



**Compartimos en este espacio el Trabajo Final de María del Sol Grumt, flamante egresada del Traductorado Literario y Técnico-Científico en inglés. Eligió el campo científico con la traducción de tres informes que sumaron un total de 15.500 palabras. A continuación, publicamos uno de ellos por el nivel de producción alcanzado.**

Food Chemistry 361 (2021) 130133 Available online 16 May 2021 0308-8146/© 2021 Elsevier Ltd.  
This article is made available under the Elsevier license (<http://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/>).

## **Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee**

Ana Paula Pereira Bressani, Silvia Juliana Martinez, Nádia Nara Batista, João Batista Pavesi Simão, Disney Ribeiro Dias, Rosane Freitas Schwan

## **Coinoculación de levaduras como cultivos iniciadores: una estrategia para mejorar la calidad del café arábigo de baja altitud**

### **Resumen**

El estudio tuvo como objetivo mejorar la calidad del café, con procesamiento en seco y cultivado a baja altitud, por medio de la inoculación de levaduras. Para la fermentación, tanto de forma individual como mediante coinoculación, se utilizaron tres especies: *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Torulaspota delbrueckii* CCMA 0684 y *Candida parapsilosis* CCMA 0544. Se analizaron los compuestos y los grupos químicos importantes mediante cromatografía líquida, de gases y espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (IR-TF). Los cafés inoculados con poblaciones de levadura en torno a 106 células/g obtuvieron las puntuaciones más altas, mientras que la coinoculación con *C. parapsilosis* CCMA 0544 y *T. delbrueckii* CCMA 0684 obtuvo la puntuación más alta (85) en el análisis sensorial. Se observaron diferentes descriptores en cada tratamiento. El cuerpo, el sabor, el equilibrio y el regusto están muy relacionados con *C. parapsilosis* CCMA 0544. La fermentación mejoró la calidad de los cafés de baja altitud y la combinación de levaduras no pertenecientes al género *Saccharomyces* (*C. parapsilosis* CCMA 0544 y *T. delbrueckii* CCMA 0684) fue la más indicada como cultivo iniciador.

## 1. Introducción

El café es un producto comercial relevante, consumido y apreciado en todo el mundo. La especie *Coffea arabica* alcanza precios elevados en el mercado internacional (OIC, 2020) debido a sus propiedades sensoriales, tales como sabor dulce, afrutado, floral, a chocolate y caramelo. En la actualidad, el café de especialidad ha ido ganando más presencia en el mercado global (Guimarães *et al.*, 2019). Los diferentes aromas, sabores y experiencias demandan cafés de distintos procesos, lo que resulta en alternativas para los amantes del café (Guimarães *et al.*, 2019).

El análisis sensorial realizado por los catadores Q Grader es uno de los factores más importantes que se considera durante la venta de cafés de especialidad. Sin embargo, para desentrañar las diferencias sensoriales, se deben evaluar los compuestos clave relacionados con la calidad, tales como los ácidos orgánicos, los carbohidratos, los compuestos volátiles, las proteínas y los ácidos grasos. Por ejemplo, la acidez es un atributo que se evalúa durante la cata de café (Specialty Coffee Association, 2018) y se correlaciona directamente con algunos ácidos orgánicos (Martins *et al.*, 2019). Sin embargo, la presencia de todos los ácidos no es deseable ya que, por ejemplo, el ácido propanoico y el butírico tienen un aroma y un sabor desagradable en el café. Durante las diferentes fases, antes y después de la cosecha, la concentración de ambos es propensa a variaciones.

La complejidad del sabor del café se le atribuye en especial a los compuestos volátiles, por lo que es esencial su análisis e identificación mediante técnicas de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Sin embargo, existen otros métodos, como la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (IR-TF), que identifican más rápidamente los parámetros de calidad, los defectos, los compuestos bioactivos (Belchior *et al.*, 2019) y distingue los diferentes grupos volátiles generados tras la fermentación. Al implementar ambas técnicas se maximizan y complementan los datos obtenidos.

El origen geográfico, el clima, la altitud, la especie, los métodos de cosecha, el procesamiento y el almacenamiento afectan la composición del café (Abreu *et al.*, 2019; Bressanello *et al.*, 2017). Muchos autores destacaron la altitud como un factor esencial en la calidad, por ejemplo, en Martins *et al.* (2020) esta afectó a la diversidad microbiana e interfirió en el perfil de compuestos relacionados con el sabor del café. Por otro lado, Veloso *et al.* (2020) observaron un aumento en la interacción

entre hongos-hongos y hongos-bacterias en el café de baja altitud.

