se desarrollan en cafés naturales vs. en lavados.* Perfect Daily Grind. https://perfectdailygrind.com/es/2023/02/02/fermentaciones-exoticas-en-cafes-naturales-vs-lavados/

Cola, O. (2023). *Evaluación Sensorial del Café.* Coffee Tank. https://coffee-tank.com/evaluacion-sensorial-del-cafe/

Córdoba-Castro, N. y Guerrero-Fajardo, J. (2016). Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café en el departamento de Nariño. *Biotecnoloía En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, *14*(2), 75. https://doi.org/10.18684/BSAA(14)75-83

Dybkowska, E., Sadowska, A., Rakowska, R., Dębowska, M., Świderski, F. y Świąder, K. (2017). Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, *68*(4), 347–353.

Evangelista, S., Da Cruz, M., Silva, C., Marqués, A. y Freitas, R. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, *210*, 102–112. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008

Facultad de Ingeniería Química. (2023). *Mundo microscópico I: la levadura.* Universidad Nacional del Litoral. https://www.fiq.unl.edu.ar/culturacientifica/extension-fiq/mundo-microscopico-i-la-levadura/#:~:text=Recordemos%20que%20las%20levaduras%20experimentan,etanol%20y%20di%C3%B3xido%20de%20carbono&as_qdr=y15

Ferreira, L., Souza, M. de, Oliveira, L. de y Diniz, L. (2023). Coffee fermentation process: A review. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, *169*, 112793. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112793

Florentino Café. (2021). *¿Qué es el café arabico, beneficios y características?* https://www.florentinocafe.cl/que-es-el-cafe-100-arabica-beneficios-y-caracteristicas/

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). *Coffee*. https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/coffee/en/

Gomes, L. (2015). *Características Fitoquímicas y Propiedades Antioxidantes de los Granos de Café Verde* [Tesis]. Universidad FERNANDO PESSOA, Porto, Portugal. https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5550/1/PPG_23615.pdf

Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. Á., Ponce-Pardo, J. y Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz Med*, *15*(1), 57–60. http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf

Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D. y 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

Instituto de Meteorología e Hidrología de Panamá. (2023). *Datos Climáticos Históricos*. https://www.imhpa.gob.pa/es/clima-historicos

Jennings, A., Koch, M., Bang, C., Franke, A., Lieb, W. y Cassidy, A. (2021). Microbial Diversity and Abundance of Parabacteroides Mediate the Associations Between Higher Intake of Flavonoid-Rich Foods and Lower Blood Pressure. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, *78*(4), 1016–1026. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17441.

Jeszka-Skowron, M., Sentkowska, A., Pyrzyńska, K. y Peña, M. P. de (2016). Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology*, *242*(8), 1403–1409. https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y

Juárez González, T., Maldonado Astudillo, Y. I., González Mateos, R., Ramírez Sucre, M. O., Álvarez Fitz, P. y Salazar, R. (2021). Caracterización fisicoquímica y sensorial de café de la montaña de Guerrero. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, *12*(6), 1057–1069. https://doi.org/10.29312/remexca.v12i6.2773

Keen, R. (2022). *¿Los métodos de procesamiento de fermentación controlada pueden mejorar el sabor y la calidad del café?* Perfect Daily Grind. https://perfectdailygrind.com/es/2022/11/28/metodos-procesamiento-fermentacion-controlada/

Komes, D. y Bušić, A. (2014). Antioxidants in Coffee. En *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages* (pp. 25–32). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404738-9.00003-9

Kotowa. (2023). *Finca Kotowa Tradicional*. https://www.kotowa.com/finca-kotowa-duncan/finca-kotowa-tradicional/

Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B. y 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

Llopart, J. (2014). *La sacarosa, azúcar común o azúcar de mesa*. http://www.josellopart.com/noticias/sacarosa

Madera, P. (2016). *Café Specialty Panameño* [Tesis de grado]. Universidad de Chile, Panamá. https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/145754/Madera%20Mateo%20Patricia.pdf

Martinez, S. J., Rabelo, M. H. S., Bressani, A. P. P., Da Mota, M. C. B., Borém, F. M. y Schwan, R. F. (2021). Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, *139*, 109921. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109921

Masek, A., Latos-Brozio, M., Kałużna-Czaplińska, J., Rosiak, A. y Chrzescijanska, E. (2020). Antioxidant Properties of Green Coffee Extract. *Forests*, *11*(5), 557. https://doi.org/10.3390/f11050557

Mutono, J. (2020). *¿Qué Puede la Cata Revelar a Los Productores Sobre su Café?* Perfect Daily Grind. https://perfectdailygrind.com/es/2020/01/14/que-puede-la-cata-revelar-a-los-productores-sobre-su-cafe/

Orús, A. (2023). *Producción mundial de café desde 2003/04 hasta 2022/23.* Statista. https://es.statista.com/estadisticas/635187/mercado-del-cafe-produccion-mundial/#:~:text=En%202022%2F23%2C%20se%20hab%C3%ADan,de%2060%20kilogramos%20de%20caf%C3%A9.

