

Evaluación de nueva cepa de levadura para el uso en la fermentación húmeda del café arábica variedad Castillo

Evaluation of new yeast strain for use in wet fermentation of the Castillo variety *arabica coffee*

Manuel Alejandro Pajoy-Trujillo*, **Claudia Milena Amorocho-Cruz****

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v26n1.113115

RESUMEN

La cadena consumidora de café está evolucionando en cafés de alta calidad con mejores atributos en taza y menores tiempos de producción, por ello el objetivo de esta investigación fue evaluar los aportes sensoriales generados por la cepa L-CPA12-1 aislada de la fermentación del café caturra, del municipio de Palestina (Huila), durante la fermentación del café castillo producido en el municipio de Gigante (Huila). La cepa fue identificada como *Candida krusei/inconspicua*. Durante las 18 horas de fermentación la levadura *Candida krusei/inconspicua* aumento la cantidad poblacional, presentando aportes en los descriptores sensoriales de fragancia/aroma como dulce aromático, especiado, cítrico, herbal, chocolate, sabor dulce tenso pronunciado agradable, presentando 84 puntos de acuerdo con la metodología de la asociación de cafés especiales (SCA).

Palabras clave: *Cándida*, Inoculación, Sensorial, Cultivo iniciador, Caturra.

ABSTRACT

The consumer chain of coffee is evolving in quality coffees with better cup attributes and lower production times; therefore, the goal of this study is to evaluate the sensorial contributions of the L-CPA12-1 yeast strain isolated from Castillo wet coffee fermentation produced in Palestina municipality (Huila). This strain was identified as *Candida krusei/inconspicua*. During 18 hours of fermentation, the yeast *Candida krusei/inconspicua* population increased, contributing to the sensory descriptors of fragrance/aroma such as sweet aromatic, spices, citric, herbal, chocolate, tense sweet flavor, and pronounced pleasantness, presenting 84 points according to the methodology of the Specialty Coffee Association (SCA).

Keywords: *Candida*, Inoculation, Sensorial, Starter culture, Caturra.

Recibido: febrero 23 de 2024

Aprobado: mayo 10 de 2024

* Universidad Federal de Lavras, Brasil, manuelepajoy.t@gmail.com, Correspondencia de autor

** Universidad Surcolombiana, Colombia, claudiamilena.amorocho@usco.edu.co

INTRODUCCIÓN

El café presenta una enorme importancia en el campo científico, agro-cultural, y comercial, siendo una bebida mundialmente conocida, sin distinción socioeconómica, raza, cultura o región. Puede representar economías pequeñas, como familiares constituyéndose muchas veces como en el único sustento económico (Gutiérrez *et al.*, 2020; Jacobi *et al.*, 2024).

Colombia está dentro del listado de los mayores productores de café antecedido por Brasil y Vietnam (FNC, 2023), así también es reconocido por la producción de café suave, preservando el procesamiento artesanal denominados “fami-empresas rurales”, donde las cerezas de café son cosechadas manualmente, además de ser despulpadas, fermentadas, lavadas y secadas (Gutiérrez *et al.*, 2020; Jacobi *et al.*, 2024). Este procesamiento es reproducido en los 32 departamentos cafeteros, donde se estima alrededor de 550.000 familias caficultoras. Aportando alrededor de 15% de PIB agrícola del país (Gutiérrez *et al.*, 2020; FNC, 2023; Jacobi *et al.*, 2024).

El departamento del Huila junto con los departamentos de Nariño y Cauca, conforman el nuevo eje cafetero, siendo reconocidos por producción de café especial (Gutiérrez *et al.*, 2020). El Huila está conformado por 35 municipios cafeteros, siendo encontrados en diferentes subregiones (Norte, occidente, centro y sur) y aporta alrededor de 8,8% del PIB agropecuario del país (Gutiérrez *et al.*, 2020; Jacobi *et al.*, 2024).

La calidad de café depende de varios factores como el origen genético, latitud, altitud, clima del lugar del cultivo, cuidados sanitarios, prácticas agronómicas, cultura cafetera, calidad de la cosecha, control durante los procesos de beneficio, trilla, almacenamiento, tueste y preparación de la bebida (Worku *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2019, 2020; Hall *et al.*, 2022). Cada uno de los factores anteriormente nombrados tienen sus especificaciones e importancia dentro de la cadena productiva del café. El café cosechado es procesado para la obtención de café pergamino seco (CPS), existiendo tres métodos de procesamientos denominados procesamiento natural, semi-húmedo y húmedo (Cortés-Macías *et al.*, 2022).

En los procesamientos anteriormente expuestos existen interacciones microbianas denominada fermentación, estas interacciones están acompañadas de reacciones exotérmicas y tiene como objetivo el consumo de azúcares libres presentes en el fruto de café (Schwan *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2013), así como la transformación de

pectinas en azúcares por medio de la producción de enzimas (pectinolíticas), para una mejor asimilación para los microorganismos (Silva *et al.*, 2013; Haile, 2019; Ribeiro *et al.*, 2020). Es de resaltar que no todos los microorganismos tienen la capacidad de generar dichas enzimas (Silva *et al.*, 2000, 2013; Haile and Kang, 2019).

Como es ampliamente conocido, en la fermentación de café existen interacciones microbianas entre bacterias, levaduras y hongos filamentosos, sin embargo, muchas bacterias y levaduras actúan como antifúngicos, inhibiendo el crecimiento de hongos durante el proceso de fermentación (Ramos *et al.*, 2010; de Souza *et al.*, 2017). Las bacterias y levadura presentes en la fermentación metabolizan azúcares libres en el fruto, produciendo diversos ácidos, aldehídos, fenoles, ésteres y alcoholes que pueden migrar y permanecer en los granos fermentados (Martins *et al.*, 2020; Bressani, *et al.*, 2018, 2021a). Los diversos productos metabólicos son interpretados como precursores de aromas y sabores, siendo positivos o negativos dentro de los análisis sensoriales, afectando así las características sensoriales de la bebida de café (Bressani, *et al.*, 2021b; Elhalis *et al.*, 2021b; Jimenez *et al.*, 2023; Schwan *et al.*, 2023; Ferreira *et al.*, 2023).

La metabolización de nutrientes genera cambios fisicoquímicos en los granos fermentados tales como color, olor, reducción de pH y actividad de agua (Schwan *et al.*, 2012). Estos cambios pueden ser parcialmente controlados por medio del tiempo de fermentación; sin embargo, el no control de estos puede comprometer la calidad final de la bebida, generando descriptores sensoriales de sobre fermentación, siendo categorizados negativamente (Evangelista *et al.*, 2015; Huch and Franz, 2014; Schwan *et al.*, 2023; Elhalis *et al.*, 2021c). Por lo anterior, se hace importante realizar procesos de fermentación adecuados, con la padronización de diversos parámetros, no obstante, varía dependiendo de la región productora y estaciones climatológicas (Worku *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021).