Los cafés cultivados a baja altitud se asocian a granos poco uniformes y a bebidas de calidad inferior, razón por la cual no son muy estudiados (Bodner *et al.*, 2019; Tolessa *et al.*, 2017). En vista de la perspectiva anterior y la influencia de la altitud, estos cafés difícilmente pueden presentar buenos atributos; es por ello que los procesos de poscosecha son esenciales para mantener y aumentar su calidad.

La fermentación ocurre independientemente del procesamiento posterior a la cosecha (seco, semisecho o húmedo), pero la falta de control durante esta etapa puede dar lugar a cafés de baja calidad (Lee *et al.*, 2015). En cambio, la fermentación controlada del café se realiza sobre todo para proporcionar experiencias sensoriales y son varios los estudios que demuestran que los cultivos iniciadores aumentan la calidad en los diferentes procesamientos (da Mota *et al.*, 2020; Bressani *et al.*, 2018; Martínez *et al.*, 2017). Distintas levaduras dan lugar a cafés con diversos perfiles sensoriales; por lo tanto, la coinoculación de estos microorganismos intensifica y aumenta los descriptores sensoriales. Además, aún no se ha estudiado la coinoculación de levaduras en fermentaciones de café arábigo de baja altitud.

El parque nacional de Caparaó tiene el tercer pico más alto de Brasil, el pico da Bandeira (2.892 m de altitud), situado entre los estados de Minas Gerais y Espírito Santo. Se conoce a la región de Caparaó por su producción de café de especialidad y sus llamativas características sensoriales, lo que hizo que adquiriera la denominación de origen. Además, la riqueza cafetera y la alta calidad han permitido a los agricultores participar en competiciones nacionales (Apostólico *et al.*, 2017). Sin embargo, la calidad no resulta ser la misma en altitudes más bajas (por debajo de 700 m).

Por consiguiente, el presente estudio tuvo como objetivo mejorar la bebida a través de la fermentación al inocular tres levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684, y *Candida parapsilosis* CCMA 0544) de manera individual y mediante coinoculación en café de baja altitud con procesamiento en seco. Asimismo, se pretende realizar un análisis de componentes para comprender la influencia del cultivo iniciador en la calidad de la bebida.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Diseño experimental: muestras de café e inoculación de levaduras

Para este estudio se utilizó el cultivar de café ‘Catuaí Vermelho’ IAC-44, cultivado a 600 m de altitud (20° 47' 15,58" S de latitud y 41° 39' 32,62" O de longitud) en la región de Caparaó, municipalidad de Guaçuí, al sudeste de Brasil. Las cerezas de café contenían un promedio de 18,6 °Bx de sólidos solubles.

Se seleccionaron 20 kg de cerezas de café para cada tratamiento y se procesaron en seco. Se indujo la fermentación durante 72 h por medio de la inoculación de levaduras, determinadas por la estabilización de la temperatura, en biorreactores cerrados de polipropileno (fermentación anaeróbica autoinducida, SIAF, por sus siglas en inglés *self-induced anaerobic fermentation*). La temperatura media durante la fermentación fue de 19,5 °C, la mínima de 14,9 °C y la máxima de 24,8 °C. Se dividieron las fermentaciones en siete tratamientos realizados por triplicado, que se identificaron como: tratamiento Sc: inoculado solo con *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543; tratamiento Cp: inoculado solo con *Candida parapsilosis* CCMA 0544; tratamiento Td: inoculado solo con *Torulasporea delbrueckii* CCMA 0684; tratamiento SC: coinoculación de *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 y *Candida parapsilosis* CCMA 0544; tratamiento ST: coinoculación de *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 y *Torulasporea delbrueckii* CCMA 0684; tratamiento CT: coinoculación de *Candida parapsilosis* CCMA 0544 y *Torulasporea delbrueckii* CCMA 0684 y tratamiento SCT: coinoculación de *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 y *Torulasporea delbrueckii* CCMA 0684. Se llevó a cabo la fermentación espontánea (control) en las mismas condiciones sin inoculación.

Se seleccionaron las levaduras del entorno del café, tanto de procesamiento seco como semiseco. Durante la selección, estas presentaron una alta actividad enzimática de pectina y capacidad fermentativa, produjeron metabolitos deseables y un aumento en las notas sensoriales de los cafés fermentados en diferentes regiones brasileñas (Bressani *et al.*, 2018; da Mota *et al.*, 2020; Evangelista *et al.*, 2014; Martínez *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2013).