Pacheco-Coello, F., Torres, R., Arvelo, T. y Velasquez, I. (2020). Variación de la actividad antioxidante por efecto del tostado en granos de café (Coffea arabica), estado Miranda, Venezuela. *Ciencia, Ambiente Y Clima*, *3*(2), 49–56. https://doi.org/10.22206/cac.2020.v3i2.pp49-56

Parras, P., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. y Murcia, M. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chemistry*, *102*(3), 582–592. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.037

Pazmiño-Arteaga, J. y Ruíz-Márquez, A. (2022). Evaluación sensorial y de compuestos volátiles aromáticos del café (*Coffea arábica* var. Caturra Chiroso) de tres orígenes geográficos de Antioquia. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, *24*(1). https://doi.org/10.21930/rcta.vol24_num1_art:2846

Peñuela-Martínez, A. E. (2010). *Estudio de la remoción del mucílago de café a través de fermentación natural* [Tesis de Grado]. Universidad de Manizales, Colombia. https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/1072/Pe%C3%B1uela_Martinez_Aida_Esther_2010.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Pereira, L., Brioschi, D., Bozzi, L., Dos Santos, W., Soares, W., Carvalho, R. y Schwengber, C. (2021). *Quality Determinants In Coffee Production* (1ª ed.). *Food Engineering Series*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9

Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á. y Gámez Meza, N. (2013). Compuetos Fenólicos, Melanoidinas y Actividad Antioxidante de Café Verde y Procesado de las Especies(*Coffea arabica)* y (*Coffea canephora)*. *Revista De Ciencias Biológicas Y De La Salud*, *15*(1), 51–56. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971122008

Puerta, G. (2012). Factores, procesos y controles en la fermentación del café. *Ciencia, Tecnología E Innovación Para La Caficultura Colombiana*, *422*, 1–12. https://doi.org/10.38141/10779/0422

Puerta, G. (2013). Calidad del café. *Manual Del Cafetero Colombiano: Investigación Y Tecnología Para La Sostenibilidad De La Caficultura*, *3*, 81–110. https://doi.org/10.38141/cenbook-0026

Puerta, G. (2022). *Los factores de la fermentación del café.* ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/360206637_los_factores_de_la_fermentacion_del_cafe

Puerta, G. y Echeverry, J. (2015). *Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad.* Cenicafé. https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/558/1/avt0454.pdf

Puerta-Quintero, G. y Ríos-Arios, S. (2011). *Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración.* Cenicafé. https://www.cenicafe.org/es/documents/2.pdf

Ramalho, J. C., Pais, I. P., Leitão, A. E., Guerra, M., Reboredo, F. H., Máguas, C. M., Carvalho, M. L., Scotti-Campos, P., Ribeiro-Barros, A. I., Lidon, F. J. C. y DaMatta, F. M. (2018). Can Elevated Air CO2 Conditions Mitigate the Predicted Warming Impact on the Quality of Coffee Bean? *Frontiers in Plant Science*, *9*, 287. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00287

Ricci, A., Teslic, N., Petropolus, V.-I., Parpinello, G. P. y Versari, A. (2019). Fast Analysis of Total Polyphenol Content and Antioxidant Activity in Wines and Oenological Tannins Using a Flow Injection System with Tandem Diode Array and Electrochemical Detections. *Food Analytical Methods*, *12*(2), 347–354. https://doi.org/10.1007/s12161-018-1366-z

Ruta, L. L. y Farcasanu, I. C. (2021). Coffee and Yeasts: From Flavor to Biotechnology. *Fermentation*, *7*(1), 9. https://doi.org/10.3390/fermentation7010009

Sanchez-Pozuelo, R. y Hoyos, J. (2020). *Nuevos procesos de fermentación del café.* Forum del Cafe. http://www.forumdelcafe.com/noticias/nuevos-procesos-fermentacion-cafe

Shen, Y., Zhong, L., Sun, Y., Chen, J., Liu, D. y Ye, X. (2013). Influence of hot water dip on fruit quality, phenolic compounds and antioxidant capacity of Satsuma mandarin during storage. *Food*

Science and Technology International = Ciencia Y Tecnologia De Los Alimentos Internacional, *19*(6), 511–521. https://doi.org/10.1177/1082013212457669.

Sistema de la Integración Centroamericana. (2023). *Situación del Café en Centroamérica.* Sistema de la Integración Centroamericana. https://www.sica.int/iniciativas/cafe

Soto, C. (2010). *Guía técnica para el beneficiado de café protegido bajo una indicación geográfica o denominación de origen*. *Café: Vol. 5*. IICA.

Specialty Coffee Association of America. (2018). *Protocols & Best Practices: Brewing Best Practices*. https://sca.coffee/research/protocols-best-practices?page=resources&d=coffee-protocols.