En la última década se han implementado microorganismos previamente seleccionados durante la fermentación de café denominados cultivos iniciadores, Las cuales tienen como beneficio la disminución del tiempo de fermentación, uniformidad microbiana actuante, modulación de los compuestos metabólicos generados durante el proceso de fermentación e inhibición de microorganismos indeseables al ser usados (Evangelista *et al.*, 2014b; Silva *et al.*, 2014; Elhalis *et al.*, 2021a, 2021b; Ribeiro *et al.*, 2020; da Mota *et al.*, 2020, 2022; Jimenez *et al.*, 2023). Existen diferentes evidencias sobre los be-

neficios en modificaciones sensoriales positivas en el uso de cultivos iniciadores, con aporte de descriptores sensoriales floral, especiados, afrutados y achocolatados siendo positivos en la caracterización final de la bebida de café (Lee *et al.*, 2017; Ribeiro *et al.*, 2018; Elhalis *et al.*, 2021b, 2021a, 2021c; Bressani *et al.*, 2021b, 2021c).

Microorganismos como *S. cerevisiae* (Var. Bayanus, CCMA0543), *T. delbrueckii* (CCMA0684), *C. parapsilosis* (CCMA0544), *M. caribbica* (CCMA0198; CCMA1738), *P. kluyveri* (CCMA1743), *P. kudriavzevi* (CP021092.1), *P. fermentans* (YC5.2), *B. subtilis* (CCMA 1234, 1236, 1238, 1239, 1242), *A. koreensis* (CCMA 1279), *L. mesenteroides* (CCMA1105), *L. plantarum* (CCMA1065), *B. pumilus* (CCMA 1251), *B. horneckiae* (CCMA1265) han sido implementados como cultivos iniciadores aportando cualidades positivas a la bebida final del café, debido a los diferentes metabolitos generados durante la fermentación (Evangelista, *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017; Ribeiro *et al.*, 2020; Bressani, *et al.*, 2021b; Elhalis *et al.*, 2021a; Simões *et al.*, 2021; Ladino-Garzon *et al.*, 2024).

Por ello esta investigación tuvo como objetivo la identificación morfológica y bioquímica de la levadura L-CPA12-1 depositada en el laboratorio de Microbiología de alimentos de la Universidad Surcolombiana, aislada en una finca ubicada en el municipio de Palestina (Huila) del café de variedad caturra durante la fermentación húmeda, y la evaluación de los parámetros fisicoquímicos y sensoriales al ser usada como cultivo iniciador en la fermentación húmeda en el café de variedad castillo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación y caracterización del cultivo iniciador Caracterización morfológica y bioquímica

Fue usado el Kit API 20C AUX (BioMérieux, Francia), para identificación bioquímica de la cepa de levadura L-CPA12-1. El kit fue usado de acuerdo con el fabricante BioMérieux (2010), e incubado durante 72 horas a 30 °C, con lecturas a las 48 y 72 horas después del inicio de la prueba. Los datos fueron analizados en el Software apiweb™.

La evaluación de presencia y ausencia de hifas/pseudohifas fue realizada en agar YGC (23 gr/L; Chloramphenicol, Conda Pronadisa, España) y PDA (Potato Dextrose Agar, European Pharmacopoeia, España), también fue evaluado presencia o ausencia de catalasa.

Curva de crecimiento

La cepa de levadura L-CPA12-1 fue activada en agar YGC con siembras en superficie, triple estría y resiembra

en superficie de las colonias aisladas, con tiempo de incubación de 24 horas a 30 °C.

Fueron tomadas alícuotas de la resiembra y transferidas a dos Erlenmeyer con 100 mL de agua de peptona al 1% (25.5 g/L; Peptona wáter, Merck, Alemania), las muestras fueron monitorizadas durante 48 horas, donde se realizaron diluciones seriadas en agua de peptona hasta 10⁻⁴ con siembra en agar YGC e incubadas durante 24 horas a 30°C. Adicionalmente se realizó medición de la densidad óptica de 1.000 µL de muestra en espectrofotómetro (Pharmacia Biotech Ultrospec 2000, Alemania) a 600 nm. En las primeras 12 horas se tomaron muestras cada hora, de las 12 a las 36 horas se tomaron muestras cada 4 horas y de las 36 a las 48 horas cada 12 horas.

Procesamiento de las cerezas de café

Se obtuvieron 200 kilogramos de café cereza variedad Castillo de la finca La Florida con altura de 1.650 m.s.n.m ubicada en el municipio de Gigante. Fueron tomadas 8 muestras de 10 gr cada una para análisis colorimétricos, mediante la técnica óptica de espectroscopia, utilizando colorímetro (Konica Minolta CR-410, Japón) para determinación del grado de madurez, las coordenadas de luminosidad (L*), coordenada del verde al rojo (a*) y coordenada del azul al amarillo (b*), tono (h*) y saturación (c*) fueron analizadas en el software X Rite Master. Posteriormente el café fue despulpado y dosificado en seis biorreactores (Poliétileno de alta densidad) de 22 litros, cada tanque con 12 kilogramos de café despulpado, posteriormente cada fermentador fue rotulado, fermentado y secado (secadores parabólicos solares con cubierta plástica) hasta alcanzar 11% de humedad, finalmente el café pergamino seco fue guardado en bolsas herméticas zip y rotulados para posteriores análisis.

Activación y uso del cultivo iniciador

La cepa de levadura L-CPA12-1 fue reactivada en agar YGC con siembras en superficie, triple estría y resiembra en superficie de las colonias aisladas, con tiempo de incubación de 24 horas a 30 °C. Seguidamente fueron tomadas alícuotas de la resiembra y transferidas a un tubo de ensayo con nueve mL de agua de peptona e incubados durante 24 h a 30 °C. Posteriormente fueron tomadas 100 µL de muestra y se realizaron siembras YGC para la obtención de la densidad poblacional y el resto de las muestras fueron centrifugadas (Zentrifugem Hettich EBA 200/200s, Alemania) a 5.000 rpm durante 2,28 min. El sobrenadante fue descartado y resuspendido en agua destilada, el proceso fue repetido durante 3 veces para eliminar restos de agua de peptona, finalmente las células fueron resuspendidas en dos mL de agua destilada para posterior uso. El proceso fue realizado en triplicado.

