
Aislamiento de microorganismos con capacidades fermentativas lácticas de la fruta del café (*Coffea arabica* L.) y prueba piloto del proceso de fermentación

Javier Armando Rodríguez Carrera



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Aislamiento de microorganismos con capacidades fermentativas lácticas de la fruta del café (*Coffea arabica* L.) y prueba piloto del proceso de fermentación

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Javier Armando Rodríguez Carrera
para optar al grado académico de Licenciado en Biología

Guatemala,
2020

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

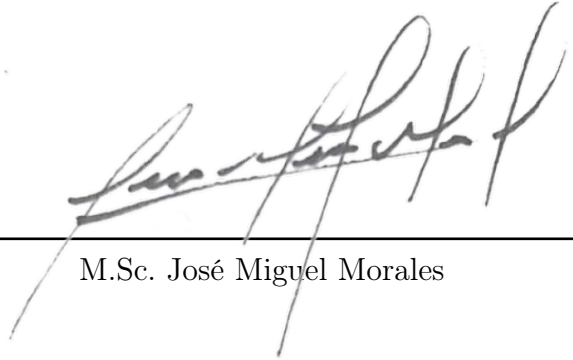


**Aislamiento de microorganismos con capacidades
fermentativas lácticas de la fruta del café (*Coffea
arabica* L.) y prueba piloto del proceso de
fermentación**

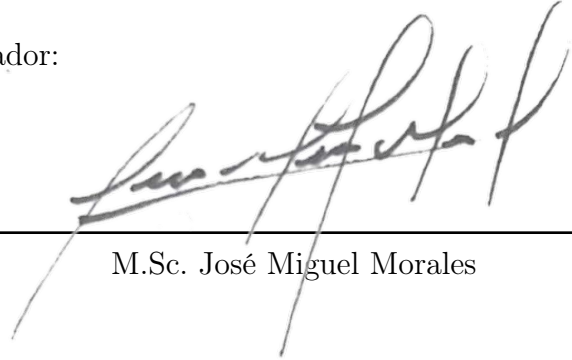
Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Javier Armando Rodríguez Carrera
para optar al grado académico de Licenciado en Biología

Guatemala,
2020

Vo.Bo.:

(f) 
M.Sc. José Miguel Morales

Tribunal Examinador:

(f) 
M.Sc. José Miguel Morales

(f) 
M.Sc. Gabriela Alfaro Marroquín

(f) 
Ph. D. Krisztina Ríos-Gonzales

Fecha de aprobación: Guatemala, 10 de diciembre, 2020.

Este trabajo es una acumulación de largas horas de investigación, viajes en carretera llenos de música y un amor por la ciencia tan profundo que me llevo a moverme de mi casa en medio de una pandemia global y varias huracanes. Primero, quiero agradecer a Luis García por darme todos los recursos y tener la confianza necesaria en mí para dejarme realizar el experimento en su finca. Quiero agradecerle a la Universidad del Valle de Guatemala, que me acogió y me cuidó por cinco largos años de mi vida a mi departamento, que es un gran lugar donde personas de todos ámbitos se juntan con una meta en común, el estudiar y entender la vida. A mi directora de carrera Gaby, que me ha apoyado desde que realice mi cambio de carrera y que me ayudó a decidirme que debía realizar esta investigación. Al personal administrativo y de bodega de mi departamento, que siempre estuvieron ahí para mí aunque me quedara hasta las 9 de la noche trabajando en los laboratorios. A mi asesor, Miguel, al quien lo quiero de todo corazón como catedrático, compañero, amigo y jefe. Le agradezco por las horas invertidas en mí debatiendo sobre mi tesis, mis proyectos, nuestras prácticas de laboratorio y el contenido de las clases que impartimos. A todos mis catedráticos, que siempre creyeron en mí. A mis amistades que obtuve en los años universitarios, que me apoyaron a lo largo de mi carrera aguantando todo lo que salía de mi boca estando conmigo en las buenas y en las malas. A mis amigos del alma, los cuales no mencionare porque son muchos, que me ayudaron a mantenerme cuerdo y salir adelante estos últimos meses. Por último, pero no menos importante, a mi familia. Daniela, Patty, Armando y el pequeño Archibaldo, que con su amor y comprensión me apoyaron económica y emocionalmente a lo largo de mi desarrollo académico. Les deseo lo mejor por siempre y espero lo que han hecho por mí se los pueda pagar algún día.

Prefacio	v
Lista de figuras	VIII
Lista de cuadros	IX
Resumen	X
Abstract	XI
1. Introducción	1
2. Marco teórico	2
2.1. Industria de caficultura	2
2.1.1. Cosecha	2
2.1.2. Fermentación del café	4
2.1.3. Tostado del grano de café	4
2.1.4. Cata del café	5
2.2. Fermentación del café	6
2.2.1. Resumen de la fermentación	6
2.3. Microbiología del café	7
2.4. Fermentación controlada del café	7
2.4.1. En el mundo	7
2.4.2. En latinoamérica	8
3. Justificación	9
4. Alcance	10
5. Objetivos	11
5.1. Objetivo general	11
5.2. Objetivos específicos	11
6. Metodología	12
6.1. Aislamientos de microbiota	12
6.1.1. Selección de frutos de café	12
6.1.2. Desinfección de los frutos	12
6.1.3. Introducción en medio selectivo	12

6.2. Caracterización de microorganismos	13
6.2.1. Tinción de Gram	13
6.3. Pruebas piloto de fermentación	13
6.3.1. Creación en los biorreactores	13
6.3.2. Crecimiento de un inóculo	13
6.3.3. Selección de biorreactores	13
6.3.4. Cata del café	14
7. Resultados	15
7.1. Aislamiento inicial de bacterias	15
7.2. Crecimiento del inóculo	15
7.3. Fermentaciones en tanque pequeño	19
7.4. Fermentaciones en tanque grande	21
7.5. Confirmación de bacterias	23
7.6. Cata del café	23
8. Discusión	26
8.1. Aislamientos e inóculos de microbiota de café	26
8.2. Pruebas piloto de fermentaciones de café	27
8.3. Bacterias aisladas	27
8.4. Cata del café	28
9. Conclusiones	29
10.Recomendaciones	30
11.Referencias	31
12.Anexos	35
A. Catas de café 2020	35

Lista de figuras

2.1. Corte transversal de la fruta del café	3
2.2. Procesamiento tradicional del cultivo de café en haciendas	3
2.3. Resumen del proceso completo de la fermentación	4
2.4. Araña de cata del café	5
2.5. Rubros evaluados en la cata	6
7.1. Evolución del aislamiento inicial	16
7.2. Crecimiento del inóculo a partir de un aislamiento	16
7.3. Biorreactores tamaño grande	17
7.4. Biorreactores tamaño pequeño	18
7.5. Fermentaciones de L001 a L006 en biorreactores pequeños	19
7.6. Resultado de una fermentación en tanque grande	21
7.7. Resultado de una fermentación en tanque grande	23

Lista de cuadros

7.1. Medidas cualitativas del proceso de fermentación	19
7.2. Resumen de la fermentación en tanques pequeños	20
7.3. Resumen de la fermentación en tanques grandes	22
7.4. Cata del café año 2019-2020	24
7.5. Cata del café por variedades 2020	24
7.6. Análisis costo beneficio diciembre 2020	25

La fermentación del café es un proceso tradicional que es realizado a lo largo de los países cafetaleros de manera artesanal sin controles. En los últimos años se han reportado estudios de fermentaciones controladas que demuestran un incremento en el sabor y aroma del café en taza. Para mejorar el café en una finca de mediano tamaño en La Unión, Zacapa se aíslan bacterias con capacidades fermentativas lácticas utilizando un medio selectivo y el mismo café como fuente de microbiota y carbono. Se utilizan frascos de vidrio para el aislamiento y luego se toma el crecimiento bacteriano para realizar una prueba piloto de fermentación en reactores creados específicamente para este propósito. La fermentación con el inóculo dura 24 horas y luego pasa por un proceso de despulpado. Estos regresan a los reactores en los cuales pasarán un mínimo de 24 horas y se irán deteniendo en intervalos de 0.20 de pH. Se monitorea el pH, la temperatura, el total de sólidos disueltos y la conductividad eléctrica por toda la duración de la fermentación. La cata de los productos de la fermentación dio como resultados un café de igual calidad que el promedio de mejores cafés del año pasado. El proceso de aislamiento de bacterias fermentativas, inoculación y fermentación hizo que una cosecha temprana de café tuviera los mismos resultados de cata que el café en las mejores épocas. Se recomienda que futuras investigaciones realicen el procedimiento generado en múltiples cosechas y con más variedades.

Coffee fermentation is a traditional process in coffee bearing countries, and it is carried out without any control. Current research is suggesting that coffee fermentation done in controlled environment utilizing microorganisms isolated from the same fruit, yield an increased score in coffee cupping and homogenizes the score throughout the gathering season. This experiment gathered coffee beans from La Union, Zacapa and isolated the microbiota for further testing in a fermentation chamber. The reactors were designed to measure pH levels, temperature, dissolved solids and conductivity while the process was ongoing. Microbiota was isolated using a selective medium with high concentration of salt, grown and inoculated into sterile coffee fruit and left fermenting for 24 hours. After this process, the coffee was depulped and introduced into the same reactors where pH levels were monitored again for another 24 hours. Each fermentation was stopped after the last fermentation process and every successive reactor was stopped at 0.20 pH intervals. Isolation of lactic fermenting bacteria and its subsequent fermentation trials were successful and coffee cupping indicates that the poorer quality coffee of the early gatherings was enhanced and matched the best tasting coffee of previous years. We recommend that further studies focus on the isolation of a species of bacteria and for fermentation trials to continue further into the year.

CAPÍTULO 1

Introducción

El café es la segunda bebida más consumida en el mundo después del agua potable. Es una bebida energizante preparada utilizando una extracción orgánica con agua caliente aplicada a granos tostados la cual contiene cafeína, antioxidantes y algunas vitaminas necesarias para el día a día. La mayoría de las personas toma más de una taza de café diaria y es un producto muy importante para las economías en los trópicos. Se cultiva en mas de 40 países y este conforma una gran parte del PIB de estas naciones. El café en Guatemala es muy importante económica, cultural social y educativamente. Según el Acuerdo Ministerial 606-2018 se ha declarado a los conocimientos tradicionales de la caficultura como un símbolo de identidad guatemalteca. El café guatemalteco destaca por su calidad y su proceso de producción y esto se debe a que posee muchos microclimas creados por las diferentes altitudes que genera nuestra geografía montañosa. La mayoría del café guatemalteco se produce bajo sombra lo cual reduce el impacto ambiental, pero genera una producción mucho mas baja que la que tienen los países que utilizan otras metodologías de cultivo.