Stelmach, E., Pohl, P. y Szymczycha-Madeja, A. (2015). The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. *Food Chemistry*, *182*, 302–308. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.105

Trandafir, I., Nour, V. y Ionica, M. E. (2013). Antioxidant capacity, phenolic acids and caffeine contents of some commercial coffees available on the Romanian market. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, *63*(1), 87–94. https://ve.scielo.org/pdf/alan/v63n1/art11.pdf

Valdespino, E. y Jaramillo, J. (2011). *Caracterización del Sistema Productivo de café en Tierras Altas de la provincia de Chiriquí.* Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA). https://mida.gob.pa/wp-content/uploads/2021/07/SistemaProductivo-Cafe-Tierras-Altas.pdf?csrt=386214187425845602

Vega, A., León, J. A. de y Reyes, S. M. (2017). Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá. *Información Tecnológica*, *28*(4), 29–38. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000400005

Velásquez, R. (2019). *Guía de variedades de Café.* Asociación Nacional del Café. https://www.anacafe.org/uploads/file/9a4f9434577a433aad6c123d321e25f9/Gu%C3%ADa-de-variedades-Anacaf%C3%A9.pdf

Vital López, P. y Larralde Corona, C. P. (2016). Respuestas metabólicas al estrés de levaduras de importancia industrial. *Investigación Y Ciencia*, *24*(67), 86–91. https://www.redalyc.org/journal/674/67446178012/html/

Williamson, L. (2022). *Los flavonoides son una sabrosa manera de mejorar la salud del corazón y del cerebro.* American Heart Association. https://www.heart.org/en/news/2022/03/22/los-flavonoides-son-una-sabrosa-manera-de-mejorar-la-salud-del-corazon-y-del-cerebro

World Coffee Reseach. (2023). *Caturra.* World Coffee Reseach. https://varieties.worldcoffeeresearch.org/es/variedades/caturra

Zhishen, J., Mengcheng, T. y Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555–559. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2

Zhu, H., Bilgin, M., Bangham, R., Hall, D., Casamayor, A., Bertone, P., Lan, N., Jansen, R., Bidlingmaier, S., Houfek, T., Mitchell, T., Miller, P., Dean, R. A., Gerstein, M. y Snyder, M. (2001). Global analysis of protein activities using proteome chips. *Science (New York, N.Y.)*, *293*(5537), 2101–2105. https://doi.org/10.1126/science.1062191

Anexos

Anexo A

Cuadro de probabilidad de pH

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
INOCULACION	1	0.06580083	0.06580083	5.23	0.0249
AZUCAR	1	0.00720750	0.00720750	0.57	0.4515
HORAS	4	17.92719667	4.48179917	355.96	<.0001
CITRICO	1	0.00126750	0.00126750	0.10	0.7519
INOC*AZUC*HORA*CITRI	32	0.28072000	0.00877250	0.70	0.8729

Anexo B

Cuadro de probabilidad de sólidos solubles

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
INOCULACION	1	98.1020833	98.1020833	129.14	<.0001
AZUCAR	1	694.5640833	694.5640833	914.30	<.0001
HORAS	4	45.2995000	11.3248750	14.91	<.0001
CITRICO	1	3.0400833	3.0400833	4.00	0.0488
INOC*AZUC*HORA*CITRI	32	70.4541667	2.2016927	2.90	<.0001

Anexo C

Cuadro de probabilidad de temperatura interna

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
INOCULACION	1	3.36675000	3.36675000	3.27	0.0745
AZUCAR	1	1.65675000	1.65675000	1.61	0.2086
HORAS	4	61.65133333	15.41283333	14.95	<.0001
CITRICO	1	0.44408333	0.44408333	0.43	0.5135
INOC*AZUC*HORA*CITRI	32	5.95033333	0.18594792	0.18	1.0000

Anexo D

Puntuación para atributos

Escala de Calidad			
6.00 (Bueno)	7.00 (Muy bueno)	8.00 (Excelente)	9.00 (Maravilloso)
6.25	7.25	8.25	9.25
6.50	7.50	8.50	9.50
6.75	7.75	8.75	9.75

Nota: Tomada del manual de la SCAA publicado en el 2003.

Anexo E

Cuadro de probabilidades de actividad antioxidante

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
INOCULACION	1	80.20328167	80.20328167	3.83	0.0788
ACIDEZ	1	12.50520833	12.50520833	0.60	0.4575
AZUCAR	1	0.77520833	0.77520833	0.04	0.8513
HORA	1	1.05020833	1.05020833	0.05	0.8273

Anexo F

Cuadro de probabilidades de inhibición %

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
INOCULACION	1	471.0722400	471.0722400	3.79	0.0800
ACIDEZ	1	77.2161333	77.2161333	0.62	0.4486
AZUCAR	1	4.7125333	4.7125333	0.04	0.8494
HORA	1	6.5121333	6.5121333	0.05	0.8235