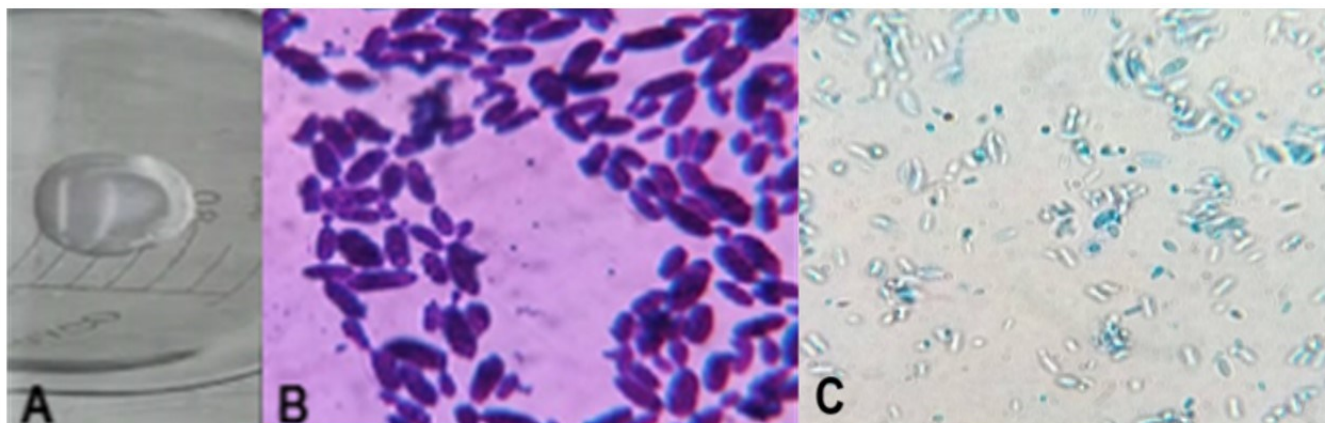


Figura.1. A. Prueba de catalasa; B. Morfología de la levadura; C. Prueba de hifas o *pseudohifas*.

La masa de café fue inoculada en un rango de 5,63 a 6,20 Log UFC mL⁻¹ y el café testigo no fue inoculado, cada uno en triplicado. La fermentación fue realizada durante 18 horas. Se tomaron muestras de 100 gr durante inicio y final de la fermentación de los biorreactores para posteriores análisis.

Análisis de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del café fermentado

Para la medición de pH fueron tomadas muestras de 10 gramos de café despulpado fermentado de cada biorreactor, y colocados en un vaso de precipitado de 100 ml (Boeco, Alemania), posteriormente fue medido el pH con ayuda de potenciómetro digital (Ohaus starter 5.000, Alemania). La medición se realizó por triplicado al inicio y final de la fermentación.

Los sólidos solubles fueron determinados por medio de refractómetro óptico (Brixco 3.010) al inicio y final de la fermentación. La medición se realizó por triplicado.

Los análisis microbiológicos solo fueron realizados para los biorreactores inoculados. Las muestras fermentadas fueron sometidas a diluciones seriadas en agua de peptona hasta 10⁻⁷, con siembra en agar YGC e incubadas durante 24 horas a 30°C, para obtención de la densidad poblacional.

Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó a una muestra compuesta por cada una de las repeticiones y a cada uno de los tratamientos. Las muestras fueron analizadas de acuerdo con la metodología de la Asociación de Cafés Especiales – SCA (SCAA, 2015), sometidas a selección de defectos, tueste y dosificación con relación peso/volumen, de 8,25 gr (+/- 0,25 gr) de café para 150 ml de agua por taza; en la evaluación de la bebida se valoraron 10 atributos (Fragancia/aroma, sabor, sabor residual, acidez,

cuerpo, uniformidad, balance, limpieza de taza, dulzor y valoración final de catador) para cada muestra, registradas en el formato de evaluación diseñado por la SCA.

Análisis de datos

Se realizó análisis de ANOVA simple con nivel de significancia del 95% comparando el tiempo inicio y final de la fermentación para determinación de diferencias estadísticas de pH, sólidos solubles y densidad poblacional (Log UFC mL⁻¹) entre el tratamiento inoculado y testigo, así como en cada tratamiento individualmente. Todos los análisis fueron realizados en Software R versión 4.2.2. usando las funciones de Anova y Boxplot.

RESULTADOS

Identificación morfológica y bioquímica de la cultura iniciadora

La cepa de levadura L-CPA-1, presentó forma circular con superficie de estrías concéntricas, perímetro liso, perfil liso convexo y catalasa positiva (Figura.1). Observada al microscopio la cepa presentó morfología elipsoidal, reproducción de brotamiento, con multipolaridad (Figura1).

En la prueba bioquímica API 20C AUX se obtuvieron resultados positivos en D-glucosa (GLU), glicerol (GLY), N-acetil-glucosamina (NAG) y resultados negativos en el resto de los componentes efectuados por la prueba. La cepa de levadura no presentó presencia de hifas o pseudohifas (Figura 1). Estos resultados fueron analizados en el software bioMérieux, indicando el 98% de identificación en *Candida krusei/inconspicua* en la cepa de levadura analizada.

Curva de crecimiento microbiano del cultivo iniciador

La curva de crecimiento microbiano por Log UFC mL⁻¹ (Tabla 1) presentó fase exponencial desde las 0 (0,22

Tabla 1. Datos de la curva de crecimiento microbiano.

Tiempo (h)	Log UFC ml-1	Absorbancia (nm)
0	5,80±0,10	0,22±0,06
2	6,71± 0,12	0,24±0,04
4	6,87±0,16	0,26±0,03
6	6,72±0,25	0,26±0,03
8	6,72±0,11	0,26±0,03
10	6,63±0,04	0,28±0,04
12	6,66±0,16	0,31±0,04
24	6,65±0,21	1,18±0,01
28	6,65±0,16	1,19±0,01
32	6,70±0,08	1,21±0,00
36	6,69±0,06	1,26±0,02
48	6,47±0,03	1,32±0,01

nm ± 0,06) a las 4 horas (6,87 Log UFC ml-1 ± 0,16), fase estacionaria desde las 4 a las 5 horas (6,69 Log UFC ml-1 ± 0,06) y finalizada con la fase de senescencia desde las cinco a las seis horas (6,47 Log UFC ml-1 ± 0,03).

La curva de crecimiento microbiano por absorbancia (Tabla 1) presento fase de latencia desde las 0 (0,22 nm ± 0,06) a las 12 horas (0,31 nm ± 0,04), fase exponencial que va desde la 12 a las 24 horas (1,18 nm ± 0,01) y finalmente obtuvo la fase estacionaria que va 24 a las 36 horas (1,32 nm ± 0,01).

Grado de madurez de los granos

El valor medio de las ocho muestras de colorimetría fue localizado en 21,57 ± 8,36 en la luminosidad, 14,51 ± 5,87 en la coordenada del rojo al verde, 5,66 ± 2,96 en la coordenada del azul al amarillo, 18,54 ± 8,22 en tono y 15,62 ± 6,45 de saturación, las coordenadas fueron analizadas en el software x Rite Master. Proporcionando un color rojo oscuro.