Debido a que nuestra producción es menor a la que otros países super productores necesitamos diferenciarnos por nuestra calidad. Esto no ocurre en haciendas familiares o en grandes campos de producción ya que la mayoría del café exportado se vende por el precio en la bolsa y no como café de especialidad. Cambios y controles en los métodos de recolección, limpieza, despulpado y fermentado pueden empezar a mejorar la calidad y puntuación de cata del café guatemalteco.

La fermentación es un punto donde el país no llega a los estándares internacionales. Tradicionalmente se deja al café fermentar en tinajas grandes y abiertas donde cualquier factor ambiental puede modificar el resultado. Tendencias nuevas han impulsado a la industria hacia incorporar el control y el monitoreo de la fermentación en los centros de procesamiento de café. Con esto se quiere mejorar la calidad del café de dos formas, mejorando los protocolos de limpieza del café y controlando el tipo y tiempo de fermentación utilizado con cada variedad de café. Entre estos tipos de fermentación, la fermentación láctica es conocida por ser una de las mejores para mejorar el sabor y aroma del café. Esta puede ser implementada fácilmente y con poca inversión ya que solo se necesita monitorear temperatura, pH y crecimiento de microorganismos a diferencia de otras fermentaciones donde la presión atmosférica dentro de los reactores es importante de monitorear.

Esta investigación es una prueba piloto de aislamiento de microbiota fermentativa láctica de la fruta del café para realizar fermentaciones controladas en biorreactores. Se espera que esta metodología incremente la puntuación de cata de las diferentes variedades utilizadas y que se pueda iniciar muchas mas investigaciones nacionales sobre este tema.

2.1. Industria de caficultura

Coffea arabica L. representa el cultivar de café más utilizado en el mundo. Esta tiene un fruto tipo drupa de color rojo que contiene dos granos cubiertos por tres capas de tejidos (ver Figura 2.1). Es producido para el consumo humano desde el siglo XVII empezando en la península arábiga y expandiendo su producción a todos los trópicos (Lashermes *et al.*, 1999; Schwan *et al.*, 2016). Según la Asociación Nacional del Café [ANACAFÉ] es de los productos agrícolas de exportación más importantes de Guatemala. El país tiene 305 mil hectáreas sembradas de café, lo cual representa el 2.8 por ciento del territorio nacional y se cultiva en 204 de los 340 municipios del país (Anacafé, 2018). Guatemala es el noveno país exportador de café según la organización internacional del café [OIC] el 98 por ciento del café del país se cultiva bajo sombra y el 96.81 por ciento pertenece a pequeños productores familiares (Anacafé, 2019; OIC, 2019).

2.1.1. Cosecha

El inicio de la cosecha de café depende mucho de la altura y el porcentaje de sombra que se tiene sembrado sobre el café, pero en promedio comienza a finales de septiembre (Perfecto *et al.*, 2007). El café tiene cuatro grandes cosechas, siendo la primera la de más bajo rendimiento en términos de calidad y cantidad. Se realiza el trabajo de mañana a tarde con jornaleros que reciben pago por el peso en quintales de cerezas de café cosechadas (Verité, 2011; Wright, 2016). Existen dos grandes métodos de producción, la de haciendas que tienen sus propias vías de despulpado, secado y tostado del café, llamados beneficios y la de pequeños a medianos productores que no poseen estas instalaciones y deben de vender todo lo cosechado rápidamente a un intermediario (Anacafé, 2020; Verité, 2011).

Los beneficios o los intermediarios realizan el proceso de tornar la fruta a una semilla deshidratada lista para la exportación y el tostado. Este proceso pasa por tres fases importantes para obtener un café uniforme y de calidad (Anacafé, 2018). La selección, donde se desechan los granos que no están maduros, los que flotan debido a una densidad baja y los que contienen broca. El despulpado en donde una maquina especifica remueve todo el tejido frutal dejando solo el grano de café con su endocarpo, llamado pergamino en la industria (Muschler, 2001). Luego el café pasa por un proceso opcional de fermentación, que no es nada más que dejar al grano sin monitoreo extendido y expuesto

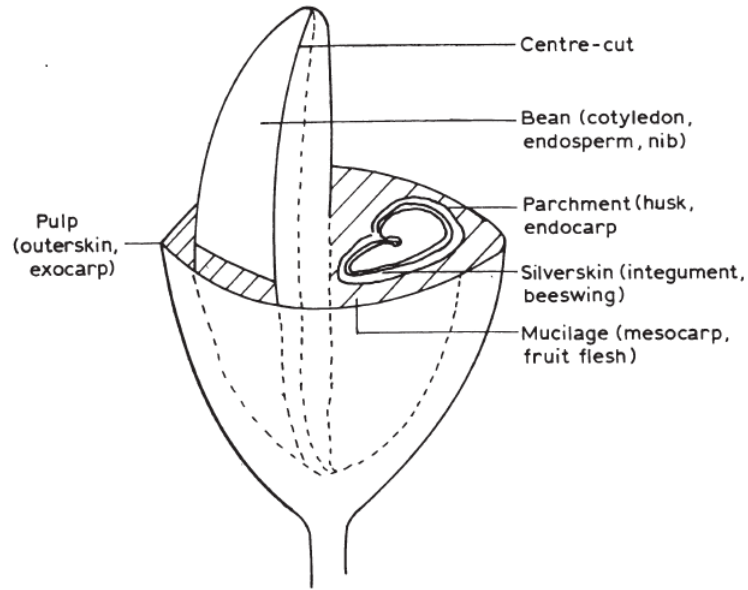


Figura 2.1: Corte transversal de la fruta del café (Arunga, 1992)

a las condiciones ambientales del lugar. El grano pasa a una etapa de secado hasta que puede ser empacado y mandado a tostar. El proceso está brevemente explicado en la Figura 2.2.

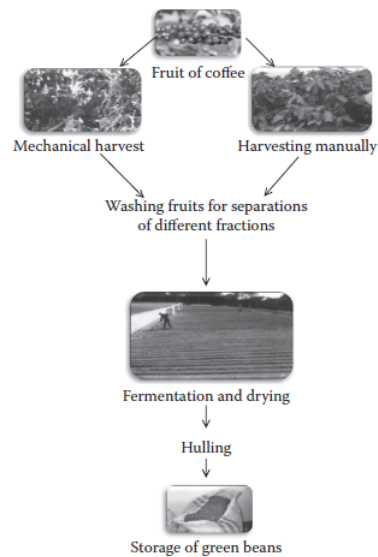


Figura 2.2: Procesamiento tradicional del cultivo de café en haciendas (Schwan *et al.*, 2016)

2.1.2. Fermentación del café

La fermentación y secado del café se divide en dos caminos que sirven para obtener un grano verde. El proceso en húmedo, en donde los granos en pergamino se ponen en tinajas de agua grandes y se dejan de dos a cuatro días para que se remuevan los últimos pedazos de la fruta y el endocarpo remanente. El otro proceso es en seco, donde se obtienen los cafés más duros utilizados para la elaboración de expresos (Lingle, 1993). Ya que estos se ponen a secar de una sola vez bajo el sol o en una secadora al aire libre se va generando una mezcla de los restos de fruta y de endocarpo sobre los granos (Arunga, 1992; Diego *et al.*, 2016) La Figura 2.3 muestra la bifurcación entre ambos procesos después del despulpado. Las dos vías llevan al mismo producto pero el sabor es distintivo para cada uno (Donfrancesco *et al.*, 2014).

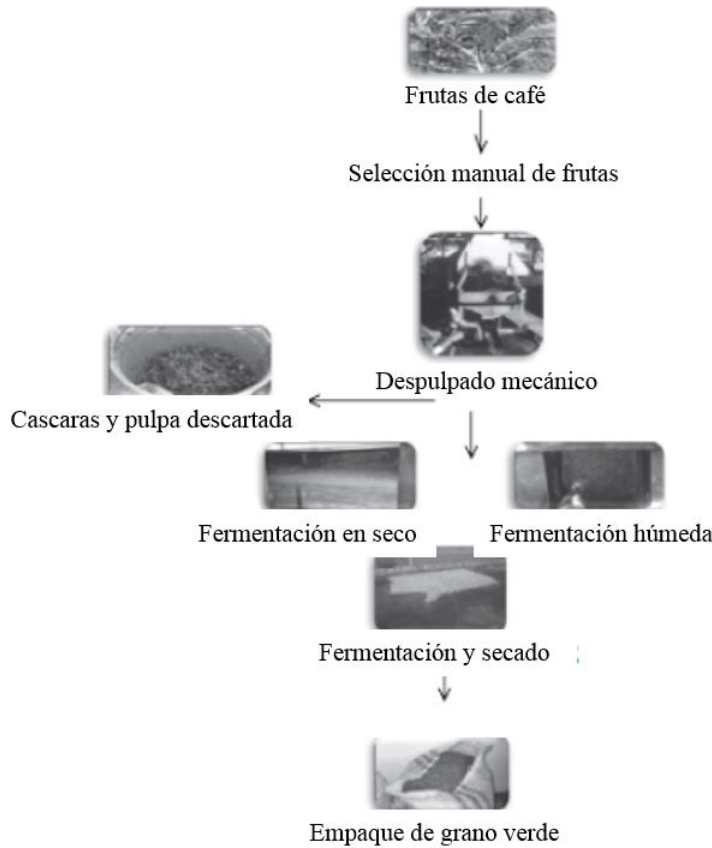


Figura 2.3: Resumen del proceso completo de la fermentación (Schwan *et al.*, 2016)

2.1.3. Tostado del grano de café

El tostado de café se realiza induciendo pirólisis a temperaturas de alrededor de 500 grados Celsius (Baggenstoss *et al.*, 2008). Esto se realiza para liberar aceites y aromáticos derivados de los cambios químicos que propician las altas temperaturas. (Yeretzian *et al.*, 2002). Este proceso torna compuestos orgánicos contenidos en el grano verde a compuestos que podemos reconocer por sabor y olor en una taza de café; siendo el más importante el cafeol. (Donfrancesco *et al.*, 2014). Debido a la naturaleza única del consumo del café, el proceso y los compuestos precursores a cada sabor no están muy estudiados. La mayoría de estudios utilizan cromatografía de Headspace [HSC], para

encontrar como los cambios en el proceso de tostado cambian el sabor del café en taza (Diego *et al.*, 2016).

