

**Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus*
spp. y su influencia en las características
sensoriales de cafés especiales con proceso
honey de la variedad Pacamara**

Lorna Marina Argeñal Castro

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2018

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus*
spp. y su influencia en las características
sensoriales de cafés especiales con proceso
honey de la variedad Pacamara**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Lorna Marina Argeñal Castro

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2018

Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus* spp. y su influencia en las características sensoriales de cafés especiales con proceso honey de la variedad Pacamara

Lorna Marina Argeñal Castro

Resumen. La fermentación se ha utilizado por muchos siglos con el fin de influir en la calidad de los alimentos. El objetivo de la investigación realizada en la finca Santa Rosa, El Salvador, fue conocer cómo el crecimiento de *Lactobacillus* spp. influye en las características sensoriales y en el color del café pergamino de variedad Pacamara durante la fermentación del proceso honey. Se evaluó el crecimiento del género en seis tratamientos con tres repeticiones estableciéndose el tiempo de fermentación como la variable independiente con valores de 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas. Se demostró un crecimiento de *Lactobacillus* spp. clasificado como homofermentativo, de manera homogénea en los tratamientos, obteniéndose valores promedios de 7.42 Log UFC/ml. La metodología utilizada en la evaluación sensorial cumplió con el protocolo de catación proveído por la Asociación de Cafés especiales. La evaluación demostró resultados en donde el tratamiento con 60 horas de fermentación destaca por sus sabores a frutos rojos, durazno y chocolate con un aroma floral. Se determinó que no existe una correlación entre el crecimiento de *Lactobacillus* spp. y la puntuación asignada. Las condiciones de fermentación no permitieron el crecimiento de *Lactobacillus* spp. durante los tiempos de fermentación extensos. De igual forma se demostró que a menor tiempo de fermentación la descomposición del mucílago es menor, por lo que la cantidad de azúcares presentes en el medio son mayores y generan un cambio químico, afectando así la coloración del café pergamino.

Palabras clave: *Coffea arabica*, homofermentativo, SCA, semi seco.

Abstract. The fermentation process has been used for many centuries in order to influence the quality of foods. The objective of the research carried out in Santa Rosa farm, El Salvador, was to demonstrate how the development of *Lactobacillus* spp. in the fermentation of honey process influence the sensory characteristics and the color of the parchment coffee. The growth of the genus was evaluated in six treatments with three repetitions where time of fermentation was established as the independent variable with values of 12, 24, 36, 48, 60, and 72 hours. *Lactobacillus* spp. had a homofermentative growth in a homogeneous way in all the treatments, obtaining average values of 7.42 Log CFU / ml. The method used for the sensorial evaluation was provide by the Specialty Coffee Association Cupping Protocol. The evaluation demonstrated that the 60-hour fermentation treatment highlighted because of the flavors associated with red fruits, peaches, and chocolate, and with a floral aroma. It was determined that there is no correlation between the growth of *Lactobacillus* spp. and the assigned score. The fermentation conditions didn't allow the growth of *Lactobacillus* spp. during longer fermentation times. It was found that as fermentation time decreases, the mucilage decomposition is lower, therefore, the sugars existing in the medium are present in a higher level generating a chemical change, thus affecting the coloration of the parchment coffee.

Key words: *Coffea arabica*, homofermentative, SCA, semi-dry.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firma	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figura y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES.....	16
5. RECOMENDACIONES.....	17
6. LITERATURA CITADA	18
7. ANEXOS	21

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURA Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de los tratamientos.....	3
2. Escala de evaluación por atributos.....	5
3. Formulación del agar selectivo para <i>Lactobacillus</i> spp. .	6
4. Conteo microbiológico de <i>Lactobacillus</i> spp. (diferencia de medias Tukey).	8
5. Conteo microbiológico de <i>Lactobacillus</i> spp. (diferencia mínima significativa). .	8
6. Diferencia de medias de pH, °Brix y Temperatura posterior a la etapa de fermentación.....	9
7. Calificación de evaluación sensorial	11
8. Puntuación de la evaluación sensorial (diferencia mínima significativa).	11
9. Correlación de los atributos fragancia, aroma, acidez, cuerpo, postgusto, balance e impresión global.....	12
10. Calificación de atributos fragancia, acidez, cuerpo, postgusto y balance de cada tratamiento.....	14
11. Análisis de color L a* b* H° y Croma en café pergamino.....	15
Figura	Página
1. Puntuación de atributos evaluados.....	13
Anexos	Página
1. Puntuación por atributos del café evaluado.....	21
2. Probabilidades obtenidas en la prueba t para la diferencia de los parámetros iniciales y finales.....	21

1. INTRODUCCIÓN

El café es considerado uno de los productos con mayor importancia a nivel mundial. La Organización Internacional del Café establece en los datos estadísticos del comercio para el periodo de 2016 -2017 que la producción en las zonas de Centro América, México y el Caribe representan el 13% de la producción a nivel mundial (ICO 2018). La importancia del café en el paisaje centroamericano es debido a la producción, comercialización y a la cultura que genera.

La caficultura en El Salvador inició entre los años 1779 y 1796; sin embargo, en los años 1970 es donde se reconoce al país como el quinto productor a nivel mundial y cuarto exportador con cosechas cercanas a los cinco millones de quintales. Actualmente, el 11% del territorio salvadoreño se encuentra cubierto por bosque, del cual el 7% es constituido por cafetales. La producción para el año 2017 alcanzó alrededor de 740 mil bolsas de 60 kg (CSC 2017).

En la búsqueda de nuevas alternativas de mercado el Instituto Salvadoreño de Investigación del Café (ISIC) en el año de 1958 creó un híbrido conocido como Pacamara, éste surgió de la combinación de dos reconocidas variedades cultivadas en el territorio salvadoreño, Pacas y Maragogipe. La cordillera Alotepec-Metapán cuenta con una superficie de aproximadamente 2,870 hectáreas cultivada por pequeños productores, donde destacan variedades como Pacas, Bourbon y Pacamara (CSC 2015).

La demanda creciente de productos diferenciados e innovadores es un reto constante para los productores. Como respuesta a esta demanda se originó en la década de los 60 el concepto de cafés especiales, el cual se define según la Asociación de Cafés Especiales de América como un café libre de defectos primarios que represente en taza un sabor único y distintivo (Farfán *et al.* 2007). Este concepto abarca cinco categorías en donde destaca el café sostenible. Dentro de los principales productores de esta categoría en América Latina destaca El Salvador, el cual aporta el 37% de la producción bajo sombra especialmente. En el periodo 2016 y 2017 la exportación de café sostenible alcanzó un valor de 48,004 quintales oro, los cuales obtuvieron un precio promedio de \$189.17 por quintal (CSC 2018).