Análisis de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del café fermentado

La densidad poblacional de la cepa de levadura presento diferencias estadísticas entre el inicio y final de la fermentación (Figura 2). Se puede observar un aumento de la población de la levadura al final de la fermentación. Los parámetros fisicoquímicos de pH y sólidos solubles no presentaron diferencias estadísticas al ser comparados entre tratamientos (Figura.3 y Figura.4). Sin embargo, el pH presento diferencias estadísticas dentro de cada tratamiento al inicio y final de la fermentación (Figura.3 y Figura.4), y en los sólidos solubles solo pre-

sentaron diferencia estadística en el tratamiento control. Los parámetros fisicoquímicos presentaron comportamiento decreciente en todos tratamientos.

Análisis sensorial

El tratamiento inoculado presento puntaje de 84,75, con descriptores sensoriales de fragancia/aroma a dulce aromático, especiado, cítrico, herbal, chocolate; sabor dulce tenso pronunciado agradable; acidez media; cuerpo medio. El tratamiento control presento puntaje de 84,00 con descriptores sensoriales de fragancia/aroma dulce cítrico, furtos rojos, frutos amarillos, herbal; sabor dulce maderoso, astringente desagradable; acidez media; cuerpo medio.

Las puntuaciones de los atributos fragancia/aroma, sabor, sabor residual, acidez, cuerpo, uniformidad balance, limpieza de taza, dulzor y valoración final de catador no presentaron diferencias en las puntuaciones entre los dos tratamientos.

Discusión

La madurez del grano de café influye en los compuestos nutricionales del fruto (Sacarosa, fructosa, glucosa, proteínas, etc), además de modificar características sensoriales, por ello es importante conocer la madurez de los granos (Toledo *et al.*, 2016; Velásquez *et al.*, 2019).

Varias investigaciones han sido implementadas para conocer el estado de madurez de los granos de café, asociando la madurez con el color del epicarpio del fruto (Carvajal *et al.*, 2011; Juárez *et al.*, 2018; Peñuela-Martínez *et al.*, 2022; Osorio *et al.*, 2023). Las medicio-

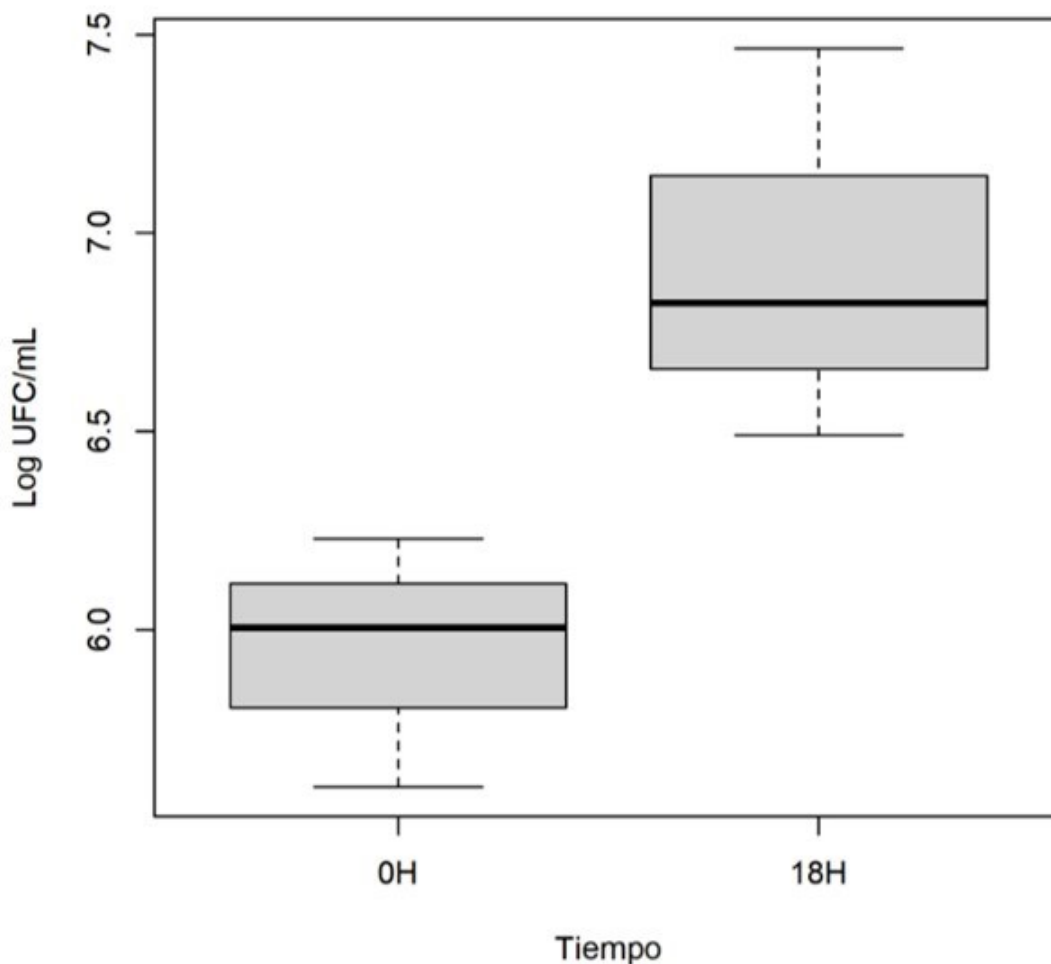


Figura 2. Gráfico de cajas de la densidad poblacional de la levadura al inicio y final de la fermentación; Suma de los cuadrados = 1,446; media de los cuadrados = 1,446; valor de F = 8,336; $p > 0,0477$.

nes son tomadas con base a las coordenadas CILAB compuestas por Luminosidad (L^*), coordenada del verde al rojo (a^*), coordenada de azul al amarillo (b^*), tono (h^*) y saturación (c^*). Las coordenadas hacen referencia a un color específico, correlacionándolo con la madurez del grano. Esta correlación es ampliamente usada por los caficultores como criterio empírico, siendo clave para identificar los granos maduros y mantener la calidad de la bebida de café (Peñuela-Martínez *et al.*, 2022).

De acuerdo con Carvajal *et al.*, (2011), Juárez *et al.* (2018) y Peñuela-Martínez *et al.* (2022), el grano procesado presentó estado de maduro y sobre maduro. En este estado el grano de café puede presentar un porcentaje de mucilago del 23%, aunque el porcentaje de mucilago puede disminuir al ser despulpado pasando al 17,7% (Puerta, 2013). El mucilago está compuesto por carbohidratos, pectinas, proteínas,

lípidos, sales minerales, ácidos y alcoholes (Gonzalez-Rios *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2023).