Se reactivaron las cepas en 10 ml de caldo YPG (20 g/l de glucosa, 10 g/l de extracto de levadura y 10 g/l de peptona de soja [HiMedia]; pH de 3,5) a 28 °C durante 24 h, en volúmenes crecientes, hasta alcanzar una concentración de aproximadamente

10<sup>8</sup> células/g de café. A continuación se centrifugaron las células, se suspendieron nuevamente en 100 ml de agua destilada y se inocularon en las cerezas de café. Después de la fermentación, se transfirieron las cerezas al invernadero con terrazas suspendidas hasta alcanzar una humedad entre 11 % y 12 % (33 días). Se tomaron muestras de 200 g antes y después de la fermentación y al final del secado para el análisis químico.

### 2.2. Dinámica de las poblaciones de levadura durante la fermentación

Se monitorizaron las poblaciones de levadura hasta el final del secado mediante PCR cuantitativa (del inglés *polymerase chain reaction*). Se extrajo el ADN de las cepas y de las muestras (0, 3, 9 y 36 días) con el Kit QIAamp DNA Mini (Qiagen, Hilden, Alemania) según el protocolo *DNA Purification from Tissues*, con las instrucciones del fabricante. Se desarrollaron los cultivos iniciadores por separado en medio YPG (pH de 3,5) a 28 °C durante 24 h. Se estimaron las células con una cámara de Neubauer y se diluyeron en serie (1:10) de 10<sup>9</sup> células/ml a 10<sup>3</sup> células/ml. Se midió cada dilución por triplicado.

Se utilizaron cebadores específicos para cada especie:

SC-5fw	5'-AGGAGTGC GGTTCTTTGTAAAG-3'
SC-3bw	5'-TGAAATGCGA-GATTCCCCT-3' ( <i>S. cerevisiae</i> );
SADH-F	5'-GCTGCGCTTCAACTGATGC-3'
SADH-R	5'-CTTGTCACGAGCCTCC-3' ( <i>C. parapsilosis</i> );
Tods L2	5'-CAAAGTCATCCAAGCCAGC-3'
Tods R2	5'-TTCTCAAA-CAATCATGTTTGGTAG-3' ( <i>T. delbrueckii</i> )

(Bressani *et al.*, 2018). Se realizó la PCR cuantitativa con un sistema Rotor-Gene Q (Qiagen, Hombrechtikon, ZH, Suiza) según Bressani *et al.* (2018), con los siguientes parámetros de PCR cuantitativa: R<sup>2</sup> = 0,997, pendiente = -3,812 y eficiencia = 0,83 (*S. cerevisiae*); R<sup>2</sup> = 0,991, pendiente = -3,628 y eficiencia = 0,90 (*C. parapsilosis*); R<sup>2</sup> = 0,996, pendiente = -3,517 y eficiencia = 0,92 (*T. delbrueckii*).

### 2.3. Compuestos químicos

#### 2.3.1. Ácidos orgánicos

Se evaluaron los ácidos cítrico, málico, succínico, oxálico, láctico, acético, propanoico, isoaléxico, tartárico e isobutírico en todos los tratamientos (0, 3 y 36 días) por medio de un sistema de cromatografía líquida de alto rendimiento

(Shimadzu Corp., Japón). Se homogeneizaron 3 g de cada muestra mediante vórtice en tubos Falcon con 20 ml de agua ultrapura Milli-Q durante 10 minutos a temperatura ambiente y se centrifugaron dos veces a 12 745 RCF y 4 °C durante 10 minutos. Se estableció el pH del sobrenadante en 2,11 con una solución de ácido perclórico (16 mM) y se filtró a través de una membrana de acetato de celulosa de 0,22 µm. Se inyectó la solución resultante (20 µL) en la columna cromatográfica (Shimpack SCR-101H de 7,9 mm × 30 cm).

Para el análisis se utilizó una fase móvil con agua ultrapura y ácido perclórico (pH de 2,1) a una tasa de flujo de 0,6 ml/min y a 50 °C. Se detectaron los ácidos por absorbancia UV (210 nm). Se construyeron curvas de calibración con estándares para cuantificar los compuestos químicos (Evangelista *et al.*, 2014). Se compraron los ácidos málico y cítrico a Merck (Alemania), el ácido láctico a Acros Organic (Bélgica), los ácidos oxálico, isovalérico, tartárico, acético y succínico a Sigma-Aldrich (Alemania) y el ácido butírico a Riedel-de Haën (Alemania).