En el año de 1999, con el fin de ayudar a los productores a recibir mayores beneficios por la producción de café de alta calidad, a través de la Alianza para la Excelencia del Café (ACE) se da inicio al programa Taza de Excelencia (COE), competencia que cuenta con un alto reconocimiento y da mayor prestigio a los cafés especiales.

Los participantes del programa a nivel mundial logran superar récords en precio de ventas demostrando una demanda de mercados exclusivos. En el caso de Centro América los precios de venta para el año 2017 se mostraron en \$124.50 por libra, en el caso de Honduras, y \$95.75 por libra, para el ganador del primer lugar en El Salvador (ACE 2017).

La cadena de valor en el café cuenta con procesos de transformación específicos que generan atributos organolépticos y sensoriales en la bebida final. Dentro de las características residen atributos como: la fragancia/aroma, la acidez, el amargor, el cuerpo y la limpieza reflejada en la taza (Aristizábal y Duque 2006). El comercio de cafés especiales se encuentra en aumento en los países centroamericanos, por lo que se generan investigaciones en especial en el proceso de beneficiado llamado honey. Este proceso es una combinación de los procesos natural y lavado, en donde se genera una remoción del mucílago; sin embargo, no pasa por un proceso de lavado. La taza representada por este proceso es conocido por una acidez balanceada, acompañado de una dulzura pronunciada y una sensación de paladar más compleja (Martínez *et al.* 2017).

Durante el procesamiento del café la etapa de fermentación es crítica porque es aquí donde se generan cambios en los componentes químicos. Los componentes químicos de los granos de café almendra de la especie *Coffea arabica L.* incluyen agua, fibra, carbohidratos, lípidos, cafeína, ácidos clorogénicos y cenizas. Dentro de los carbohidratos hay azúcares reductores como lactosa y maltosa, que tienen la capacidad de oxidarse formando alcohol y ácidos en el proceso de fermentación (Puerta y Rios 2011). En la fermentación que ocurre en el proceso de beneficiado acontecen procesos de transformación del mucílago que incluyen despolimerizaciones, fermentaciones, oxidaciones, cambios químicos y producción de ácidos. En los precursores durante la transformación del mucílago destacan los microorganismos fermentadores como levaduras, bacterias lácticas, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacteriaceae*, bacterias propiónicas y metánicas (Evangelista *et al.* 2014).

El género *Lactobacillus spp.* constituye un grupo numeroso de 180 especies identificadas asociadas con la producción de alimentos y probióticos (Caballero *et al.* 2016). Conociendo específicamente qué tipo de microorganismos actúan en el beneficiado húmedo del café, los productores podrían controlar las condiciones de fermentación a través de la formación de una microbiota que genere un beneficio sensorial en la taza final. Es debido a esto que para el estudio se establecieron los siguientes objetivos:

- Determinar el efecto de *Lactobacillus spp.* en las características sensoriales del café honey, de la variedad Pacamara producido en la zona de Chalatenango, El Salvador.
- Evaluar el color del café pergamino al finalizar la etapa de secado para generar una clasificación de las categorías honey negro, rojo o amarillo según el tiempo de fermentación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Fase I. Beneficiado de café.

Ubicación del estudio. El estudio fue realizado en Chalatenango, El Salvador, en el beneficio San José Sacare. La materia prima manipulada provino de la finca Santa Rosa ubicada en el cantón Santa Rosa, Chalatenango. Las muestras se procesaron en el Centro de Control de Calidad Industrial ubicado en San Salvador, El Salvador.

Preparación de tratamientos. Se pesaron 800 lb de café uva, previamente seleccionados según estado de maduración. Los frutos clasificados como maduros se trasladaron al área de despulpado en donde se removió el pericarpio. Una vez completado el despulpado al pergamino con mucílago se le efectuaron mediciones de pH, °Brix y temperatura externa e interna del sistema. La medición de estos parámetros se efectuó con un refractómetro, un potenciómetro y un termómetro digital. Una vez finalizado el proceso de despulpado el café pergamino se trasladó al área de fermentación en donde se dividió en seis tratamientos con tres repeticiones y fue colocado en camas africanas. La descripción de los tratamientos se encuentra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Tiempo de fermentación
Tratamiento 1	12 horas
Tratamiento 2	24 horas
Tratamiento 3	36 horas
Tratamiento 4	48 horas
Tratamiento 5	60 horas
Tratamiento 6	72 horas

Recolección de muestras. En el estudio se realizaron seis tomas de muestras en la etapa final de la fermentación del café en el proceso de beneficiado húmedo. Se recolectaron las muestras a las: 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas. La actividad se realizó a las 10:00 am y a las 10:00 pm. Previo a la recolección de muestras se realizaron mediciones de factores como pH, temperatura y °Brix con el equipo respectivo. Se recolectaron aproximadamente 500 gramos de café pergamino de cada tratamiento en bolsas esterilizadas. Se tomaron de cuatro a cinco sectores de la cama africana de manera aleatoria.

Secado de café pergamino. Concluido el tiempo de fermentación el café pergamino se trasladó al área de secado bajo condiciones de 50% sol y 50% sombra, y se mantuvo durante un rango de tiempo de 12 a 14 días. Finalizado el proceso de secado se realizó la medición de humedad de los tratamientos con equipo SINAR AP6060, el cual es un medidor de humedad que mide las propiedades eléctricas del agua. Las humedades de los tratamientos se encontraban en rangos de 9.8-11%.