Los carbohidratos son compuestos importantes en el proceso de fermentación debido a que estos son metabolizados por los microorganismos presentes, siendo transformados en ácidos orgánicos, alcoholes y agua (Puerta, 2013; Evangelista *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2023). El carbohidrato con mayor concentración en el fruto de café es la sacarosa. La sacarosa se encuentra en niveles de 92,34 al 86,09%; sin embargo, a medida que el fruto avanza en los estados de madurez la sacarosa va siendo metabolizada en fructosa y glucosa (Osorio *et al.*, 2023) por el fruto. Los niveles de fructosa en los frutos maduros y sobre maduros puede estar en el rango de 0,45 a 0,62% y la glucosa puede estar alrededor del 0,49% (Osorio *et al.*, 2023).

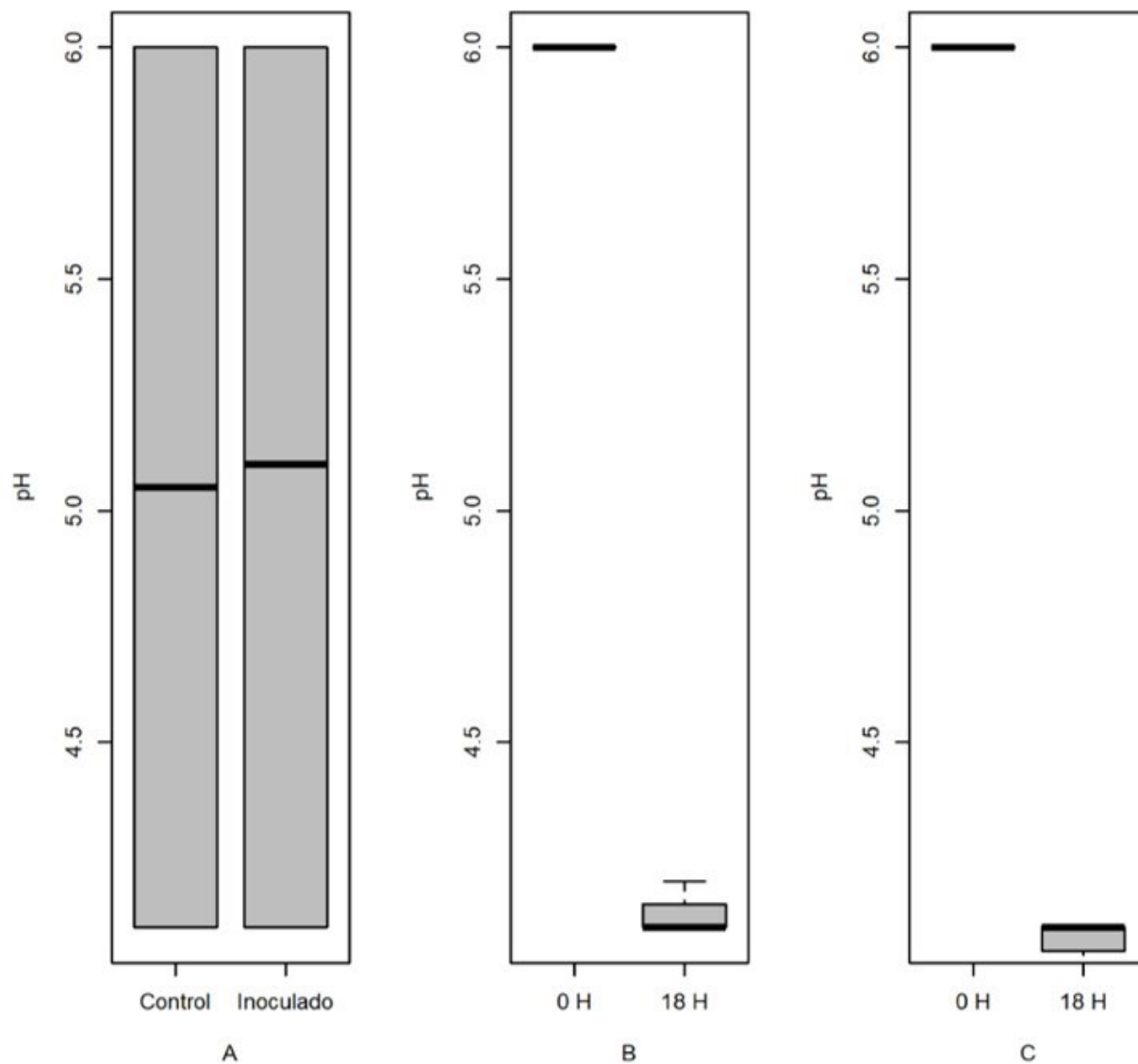


Figura 3. Gráfico de cajas para pH; A. Tratamientos: Suma de los cuadrados = 0,001, media de los cuadrados < 0,000, valor de $F = 0,001$, $p = 0,978$; B. Inoculado: Tratamientos: Suma de los cuadrados = 5,227, media de los cuadrados = 5,227, valor de $F = 3136$, $p > 0,05$; C. Control: Tratamientos: Suma de los cuadrados = 5,067, media de los cuadrados = 5,607, valor de $F = 3364$, $p > 0,05$.

La disminución de los sólidos solubles y pH durante la fermentación, están asociados a la metabolización de los carbohidratos por parte de los microorganismos, como se había expuesto anteriormente (Schwan *et al.*, 2012; Evangelista *et al.*, 2014; Evangelista *et al.*, 2014b). La metabolización de carbohidratos conlleva a la acidificación del medio de fermentación, siendo de gran ayuda para la disminución de los microorganismos actuales, debido a que algunos microorganismos no crecen en medios ácidos (Schwan and Wheals, 2003; Schwan *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2021), siendo importante co-

nocer y estudiar los grupos de microorganismos actuales en la fermentación.

Existen diferentes investigaciones informando los microorganismos relativamente encontrados durante la fermentación, así como sus aislamientos para ser usados como culturas iniciadoras (Evangelista *et al.*, 2014; Elhalis *et al.*, 2020; Bresnani *et al.*, 2021a; Jimenez *et al.*, 2023).