2.1.4. Cata del café

El último proceso por el cual el café pasa antes de empezar a ser comercializado es la cata. En este proceso un barista profesional utiliza una pequeña muestra del café que se logró obtener de la cosecha y se utilizan parámetros estandarizados para calificar la taza de café (Donfrancesco *et al.*, 2014) Empieza por la fragancia y el aroma del café en bolsa lo cual se puntúa en una escala de cero a diez. Luego se prepara una taza de café utilizando una medida de agua y de café ya predeterminada donde se miden parámetros como sabor, sabor residual, acidez, cuerpo, uniformidad balance y dulzura. Luego se deja que se enfríe el café para lograr medir el puntaje de taza limpia y del puntaje del catador (Manu, 2017). Estos parámetros dependen mucho de las variables climáticas, microbiológicas, técnicas de sembrado, técnicas de tostado y de preparación de la bebida (Selmar *et al.*, 2020; Vaast *et al.*, 2006). Es muy importante utilizar más de un catador para lograr obtener un puntaje más objetivo, por lo cual las catas se realizan en casas de cata grandes que tienen múltiples catadores de una misma muestra (Lingle, 1993) La Figuras 2.4 y 2.5 se muestran los parámetros utilizados por los catadores para registrar sus datos y crear un perfil completo de su bebida. En los últimos años asociaciones de catadores tratan de certificar el análisis sensorial y calibrarlo utilizando muestras conocidas para que su puntaje sea más reconocido (SCAA, 2018).

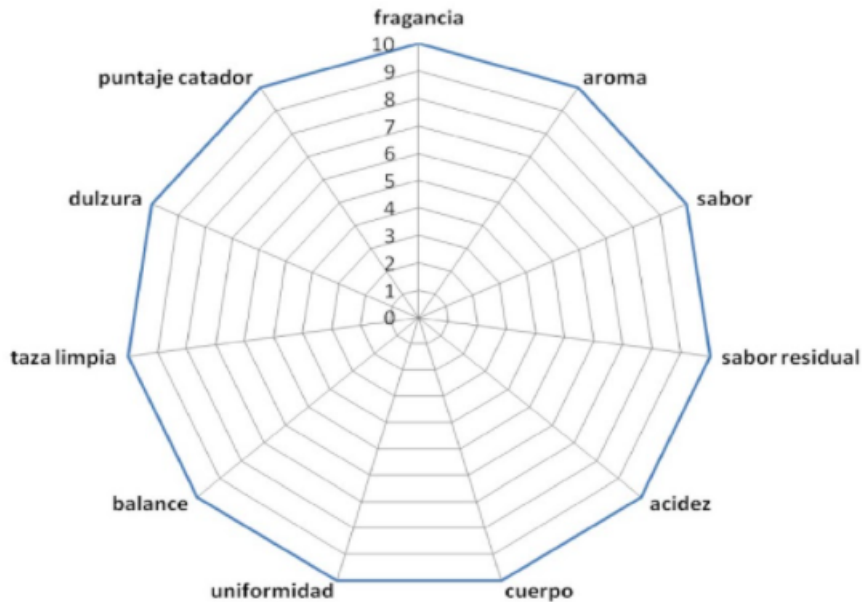


Figura 2.4: Araña de cata del café (SCAA, 2018).



Specialty Coffee Association Arabica Cupping Form

Name: _____

Date: _____

Table no: _____

Quality Scale

6.00 - GOOD	7.00 - VERY GOOD	8.00 - EXCELLENT	9.00 - OUTSTANDING
6.25	7.25	8.25	9.25
6.50	7.50	8.50	9.50
6.75	7.75	8.75	9.75

Sample No.	Roast Level of Sample	Fragrance/Aroma	Flavor	Acidity	Body	Uniformity	Clean Cup	Overall	Total Score
		Dry Qualities Break	Aftertaste Intensity	High Low	Level Heavy Thin	Balance	Sweetness	Defects (subtract)	
								Taint - 2 Fault - 4	# of cups Intensity X =
Notes:									Final Score

Figura 2.5: Rubros evaluados en la cata (SCAA, 2018).

2.2. Fermentación del café

2.2.1. Resumen de la fermentación

En la industria del café la fermentación se realiza tradicionalmente cuando se deja reposar luego de despulpado en un tinaco de agua o bajo el sol en galeras grandes que conservan la humedad (Schwan *et al.*, 2016). No existe ningún control sobre que microorganismos realizan este proceso y operacionalmente solo cumple con el deber de quitar el mucílago restante de los granos de café (Jackels y Jackels, 2005). Estudios en el área han sido lentos debido a que el producto derivado de la fermentación no se consume, pocos completan una fermentación controlada pero de Melo Pereira *et al.* (2014, 2015) encuentran que una fermentación controlada láctica crea precursores de tonos aromáticos luego del tostado del café causando el aumento en la puntuación de cata del café llevando a un alza en el precio (Velmourougane, 2013).

Proceso tradicional

El proceso utilizado a lo largo de Centro América es el de lavado, como se puede ver en la Figura 2.3. Este tipo de café produce bebidas más suaves y ácidas que un proceso semi seco o completamente seco (Kleinwächter y Selmar, 2010) La fermentación en condiciones abiertas es monitoreada por el tacto, se debe de sentir un estado ligoso para que el pergamino se pueda desprender fácilmente del grano (Selmar *et al.*, 2020). Una vez se realiza este paso el café procesado por el método húmedo es mandado a secar y a tostar.

Beneficios de la fermentación

El beneficio más grande de la fermentación natural es el desprendido del mucílago. Esto baja costos operacionales, pero solo puede ser utilizado en regiones donde el agua está disponible durante la cosecha (Silva *et al.*, 2009). Existen cambios de sabor y de aromas causados por la fermentación, pero al no ser controlados ni revisados tienden a reducir o arruinar cosechas de café (Mussatto *et al.*, 2011). Al empezar un monitoreo y control de la fermentación, pasándola a un ambiente cerrado y controlando factores como la creación de ácidos orgánicos y la temperatura a la cual se está realizando; se pueden obtener resultados constantes del proceso, incrementando la puntuación del café en el área de uniformidad (Pereira *et al.*, 2016). La fermentación láctica durante el proceso de secado del café da un incremento de puntaje en las calidades de cuerpo, aroma, uniformidad y tonos

extra que incrementan el bono de puntaje de catador (Pereira *et al.*, 2016). Esta fermentación es simple de controlar ya que no hay un subproducto gaseoso que pueda afectar la cantidad de oxígeno en el medio (De Carvalho Neto *et al.*, 2020).

Proceso industrial

El proceso de fermentación se ha estado tecnificando desde que empezaron a crear monitores inalámbricos ya que la mayoría de los procesos de fermentación se realizan en fincas sin acceso a infraestructura grande (Yeretian *et al.*, 2002). Cuando las haciendas no tienen acceso a grandes cantidades de dinero para invertir en el monitoreo, en las galeras de secado se instalan monitores de temperatura y de humedad relativa. Con esto se puede empezar a estandarizar y mejorar la calidad del grano en taza. La medición de pH es otro factor importante en el proceso industrial, bacterias fermentativas lácticas degradan la azúcar restante en el mucílago y forman ácidos orgánicos (Jackels y Jackels, 2005). Al monitorear el descenso en pH se puede monitorear indirectamente el proceso de fermentación completo (de Melo Pereira *et al.*, 2015; Feng *et al.*, 2016)

2.3. Microbiología del café

El microbioma del café depende del estado del sustrato y de las condiciones ambientales (Schwan *et al.*, 2016). Debido a que existen dos diferentes vías por las cuales es procesado, existen dos ramas de estudio. El proceso guatemalteco se asemeja más a los estudios realizados en las regiones donde se practica el despulpado húmedo (Cotta *et al.*, 2003). El café despulpado obtiene más microorganismos de las moscas de frutas, el agua que se utiliza para fermentar, la tierra en la que se cultivó y el equipo utilizado para procesarlo. Existen levaduras del género *Saccharomyces*, bacterias fermentativas lácticas del género *Lactobacillus* y *Leuconostoc* y pectobacterias como *Erwinia* sp. (Haile y Kang, 2019). La microbiota es muy importante en el proceso de degradación de mucilago, sin esta la industria tendría que invertir en el desarrollo de nueva maquinaria que realizara el proceso mecánicamente. Las bacterias que benefician el proceso no se encuentran en el fruto como tal, si no que es agregado luego de el proceso que llevan de despulpado y lavado (Velmourougane, 2013).

2.4. Fermentación controlada del café

2.4.1. En el mundo

La fermentación del café sigue en desarrollo, pero se han probado utilizar levaduras y bacterias que se encontraron en otros productos alimenticios. *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 ha sido la cepa más utilizada en la industria para realizar pruebas de fermentación de café. Esta cepa cambia positivamente el puntaje de la cata de café en los granos tratados con la levadura (Bressani *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2017). Existen productos comerciales de aislamientos de café que prometen fermentar el café recolectado hasta obtener un mucílago fácil de retirar como lo es el de LALCAFÉ (2018).

Los aislamientos de microbiota de la fruta del café para su futuro uso en la fermentación son siempre en ámbitos de laboratorio (Haile y Kang, 2019). Se utilizan medios de cultivos específicos y se buscan cepas de bacterias que logren obtener resultados predecibles y replicables. Se busca poder comercializar un café de calidad que tenga las mismas características año con año, pero que el costo relativo de fermentación sea bajo para las condiciones en las que se encuentra la hacienda (de Melo Pereira *et al.*, 2015).

2.4.2. En latinoamérica

No hay reportes de aislamientos o fermentaciones lácticas controladas realizadas en el país. Se quiere adaptar el procedimiento de fermentación láctica para la utilización posterior en la industria. Todo comenzara de un aislamiento en campo por variedad de café utilizada para empezar pruebas piloto de fermentación en biorreactores. Hay limitantes debido a que el trabajo tiene que ser traducido a un ámbito de campo. La optimización de las condiciones de los biorreactores hará que cada siguiente año se puedan realizar aún más pruebas que deje al productor llegar a un café conocido como "Golden Batch" capaz de venderlo a un comprador específico por mucho más dinero. (de Melo Pereira *et al.*, 2015).

El café de Guatemala es reconocido a nivel mundial como uno de los mejores. En la región latinoamericana compite constantemente contra Costa Rica, Brasil y Colombia por premios a mejor café de altura. El sector cafetalero aporta de 4 a 6 por ciento del PIB del país y es de los primeros tres productos agrícolas de exportación a nivel nacional con el banano y el azúcar (Valdés *et al.*, 2019). En las zonas cafetaleras, la cosecha del café le genera empleo a la mayoría de la población masculina lo cual libera a la población de los índices de pobreza durante toda el periodo de cosecha, que en promedio abarca de septiembre a abril (Anacafé, 2020).