Análisis de color de café pergamino. Se evaluó el color del café pergamino al finalizar la etapa de secado mediante la aplicación Color Suite. Los datos obtenidos se documentaron en escala L*a*b en donde L representa la luminosidad y se encuentra del rango (0 a 100), el valor a da las coordenadas rojo/verde con nivel de (60 a -60) y b se refiere a coordenadas amarillo/azul con rango de (-60 hasta 60). Se realizó un análisis del ángulo de matiz y croma para evaluar la diferencia de color entre tratamientos. El ángulo de matiz es la percepción que tiene el ojo humano sobre el color de un objeto mientras que el croma representa la intensidad o saturación del color. Los parámetros anteriormente descritos se calcularon en base a las ecuaciones 1 y 2:

$$H^{\circ} = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad [1]$$

Dónde H° = ángulo de matiz

\tan^{-1} = Inversa de tangente

a^* , b^* = Coordenadas obtenidas de L*a*b

$$Cr = \sqrt{a^2 + b^2} \quad [2]$$

Dónde: Cr = Índice de saturación (croma métrico)

a^* y b^* = Coordenadas obtenidas de L*a*b

Preparación de muestras para análisis sensorial. Se realizó un muestreo de los 18 tratamientos, lo cual produjo 500 gramos de café pergamino, los cuales se empacaron en bolsas herméticamente selladas (ziplocs). Cada tratamiento se codificó de manera aleatoria. Se utilizó una trilladora modelo (ING-C-200) para muestras de laboratorio con capacidad de 200 gramos café pergamino con el fin de remover el endocarpio. Una vez completado el proceso de trillado se realizó una clasificación de los granos en café oro por medio de zaranda número 15 y número 16. Se eliminaron los granos de café con defectos físicos como: grano negro, grano agrio, cereza seca, daño por hongos, brocado severo, negro parcial, agrio parcial, pergamino, flotador, inmaduro, averanado, cortado y concha; de igual forma se eliminó cualquier material extraño que podría estar presente en la muestra.

Tostado de café oro. Para realizar el tueste, los tratamientos fueron codificados de manera aleatoria. El tueste se efectuó 24 horas previas al análisis sensorial y con un mínimo de 8 horas de reposo. Este proceso se realizó en una tostadora para muestras PROBAT con capacidad 100 gramos de café oro/verde, y durante un rango de 8 a 9 minutos. La temperatura de entrada fue de 150 °C y la de salida de 180 a 200 °C. El primer crack, definido como la pérdida de humedad por la evaporación de agua que genera una fractura

en el grano, se generó en cada tratamiento en promedio al minuto siete con diez segundos (FCC 2010).

Análisis sensorial. Se aplicó el formato provisto por SCA (Specialty Coffee Association) donde se establece la cantidad de materia a utilizar para efectuar una catación o análisis sensorial de café. Basado en la información obtenida se estableció el uso de 8.25 gramos de café para 150 ml de agua. Este se modificó según el volumen de agua a utilizar en las tazas. La molienda se efectuó bajo un parámetro ligeramente grueso con un tiempo previo a la infusión no mayor a 30 min. Concluida la molienda los tratamientos se colocaron de manera ordenada según la codificación previamente provista de manera aleatoria. Cada panelista efectuó la evaluación de fragancia y se dio inició al vertimiento de agua con una temperatura de 96 °C. Después de cuatro minutos, se eliminó la corteza del café con cucharas. Los panelistas realizaron la evaluación colocando los valores en la hoja de puntuación del SCA, en donde se evalúan los siguientes atributos: fragancia o aroma, sabor, regusto, acidez, cuerpo, uniformidad, dulzura, limpieza y nota general. Se contó con la participación de 9 panelistas certificados como Q Grader que completaron la hoja de calificación de la Asociación de Cafés Especiales de América según cada atributo y su respectivo puntaje (SCA 2015). En el cuadro 2 se presenta la escala utilizada por parte de los panelistas para evaluar los atributos antes mencionados.

Cuadro 2. Escala de evaluación por atributos.

Escala de calidad			
Bueno	Muy bueno	Excelente	Sobresaliente
6.00 - 6.75	7.00 - 7.75	8.00 - 8.75	9.00 - 9.75

Fuente: Asociación de cafés especiales. 2017

Fase II. Análisis microbiológico.

Preparación del enriquecimiento. En el laboratorio se pesaron 10 gramos de café pergamino en bolsas esterilizadas bajo condiciones asépticas; además se agregaron 90 ml de buffer y se homogenizó la muestra de forma manual. Concluido el proceso de mezclado con una micropipeta calibrada a 1 ml, se realizó la transferencia directa al plato petri respectivo a una dilución -1, se efectuó el mismo procedimiento con las diluciones -2,-3 y -4. Se realizó una repetición de la dilución (-2) para observar el crecimiento de los microorganismos en un ambiente con oxígeno. Concluida las diluciones se efectuó el vertimiento de 15 a 20 ml de Agar MRS realizando movimientos circulares para optimizar la repartición. Con el agar completamente sólido, se clasificaron las muestras en anaeróbicas y aeróbicas. Las anaeróbicas se colocaron en envases térmicos en posición invertida y se agregó un sobre de AnaeroGen, sistema que genera un ambiente completamente anaeróbico. La incubación se realizó a 35 °C durante 5 días. En el caso de los aeróbicos se almacenaron en envases térmicos y se efectuó el proceso de crecimiento por 48 horas a 35 °C (CCCI 2018).

Confirmación de *Lactobacillus* spp. homofermentativo o heterofermentativo. Se efectuó un recuento de los platos petri clasificando como representativos aquellos que cumplen con el rango de conteo de 25 a 250 ufc/plato. Los platos inoculados con crecimiento positivo se observaron bajo un microscopio. Se realizó una tinción de Gram donde se tipificó lo observado. Con la clasificación efectuada se realizó, mediante asa bacteriológica, una transferencia de las colonias encontradas a tubos de ensayo con campanas Durham y caldo MRS el cual es descrito en el cuadro 3. Los tubos de ensayo se incubaron por 48 horas a 35 °C. Al finalizar su periodo de incubación se observó la producción de gas y la turbidez para clasificarlas como *Lactobacillus* spp. homofermentativa o heterofermentativa.

Cuadro 3. Formulación del agar selectivo para *Lactobacillus* spp.

Formula típica	g/litro
Proteasa Peptona No. 3	10.0
Extracto de carne	10.0
Extracto de levadura	5.0
Dextrosa	2.0
Polisorbato	1.0
Citrato de amonio	2.0
Acetato de sodio	5.0
Sulfato de manganeso	0.05
Sulfato de magnesio	0.1
Fosfato dipotásico	2.0
Agar	15.0

Fuente Manual Difco y BBL 2009.