El uso de cultivos iniciadores disminuye el tiempo de fermentación, modula los compuestos metabólicos, inhi-

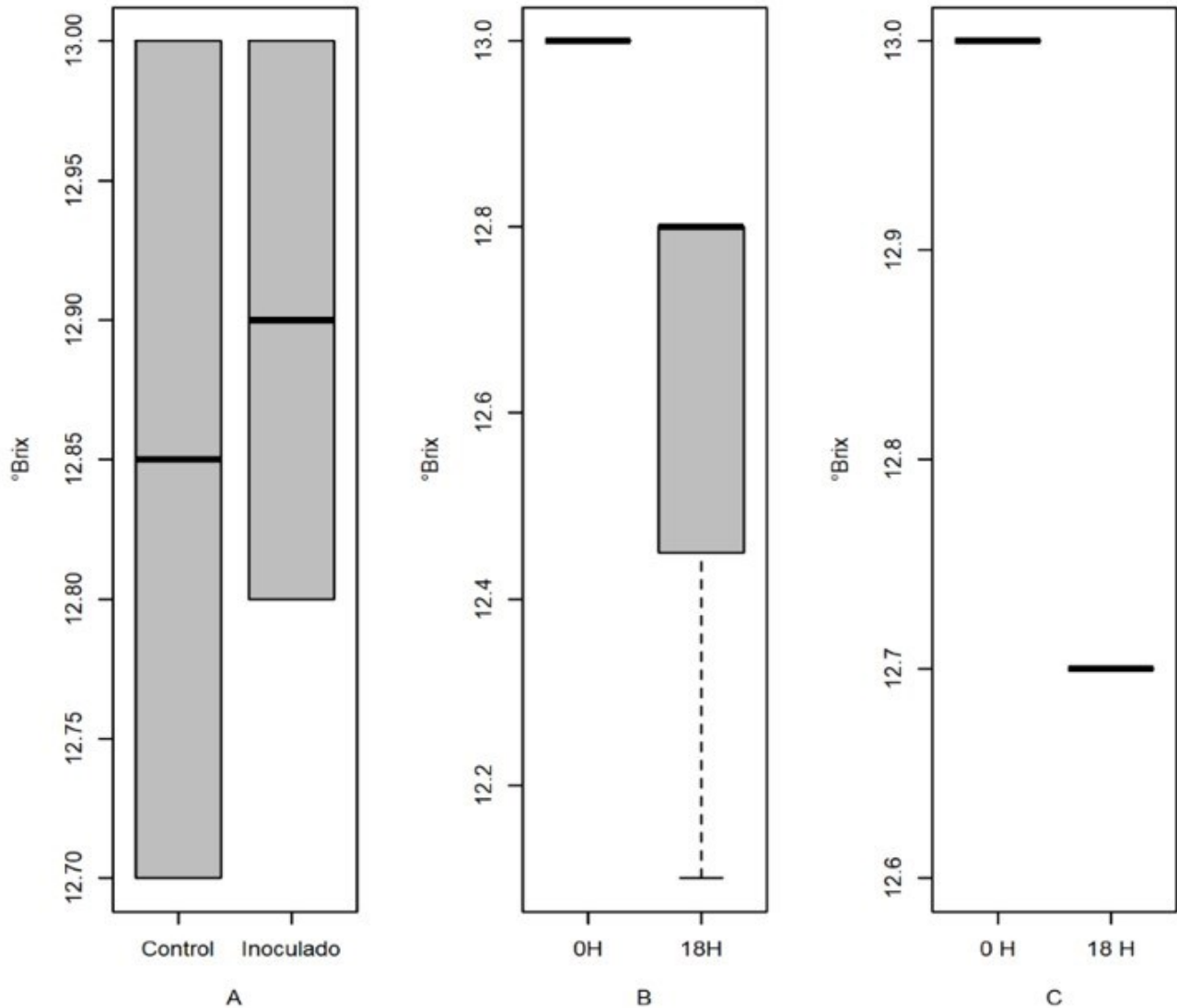


Figura 4. Gráfico de cajas para sólidos solubles; A. Tratamientos: Suma de los cuadrados = 0,013, media de los cuadrados < 0,013, valor de $F = 0,179$, $p = 0,681$; B. Inoculado: Tratamientos: Suma de los cuadrados = 0,281, media de los cuadrados = 0,281, valor de $F = 3,449$, $p = 0,137$; C. Control: Tratamientos: Suma de los cuadrados = 0,135, media de los cuadrados = 0,135, valor de $F = 3.2 \times 10^{27}$, $p > 0,05$.

biendo microorganismos patogénicos y aporta beneficios sensoriales, por lo anterior usamos la levadura L-CPA-1 aislada de una fica localizada en el municipio de Palestina Huila, del café de variedad caturra durante la fermentación húmeda.

De acuerdo con la Prueba Api® 20 C AUX la levadura L-CPA-1 fue identificada como *Candida krusei/inconspicua* con porcentaje de identificación de 98% de confiabilidad. La levadura *Candida.spp* se considera una levadura oportunista generando riesgos para la salud de algunos seres vivos (de Melo Pereira *et al.*, 2022; Fernández-

Manteca *et al.*, 2023), sin embargo se ha identificado el uso de este tipo de levaduras en diferentes procesos de fermentación, como fermentación de vino, cacao, vegetales, cerveza, y carne (Zohre and Erten, 2002; de Melo Pereira *et al.*, 2022; Jimenez *et al.*, 2023) generando beneficios, como mejoras en las características sensoriales en cada uno de los alimentos testados sin afectar la salud pública o ser riesgo humano. Así también Silva *et al* (2013) y de Melo Pereira *et al* (2022) informan que *Candida.spp* presenta actividad pectinolítica, siendo beneficioso para el proceso de fermentación del café debido a

la presencia de pectinas en el mucilago de café y ayudando a su degradación.

El uso de diferentes microorganismos como cultivos iniciadores ha sido ampliamente estudiado debido a la actividad pectinolíticas y aportando beneficios sensoriales durante su uso en la fermentación del café (Silva *et al.*, 2013; Bressani *et al.*, 2021c; de Melo Pereira *et al.*, 2022; Jimenez *et al.*, 2023). Esto explica las mejoras obtenidas durante el uso de la Levadura *Candida krusei/inconspicu* en el proceso de fermentación, siendo esta la única investigación al usar este tipo de especie durante la fermentación del café, existiendo fermentación del café con *Candida parapsilosis* CCMA 0544 (Bressani *et al.*, 2021a, 2021b; Jimenez *et al.*, 2023), presentado beneficios en características sensoriales de la bebida de café al usar este tipo de cepa como cultivo iniciador durante el proceso de fermentación. El uso de la cepa *Candida krusei/inconspicua* genero aumento en la puntuación final de la bebida, y los descriptores sensoriales caracterizándose por ser más dulce y agradable en comparación con el tratamiento control; sin embargo, no se presentó diferencias en las puntuaciones de cuerpo, sabor residual, balance, taza limpia, dulzor, uniformidad. En general el aumento de la puntuación final de acuerdo con la SCA y el aporte de descriptores sensoriales positivos es un gran avance por el uso de *Candida krusei/inconspicua* como cultivo iniciador en la fermentación del café. Por otro lado, estos datos reafirman que el uso de culturas iniciadoras modifica las características del perfil sensorial, debido a que el tiempo de fermentación de los dos tratamientos fue el mismo, pero el tratamiento inoculado con *Candida krusei/inconspicua* presentó mejor perfil sensorial, convirtiéndola en un microorganismo potencial para el uso de la fermentación del café castillo, aumentando así la probabilidad de obtener café especial de acuerdo con la SCA, si se realiza un buen proceso fermentativo.