El cultivo intensivo de café es problemático para el medio ambiente ya que lleva a grandes cambios de uso de suelo, de bosques primarios o secundarios a plantaciones sin ningún otro tipo de producción (Robinson y Mansingh, 1999). En el proceso de limpieza del café se llegan a utilizar hasta 10,000 m³ de agua por tonelada de café, que son casi treinta veces más que el desecho urbano anual (Brando, 2013). Esta agua pierde su utilidad, ya que no puede ser usada de ninguna forma por la carga de micotoxinas que le agrega el café. Existen metodologías que reducen la cantidad de agua utilizada en el procesamiento como el reciclaje de agua, pero esto solo soluciona el problema de uso de agua no el del cambio de uso de suelos.

El café producido bajo sombra ataca estas dos problemáticas al mismo tiempo, pero este tiene sus problemas en la producción neta anual de fruta. La producción del café es mucho más baja que la que se tiene en un cultivo tradicional. Esto retrasa el cambio nacional a utilizar café de sombra y las grandes plantaciones que han hecho el cambio notan pérdidas de producción altas. Para poder empezar a competir regionalmente y hacer sostenible la caficultura nacional se deben de emplear mejoras en la recolección y el procesamiento del café desde fruta hasta llegar al tostado. Una fermentación controlada con los aislamientos realizados mejora las características del café en taza, permitiendo que la poca producción se combata con un café de calidad. Este trabajo representa la primera en una serie de pruebas que se realizaran para mejorar la calidad del producto cafetalero nacional. Un subproducto de esta investigación son las metodologías de inocuidad que se emplearan en la cosecha y lavado de la fruta. Estas pruebas piloto son esenciales para lograr el desarrollo de la biotecnología nacional aplicándose en una industria clave para la economía del país.

CAPÍTULO 4

Alcance

Los primeros aislamientos se quieren realizar para investigaciones posteriores. Es un primer paso en un área de trabajo muy amplia. Se quiere adaptar el procedimiento para la utilización posterior en la industria de la caficultura y por esto debe de ser lo más simple y replicable posible. Hay limitantes debido a que el trabajo realizado tiene que ser traducido a un ámbito de campo laboral en haciendas. El siguiente paso en el proceso se llevará acabo el siguiente año y consiste en la optimización de las condiciones de los biorreactores creados.

5.1. Objetivo general

Realizar pruebas piloto de fermentación en biorreactores utilizando microorganismos aislados de la misma variedad de café.

5.2. Objetivos específicos

- Aislar microorganismos capaces de la fermentación láctica de la fruta del café.
- Confirmar presencia de microorganismos fermentadores de la pulpa del café.
- Monitorear el pH óptimo, temperatura y salinidad para la fermentación en los biorreactores.
- Evaluar el efecto de la fermentación en la puntuación en cata.

6.1. Aislamientos de microbiota

6.1.1. Selección de frutos de café

Dos semanas previas a la cosecha, se recolectaron los frutos del café que estaban maduros, seleccionados por los jornaleros utilizando el color como su indicador de madurez. Los granos se separaron de acuerdo a la variedad de café a la que pertenecían y posteriormente fueron pesados. El lote de granos pesados se lavó en un recipiente con agua potable, los granos que flotaron fueron separados por posible presencia de defectos que dejan expuesto el mesocarpo, como daños estructurales o presencia de parásitos como la broca del café.

6.1.2. Desinfección de los frutos

Los frutos lavados libres de contaminación orgánica pasaron a un baño de agua clorada, solución de cloro comercial al 2.5 por ciento v/v, que duró de 10 a 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, se lavaron los frutos nuevamente con agua potable para eliminar cualquier traza de cloro.

6.1.3. Introducción en medio selectivo

Se desinfectó un frasco hermético de vidrio utilizando una solución de agua clorada, solución de cloro comercial al 10 por ciento, y un lavado con agua potable para eliminar las trazas de la solución. Utilizando una balanza semi-analítica OPEX (capacidad máxima de $5\text{kg} \pm 0.5\text{g}$), se tomaron 200g de fruto de café y se introdujeron al frasco de vidrio. Se agregaron $300 \pm 0.5\text{g}$ de una solución de salmuera, sal de mesa diluida en agua al 3 por ciento p/v, y se selló el frasco por un mínimo de 7 días.

6.2. Caracterización de microorganismos

6.2.1. Tinción de Gram

Utilizando la metodología propuesta por Claus (Claus, 1992), se realizaron tres tinciones de Gram a los aislamientos después del periodo de crecimiento. Se registró la morfología y coloración de cada aislamiento y se tomó evidencia fotográfica. Las observaciones se realizaron en un microscopio de luz con magnificación de 1000x.

6.3. Pruebas piloto de fermentación

6.3.1. Creación en los biorreactores

Escala pequeña

A un tanque plástico de 13 litros con tapa, se le realizó una perforación cerca de la base en la cual se le insertó una válvula de chorro para sacar pequeñas alícuotas del líquido interno sin tener que exponer todo el crecimiento a contaminación ambiental.

Escala grande

A un tanque plástico de 330 litros con tapa, se le realizó una perforación cerca de la base en la cual se le insertó una válvula de chorro para sacar pequeñas alícuotas del líquido. Además, se le realizó una perforación con un diámetro de 10 cm en la base para poder vaciar el tanque una vez se encontró lleno de café. Otras tres perforaciones fueron realizadas, una en el centro del tanque y las otras en la tapadera, para instalar un termómetro, un medidor de presión y una válvula de escape, respectivamente.

6.3.2. Crecimiento de un inóculo

En una olla desinfectada con la solución de cloro al 10 por ciento, se puso una solución concentrada de azúcar y agua potable a hervir, para eliminar la presencia de cualquier otro microorganismo que provenga del azúcar. Esta solución se dejó enfriar y se le agregó a un biorreactor de tamaño pequeño, el cual se llenó hasta llegar a 12 litros de salmuera, obteniendo una solución de azúcar a un 6 por ciento p/v. Se utilizó un bote completo del inóculo (300ml) y se selló dejando pasar 7 días hasta su reapertura.

6.3.3. Selección de biorreactores

En la semana de cosecha se recolectó el café maduro utilizando los criterios de selección y la metodología de desinfección del punto anterior y se pesó la totalidad del grano maduro. Si este superaba las 60 libras de fruta, se realizaba la prueba en un reactor grande. Si la colecta no llegaba a un mínimo de 60 libras, se realizaban las pruebas en los reactores pequeños.

Fermentación en biorreactor escala pequeña

Se tomaron los frutos desinfectados y se agregaron 17 libras de este a los biorreactores pequeños. Se le agregaron 12 libras de agua potable y 550 ml del crecimiento que se realizó en el punto anterior. Se selló el biorreactor por al menos 24 horas. Esto se repitió hasta que se logró utilizar todo el café pesado anteriormente. Se le asignó un número de lote a cada tanque creado y se dejó reposar en un lugar bajo sombra. Cada 2 horas se tomó una pequeña alícuota, a través del chorro instalado, a la cual se le midió el pH y la temperatura utilizando un potenciómetro portátil OHAUS, la densidad óptica [OD] utilizando un espectrofotómetro UV-VIS Eppendorf biophotometer, la conductividad eléctrica [CE] y el total de sólidos disueltos [TDS] utilizando un conductómetro portátil KETOTEK y los grados Brix utilizando un refractómetro portátil. Una vez transcurrieron 24 horas, se mandó el café a ser despulpado. Al regresar el café en grano, se volvió a esterilizar, utilizando la solución de 2.5 por ciento cloro, dejándolo sumergido de 5 a 7 minutos. Se puso en su totalidad en un tanque que se llenó con 10 litros de agua potable y 1 litro del fermento anterior. Este se estuvo monitoreando y midiendo cada dos horas con los parámetros establecidos anteriormente. Ya que de una cosecha se obtuvieron varios tanques, en cada tanque la fermentación se detuvo a un diferente valor pH cambiando en intervalos de 0.20. El objetivo de tener diferentes puntos finales en la fermentación era evaluar si existe una relación entre el punto final de pH y el sabor del café en la cata (ver Figura 6.1).

Fermentación en biorreactor escala grande

Se tomaron los frutos desinfectados y se agregaron de 60 hasta 120 libras de este a los biorreactores grandes. Se le agregaron alrededor de 75 a 110 litros de agua potable y 13 litros del crecimiento que se realizó en el punto anterior. Se selló el biorreactor por al menos 24 horas. Se le dio un número de lote al biorreactor que le siguió durante todo el proceso. Cada 2 horas se tomó una pequeña alícuota, a través del chorro instalado, a la cual se le midió el pH y la temperatura, utilizando un potenciómetro portátil OHAUS, la densidad óptica [OD] utilizando un espectrofotómetro UV-VIS Eppendorf biophotometer, la conductividad eléctrica [CE] y el total de sólidos disueltos [TDS] utilizando un conductómetro portátil KETOTEK y los grados Brix utilizando un refractómetro portátil. Al pasar 24 horas, se abrió la compuerta de la base para liberar el café, este se mantuvo a despulpar luego de ser enjuagado con agua. Al regresar el café en grano, se volvió a esterilizar, utilizando la solución de 2.5 por ciento cloro, dejándolo sumergido de 5 a 7 minutos. Se puso al menos 17 libras de café en un tanque de tamaño pequeño que se llenó con 10 litros de agua potable y 1 litro del fermento anterior. Ya que de una cosecha se obtuvieron varios tanques, se estuvo parando la fermentación en intervalos de alrededor de 0.20 para observar cómo frenar la fermentación en ese punto, ayuda al sabor en la cata en cada tanque. La fermentación se detuvo a un diferente valor pH cambiando en intervalos de 0.20. El objetivo de tener diferentes puntos finales en la fermentación es evaluar si hay una relación entre el punto final de pH y el sabor del café en la cata (ver procedimiento adelante).

6.3.4. Cata del café

Al finalizar el proceso de fermentación, los granos de café lotificados fueron mandados a un catador profesional para que indicara su puntuación global y su puntaje en cada uno de los rubros establecidos. Esto generó un gráfico de araña de cata en donde se puede observar cómo se compara el café que fue sometido al proceso de fermentación contra la cata del método tradicional. Las Figuras 2.4 y 2.5 muestran los rubros evaluados en la cata, que después se convierten en un gráfico de araña.

7.1. Aislamiento inicial de bacterias

Se puede evidenciar el aislamiento de consorcios microbianos debido a la diferencia de color en los granos, precipitado turbio al fondo del frasco y burbujeo leve en la superficie (Ver Figura 7.1). Además, al abrir los inóculos se nota una pequeña efervescencia dependiendo de la variedad, un olor frutal o herbal y un leve olor a ácido acético. Una vez estos inóculos se mezclan todo el precipitado se incorpora a la mezcla y se obtiene un líquido homogéneo.