#### 2.3.2. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (IR-TF)

Se realizó el análisis IR-TF según Liang *et al.* (2016) con pequeñas modificaciones. Se congeló el café verde y el café tostado molido (2 g) durante 24 h a -20 °C y luego se liofilizaron las muestras durante 24 h. Se registraron los espectros IR-TF de los cafés en un Digilab Excalibur, serie FTS 3000 (Estados Unidos), unido a un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR, del inglés *attenuated total reflection*) y provisto de un cristal de reflexión de ZnSe. Se obtuvieron los espectros a temperatura ambiente con 32 escaneos/muestras en el rango de 4000 cm<sup>-1</sup> a 400 cm<sup>-1</sup>, con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> por medio del *software* OriginPro.

#### 2.3.3. Caracterización de los compuestos volátiles

Se molieron 2 g de muestras de café (0, 3, 36 días y tostado) con nitrógeno líquido y se extrajeron los compuestos mediante microextracción en fase sólida por espacio de cabeza (MEFS-EC) (Evangelista *et al.*, 2014). Se analizaron con un modelo de GC Shimadzu QP2010 provisto con espectrometría de masas (EM) y una columna capilar de sílice Carbowax 20 M (30 m × 0,25 mm × 0,25 mm).

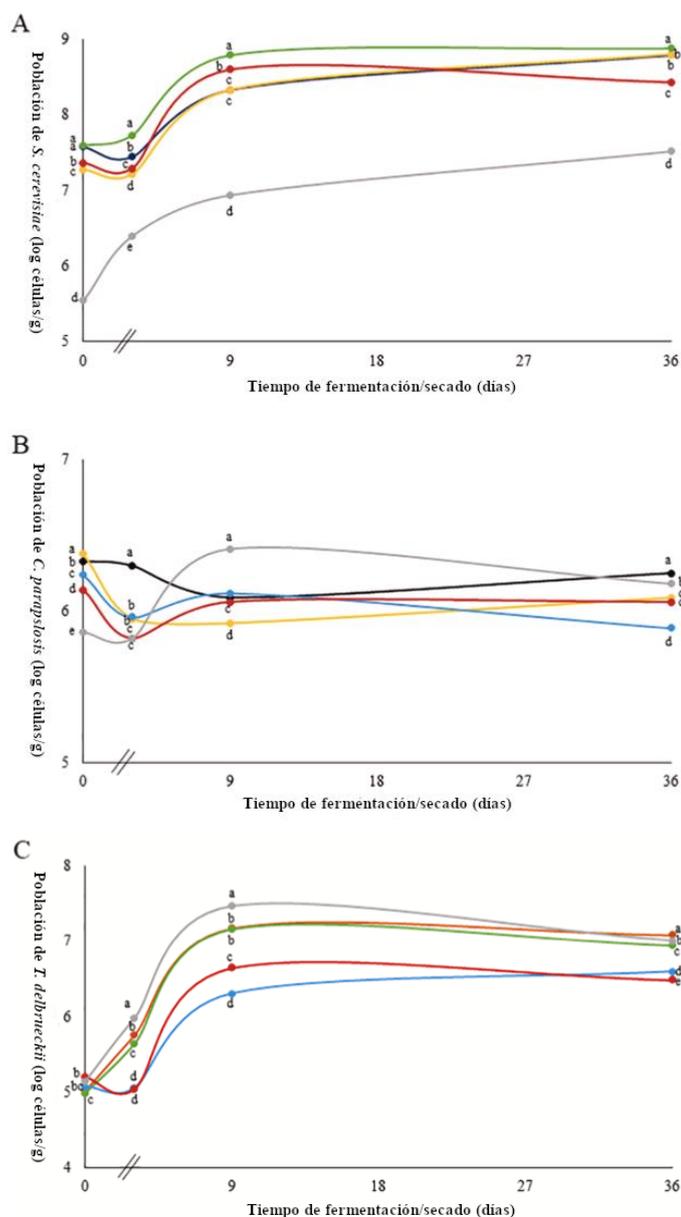
Se fijó la temperatura del horno a 50 °C durante 5 min, luego se elevó hasta 200 °C en incrementos de 8 °C/min y se mantuvo durante 15 min. Se establecieron las temperaturas de los inyectores a 230 °C en modo sin división o *splitless* y el flujo del gas portador (He) a 1,98 ml/min. Se compararon los espectros de masas detectados con la base de datos NIST11/NIST11a y se utilizó una serie de alcanos (C10-C40) para calcular el índice de retención (RI); luego se compararon los valores de RI con los encontrados en los datos de la literatura (Amanpour y Selli, 2016; Toci, Azevedo y Farah, 2020). Se calcularon los porcentajes relativos de cada compuesto a partir del contenido total de volátiles en los cromatogramas.