Análisis estadístico. Para efectuar la investigación se establecieron seis tratamientos con tiempo de fermentación de 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas para el proceso honey. Cada tratamiento se estableció con tres repeticiones obteniéndose un total de 18 unidades experimentales. Se realizó un análisis de medias de los valores iniciales y finales de pH, grados brix y temperatura mediante una prueba t para muestras apareada. Para el análisis del conteo de *Lactobacillus* spp. en las unidades experimentales se efectuó una separación de medias Tukey. Todos los análisis se realizaron con el programa SAS[®] versión 9.4. Los resultados obtenidos se transformaron usando el logaritmo para efectuar el análisis estadístico. Se realizó una separación de medias Tukey con las notas asignadas por parte de los nueve catadores certificados, usando un nivel de significancia de (P<0.05), y de igual forma se utilizó la prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa). Para finalizar la evaluación se realizó la correlación entre el crecimiento de *Lactobacillus* spp. y las notas asignadas por parte de los catadores. De igual forma se efectuó una correlación de los atributos evaluados: fragancia, sabor, acidez, cuerpo, postgusto, balance e impresión global, para conocer que factor de los diversos evaluados representa una mayor influencia en la puntuación final (Felis y Pot 2014).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fermentación del café existen procesos químicos generados por los organismos presentes en el medio que afectan los parámetros intrínsecos como el pH, y grados brix y parámetros extrínsecos como la temperatura del sistema. Los microorganismos encargados de realizar la descomposición del mucílago degradan los carbohidratos por medio de distintas vías metabólicas según el tipo de microorganismo; estos carbohidratos son el principal sustrato de fermentación (Puerta 2010).

Lactobacillus spp. es un género perteneciente a la familia Lactobacillaceae. Las bacterias pertenecientes a esta familia son Gram-positivas, anaeróbicas facultativas o aerotolerantes, usualmente no móviles, con capacidades variables de fermentar carbohidratos y generar compuestos como lactato, acetato, etanol, CO₂, entre otros compuestos (Port *et al.* 2014). Existe una diversidad de especies en el género que presentan características variables en cuanto a la morfología. En los análisis morfológicos efectuados se tipificó el crecimiento de *Lactobacillus* spp., representado en forma de bacilos largos y extendidos, bacilos cortos y coco bacilos.

El crecimiento de este género se da en una variedad de hábitats que cumplen con los factores intrínsecos y extrínsecos óptimos. Se conoce que el género, puede ser añadido directamente al medio; sin embargo, algunas especies son endógenas en la materia prima o están presentes en superficies de equipos, que contribuyen indirectamente a las propiedades del producto fermentado. El mucílago del café es un medio que incluye: 90% agua, 10% de carbohidratos, 1% proteínas, 0.45% de minerales y 0.1% de lípidos (Puerta 2010). Los carbohidratos presentes en el medio son azúcares reductores en un 47.9% como glucosa, fructosa, maltosa y lactosa; además presenta un 29.8% de azúcares no reductoras como sacarosa (Puerta y Rios 2011). Estudios demuestran que existe el crecimiento de *Lactobacillus* spp. *plantarum* y *Lactobacillus* spp. *brevis* durante 12 y 24 horas de fermentación (Fowler *et al.* 2012).

Conociendo la composición química del mucílago del café se puede inducir que el crecimiento de *Lactobacillus* spp. se genera con facilidad gracias al aporte nutricional efectuado por el medio, al no colocar los tratamiento bajo condiciones anaeróbicas, el crecimiento del microorganismos no es el óptimo y por lo tanto, la población del mismo se mantiene en una fase de latencia durante los distintos tiempos de fermentación (Felis y Pot 2014). En la actividad se obtuvieron valores de 7.42 log UFC/g como promedio de todos los tratamientos. En el cuadro 4 se observa que no hubo diferencia significativa de los valores de Log UFC/g entre los tratamientos evaluados (P<0.1312).

Cuadro 4. Conteo microbiológico de *Lactobacillus* spp. (diferencia de medias Tukey).

Tratamiento	Tiempo de fermentación (horas)	Conteo Log UFC/g
		Media ± DE
1	12	7.2187 ± 0.27 ^a
2	24	7.8343 ± 0.38 ^a
3	36	7.3157 ± 0.32 ^a
4	48	7.5775 ± 0.24 ^a
5	60	7.4980 ± 0.02 ^a
6	72	7.0754 ± 0.41 ^a
CV		3.99

CV: Coeficiente de variación (%)

D.E: Desviación Estándar

Medias no son estadísticamente diferentes (P>0.05).

Comparando los datos con una diferencia mínima significativa se observa que los tratamientos difieren en cuanto al conteo microbiológico, demostrando que el tratamiento de doce horas de fermentación y el de 72 horas tienen un valor menor al conteo microbiológico del tratamiento con 24 horas de fermentación. Esto concuerda con Puerta 2012, que demuestra que el crecimiento de *Lactobacillus* spp. se genera exponencialmente a partir de las 24 horas de fermentación cuando el microorganismo ya se adapta al medio de crecimiento. En el cuadro 5 se puede observar las medias del conteo microbiológico agrupadas a través de la prueba DMS con una probabilidad (P<0.05).

Cuadro 5. Conteo microbiológico de *Lactobacillus* spp. (diferencia mínima significativa).

Tratamiento	Tiempo de fermentación (horas)	Conteo Log UFC/g
		Media ± DE
1	12	7.2187 ± 0.27 ^b
2	24	7.8343 ± 0.38 ^a
3	36	7.3157 ± 0.32 ^{ab}
4	48	7.5775 ± 0.24 ^{ab}
60	60	7.4980 ± 0.02 ^{ab}
72	72	7.0754 ± 0.41 ^b
CV		3.99

CV: Coeficiente de variación (%)

D.E: Desviación Estándar

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes (P<0.05).

La temperatura es uno de los parámetros extrínsecos con mayor relevancia en el crecimiento de los microorganismos. El crecimiento de los organismos parte de la familia Lactobacillacea se efectúa en rangos desde 2 °C hasta un valor de 53 °C; sin embargo, el género *Lactobacillus* spp. presenta un óptimo crecimiento en temperaturas de 30 y 40 °C (Port *et al.* 2014). La temperatura externa del sistema en el que se generó la fermentación del café se encontraba en promedio a 24 °C; sin embargo, la variación de temperatura durante el día se mostraba en valores desde 21 °C hasta 31 °C. La temperatura promedio del fruto al inicio de la fermentación se encontró con una media de 19.58 ± 0.29 °C.

Transcurrido el tiempo de fermentación se observó un incremento en la temperatura hacia un valor promedio de 27.51 ± 1.78 °C. Este aumento de temperatura se produjo debido a los procesos metabólicos de los organismos que forman energía, obteniendo en algunos momentos mayor temperatura en el fruto o sistema comparada con la temperatura del aire exterior (Puerta 2012). En el cuadro 6 se observa la diferencia entre la temperatura inicial y la temperatura final del fruto la cual fue en promedio fue de 7.93 ± 1.82 °C, cada tratamiento indica una diferencia significativa ($P < 0.05$).