7.2. Crecimiento del inóculo

En el barril de 13 litros se evidencia crecimiento bacteriano en una solución de seis por ciento de azúcar y de salmuera partiendo de uno de los aislamientos anteriores. La mezcla inicialmente presenta un color transparente, pero luego de una semana de crecimiento esta se torna turbia y levemente amarillenta. Se obtiene un olor frutal del crecimiento conservando aromas y sabores presentes en los aislamientos en las fermentaciones.

En las imágenes anteriores (Ver Figuras 7.3 y 7.4) se muestran los tanques de fermentación creados para la experimentación y la prueba piloto. Estos son de dos tamaños diferentes uno que cuenta con un volumen de 13 litros, una apertura abajo para la toma de muestras y una tapa con rosca y sello hermético en la entrada. El segundo es un tanque grande de un volumen de 300 litros. Posee una apertura de 5 cm de diámetro en el fondo con una llave para su apertura. Tiene dos pequeños hoyos en el lado uno con un chorro para poder sacar pequeñas alícuotas manteniendo la esterilidad y uno donde se instala un sensor de temperatura. Este tiene una tapa y un sellado hermético con una válvula de salida de gas y un medidor de presión atmosférica.



Figura 7.1: Evolución del aislamiento inicial
La imagen muestra granos de café que pasaron 2 semanas en el medio selectivo (izquierda) y granos de café que recién han sido sumergidos en este mismo (derecha).



Figura 7.2: Crecimiento del inóculo a partir de un aislamiento
La imagen muestra el inóculo para uno de los biorreactores grandes luego de una semana de crecimiento.



Figura 7.3: Biorreactores tamaño grande
Posee un lector de temperatura, un pequeño chorro, una válvula de salida y un lector de presión en la tapa con cierre hermético.



Figura 7.4: Biorreactores tamaño pequeño
Posee un pequeño chorro y un cerrado hermético en la tapa.



Figura 7.5: Fermentaciones de L001 a L006 en biorreactores pequeños L001-L005 son de la variedad “Catuaí” L006 pertenece a la variedad “Anacafé 14”

Calidad	Antes de la fermentación	Después de la fermentación
Color	Incoloro	Rojo
Turbidez	Transparente	Opaco
Olor	Inoloro	Frutal y herbal
Efervescencia	Nula	Presente



Cuadro 7.1: Medidas cualitativas del proceso de fermentación

El cuadro muestra el comportamiento de la fermentación de una forma cualitativa, se incluyen imágenes con 24 horas de diferencia donde se puede observar lo detallado en el cuadro.

7.3. Fermentaciones en tanque pequeño

En la Figura 7.5 se pueden observar las primeras pruebas de biorreactores realizadas, todos se dejan luego de iniciar la fermentación bajo las mismas condiciones ambientales por al menos una semana. En el Cuadro 7.1 se puede observar como ocurre un cambio de carácter cualitativo en la composición del medio. Se torna de un líquido inoloro, incoloro y transparente a un líquido turbio, de color rojo, opaco y efervescente (ver Cuadro 7.1) demostrando crecimiento de bacterias fermentativas lácticas.

En el Cuadro 7.2 se puede observar cómo los parámetros analíticos medidos a lo largo del proceso de fermentación. Existe un descenso pronunciado en pH, pero el resto de los indicadores se mantienen estables a lo largo del proceso. El punto de freno de las fermentaciones se logra alcanzar con un margen de error que no se considera significativo y la medida de grados Brix es muy cambiante por lo cual no ha sido tomada en consideración como un buen indicador del proceso.

Lote	pHi	pH24	pHf	Δ pH	Bi	Bf	CEi (S/cm)	CEf (S/cm)	TDSi (ppm)	TDSf (ppm)	Ti °	Tf °
L001	4.27	4.01	3.08	1.19	6	5	3030	3030	2515	1515	28	30
L002	4.39	3.93	3.89	0.5	4	6	5030	5030	2515	2515	27	27
L003	4.16	3.97	3.24	0.92	9	7	5030	2515	2515	1010	27	25
L004	4.08	3.51	3.61	0.47	6	7	3030	2030	2015	1010	26	25
L005	4.16	3.96	3.41	0.75	4	7	4030	5030	2515	2015	27	28
L006	4.05	4.01	3.54	0.51	2	6	4030	2030	2015	1512	26	28
L012	4.58	4.05	3.53	1.05	4	6	6040	3400	1435	2505	23	26
L013	4.86	4.22	4.14	0.72	2	2	3500	4128	1750	1900	22	28
L014	5.22	4.36	4.1	1.12	2	2	4128	3915	800	1514	23	22

Cuadro 7.2: Resumen de la fermentación en tanques pequeños

El Cuadro resume los resultados obtenidos de las medidas analíticas del proceso de fermentación. L001-L005 son de variedad “Catuaí” y L006 es de variedad “Anacafé 14”, L012-L014 es de la variedad “Geisha”. Las mediciones son: pHi: pH inicial, pH24: pH a 24 horas de fermentación, pHf: pH cuando se frena la fermentación, Δ pH: diferencia de pH entre inicial y final, Bi: Grados Brix inicial, Bf: Grados Brix final, CEi: conductividad eléctrica inicial, CEf: conductividad eléctrica final, TDSi: total de sólidos disueltos inicial, TDSf: total de sólidos disueltos final, Ti °: Temperatura inicial y Tf °: temperatura final.

7.4. Fermentaciones en tanque grande



Figura 7.6: Resultado de una fermentación en tanque grande
A) son las frutas limpias en agua potable y B) están los mismos frutos luego de 24 horas de fermentación.

La fermentación en tanques grandes sigue el mismo comportamiento evidenciado por el Cuadro 7.1, como se observa en la Figura 7.6 se puede notar una diferencia evidente entre la fruta antes de entrar y su medio y el medio que sale luego de 24 horas de fermentación en los tanques.

En el Cuadro 7.3 se puede observar los parámetros analíticos medidos a lo largo del proceso de fermentación en un biorreactor grande. Existe un descenso pronunciado en pH, pero el resto de los indicadores se mantienen estables a lo largo del proceso. El punto de freno de la primera fermentación son las 24 ya que aquí es cuando se pasan a despulpado.

Lote	pHi	pH18	pHf	ΔpH	Bi	Bf	CEi (S/cm)	CEf (S/cm)	TDSi (ppm)	TDSf (ppm)	Ti °	Tf °
L008	5.6	4.62	3.88	1.72	3.2	3.2	3030	3030	1515	2015	22	22
L009	5.71	4.08	4.08	1.63	2.1	3	3030	6030	2015	3015	22	22
L010	5.54	4.26	4.19	1.35	3.2	3	5030	5030	2515	2515	25	25
L011	5.59	4.29	3.93	1.66	3.2	2	5030	5030	1515	2015	25	25
L017	5.88	4.53	4.08	1.8	1	1	2260	3900	600	780	24	24
L020	5.22	4.46	3.8	1.42	2	4	2160	2740	890	1570	24	24
L021	4.39	3.74	3.67	0.72	3	3	1210	2460	605	1000	23	23
L024	3.33	3.16	3.04	0.29	1	1	1444	1640	788	820	22	22

Cuadro 7.3: Resumen de la fermentación en tanques grandes

El Cuadro resume los resultados obtenidos de las medidas analíticas del proceso de fermentación. L008-L011 son de la variedad “Gueisha”, L017 es de la variedad “Catuaí” y L20-L24 son de la variedad “AN14”. Las mediciones son: pHi: pH inicial, pH18: pH a 24 horas de fermentación, pHf: pH cuando se frena la fermentación, ΔpH: diferencia de pH entre inicial y final, Bi: Grados Brix inicial, Bf: Grados Brix final, CEi: conductividad eléctrica inicial, CEf: conductividad eléctrica final, TDSi: total de sólidos disueltos inicial, TDSf: total de sólidos disueltos final, Ti °: Temperatura inicial y Tf °: temperatura final.

7.5. Confirmación de bacterias

La Figura 7.7 muestran bacilos gram positivo en un medio salino con un pH entre 5.8 a 3.4. Estas muestras fueron tomadas al finalizar uno de los crecimientos de la variedad “Anacafé 14”.

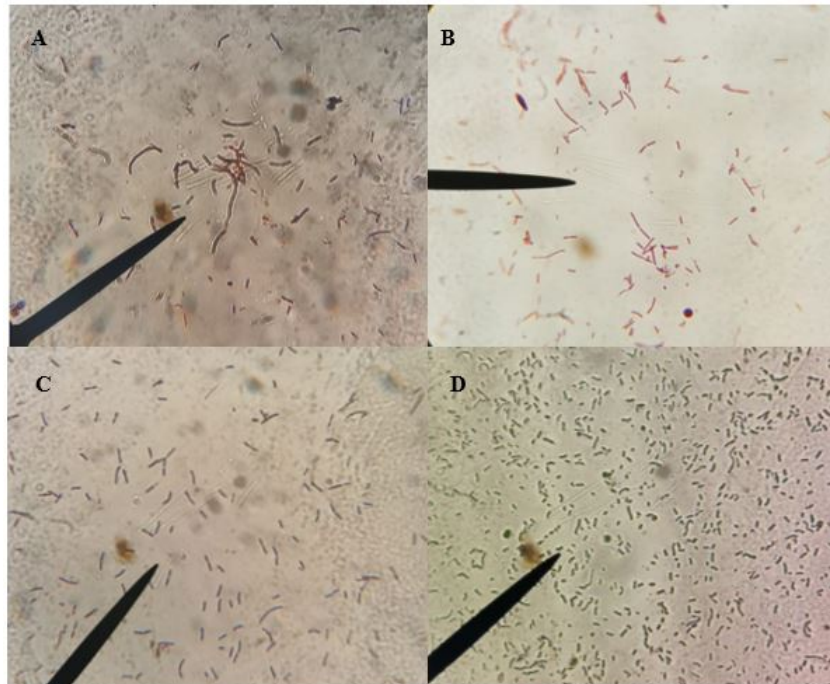


Figura 7.7: Resultado de una fermentación en tanque grande Bacterias aisladas en los crecimientos realizados. A-C con magnificación de 100x, D con magnificación 40X.

7.6. Cata del café

El Cuadro 7.4 muestra el resultado de la cata del café proporcionado por la empresa ORIGEN, donde se puntuaron utilizando una araña del café que utiliza los parámetros estandarizados de la SCAA. Se comparan contra los resultados de cata de la misma empresa en la mejor cosecha del año pasado. Se observa que la cata del café que ha sido fermentado es muy parecida a la cata de la mejor cosecha del 2019. Estos incluyen comentarios sobre el sabor y los tonos que se obtienen que agregan o reducen puntos en la cata.

El Cuadro 7.5 muestra una comparación entre las diferentes variedades utilizadas en las fermentaciones antes y después de pasar por un fermentador. Se pueden notar diferencias entre variedades unas siendo de mejor calidad que otras y los tratamientos que afectan de diferente forma cada variedad.