CONCLUSIÓN

El uso de *Candida krusei/inconspicua* como cultivo iniciador genero aporte significativo en la puntuación final de acuerdo con la SCA, además de generar características dulces y agradables en la bebida de café, concluyendo que la cepa inoculada puede aportar beneficios al ser usada no proceso de fermentación húmeda del café.

Agradecimientos

A CESURCAFÉ centro de investigación en café, Vicerrectoría de investigación y proyecto social, laboratorio de microbiología de Alimentos y Biología molecular de la Universidad Surcolombiana. Proyecto financiado por la convocatoria N°PSEM01.

Participación de autores

MAPT toma y análisis de datos, CMAC formulación de la propuesta, supervisión experimental y financiera del proyecto, MAPT y CMAC redacción del documento.

BIBLIOGRAFÍA

- BioMérieux. (2010). *Api® 20 C AUX*. Available at: https://www.mediray.co.nz/media/15815/om_biomerieux_test-kits_package_insert-20210.pdf (Accessed: 16 January 2024).
- Bressani APP, Martinez SJ, Evangelista SR, Dias DR, Schwan RF. (2018). Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. *LWT*. 92. pp. 212–219. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.029>.
- Bressani, APP, Batista, NN, Ferreira G, Martinez SJ, Simão JBP, Dias DR, Schwan. (2021a). Characterization of bioactive, chemical, and sensory compounds from fermented coffees with different yeasts species. *Food Research International*. 150. p. 110755. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110755>.
- Bressani, APP, Martinez S.J, Batista NN, Simão JBP, Dias DR, Schwan RF. (2021b). Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee. *Food Chemistry*. 361(2020). p. 130133. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130133>.
- Bressani APP, Martinez SJ, Sarmiento ABI, Borém FM, Schwan. (2021c). Influence of yeast inoculation on the quality of fermented coffee (*Coffea arabica* var. Mundo Novo) processed by natural and pulped natural processes', *International Journal of Food Microbiology*, 343, p. 109107. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2021.109107>.
- Carvajal, J. (2011). Colorimetría del Fruto de Café (*Coffea arabica* L.) Durante su Desarrollo y Maduración, *Revista Facultad Nacional Agronomía- Medellín*, 64(2), pp. 6229–6240. Available at: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472011000200020&script=sci_arttext (Accessed: 16 January 2024)
- Ferreira CJ.L, de Souza Gomez M, De oliveira LM, Santos DL. (2023). Coffee fermentation process: A review. *Food Research International*. Elsevier Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112793>.
- Cortés-Macías ET, López CF, Gentile P, Girón-Hernández J, López AF. (2022). Impact of post-harvest treatments on physicochemical and sensory characteristics of coffee beans in Huila. Colombia. *Postharvest Biology and Technology*. 187. p. 111852.

- Available at: <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2022.111852>.
- Elhalis H, Cox J, Frank D, Zhao J. (2020). The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. *International Journal of Food Microbiology*. 333. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108796>.
- Elhalis H, Cox J, Frank D, Zhao J. (2021a). Microbiological and biochemical performances of six yeast species as potential starter cultures for wet fermentation of coffee beans. *LWT*. 137. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110430>.
- Elhalis H, Cox J, Frank D, Zhao J. (2021b). Microbiological and Chemical Characteristics of Wet Coffee Fermentation Inoculated With *Hansinasporea uvarum* and *Pichia kudriavzevii* and Their Impact on Coffee Sensory Quality. *Frontiers in Microbiology*. 12. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.713969>.
- Elhalis H, Cox J, Frank D, Zhao J. (2021c). The role of wet fermentation in enhancing coffee flavor, aroma and sensory quality. *European Food Research and Technology*. 247(2). pp. 485–498. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03641-6>.
- Evangelista SR, Silva CF, da Cruz Miguel MGP, de Souza Cordeiro C, Pinheiro ACM, Duarte WF, Schwan RF. (2014). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*. 61. pp. 183–195. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.033>.
- Evangelista SR, Silva CF, da Cruz Miguel MGP, de Souza Cordeiro C, Pinheiro ACM, Schwan RF. (2014b). Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. *Food Microbiology*. 44. pp. 87–95. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.013>.
- Evangelista SR, Silva CF, da Cruz Miguel MGP, de Souza Cordeiro C, Pinheiro ACM, Schwan RF. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 210. pp. 102–112. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008>.
- Fernández-Manteca MG, Ocampo-Sosa AA, da Alegría-Puig CR, Roiz MP, Rodríguez-Grande J, Madrazo F, Calvo J, Rodríguez-Cabo L, López-Higuera JM, Fariñas MC, Cobo A. (2023). Automatic classification of *Candida* species using Raman spectroscopy and machine learning. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 290, p. 122270. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2022.122270>.
- FNC. (2023). Federación Nacional de Cafeteros. *informe del gerente 2023*. Available at: <https://federaciondecafeteros.org/> (Accessed: 13 January 2024).
- Gonzalez-Rios O, Suarez-Quiroz ML, Boulanger R, Barel M, Guyot B, Guiraud JP, Schorr-Galindo. (2007). Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20(3–4). pp. 297–307. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.12.004>.
- Gutiérrez, N. et al., (2020) *Análisis de stakeholders y mapeos de cadenas de valor del café en Colombia*. Primera edición. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.21256/zhaw-21732>.
- Haile M, and Kang, WH. (2019). The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. *Journal of Food Quality*. Hindawi Limited. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/4836709>.
- Hall RD, Trevisan F, de Vos RCH. (2022). Coffee berry and green bean chemistry – Opportunities for improving cup quality and crop circularity. *Food Research International*. 151. p. 110825. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110825>.
- Huch M, and Franz CMAP. (2014). Coffee: Fermentation and microbiota. in *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality. Technologies and Health Benefits*. Elsevier Inc. pp. 501–513. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00021-9>.
- Jacobi j, Lara D, Opitz S, Castelberg S, Urioste S, Irazoque A, Castro D, Wildisen E, Gutierrez N, Yeretizian C. (2024). Making specialty coffee and coffee-cherry value chains work for family farmers. livelihoods: A participatory action research approach. *World Development Perspectives*. 33. p. 100551. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.WDP.2023.100551>.
- Jimenez EJM, Martins PMM, de Oliveira Vilela AL, Batista NN, da Rosa SDVF, Dias DR, Schwan. (2023). Influence of anaerobic fermentation and yeast inoculation on the viability, chemical composition, and quality of coffee. *Food Bioscience*. 51. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102218>.
- Juárez AB, Debernardi-De la Vequia, Quevedo-Nolasco A, Malagón-González F, Morales-Ramos V. (2018). Características físicas del fruto de café (*Coffea arabica* L.) en híbridos de timor. *Agroproductividad*. 11(3). pp. 115–120. Available at: <http://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/226/169>.
- Ladino-Garzon WL, Barrios-Rodríguez YF, Amorochocruz CM. (2024). Inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* with sugar cane juice as a starter culture in coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 28(1). Available