En la etapa de fermentación se conoce que los sólidos totales del medio, se comportan con un decrecimiento según el tiempo de fermentación. Los datos iniciales de este parámetro fueron en promedio 22.83 ± 0.56 °brix. Los frutos recolectados y seleccionados se encuentran en un estado de sobre madurez debido a que superan el porcentaje de concentración de sólidos solubles promedio en los frutos maduros (17.1%) (Puerta 2012). A lo largo de la etapa de fermentación el valor de los sólidos solubles se redujo en promedio hasta 18.11 ± 2.23 grados brix. En el Cuadro 6 cada tratamiento muestra una diferencia significativa de los grados brix iniciales y los grados brix finales exceptuando el tratamiento de 48 horas de fermentación ($P > 0.058$) indicando que el crecimiento de los organismos y la degradación de los carbohidratos no ocurrió en ese período.

Cuadro 6. Diferencia de medias de pH, °Brix y Temperatura posterior a la etapa de fermentación.

	Horas de fermentación	pH	° Brix	Temperatura (°C)
	12	1.16 ± 0.20	6.00 ± 2.00	10.25 ± 1.47
	24	1.01 ± 0.12	6.16 ± 1.60	7.74 ± 0.43
Media⁺ ± D.E	36	1.31 ± 0.16	7.83 ± 2.02	6.53 ± 1.27
	48	0.84 ± 0.19	$3.66 \pm 1.60^{\&}$	9.75 ± 0.57
	60	0.79 ± 0.05	3.00 ± 0.86	7.54 ± 0.61
	72	0.87 ± 0.10	1.66 ± 0.57	5.73 ± 0.20

DE: Desviación estándar. ⁺: Se explica la diferencia entre las medias de los parámetros medidos. &: La diferencia entre el valor inicial y el valor final de los grados brix no fue estadísticamente diferente ($P > 0.05$).

Durante el proceso de fermentación se generan distintos productos finales que dependen del metabolismo de carbohidratos y otras propiedades metabólicas como la actividad proteolítica y lipolítica. Se conoce como proceso homofermentativo cuando el 85% de los compuestos generados es ácido láctico; este sistema metabólico utiliza la vía de glicólisis (Embden Meyerhof; Parra 2010). En contraste, la fermentación heterofermentativa forma a través de la vía metabólica de pentosa fosfato en donde se degradan las pentosas y hexosas para formar compuestos como: ácido láctico, etanol, dióxido de carbono y moléculas de trifosfato de adenosina (ATP) en diferentes concentraciones (Mozzi *et al.* 2016)

Puesto que los análisis de confirmación de la presencia de *Lactobacillus* spp. no presentaron ninguna producción de dióxido de carbono y no se observó ninguna turbidez, se establece que los *Lactobacillus* spp. encontrados en los medios son del grupo homofermentativo. No obstante, algunas especies del género *Lactobacillus* spp. son capaces de fermentar por ambas vías metabólicas clasificadas como heterofermentativa facultativa.

Con respecto a las condiciones de pH, *Lactobacillus* spp. muestra un comportamiento en rangos de 3 a 8 (Mozzi *et al.* 2016). La fermentación del café pergamino inició con valores de pH promedio de 4.37 ± 0.13 siendo 4.70 el valor máximo, obtenido del tratamiento de 12 horas de fermentación, y el valor mínimo se observó en el tratamiento de 72 horas de fermentación con un pH de 4.10. Como consecuencia del crecimiento de *Lactobacillus* spp. y de otros microorganismos, en el cuadro 6 se observa la disminución en promedio del valor de pH hasta 3.37 ± 0.19 en promedio; y se observa también una diferencia significativa entre el pH inicial y el pH final en todos los tratamientos ($P < 0.05$).

La calidad de taza de café se ve influenciada por múltiples factores como: la variedad del fruto, la madurez, y el proceso de beneficiado. Dentro del proceso de beneficiado Banegas 2009 y Ramos y Criollo 2017 concuerdan que las etapas de fermentación y secado tienen una relación directa con la calidad física y sensorial del grano de café. El tiempo de fermentación es un parámetro que se establece en cada finca según el perfil de taza que se quiera obtener; sin embargo, Córdoba y Guerrero 2016, establecen que un inadecuado control como las fermentaciones prolongadas y la mezcla de cafés con diferentes tiempos de fermentación, generan sabores no deseables en la taza de café.

El café evaluado en el análisis sensorial, muestra una clasificación de grado especial según la Asociación de cafés especiales de América (SCA 2015); esto debido a que todos los tratamientos muestran puntuaciones por arriba de 80. No existe una diferencia significativa entre las puntuaciones asignadas a los tratamientos ($P > 0.05$). La mayor puntuación representada numéricamente fue la del tratamiento con 60 horas de fermentación con una nota final de 87.35 ± 1.50 (Cuadro 7).

Cuadro 7. Calificación de evaluación sensorial

Tratamiento	Tiempo de fermentación (horas)	Puntuación
		Media \pm DE
1	12	84.54 \pm 1.07
2	24	84.56 \pm 0.79
3	36	85.22 \pm 0.53
4	48	85.80 \pm 0.57
5	60	87.82 \pm 1.52
6	72	87.35 \pm 1.50
CV		1.35

CV: Coeficiente de variación (%)

D.E: Desviación Estándar

Medias no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Con la prueba DMS, se demuestra que los valores más altos de puntuación se obtienen para los tratamientos con 48, 60 y 72 horas de fermentación respectivamente (Cuadro 8). Estas destacan en comparación con las medias de puntuación reflejadas para los tratamientos de menores tiempos de fermentación. En cuanto al parámetro evaluado para la variedad Pacamara se demuestra que un buen control en la etapa de fermentación puede asegurar una generación de compuesto volátiles que generen un atributo distintivo en la taza final de café.

Cuadro 8. Puntuación de la evaluación sensorial (diferencia mínima significativa).

Tratamiento	Tiempo de fermentación (horas)	Puntuación
		Media \pm DE
12	12	84.54 \pm 1.07 ^b
24	24	84.56 \pm 0.79 ^b
36	36	85.22 \pm 0.53 ^b
48	48	85.80 \pm 0.57 ^{ab}
60	60	87.82 \pm 1.52 ^a
72	72	87.35 \pm 1.50 ^a
CV		1.35

CV: Coeficiente de variación (%)

D.E: Desviación Estándar

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

El comportamiento de las puntuaciones se ve en aumento a medida que el tiempo de fermentación aumenta; sin embargo, no existe una asociación entre la calidad de taza expresada en puntuación y conteo de *Lactobacillus* spp. log UFC/g ($P > 0.9749$). Esto

concuera con literatura que asegura que la calidad de la bebida final no se ve afectada por la densidad de la población, pero sí por las especies encontradas en la microflora (Lee *et al.* 2015).