El Cuadro 7.5 muestra una comparación entre las diferentes variedades utilizadas en las fermentaciones antes y después de pasar por un fermentador. Se pueden notar diferencias entre variedades unas siendo de mejor calidad que otras y los tratamientos que afectan de diferente forma cada variedad.

El Cuadro 7.6 muestra una análisis costo beneficio entre el precio total del proyecto hasta este día y la posible ganancia de solo una cosecha de las 4-5 realizadas en el año. Hay una diferencia de

Lote	Promedio de cata del año pasado (2019)	Cata después de fermentación (2020)
L001	82	83
L002	82	83
L003	82	82
L004	82	83
L005	82	82
L006	83	83

Cuadro 7.4: Cata del café año 2019-2020

Cata de café de la empresa ORIGEN, escala de cata de 1-100. El promedio del año pasado es calculado utilizando todas las catas de la misma empresa en la misma variedad de café.

Variedad	Promedio de cata antes de fermentación	Promedio de cata después de fermentación
“Gueisha”	83.4	82.75
“Catuai”	80.7	80.5
“Marsellesa”	79.8	81.3
“AN14”	82.4	80.2

Cuadro 7.5: Cata del café por variedades 2020

Cata de café de la empresa ORIGEN, escala de cata de 1-100. Los promedios se calcularon utilizando las calificaciones de todos los lotes con las variedades, sin importar el pH en el cual se detuvieron.

alrededor de 4000 dólares USD si se lograra llegar a estandarizar la puntuación de cata superior a los 80 puntos.

Costo		
Rubro	Quetzales	Dólares
Equipo	Q 17,890.00	\$ 2,293.59
Reactivos	Q 2,675.20	\$ 342.97
Instalaciones	Q 1,026.00	\$ 131.54
Total	Q 21,591.20	\$ 2,768.10

Beneficio			
Rubro	Precio por libra	Libras producidas	Ganancia
Café sin especialización	\$ 1.12	10000	\$ 11,200.00
Café especializado > 84	\$ 1.66	10000	\$ 16,600.00
Café especializado > 80	\$ 1.53	10000	\$ 15,300.00

Cuadro 7.6: Análisis costo beneficio diciembre 2020
 Costos totales del proyecto con tipo de cambio de diciembre del 2020, 7.81 quetzales a USD, contra beneficios de la venta por libra de un café especializado según la ICO para el mes de diciembre.

El conjunto de resultados anteriores nos muestra que en efecto se puede realizar un aislamiento y una subsecuente fermentación controlada utilizando el microbiota proveniente del grano de café. Para aislarla se utiliza un cambio de salinidad ya que es el método de selección para bacterias lacto fermentativas más antiguo que se tiene (Pereira *et al.*, 2016). Se utiliza en carnes, vegetales y en lácteos desde que se comienza la preservación en forma de curtidos o fermentos (Benninga, 1990). Es muy importante reconocer que no es un método perfecto, existen contaminaciones ambientales las cuales no han sido tratadas pero el aislamiento es lo más cercano que se puede llegar a controlar estando en condiciones de campo. Este control es suficiente como para reducir la cantidad de café que se tiene que desechar debido a una contaminación de hongos o de otros microorganismos que lo echan a perder (Schwan *et al.*, 2016). El diseño de los reactores, el procedimiento de aislamiento, inoculación y fermentación fue compartido con los trabajadores de las diferentes fincas visitadas y se aseguró que pudieran replicar la metodología.

8.1. Aislamientos e inóculos de microbiota de café

Los aislamientos iniciales realizados en los frascos presentan todas las características físicas que se esperaban según experimentaciones pasadas, la prueba piloto y los estudios en otros países (de Melo Pereira *et al.*, 2014). Los crecimientos bacterianos son rápidos y se asientan en el fondo del frasco, donde se encuentra la materia orgánica y la fuente de carbono. No existe un crecimiento notorio de algún otro tipo de microorganismo debido a la falta de aromas etanólicos, fenólicos o de putrefacción (Bressani *et al.*, 2018). El color del aislamiento depende mucho de la variedad de café utilizado. Esto se debe a la integridad de la capa externa de la fruta ya que variedades de café más delicadas como lo es la variedad “Geisha” pierden su color rojo rápidamente, aproximadamente al segundo día (Krishnan, 2014). Estos aislamientos poseen una diferencia grande en efervescencia y en aromas proveniente del microbiota de las diferentes variedades. Las variedades “Catuaí” y “Anacafe 14” suelen tener aromas frutales, acéticos y efervescencia mayor a la de la variedad “Gueisha” que presenta un aroma herbal y suave sin ninguna burbuja de aire. Los frascos utilizados en los aislamientos tienen una tapa con rosca de metal y un sello hermético debido a que se necesita asegurar un ambiente anaeróbico para obligar a las bacterias lactofermentativas a entrar a su ciclo de fermentación pero hace imposible esterilizar

utilizando horno microondas o fuego directo. Esto crea la necesidad de realizar una limpieza química, pero puede ocasionar como consecuencia que existan bacterias resistentes al tratamiento (Pereira *et al.*, 2016)

8.2. Pruebas piloto de fermentaciones de café

Las fermentaciones realizadas muestran posibilidad de ser un procedimiento realizable en campo y simple para mejorar la calidad del café en pequeñas y medianas haciendas. La logística de fermentar toda la cosecha es muy complicada así que se recomienda realizar micro lotes especializados al seguir esta metodología (Jackels y Jackels, 2005). Los fermentadores que logramos crear cumplen su función para el monitoreo del proceso, la inocuidad necesaria y para mantener el café en contacto con los microorganismos. Este proceso requiere de menos agua que la fermentación tradicional y trae muchos más beneficios (Brando, 2013). En la fermentación tradicional el café puede obtener cualquier tipo de sabores y aromas hasta echarse a perder. El café bajo una fermentación controlada va a ser constante y mantener un grado de calidad adecuado (Bressani *et al.*, 2018). Los crecimientos de café realizados para la fermentación en tanques grandes resultaron ser más que suficiente para alcanzar el límite de 10 por ciento inóculo contra 90 por ciento de medio salino. Esto ayuda a realizar una fermentación en tan solo un día a comparación del crecimiento que se realiza por una a dos semanas. La conservación de sabores y aromas nos indica que el microbiota es constante entre los aislamientos y crecimientos. Los cuadros 7.2 y 7.3 nos muestran que las primeras 12 a 14 horas de fermentación son muy estables el pH moviéndose muy poco de la lectura al inicio. Se cree que al iniciar la fase exponencial del crecimiento bacteriano el descenso en pH se debería de volver lineal lo cual se puede notar en el cambio acelerado luego de 24 horas de fermentación (De Carvalho Neto *et al.*, 2020). La temperatura en los tanques pequeños es muy fluctuante y esto se debe a que son muy sensibles la temperatura ambiental. La conductividad, los grados Brix y el total de sólidos disueltos no tiene mucho cambio, esto se debe a que va en relación de la temperatura de la solución y de la disponibilidad de azúcar y sal en la solución. Se nota un descenso en el pH grande y gradual, teniendo nuestro medio selectivo y un medio anaeróbico se puede asegurar que existen bacterias fermentativas en el medio (Feng *et al.*, 2016). Al utilizar el biorreactor grande la fermentación se comporta igual, la temperatura fluctúa a lo largo del día, pero a la misma hora se mantiene igual. Este fue parado exactamente al día para poder llegar al paso de despulpado. El café despulpado tiene más azúcar disponible, evidenciado en el aumento de grados Brix. El monitoreo de grados Brix en los biorreactores grandes es importante debido a que no se tiene ningún tipo de agitación por las condiciones en las que se encuentran los tanques. Al tener un descenso grande de azúcares disueltas las bacterias morirán rápidamente. La salinidad del medio no permite hacer lecturas de CE y TDS correctas ya que estas fluctúan más con la solubilidad del agua que por lo que empieza a liberarse como partículas de azúcar o de metabolitos secundarios.

8.3. Bacterias aisladas

Las bacterias aisladas muestran una morfología de bacilos gram positivo que se pueden ver a una magnificación empezando de 40x a 100x. Con estas medidas, la prueba de gram y el medio selectivo utilizado se puede asegurar que lo que se tiene en el medio al terminar un aislamiento son consorcios de *Lactobacillus* spp. (Coeuret *et al.*, 2003). Los bacilos que se aislaron tienen diferentes tamaños y conformaciones en las cuales se presentan. Existen cadenas alargadas de dos o tres, individuos grandes y otros que tienen una aglomeración sin forma. Aunque no se puedan identificar hasta especie con solo una visualización otros estudios reportan bacilos de las especies *L. fermenti*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* y *L. plantarum* (Quintero, 2010). Estos bacilos muestran las características que definen al género, su capacidad de sobrevivir ambientes anaeróbicos, altos grados de salinidad y ácidos orgánicos débiles.

8.4. Cata del café

Las catas se realizaron con la casa de cata ORIGEN (ver anexo 1) los cuales también realizaron la cata del año pasado dándonos un punto de comparación. Se puede ver como se conserva el nivel de cata entre el promedio de las mejores catas del año pasado. Las pruebas de fermentación se realizaron a finales de septiembre inicios de octubre y estas son las primeras cosechas de la temporada. Estas usualmente tienen una puntuación de cata de 2 a 5 puntos de cata debido a que los granos no están cosechados uniformemente (Fisac Pedrajas, 2014). Los granos de esta temporalidad son una mezcla entre granos que no se han terminado de desarrollar y granos que han estado expuestos por más tiempo del necesario y han madurado de más (Donfrancesco *et al.*, 2014). Que esta fermentación controlada nos dé una cata muy similar a las mejores del año pasado nos indica que es un proceso que puede llegar a mejorar la cata. Se necesitan más muestras y con más variedades para asegurar que la mejora de cata no solo es por una mejora en la limpieza y procesamiento del café y si por las bacterias aisladas. Los comentarios de cata son variados lo cual indica que el pH en donde se para la fermentación nos da modificaciones en el café que son notables en el café en taza. Muchos tienen una dulzura incrementada con sabores como miel, azúcar morena y panela. Tenemos acidez pronunciada que se deriva del ácido láctico que está siendo liberado. Tenemos posgustos intensos que significan que el café tiene un proceso muy bueno de fermentación y que no hubo ninguna interrupción en el proceso. Los cuerpos pronunciados también indican un buen proceso de fermentación, normalmente esos últimos dos solo se obtienen en algunas catas, pero debido a que están presentes en todas nuestras muestras se puede considerar un proceso mejorado (Martínez, 2012). Las diferencias entre variedades presentadas en el Cuadro 7.5 después de la fermentación se deben a que existe un comentario persistente en todas las catas, sabor astringente y fenólico que le resta 4 puntos completos a las catas de todas las variedades. Según el Centro de Comercio Internacional [CCI] (2006), el sabor fenólico se le denomina a cualquier sabor químico de procedencia indefinida que haga que el café pierda cualidades aromáticas y gustativas. Todos los catadores reportan aromas frutales y herbales nunca antes catados nacionalmente pero estas cualidades antes mencionadas bajan la calidad de la cata significativamente. Incluyo un análisis costo-beneficio preliminar del proyecto que sirve para ejemplificar como este podría de ser un beneficio completo si se llegara a estandarizar un puntaje en cata. Si toda la cosecha que puede pasar por fermentación, alrededor de 20 ciento de el total de las fincas trabajadas, que es alrededor de 10,000 libras producidas logran estar o superar los 80 puntos en cata se podría empezar a vender como café especializado (ICO, 2020).