#### 2.4. Análisis sensorial

Se tostaron las muestras entre 8:30 y 9:30 min, al principio con una temperatura entre 185 °C y 190 °C y al final 200 °C aproximadamente (Probat Leogap modelo TP-2, Curitiba, Brasil), hasta obtener granos con una coloración entre núm. 55 y núm. 65 en la escala Agron (Specialty Coffee Association, 2018). Se molieron los granos de café con un molino eléctrico (Mahlkönig, modelo EK43, Hamburgo, Alemania) antes del análisis sensorial, en un tamaño apenas más grueso que el utilizado para la infusión por goteo, ya que entre el 70 % y el 75 % de las partículas deben ser capaces de pasar a través de un tamiz de malla de tamaño 20 del *US Standard*. Un panel de cinco expertos catadores de café, con un certificado Q Grader Coffee, llevó a cabo el análisis sensorial con cinco tazas para cada muestra (una relación predeterminada de 8,25 g ± 0,25 g por 150 ml de agua). Los atributos evaluados fueron el aroma, el sabor, el gusto, la acidez, el cuerpo, el equilibrio, la uniformidad, el dulzor, la taza limpia, la evaluación general y la puntuación total (Specialty Coffee Association, 2018), además de los descriptores sensoriales.

#### 2.5. Análisis estadístico

Se analizaron los datos de los ácidos orgánicos y de la PCR cuantitativa mediante la prueba de Student Newman-Keuls al 5 % de significación con el programa estadístico R. El mapa de calor para el grupo volátil y la prueba de Tukey al 5 % de significación para las puntuaciones finales del análisis sensorial se efectuaron mediante el *software* XLSTAT 2019 2.1. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para las pruebas de correlación, mediante el empleo del mismo *software*.



**Figura 1.** Seguimiento de la población de levaduras: A) *S. cerevisiae*; B) *C. parapsilosis* y C) *T. delbrueckii* mediante PCR cuantitativa en un biorreactor cerrado desde el inicio de la fermentación hasta el final del secado. Tratamientos: ● (Sc) *S. cerevisiae*; ● (Cp) *C. parapsilosis*; ● (Td) *T. delbrueckii*; ○ (SC) *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis*; ● (ST) *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii*; ○ (CT) *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii*; ○ (SCT) *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii*; ○ fermentación espontánea. Las diferentes letras minúsculas indican una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos en cada etapa, por la prueba de Student-Newman-Keuls.

## 3. Resultados

### 3.1. Población de levaduras

La técnica de PCR cuantitativa permitió observar la población de *S. cerevisiae*, *C. parapsilosis* y *T. delbrueckii* durante la fermentación con y sin inoculación hasta el final del secado (fig. 1).

Al inicio de la fermentación, las poblaciones de *S. cerevisiae*, *C. parapsilosis* y *T. delbrueckii* variaron de 5 log células/g a 6 log células/g de café

en la fermentación espontánea. Las poblaciones de *S. cerevisiae* y *C. parapsilosis* fueron inferiores en esta última en comparación con los tratamientos inoculados; en cambio, la población de *T. delbrueckii* fue la misma tanto en los tratamientos espontáneos como en los inoculados.

Los tratamientos inoculados con *S. cerevisiae* no mostraron cambios significativos después de 3 días de fermentación en el biorreactor cerrado; sin embargo, la población de *S. cerevisiae* aumentó en todos los tratamientos desde el inicio del secado hasta el día 9. A partir de ese momento, los tratamientos Sc y SC no mostraron diferencias significativas (fig. 1A).

La población de *C. parapsilosis* se mantuvo constante durante todo el proceso y osciló entre 5,82 log células/g y 6,41 log células/g de café. Al final de la fermentación, se halló la población más grande (6,3 log células/g de café) en el tratamiento Cp, con una diferencia significativa respecto a los demás. Los tratamientos CT y SCT presentaron una dinámica poblacional parecida a la de *C. parapsilosis* hasta el final del secado. La coinoculación mostró un ligero aumento de *C. parapsilosis* desde el día 3 hasta el día 9, excepto en el tratamiento SC. En los mismos días, la población de *C. parapsilosis* presentó un aumento significativo (5,82 log células/g a 6,41 log células/g de café) solo en la fermentación espontánea; sin embargo, el tratamiento Cp tuvo la población más grande (6,25 log células/g) al final del secado. Los tratamientos SC y SCT no mostraron diferencias significativas al final de la fermentación (6,09 log células/g y 6,06 log células/g) (fig. 1B).