En el cuadro 9 se observa la correlación de cada uno de los atributos con respecto a la puntuación final para la taza de 60 horas de fermentación. Con respecto a la evaluación por parte de los panelistas, se muestra que los atributos con mayor correlación en la puntuación de la calidad de taza son la fragancia, acidez, cuerpo, postgusto y balance ($P < 0.05$). El atributo de balance se observa con una alta correlación obteniéndose valores desde 7.5 hasta 10. La integración de los atributos sabor, postgusto, acidez definen el parámetro de balance (Lingle y Menon 2017). Se conoce que la variedad en condiciones adecuadas de proceso genera un aroma floral con notas a jazmín, este influencia de manera alta y positiva la puntuación final de la taza evaluada (cuadro 9).

Cuadro 9. Correlación de los atributos fragancia, aroma, acidez, cuerpo, postgusto, balance e impresión global.

Atributos		Fragancia	Sabor	Acidez	Cuerpo	Postgusto	Balance	Impresión global
Puntuación	C	0.789	0.524	0.831	0.918	0.852	0.932	0.343
	P	0.001	0.054	0.000	<.0001	0.000	<.0001	0.230

P: Probabilidad

C: Índice de Pearson

La variedad Pacamara destaca en los atributos de aroma, acidez y sabor. El cuadro 9 explica que la acidez tiene una correlación alta con respecto a la puntuación final de la taza. Los valores promedio obtenidos para este atributo fueron de 8.36. La acidez es relacionada con la sensación de sequedad que genera la cata de café en los bordes de la lengua y parte del paladar, la cual es reconocida como una característica determinante en la calidad (Ochoa 2015). Este atributo sobresale en la variedad debido a su apreciación de acidez media a alta, con una asociación a cítricos.

Estudios demuestran que la fermentación del café y el aroma comparten una relación que favorece la calidad de café (Lee *et al.* 2015). Los panelistas describieron la apreciación de un aroma intenso con notas florales. Las bacterias ácido lácticas aportan al atributo del sabor dependiendo de la capacidad metabólica de formar los compuestos del alimento en compuestos aromáticos y de la capacidad relativa en comparación con el resto de microorganismos y enzimas presentes simultáneamente en el alimento (Mozzi *et al.* 2016). El sabor no influyó en la puntuación final asignada por parte de los panelistas ($P > 0.05$) (cuadro 9).

El cuerpo y el postgusto influyen de manera positiva la puntuación final de la taza, la variedad es conocida por atributos de postgusto con una duración prolongada y un cuerpo

intenso (CSC 2017). En la Figura 1 se representa las puntuaciones obtenidas de los atributos evaluados para el tratamiento 5 que representa la taza con 60 horas de fermentación.



Figura 1. Puntuación de atributos evaluados para el tratamiento 5.

El Cuadro 10 indica las notas asignadas por parte de los panelistas a cada uno de los atributos evaluados en los seis tratamientos. La mayor puntuación para cada uno de los atributos se muestra para el tratamiento 5 seguido del tratamiento 6 con doce horas de diferencia. Las notas que disminuyen la calidad de taza del tratamiento de 72 horas es la percepción de sobre fermentación por parte de los panelistas, este atributo puede favorecer la calidad de taza debido a los compuestos volátiles que se perciben al momento de evaluar el aroma; sin embargo, una sobre fermentación puede generar una percepción astringente disminuyendo así la calidad de taza (Lee *et al.* 2015).

Cuadro 10. Calificación de atributos fragancia, acidez, cuerpo, postgusto y balance de cada tratamiento.

Tiempo de fermentación (horas)	Fragancia	Acidez	Cuerpo	Postgusto	Balance
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
12	7.68 ± 0.60 ^c	7.48 ± 0.52 ^b	7.60 ± 0.52 ^c	7.57 ± 0.49 ^c	7.73 ± 0.52 ^b
24	8.08 ± 0.38 ^{ab}	7.70 ± 0.38 ^b	7.95 ± 0.38 ^{cab}	7.85 ± 0.27 ^{bc}	7.88 ± 0.36 ^{ba}
36	7.78 ± 0.43 ^{cb}	7.67 ± 0.59 ^b	7.85 ± 0.53 ^{cb}	7.68 ± 0.50 ^{bc}	7.87 ± 0.60 ^{ba}
48	7.85 ± 0.39 ^{cb}	8.07 ± 0.39 ^a	8.05 ± 0.38 ^{ba}	8.10 ± 0.46 ^{ba}	8.05 ± 0.42 ^{ba}
60	8.34 ± 0.49 ^a	8.36 ± 0.46 ^a	8.23 ± 0.36 ^{ba}	8.30 ± 0.47 ^a	8.32 ± 0.61 ^a
72	8.25 ± 0.56 ^a	8.27 ± 0.58 ^a	8.28 ± 0.57 ^a	8.22 ± 0.50 ^a	8.22 ± 0.65 ^a
CV	5.93	6.31	6.08	5.98	6.9

DE: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación (%)

Medias con letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Los atributos fueron evaluados en la escala ordinal del 1 al 10 donde 1 representa muy defectuoso y 10 indescriptible.

Análisis de color café pergamino.

El proceso semi-seco, popularmente conocido como honey, es una combinación del proceso natural y el proceso lavado generando una taza limpia con dulzura destacable. El proceso puede clasificarse según la cantidad mucílago que recubra el pergamino (Knopp *et al.* 2006). El mucílago está compuesto de azúcares y pectinas que requieren de un proceso que rompa la estructura como la fermentación. La cantidad de mucílago presente en el café pergamino desarrolla la dulzura, la acidez y el sabor de los granos de café.

La principal diferencia que genera la cantidad de mucílago que envuelve el pergamino es el color al momento del secado. Un café con 25% de mucílago recubriendo el grano de café puede ser clasificado como un honey amarillo, mientras que valores de 50 y 70% lo clasifica como un café honey rojo. El café pergamino con mayor cantidad de mucílago presente que no pasa por un proceso de degradación de mucílago, es denominado como honey negro; este proceso conlleva a mayor tiempo de secado y requiere de mayor humedad en el ambiente (Poltronieri y Rossi 2016).