Conclusiones

Se lograron aislar microorganismos capaces de realizar una fermentación láctica del café utilizando la fruta de café como única fuente de carbono. Esto fue evidenciado por la formación de un precipitado en los frascos de aislamientos, el incremento de turbidez en los frascos, la observación de *Lactobacillus* spp. en los cultivos y los perfiles congruentes con fermentaciones lácticas previamente realizadas en otros estudios.

Se logró confirmar la presencia de microorganismos del género *Lactobacillus* spp. debido a su morfología y su color purpura en la tinción gram.

El frenar el proceso de fermentación en intervalos de 0.20 de pH denota diferencias en tonos, sabores, aromas y posgustos en la cata.

La cata después de una fermentación logra mantener los niveles que obtuvo la mejor cata del año pasado.

CAPÍTULO 10

Recomendaciones

Se recomienda realizar futuras fermentaciones utilizando solo agua debido a que el monitoreo de parámetros químicos no se puede realizar al interferir la sal. Agregar un tipo de agitación mecánica, utilizando una vara de acero inoxidable desinfectada para homogeneizar el tanque de reacción. El proceso puede ser simplificado utilizando una nueva metodología de desinfección. Utilizar agua ozonizada o una atmósfera de ozono haría mucho mas simple el proceso y reduciría los lavados que se realizan para quitar el sabor y olor a cloro. La salinidad en los granos ha sido notada en la cata por lo cual se podría transicional a utilizar adiciones de ácido láctico para generar el medio selectivo. Por último, referente a la producción, manejar grandes cantidades de café resulta difícil y costoso, entonces invertir en una forma mecánica de moverlo hacia los tanques podría reducir el tiempo de preparación para cada fermentación.

En el ámbito microbiológico, para asegurar el genero aislado de bacterias lo único que se necesita realizar es una prueba de catalasa. Pero se recomienda aislar y mejorar la identificación de bacterias con una batería bioquímica o un API para encontrar cual es la mejor especie para la fermentación. Utilizar inóculos puros podría darnos mayor fineza en la elección de que tipo de olores y sabores queremos en nuestro café. El crecimiento de colonias en placas o de una madre en medios microbiológicos podría ayudarnos a tener un café constante y sin ningún tipo de perturbación ya que se está regenerando el mismo consorcio de microorganismos constantemente.

También se recomienda realizar pruebas de fermentación a lo largo de la cosecha ya que solo teniendo una muestra de la cosecha temprana únicamente podemos concluir que las condiciones de fermentación mantienen la calidad del café y empatan las mejores catas del año pasado.

- Anacafé. (2018). *Cafes de guatemala*. Descargado 2020-09-29, de <https://www.anacafe.org/conozcanos/cafes-de-guatemala/>
- Anacafé. (2019). *Exportaciones por tipo de café 2018-2019*. Autor.
- Anacafé. (2020). *Política laboral para el sector café guatemala*. Autor. Descargado 2020-09-29, de https://www.anacafe.org/uploads/file/5807996c8c77433eb96e89d55b49e98e/Politica_laboral-Sector_Caf%C3%A9-Guatemala.pdf
- Arunga, R. O. (1992). Lactic acid bacteria in coffee and cocoa fermentation. En B. J. B. Wood (Ed.), *The Lactic Acid Bacteria Volume 1* (pp. 409–429). Boston, MA: Springer US. Descargado 2020-08-17, de http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-3522-5_16 doi: 10.1007/978-1-4615-3522-5_16
- Baggenstoss, J., Poisson, L., Kaegi, R., Perren, R., y Escher, F. (2008, julio). Coffee roasting and aroma formation: application of different TimeTemperature conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5836–5846. Descargado 2020-09-28, de <https://doi.org/10.1021/jf800327j> (Publisher: American Chemical Society) doi: 10.1021/jf800327j
- Benninga, H. (1990). *A History of Lactic Acid Making: A Chapter in the History of Biotechnology*. Springer Science & Business Media. (Google-Books-ID: fdBMcYg_xGYC)
- Brando, C. (2013). The use of water in processing. *Specialty Coffee Association News*. Descargado 2020-10-02, de <https://scanews.coffee/2013/07/08/the-use-of-water-in-processing-treatment-conservation-and-impacts-on-quality/>
- Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Evangelista, S. R., Dias, D. R., y Schwan, R. F. (2018, junio). Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. *LWT*, 92, 212–219. Descargado 2020-10-02, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818301580> doi: 10.1016/j.lwt.2018.02.029
- CCI. (2006). Sabor fenólico en cata. *La guía del café*. Descargado de <https://www.laguiadelcafe.org/layouts/three-column.aspx?pageid=46286&id=46392>
- Claus, D. (1992, julio). A standardized gram staining procedure. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 8(4), 451–452. Descargado 2020-10-02, de <http://link.springer.com/10.1007/BF01198764> doi: 10.1007/BF01198764
- Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M., y Vernoux, J. (2003). Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Le Lait*, 83(4), 269–306. Descargado 2020-10-29, de <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00895504> (Publisher: INRA Editions) doi: 10.1051/lait:2003019
- Cotta, M. A., Whitehead, T. R., y Zeltwanger, R. L. (2003, septiembre). Isolation, characterization and comparison of bacteria from swine faeces and manure storage pits. *Environmental*

- Microbiology*, 5(9), 737–745. Descargado 2020-08-17, de <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1467-2920.2003.00467.x> doi: 10.1046/j.1467-2920.2003.00467.x
- De Carvalho Neto, D. P., Vinícius De Melo Pereira, G., Finco, A. M. O., Rodrigues, C., Carvalho, J. C. D., y Soccol, C. R. (2020, abril). Microbiological, physicochemical and sensory studies of coffee beans fermentation conducted in a yeast bioreactor model. *Food Biotechnology*, 34(2), 172–192. Descargado 2020-08-17, de <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08905436.2020.1746666> doi: 10.1080/08905436.2020.1746666
- de Melo Pereira, G. V., Neto, E., Soccol, V. T., Medeiros, A. B. P., Woiciechowski, A. L., y Soccol, C. R. (2015, septiembre). Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: growth, metabolic analyses and sensorial effects. *Food Research International*, 75, 348–356. Descargado 2020-08-17, de <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996915300697> doi: 10.1016/j.foodres.2015.06.027
- de Melo Pereira, G. V., Soccol, V. T., Pandey, A., Medeiros, A. B. P., Andrade Lara, J. M. R., Gollo, A. L., y Soccol, C. R. (2014, octubre). Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. *International Journal of Food Microbiology*, 188, 60–66. Descargado 2020-08-17, de <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160514003389> doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.008
- Diego, E. R., Flavio, M. B., Marcelo, A. C., Mariele, V. B. P., Vany, P. F., Helena, M. R. A., y Jose, H. d. S. T. (2016, julio). Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of arabica coffee. *African Journal of Agricultural Research*, 11(27), 2412–2422. Descargado 2020-09-28, de <http://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/2C9F8E459324> doi: 10.5897/AJAR2016.10832
- Donfrancesco, B. D., Guzman, N. G., y Chambers, E. (2014). Comparison of results from cupping and descriptive sensory analysis of colombian brewed coffee. *Journal of Sensory Studies*, 29(4), 301–311. Descargado 2020-09-28, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/joss.12104> (_eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/joss.12104>) doi: 10.1111/joss.12104
- Feng, X., Dong, H., Yang, P., Yang, R., Lu, J., Lv, J., y Sheng, J. (2016, agosto). Culture-dependent and -independent methods to investigate the predominant microorganisms associated with wet processed coffee. *Current Microbiology*, 73(2), 190–195. Descargado 2020-08-17, de <http://link.springer.com/10.1007/s00284-016-1047-3> doi: 10.1007/s00284-016-1047-3
- Fisac Pedrajas, R. (2014). *El mundo del café*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Centro de Publicaciones. (OCLC: 908830100)
- Haile, M., y Kang, W. H. (2019, septiembre). Isolation, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. *Microorganisms*, 7(10), 401. Descargado 2020-08-17, de <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/10/401> doi: 10.3390/microorganisms7100401
- Jackels, S. C., y Jackels, C. F. (2005). Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicators: a field study in nicaragua. *Journal of Food Science*, 70(5), C321–C325. Descargado 2020-10-02, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09960.x> (_eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09960.x>) doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09960.x
- Kleinwächter, M., y Selmar, D. (2010, marzo). Influence of drying on the content of sugars in wet processed green arabica coffees. *Food Chemistry*, 119(2), 500–504. Descargado 2020-10-02, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609008577> doi: 10.1016/j.foodchem.2009.06.048
- Krishnan, S. (2014). *Genetic Characterization of Geisha Coffee Final Report*.
- LALCAFÉ. (2018). *Dosage chart LALCAFÉ coffee yeast*. Descargado 2020-10-02, de <https://www.lalcafeyeast.com/rehydration-maceration-protocol/dosage/>
- Lashermes, P., Combes, M. C., Robert, J., Trouslot, P., D’Hont, A., Anthony, F., y Charrier, A. (1999, marzo). Molecular characterisation and origin of the *coffea arabica* l. genome. *Molecular & general genetics: MGG*, 261(2), 259–266. doi: 10.1007/s004380050965
- Lingle, T. (1993). *The basics of cupping coffee* (2.^a ed.). Washington: Specialty Coffee Associa-