Los tratamientos CT y SCT exhibieron una dinámica poblacional de *T. delbrueckii* parecida durante todo el proceso pero, en comparación con los otros tratamientos, presentaron diferencias evidentes al final de la fermentación. Los tratamientos Td y ST no mostraron diferencias significativas entre ellos al inicio de la fermentación ni hasta el día 9 de secado. El tratamiento Td presentó la mayor población de *T. delbrueckii* (7,08 log células/g) y el tratamiento SCT tuvo la menor población (6,48 log células/g) al final del secado (fig. 1C).

### 3.2. Determinación de ácidos orgánicos

Se detectaron los ácidos cítrico, málico y succínico en todos los tratamientos al inicio de la fermentación y se mantuvieron presentes hasta el secado (cuadro 1). El contenido del ácido cítrico disminuyó desde el inicio de la fermentación hasta el final del secado, excepto en el tratamiento Cp. Los

contenidos de ácido cítrico y succínico no presentaron diferencias significativas para ningún tratamiento. El contenido de ácido málico disminuyó al final de la fermentación en todos los tratamientos, excepto en la fermentación espontánea y en Td. Sc y SC presentaron las concentraciones más bajas de este compuesto (0,67 y 0,61 mg/g, respectivamente). El tratamiento Td presentó la mayor concentración de ácido láctico al final de la fermentación (1,83 mg/g), lo que muestra una diferencia significativa respecto a los demás.

Entre los tratamientos, la fermentación espontánea presentó la mayor concentración de ácido cítrico (1,83 mg/g), seguida de todos los tratamientos inoculados con *S. cerevisiae* CCMA 0543 al final del secado. Cp presentó la mayor concentración de ácido succínico (0,87 mg/g). Por otro lado, el ácido acético fue el principal ácido detectado y se halló la mayor concentración en la fermentación espontánea (7,59 mg/g) y en el tratamiento SCT (7,21 mg/g), lo que indica una diferencia significativa entre los demás (cuadro 1).

No se detectaron los ácidos oxálico, tartárico, isovalérico, isobutírico y propanoico en ninguna muestra. La presencia de los ácidos isovalérico, isobutírico y propanoico proporcionaría sabores desagradables, lo que indica una falta de control o fermentación excesiva.

### 3.3. IR-TF

Se utilizó el análisis IR-TF para detectar los principales grupos funcionales de los granos de café verdes y tostados (fig. 2). Los espectros IR-TF por medio de la técnica ATR revelaron un cambio en la intensidad de algunas bandas. Se asignó la absorbancia de las bandas en  $\approx 3300\text{ cm}^{-1}$ ,  $2920\text{ cm}^{-1}$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  a las vibraciones de tensión del grupo —OH y a las vibraciones simétricas y asimétricas de los grupos —CH presentes en los carbohidratos y la cafeína, respectivamente (Tavares *et al.*, 2012).

El rango de  $1780\text{ cm}^{-1}$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$  caracteriza a las vibraciones de alargamiento de los enlaces C=O pertenecientes a lípidos carbonílicos, ésteres alifáticos y ácidos carboxílicos (Belchior *et al.*, 2019; Krause *et al.*, 2019; Tavares *et al.*, 2012). Todas las muestras presentaron un pico de  $1743\text{ cm}^{-1}$ ; sin embargo, este aumentó en las muestras tostadas.

La banda  $1637\text{ cm}^{-1}$  representa el alargamiento del enlace C=C etilénico.