El tiempo de fermentación determinó la cantidad de mucílago que envuelve el grano de café y su coloración final en la etapa de secado. En el cuadro 11 se observa que el tratamiento de doce horas presenta un valor con diferencia significativa para los parámetros de L* b* H° y croma. El valor de L en promedio para este tratamiento fue de 25.901, este valor se acerca al valor mínimo de la escala, el cual representa el color negro demostrando una diferencia significativa en comparación con otras muestras evaluadas (P<0.0023); de igual manera el parámetro b* en todos los tratamientos se muestra de manera positiva lo cual se relaciona con tonalidades amarillas; sin embargo, el tratamiento de doce horas de fermentación muestra un valor menor a los demás tratamientos de 14.019 (P<0.0047). El valor de a* no

muestra una diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.1843$), el valor oscila en 9.47 ± 4.76 , un valor positivo que se encuentra en tonalidades rojas (Velaro 2013).

La degradación del mucílago depende de factores como el sistema de fermentación y las condiciones ambientales externas, que influyen en el desarrollo y metabolismo de los microorganismos presentes. A las doce horas de fermentación iniciaba la etapa de descomposición del mucílago que recubre el café pergamino, por lo que debido al periodo transcurrido la descomposición del mismo era menor comparado con los demás tratamientos. Esto se demuestra al observar la cantidad de °Brix que el tratamiento expone, este numéricamente supera los valores de los demás tratamientos. Avallone *et al.* (2001) demuestran que la degradación de los carbohidratos presentes en el mucílago no se logra completamente aún después de las 74 horas de fermentación, lo cual es debido a que el color del café pergamino no muestra un cambio significativo en cuanto a los parámetros de L^* a^* b^* y los valores de ángulo de saturación y cromaticidad entre las 24 horas de fermentación y las 72 horas (Puerta y Rios 2011).

En el cuadro 11 se muestra la media de matiz y de cromaticidad de los tratamientos. El único tratamiento con diferencia significativa es el de 12 horas de fermentación donde se muestra una media de tono angular de 49.43 ± 11.31 y para el valor de croma 17.68 ± 7.57 .

Cuadro 11. Análisis de color L^* a^* b^* H° y Croma en café pergamino.

TF	L^*	a^*	b^*	H°	Croma
	Media \pm DE	Media \pm DE	Media \pm DE	Media \pm DE	Media \pm DE
12	30.00 ± 6.28^b	10.94 ± 2.32^a	13.37 ± 7.87^b	49.43 ± 11.31^b	17.68 ± 7.57^b
24	45.40 ± 1.58^a	9.09 ± 5.99^a	32.26 ± 9.94^a	73.23 ± 12.15^a	33.83 ± 9.60^a
36	51.70 ± 8.83^a	10.69 ± 3.45^a	38.33 ± 3.76^a	74.51 ± 4.75^a	40.92 ± 3.82^a
48	51.74 ± 7.18^a	7.52 ± 5.57^a	38.46 ± 4.95^a	78.62 ± 8.64^a	39.64 ± 4.50^a
60	50.03 ± 1.67^a	10.11 ± 5.24^a	37.44 ± 9.50^a	75.61 ± 8.95^a	33.67 ± 9.32^a
72	47.77 ± 1.07^a	11.13 ± 2.93^a	33.07 ± 16.34^a	64.52 ± 17.79^a	35.59 ± 15.03^a
CV	22.33	45.30	31.82	17.52	27.08

TF: Tiempo de fermentación (horas), CV (%): Coeficiente de variación, DE: Desviación estándar. L^* : 0-100 (0 es negro y 100 es blanco), a^* : -60 +60 (Positivo= rojo, negativo = verde), b^* : -60 +60 (Positivo = amarillo, negativo = azul)

^{a-b}: Valores seguidos con letra diferente en cada fila son estadísticamente distintos ($P < 0.05$)

El proceso de secado de los tratamientos se manejó bajo condiciones de 50% sombra y 50% sol, favoreciendo así a que el color del café pergamino se genere dentro de la línea clasificada como honey rojo. El periodo de secado de los tratamientos duró entre 12 y 14 días, y el tiempo promedio para el secado de café semi seco categorizado como color rojo. (Poltronieri y Rossi 2016).

4. CONCLUSIONES

- El crecimiento de *Lactobacillus* spp. en el café de variedad Pacamara con proceso Honey no generó un cambio en la calidad de taza.
- El color del café pergamino se ve afectado por el tiempo de fermentación y la degradación del mucílago.
- Con tiempos de fermentación de 24 a 48 horas, el color del pergamino se clasificó como un honey rojo.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar el análisis del crecimiento de *Lactobacillus* spp. en un ambiente controlado donde las condiciones de fermentación sean anaeróbicas.
- Analizar el crecimiento de hongos y levaduras presentes en la etapa de fermentación para conocer si estos microorganismos generan un efecto en la calidad de la taza.
- Conocer el perfil de ácidos presentes en etapa de fermentación con el fin de evaluar cuál de estos genera un cambio en las características sensoriales.
- Efectuar un estudio de factibilidad para el procesamiento de café honey con fermentación de 60 horas en el beneficio San José Sacare.
- Evaluar el rendimiento del café con 60 horas de fermentación, basado en la cantidad de defectos que presenta el grano de café.

6. LITERATURA CITADA

ACE (Alianza para la excelencia del café) 2017. Taza de excelencia 2017. El Salvador 2017. [Internet] Alianza para la excelencia del café. [Consultado 25 feb 2018] <https://allianceforcoffeexcellence.org/el-salvador-2017/>

Aristizábal A, Duque O. 2006. Determinación de economías de escala en el proceso de beneficio del café en Colombia. *Cenicafé*. 57(1): 17 - 30. [Consultado 30 marzo 2018] <https://www.cenicafe.org/es/publications/arc057%2801%29017-030.pdf>

Avallone S, Guyot B, Brillouet J, Olguin P, Guiraud P. 2001. Estudio de la microbiología y la bioquímica de la fermentación del café. *Microbiología actual*. 42:252-256. <https://doi.org/10.1007/s00284011021>

Banegas, K. 2009. Identificación de las fuentes de variación que tienen efecto sobre la calidad del café (*Coffea arabica*) en los municipios de El Paraiso y Alauca, Honduras. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica. 58p.

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P, editores. 2009. Coffee, tea, cocoa. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 938-970. ISBN: 978-3-540-69934-7.

Caballero B, Finglas P, Toldrá F, editores. 2016. Encyclopedia of Food and Health. Oxford: Academic Press. ISBN: 978-0-12-384953-3.

CCCI (Centro de Control de Calidad Industrial) 2018. Manual de procedimiento de laboratorio de análisis microbiológicos. Edición 1. El Salvador.

Córdoba N, Guerrero J. 2016. Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café y su efecto sobre la calidad sensorial en el departamento de Nariño. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 14(2):75 - 83. doi: <https://doi.org/10.18684/BSAA>.