- tion of América. Descargado 2020-09-28, de <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=002492>
- Manu. (2017, diciembre). Análisis sensorial del café. *Gastrolaboratorio*. Descargado 2020-09-28, de <http://gastrolaboratorio.es/2017/12/02/1216/>
- Martinez, M. (2012). La cata de café. *Fórum Café*. Descargado 2020-10-29, de http://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-35_la_cata_de_cafe_0.pdf
- Muschler, R. G. (2020). Shade improves coffee quality in a sub-optimal coffee-zone of costa rica. , 9.
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., y Teixeira, J. A. (2011, marzo). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661. Descargado 2020-10-02, de <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z> doi: 10.1007/s11947-011-0565-z
- OIC. (2019). *Total de producción mundial de 1990 a la actualidad*. Organización internacional del café. Descargado 2020-09-29, de <http://www.ico.org/historical/1990%20onwards/PDF/1a-total-production.pdf>
- Pereira, G. V. d. M., de Carvalho Neto, D. P., Medeiros, A. B. P., Soccol, V. T., Neto, E., Woiciechowski, A. L., y Soccol, C. R. (2016, julio). Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(7), 1689–1695. Descargado 2020-08-17, de <http://doi.wiley.com/10.1111/ijfs.13142> doi: 10.1111/ijfs.13142
- Perfecto, I., Rice, R. A., Greenberg, R., y van der Voort, M. E. (1996, septiembre). Shade coffee: a disappearing refuge for biodiversity. *BioScience*, 46(8), 598–608. Descargado 2019-10-21, de <https://academic.oup.com/bioscience/article-lookup/doi/10.2307/1312989> doi: 10.2307/1312989
- Quintero, G. I. P. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. *Cenicafé*(402), 12.
- Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. d. C. P., Evangelista, S. R., Martins, P. M. M., van Mullem, J., Belizario, M. H., y Schwan, R. F. (2017, febrero). Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. *Food Research International*, 92, 26–32. Descargado 2020-10-02, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996916306056> doi: 10.1016/j.foodres.2016.12.011
- Robinson, D. E., y Mansingh, A. (1999, enero). Insecticide contamination of jamaican environment. IV. transport of the residues coffee plantations in the blue mountains to coastal waters in eastern jamaica. *Environmental Monitoring and Assessment*, 54(2), 125–142. Descargado 2020-10-02, de <https://doi.org/10.1023/A:1005806815959> doi: 10.1023/A:1005806815959
- SCAA. (2018). *Coffee standards*. Specialty Coffee Association of América. Descargado 2020-10-01, de <https://static1.squarespace.com/static/584f6bbef5e23149e5522201/t/5d936fa1e29d4d5342049d74/1569943487417/Coffee+Standards-compressed.pdf>
- Schwan, R. F., Silva, C. F., y Batista, L. R. (2016). Coffee fermentation. , 14.
- Selmar, D., Bytof, G., Knopp, S. E., Bradbury, A., Wilkens, J., y Becker, R. (2020). Biochemical insights into coffee processing: quality and nature of green coffees are interconnected with an active seed metabolism. , 9.
- Selmar, D., Bytof, G., Knopp, S.-E., y Breitenstein, B. (2006). Germination of coffee seeds and its significance for coffee quality. *Plant Biology*, 8(2), 260–264. Descargado 2020-10-02, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1055/s-2006-923845> (_eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1055/s-2006-923845>) doi: 10.1055/s-2006-923845
- Vaast, P., Bertrand, B., Perriot, J.-J., Guyot, B., y Génard, M. (2006). Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*cofea arabica* l.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2), 197–204. Descargado 2020-10-02, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2338> (_eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jsfa.2338>) doi: 10.1002/jsfa.2338
- Valdés, J. A. B., Sazo, O. R. M., Marroquín, J. R. G., Ramírez, E. R. L., y Recinos Rivera, S. F. (2019). *Guatemala en cifras 2019*. Banco de Guatemala.

- Velmourougane, K. (2013, junio). Impact of natural fermentation on physicochemical, microbiological and cup quality characteristics of arabica and robusta coffee. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 83(2), 233–239. Descargado 2020-08-17, de <http://link.springer.com/10.1007/s40011-012-0130-1> doi: 10.1007/s40011-012-0130-1
- Verité. (2011). *Research on indicators of forced labor in the guatemala coffee sector*. Autor.
- Wright, T. L. (2016, octubre). Policy brief for the international coffee organization (ICO) on behalf of the international labour organization (ILO) regarding human rights violations on coffee farms in guatemala. *Political Science Undergraduate Review*, 2(1), 85–93. Descargado 2020-09-29, de <https://journals.library.ualberta.ca/psur/index.php/psur/article/view/68> (Number: 1) doi: 10.29173/psur68
- Yeretjian, C., Jordan, A., Badoud, R., y Lindinger, W. (2002, febrero). From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. *European Food Research and Technology*, 214(2), 92–104. Descargado 2020-09-28, de <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0424-7> doi: 10.1007/s00217-001-0424-7

A. Catas de café 2020

Sample # L8T1	Aroma:	7.75	Sabor:	8	Acidity:	7.75	Body:	7.75	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7.75	Total:	84
	Dry: 0 Break: 0		Residual:	7.5	Intensity:	6.5	Level:	8.5	Balance:	7.5	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: frutos maduros, ciruela, chocolate, cuerpo cremoso, acidez frutal, leve astringente, seco, balanceado,														Final:	84
Sample # L12	Aroma:	7.25	Sabor:	7.5	Acidity:	7.25	Body:	7.5	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7.5	Total:	81.75
	Dry: 7.5 Break: 9		Residual:	7.25	Intensity:	7	Level:	7	Balance:	7.5	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: cacao, chocolate, levemente dulce, acidez intensa, cítrica, toronja, mandarina, limpio, desbalanceado, acidez muy intensa, persistente														Final:	81.75
Sample # L12T2	Aroma:	7	Sabor:	7.25	Acidity:	7.25	Body:	7.25	Uniformidad:	10	Taza limpia:	0	Puntaje:	7	Total:	70
	Dry: 7 Break: 7.5		Residual:	7	Intensity:	8.25	Level:	7.5	Balance:	7.25	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: herbal, vegetal, cacao, buen cuerpo, tazas medicinales, sobre todo en frío, seco, astringente, taza sucia														Final:	70
Sample # L1	Aroma:	7.25	Sabor:	7.5	Acidity:	7.5	Body:	7.5	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7.75	Total:	82.25
	Dry: 0 Break: 0		Residual:	7.25	Intensity:	0	Level:	0	Balance:	7.5	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: chocolate, cacao, leves notas frutales, cítrico, acidez media, mandarina, balanceado, limpio, cuerpo lleno, posgusto persistente.														Final:	82.25

Sample # L10	Aroma:	6.25	Sabor:	6.75	Acidity:	6.5	Body:	6.5	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	6.5	Total:	75.5
	Dry: 0 Break: 0		Residual:	6.25	Intensity: 0		Level: 0		Balance:	6.75	Sweet:	10			Defectos:	4
	Notas: astringente, maderos, poca dulzura, acidez media, leves notas positivas, taza sucia, medicinal, fenol														Final:	71.5
Sample # L8	Aroma:	6.5	Sabor:	7	Acidity:	7	Body:	7	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7	Total:	78
	Dry: 0 Break: 0		Residual:	6.5	Intensity: 0		Level: 0		Balance:	7	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: chocolate, cuerpo medio, acidez leve, dulzura leve, notas levemente saladas de fermento, levemente medicinal														Final:	78
Sample # L3	Aroma:	7.5	Sabor:	7.75	Acidity:	7.25	Body:	7.5	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7.5	Total:	82.5
	Dry: 7.5 Break: 7.25		Residual:	7.25	Intensity: 7.75		Level: 6.25		Balance:	7.75	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: cacao, chocolate negro, cuerpo cremoso, leve frutal, azúcares, acidez cítrica, naranja a, toronja, persistente, redondo, limpio, sólido														Final:	82.5
Sample # L4	Aroma:	7.5	Sabor:	7.75	Acidity:	7.5	Body:	7.25	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7.75	Total:	82.25
	Dry: 0 Break: 0		Residual:	7	Intensity: 0		Level: 0		Balance:	7.5	Sweet:	10			Defectos:	0
	Notas: leves notas florales, dulzura media, acidez frutal, cuerpo leve, balanceado, falta estructura, final leve seco														Final:	82.25
Sample # L9	Aroma:	6.5	Sabor:	6.25	Acidity:	6.5	Body:	7	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	6.25	Total:	74.75
	Dry: 0 Break: 5		Residual:	6	Intensity: 0		Level: 0		Balance:	6.25	Sweet:	10			Defectos:	4
	Notas: desbalanceado, astringente, cuerpo medio, leve dulzura, predominante el sabor fenol, medicinal, sucio														Final:	70.75
Sample # L11	Aroma:	6.5	Sabor:	6.75	Acidity:	6.75	Body:	7	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	6.5	Total:	66.25
	Dry: 0 Break: 5		Residual:	6.25	Intensity: 0		Level: 0		Balance:	6.5	Sweet:	0			Defectos:	4
	Notas: chocolate, cacao, dulzura baja, cuerpo medio, notas muy marcadas de medicinal y fenol, opaca las demás características														Final:	62.25

Sample # L13	Aroma:	7	Sabor:	7.25	Acidity:	7.25	Body:	7.5	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7.25	Total:	80.5
	Dry: 7 Break: 0	Residual:	7	Intensity: 9	Level: 7	Balance:	7.25	Sweet:	10			Defectos:	0			
	Notas: chocolate, dulzura leve, acidez punzante, seco, astringente, cuerpo medio, desbalanceado, taza sucia, poca transparencia														Final:	80.5
Sample # L12T1	Aroma:	7.25	Sabor:	7	Acidity:	7	Body:	7	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7	Total:	79
	Dry: 7.25 Break: 9.75	Residual:	6.75	Intensity: 8.25	Level: 7.25	Balance:	7	Sweet:	10			Defectos:	0			
	Notas: notas herbales, paja, heno, poca dulzura, cuerpo leve, acidez muy baja, seco, astringente, medicinal,														Final:	79
Sample # L14	Aroma:	7	Sabor:	7	Acidity:	7.25	Body:	7.25	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	6.75	Total:	78.75
	Dry: 8 Break: 7.25	Residual:	6.5	Intensity: 9	Level: 6.75	Balance:	7	Sweet:	10			Defectos:	0			
	Notas: leve notas dulces, cacao, chocolate, cuerpo leve, acidez media, cítrica, medicinal, fenol, seco, astringente														Final:	78.75
Sample # L15	Aroma:	7.25	Sabor:	7	Acidity:	7	Body:	7.25	Uniformidad:	10	Taza limpia:	10	Puntaje:	7	Total:	79.5
	Dry: 7.75 Break: 8.25	Residual:	6.75	Intensity: 7	Level: 7.25	Balance:	7.25	Sweet:	10			Defectos:	0			
	Notas: cacao, chocolate oscuro, cítrico, naranja, cuerpo medio, dulzura media, panela, balanceado, constante en sabor,														Final:	79.5

Anexo A. Cata del café año 2020 en bruto. Cata de café de la empresa ORIGEN, escala de cata de 1-100.