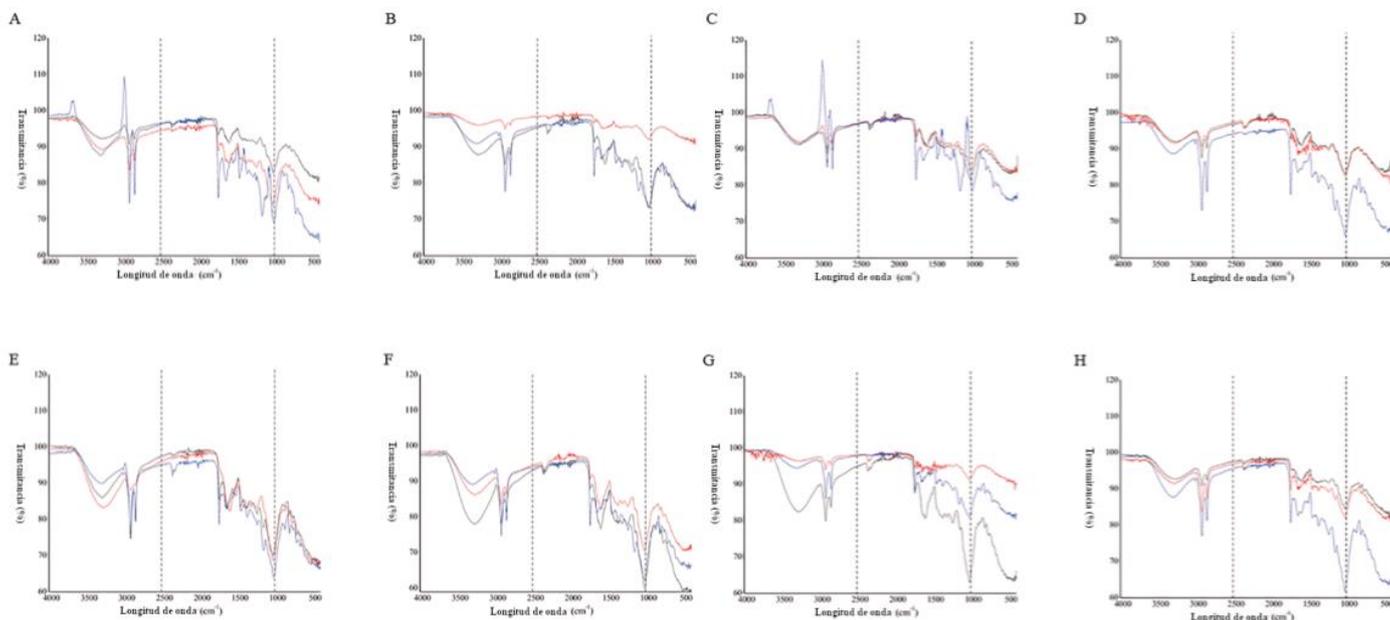
Liang *et al.* (2016) designaron la región entre  $1700\text{ cm}^{-1}$  y  $1600\text{ cm}^{-1}$  para el contenido de isómeros del ácido clorogénico en el café y Belchior *et al.* (2019) la asociaron a la cafeína y la trigonelina.

Se asoció la longitud de onda de  $1457\text{ cm}^{-1}$  a la vibración de flexión (*bending*) de C—H perteneciente a los grupos alifáticos CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>. La longitud de onda de  $1157\text{ cm}^{-1}$  se asoció a la vibración de alargamiento y balanceo del grupo

**Cuadro 1.** Ácidos orgánicos detectados en el café durante la fermentación y el secado, con y sin inoculación de levaduras.