CSC (Consejo Salvadoreño del Café) 2015. Variedades de café. [Internet]. El Salvador. [Consultado 2018 abr 2] <http://www.csc.gob.sv/variedades/>

CSC (Consejo Salvadoreño del Café) 2017. Exportaciones de café según calidades. [Internet]. El Salvador. [Consultado 2018 abr 2]. <http://www.csc.gob.sv/descargas/>

Evangelista SR, da Cruz Pedrozo Miguel MG, Souza Cordeiro C de, Silva CF, Marques Pinheiro AC, Schwan RF. 2014. Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. *Food Microbiology*. 44:87–95. doi:10.1016/j.fm.2014.05.013.

Farfán V, Moreno B, Salazar G, Hincapie G. 2007. Sistemas de producción de café en Colombia, Chinchiná. *Cenicafé*. 55(1):161 - 200.

FCC (Fórum Cultural de Café) 2010. Física y química en el tueste del café [internet]. España. [Consultado 29 mar 2018]. http://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-41_fisica_quimica_tueste.pdf

Felis G, Pot B. 2014. The family Lactobacillaceae. In *Lactic Acid Bacteria* (eds W. H. Holzapfel and B. J. Wood). doi:10.1002/9781118655252.part4

Fowler M, Leheup, Cordier L. 2012. Cacao, café y té. *Microbiología de los alimentos fermentados*. Volumen 2. Segunda edición. Brian J.B. Wood. Glasglow, UK. DOI: 10.1007/978-1—4613-0309-1.

Huch M, Franz C. 2015. *Café: fermentación y microbiota*. Avances en la fermentación de alimentos y bebidas. Woodhead Publicación serie en Ciencia de los alimentos, tecnología y nutrición. Editor woodhead p. 501–513. doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00021-9

ICO (International Coffee Organization) 2018. Total production by all exporting countries. [Internet]. [Consultado 2018 mar 10]. <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>

Knopp S, Bytof G, Selmar D. 2006. Influence of processing on the content of sugars in green *Coffea Arabica* beans. *European Food Research and Technology*. 223(2):195. doi:10.1007/s00217-005-0172-1.

Lee L, Cheong W, Curran P, Yu B, Liu SQ. 2015. Coffee fermentation and flavor: An intricate and delicate relationship. *Food Chem*. 185:182–191. eng. doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.124.

Lingle TR, Menon SN. 2017. Chapter 8 - Cupping and Grading—Discovering Character and Quality. En: Folmer B, editor. *The Craft and Science of Coffee*: Academic Press. p. 181–203. ISBN: 978-0-128-03520-7

Martinez SJ, Bressani APP, Miguel MGdCP, Dias DR, Schwan RF. 2017. Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. *Food Research International*. 102:333–340. doi:10.1016/j.foodres.2017.09.096.

Mozzi F, Raya R, Vignolo G. 2016. *Biología de bacterias ácido lácticas*. Segunda Edición, Chichester: Wiley-Blackwell, Oxford (Reino Unido). John Willey & sons, Ltd. ISBN: 978-1-118-86840-9

Ochoa 2015. Guía básica para el análisis de calidad de café [internet]. Universidad de Cuenca, Cuenca (Ecuador). [Consultado 7/jul/2018] <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/21884>

Parra R. 2010. Bacterias ácido lácticas papel funcional en los alimentos. [Tesis] Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia 105 páginas.

Poltonieri P, Rossi F. 2016. Desafíos en el procesamiento de café especial y aseguramiento de la calidad. [Internet]. Les Copeland. Universidad de Verona. Italia. [Consultado 03 jul 2018]. Doi: 10.3390/challe7020019

Puerta, G. 2010. Rendimientos y calidad de *Coffea arabica L.*, según el desarrollo del fruto y la remoción del mucílago. Cenicafé. 61:67 - 89.

Puerta G 2012. Factores, procesos y controles en la fermentación del café [Internet]. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé). Edición: Sandra Milena. ISSN-0120-0178. Colombia. [Consultado 15 mar 2018]. <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0422.pdf>

Puerta G, Rios S 2011. Composición química del mucílago de café según el tiempo de fermentación y refrigeración. [Internet] Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé), 62(2):23-40.2011. Colombia. [Consultado 20 mar 2018]. <https://www.cenicafe.org/es/documents/2.pdf>

Ramos L, Criollo H. 2017. Calidad física y sensorial de *Coffea arábica L.* variedad Colombia, perfil Nespresso AAA, en La Unión, Nariño. Revista de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. [Consultado 23 jun 2018]. 34(2):83-97.doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173402.74>

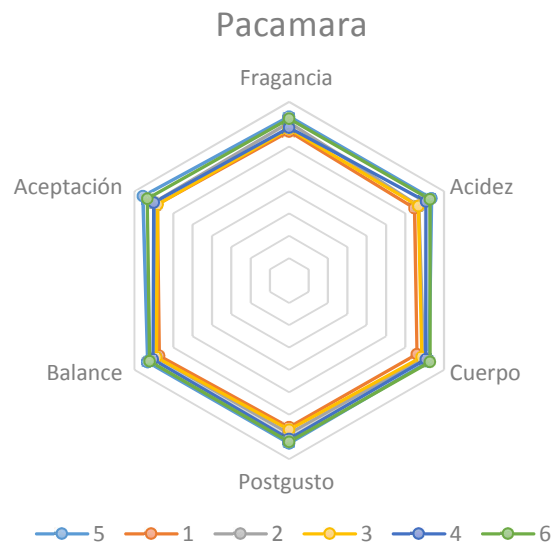
SCA (Asociación de cafés especiales) 2015. Análisis sensorial de cafés especiales. [Internet]. Asociación de cafés especiales de América. [Consultado 2018 feb 10]. <http://www.scaa.org/?page=resources&d=cupping-protocols>

Velaro 2013. Principios de color y holopintura. Vol. I. Barcelona (España) Editorial club universitario. P.145-153 ISBN 978-84-9948-348-1

7. ANEXOS

Anexo 1. Puntuación por atributos del café evaluado.

Puntuación de atributos de café variedad



Anexo 2. Probabilidades obtenidas en la prueba t para la diferencia de los parámetros iniciales y finales.

Parámetros	Tratamientos					
	1	2	3	4	5	6
	Pr > t 					
pH	0.0102	0.0050	0.0053	0.0176	0.0017	0.0050
Temperatura	0.0068	0.0011	0.0125	0.0012	0.0022	0.0004
°Brix	0.0351	0.0219	0.0215	0.0585	0.0267	0.0377

Pr: probabilidad (P<0.05)