- ble at: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/AGRIAMBI.V28N1E272094>.
- Lee LW, Tay GY, Cheong MW, Curran P, Yu B, Liu SQ. (2017). Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica*: I. Green coffee. *LWT - Food Science and Technology*. 77. pp. 225–232. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.047>.
- Martins PMM, Ribeiro LS, da Cruz Pedrozo Miguel MG, Evangelista SR, Schwan RF. (2019). Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99(13). pp. 5638–5645. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9820>.
- Martins PMM, Batista NN, da Cruz Pedrozo Miguel MG, Simão JBP, Soares JR, Schwan RF. (2020). Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. *Food Research International*. 129. p. 108872. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108872>.
- de Melo Pereira GV, Maske BL, de Carvalho Neto DP, Karp SG, de Dea Lindner J, Mertin JGP, de Oliveira Hosken B, Socol CR. (2022). What Is Candida Doing in My Food? A Review and Safety Alert on Its Use as Starter Cultures in Fermented Foods. *Microorganisms* 2022. Vol. 10. Page 1855. 10(9). p. 1855. Available at: <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10091855>.
- da Mota MCB, Batista NN, Rabelo MHS, Ribeiro DE, Borém FM, Schwan RF. (2020). Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. *Food Research International*. 136. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109482>.
- da Mota MCB, Batista NN, Dia DR, Schwan RF. (2022). Impact of microbial self-induced anaerobiosis fermentation (SIAF) on coffee quality. *Food Bioscience*. 47. p. 101640. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101640>.
- Osorio V, Pabón J, Gallego, C.P. (2023). Calidad del café a partir de frutos con diferentes estados de madurez. *Avances Técnicos Cenicafé*. 556, pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.38141/10779/0556>.
- Peñuela-Martínez AE, Guerrero Á, Sanz-Urbe JR. (2022). Cromacafé® Herramienta para identificar los estados de madurez de las variedades de café de fruto rojo. *Avances Técnicos Cenicafé*. 535, pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.38141/10779/0535>.
- Pereira VP, da Silveira DL, Schwan RF, de Assis Silva S, Coelho JM, Bernardes PC. (2021). Effect of altitude and terrain aspect on the chemical composition of *Coffea canephora* cherries and sensory characteristics of the beverage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 101(6), pp. 2570–2575. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10885>.
- Puerta GI. (2013). Factores, procesos y controles en la fermentación del café. Available at: <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/327/1/avt0422.pdf>.
- Ramos DMB, Silva CF, Batista LR, Schwan RF. (2010). *In vitro* inhibition of toxigenic filamentous fungi by *Pichia* sp. and *Debaryomyces* sp. isolates from coffee (*Coffea arabica*) fruits. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 32(3), pp. 397–402. Available at: <https://doi.org/10.4025/ACTASCIAGRON.V32I3.3361>.
- Ribeiro DE, Borém FM, Nunes CA, de Carvalho Alves AP, dos Santos CM, da Silva Taveira JH, de Carvalho Dias Laryanne. (2018). Profile of organic acids and bioactive compounds in the sensory quality discrimination of arabica coffee. *Coffee Science*, 13(2), p. 187. Available at: <https://doi.org/10.25186/cs.v13i2.1415>.
- Ribeiro LS, da Cruz Pedrozo Miguel MG, Martinez SJ, Bressani APP, Evangelista SR, Silva CF, Schwan RF. (2020). The use of mesophilic and lactic acid bacteria strains as starter cultures for improvement of coffee beans wet fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 36(12). p. 186. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02963-7>.
- SCAA. (2015). SCAA Protocols Cupping Specialty Coffee. *Specialty Coffee Association of America*. pp. 1–10. Available at: <http://www.scaa.org/?page=resources&d=coffee-protocols>.
- Schwan RF, Silva CF, Batista LR. (2012). Coffee Fermentation. in *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology. Second Edition*. CRC Press. pp. 677–690. Available at: <https://doi.org/10.1201/b12055-49>.
- Schwan RF, Bressani APP, Martinez SJ, Batista NN, Dias DR. (2023). The essential role of spontaneous and starter yeasts in cocoa and coffee fermentation. *FEMS Yeast Research*. 23. pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1093/FEMSYR/FOAD019>.
- Schwan R.F, and Wheals AE. (2003). Mixed microbial fermentations of chocolate and coffee. in *Yeasts in Food*. Elsevier, pp. 429–449. Available at: <https://doi.org/10.1533/9781845698485.429>.
- Silva CF, Schwan RF, Dias ES, Wheals AE. (2000) Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*. 60(2–3). pp. 251–260. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00315-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00315-9).
- Silva CF, Vilela DM, de Souza Cordeiro C, Duarte WF, Dias DR, Schwan RF. (2013). Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. *World Journal of Microbiology and Bio-*

- technology*, 29(2), pp. 235–247. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1175-2>.
- Simões LA, de Souza AC, Ferreira I, Melo DS, Lopes LAA, Magnani M, Shwan RF, Dias DR. (2021). Probiotic properties of yeasts isolated from Brazilian fermented table olives. *Journal of Applied Microbiology*. 131(4). pp. 1983–1997. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.15065>.
- Souza ML, Passamani FRF, da Silva Ávila CL, Batista LR, Schwan RF, Silva CF. (2017). Use of wild yeasts as a biocontrol agent against toxigenic fungi and OTA production. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 39(3), pp. 349–358. Available at: <https://doi.org/10.4025/ACTASCIAGRON.V39I3.32659>.
- Toledo PRAB, Pezza L, Pezza HR, Toci T. (2016). Relationship Between the Different Aspects Related to Coffee Quality and Their Volatile Compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15(4), pp. 705–719. Available at: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12205>.
- Velásquez S, Peña N, Bohórquez JC, Gutierrez N, Sacks GL. (2019). Volatile and sensory characterization of roast coffees – Effects of cherry maturity. *Food Chemistry*. 274. pp. 137–145. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.08.127>.
- Worku M, Meulenaer B, Duchateau L, Boeckx P. (2018). Effect of altitude on biochemical composition and quality of green arabica coffee beans can be affected by shade and postharvest processing method. *Food Research International*. 105. pp. 278–285. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.016>.
- Zohre DE. and Erten H. (2002). The influence of *Kloeckera apiculata* and *Candida pulcherrima* yeasts on wine fermentation. *Process Biochemistry*. 38(3). pp. 319–324. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00086-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00086-9).