Ácidos	Tratamientos (mg/g)							
	Sc	Cp	Td	SC	ST	CT	SCT	Fermentación espontánea
<b>Cítrico</b> <sup>ns</sup>								
FI	2,22 ± 0,10	1,22 ± 0,05	2,10 ± 0,12	1,88 ± 0,02	2,07 ± 0,15	1,65 ± 0,25	1,74 ± 0,27	1,98 ± 0,33
FF	1,81 ± 0,24	1,41 ± 0,07	1,81 ± 0,04	1,58 ± 0,32	1,39 ± 0,24	1,27 ± 0,17	1,59 ± 0,44	1,95 ± 0,09
SF	1,40 ± 0,27	1,11 ± 0,22	0,93 ± 0,06	1,34 ± 0,18	1,34 ± 0,16	1,00 ± 0,16	1,24 ± 0,15	1,83 ± 0,05
<b>Málico</b>								
FI	3,21 ± 0,38 <sup>ab</sup>	1,53 ± 0,20 <sup>bc</sup>	2,70 ± 0,37 <sup>ac</sup>	2,59 ± 0,26 <sup>ac</sup>	4,49 ± 0,19 <sup>aA</sup>	3,39 ± 0,04 <sup>ab</sup>	2,31 ± 0,17 <sup>ac</sup>	2,55 ± 0,11 <sup>bc</sup>
FF	0,67 ± 0,09 <sup>cb</sup>	1,23 ± 0,30 <sup>bb</sup>	2,87 ± 0,13 <sup>aA</sup>	0,61 ± 0,15 <sup>cc</sup>	1,28 ± 0,24 <sup>bb</sup>	1,18 ± 0,16 <sup>bb</sup>	1,49 ± 0,13 <sup>bb</sup>	2,78 ± 0,05 <sup>ba</sup>
SF	1,78 ± 0,07 <sup>cc</sup>	2,45 ± 0,00 <sup>aBC</sup>	2,90 ± 0,13 <sup>ab</sup>	2,02 ± 0,22 <sup>bc</sup>	1,90 ± 0,17 <sup>cc</sup>	2,03 ± 0,06 <sup>cc</sup>	2,02 ± 0,19 <sup>ac</sup>	3,40 ± 0,03 <sup>aA</sup>
<b>Succínico</b> <sup>ns</sup>								
FI	0,74 ± 0,22	0,42 ± 0,18	0,69 ± 0,02	0,73 ± 0,33	0,90 ± 0,03	0,66 ± 0,10	0,71 ± 0,02	0,77 ± 0,35
FF	0,87 ± 0,17	0,56 ± 0,19	0,60 ± 0,04	0,60 ± 0,12	0,49 ± 0,15	0,43 ± 0,01	0,58 ± 0,23	1,05 ± 0,12
SF	0,61 ± 0,15	0,87 ± 0,38	0,71 ± 0,07	0,68 ± 0,03	0,58 ± 0,09	0,50 ± 0,01	0,56 ± 0,11	0,86 ± 0,01
<b>Láctico</b>								
FI	0,00 ± 0,00 <sup>bb</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>cb</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>cb</sup>	0,57 ± 0,06 <sup>ba</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>cb</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>cb</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>cb</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>cb</sup>
FF	1,16 ± 0,28 <sup>ab</sup>	1,27 ± 0,15 <sup>bb</sup>	1,83 ± 0,28 <sup>ba</sup>	0,91 ± 0,33 <sup>bb</sup>	0,77 ± 0,00 <sup>bb</sup>	1,09 ± 0,13 <sup>bb</sup>	0,75 ± 0,07 <sup>bb</sup>	1,27 ± 0,12 <sup>bb</sup>
SF	1,02 ± 0,12 <sup>ae</sup>	2,77 ± 0,31 <sup>ab</sup>	3,24 ± 0,31 <sup>aA</sup>	1,43 ± 0,14 <sup>ad</sup>	1,70 ± 0,24 <sup>acd</sup>	3,34 ± 0,07 <sup>aA</sup>	2,02 ± 0,04 <sup>ac</sup>	3,43 ± 0,09 <sup>aA</sup>
<b>Acético</b>								
FI	11,62 ± 0,18 <sup>aA</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>bc</sup>	9,39 ± 1,61 <sup>ab</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>cc</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>bc</sup>	8,56 ± 0,11 <sup>ab</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>bc</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>bc</sup>
FF	8,07 ± 0,11 <sup>ba</sup>	3,73 ± 0,25 <sup>ad</sup>	6,02 ± 0,08 <sup>bc</sup>	7,56 ± 0,44 <sup>aAB</sup>	6,33 ± 0,33 <sup>ac</sup>	4,46 ± 0,52 <sup>bd</sup>	7,36 ± 0,13 <sup>aAB</sup>	6,97 ± 0,13 <sup>aAB</sup>
SF	5,16 ± 0,22 <sup>cb</sup>	3,38 ± 0,27 <sup>ac</sup>	5,05 ± 0,02 <sup>bb</sup>	5,96 ± 0,09 <sup>aAB</sup>	6,24 ± 0,05 <sup>aAB</sup>	4,46 ± 0,18 <sup>bb</sup>	7,21 ± 0,05 <sup>aA</sup>	7,59 ± 0,10 <sup>aA</sup>

Se muestran los datos como la media ± desviación estándar. Las letras minúsculas iguales en una columna y las letras mayúsculas iguales en una fila no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ) entre sí, por la prueba de Student-Newman-Keuls. Fermentación inicial (FI); fermentación final (FF); secado final (SF). Ns: no hubo diferencias significativas en ninguno de los tratamientos.



**Figura 2.** Espectros IR-TF generados por medio de la técnica ATR, para café verde y tostado producido por fermentación espontánea e inoculada (levadura individual y coinoculación). — inicio de la fermentación; — final de la fermentación; — luego del tueste. Tratamientos: A) Sc: *S. cerevisiae*; B) SC: *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis*; C) Cp: *C. parapsilosis*; D) CT: *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii*; E) Td: *T. delbrueckii*; F) ST: *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii*; G) SCT: *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii* y H) fermentación espontánea. (Para la interpretación de las referencias a los colores en la leyenda de la figura se remite al lector a la versión web de este artículo).

éster C—O, por ejemplo, CH<sub>2</sub> (Raba *et al.*, 2015). Se identificaron estas dos bandas solo en las muestras tostadas. La región entre 1000 cm<sup>-1</sup> y 1100 cm<sup>-1</sup> correspondió a enlaces C—O y C—C—O (Krause *et al.*, 2019).

### 3.4. Compuestos volátiles

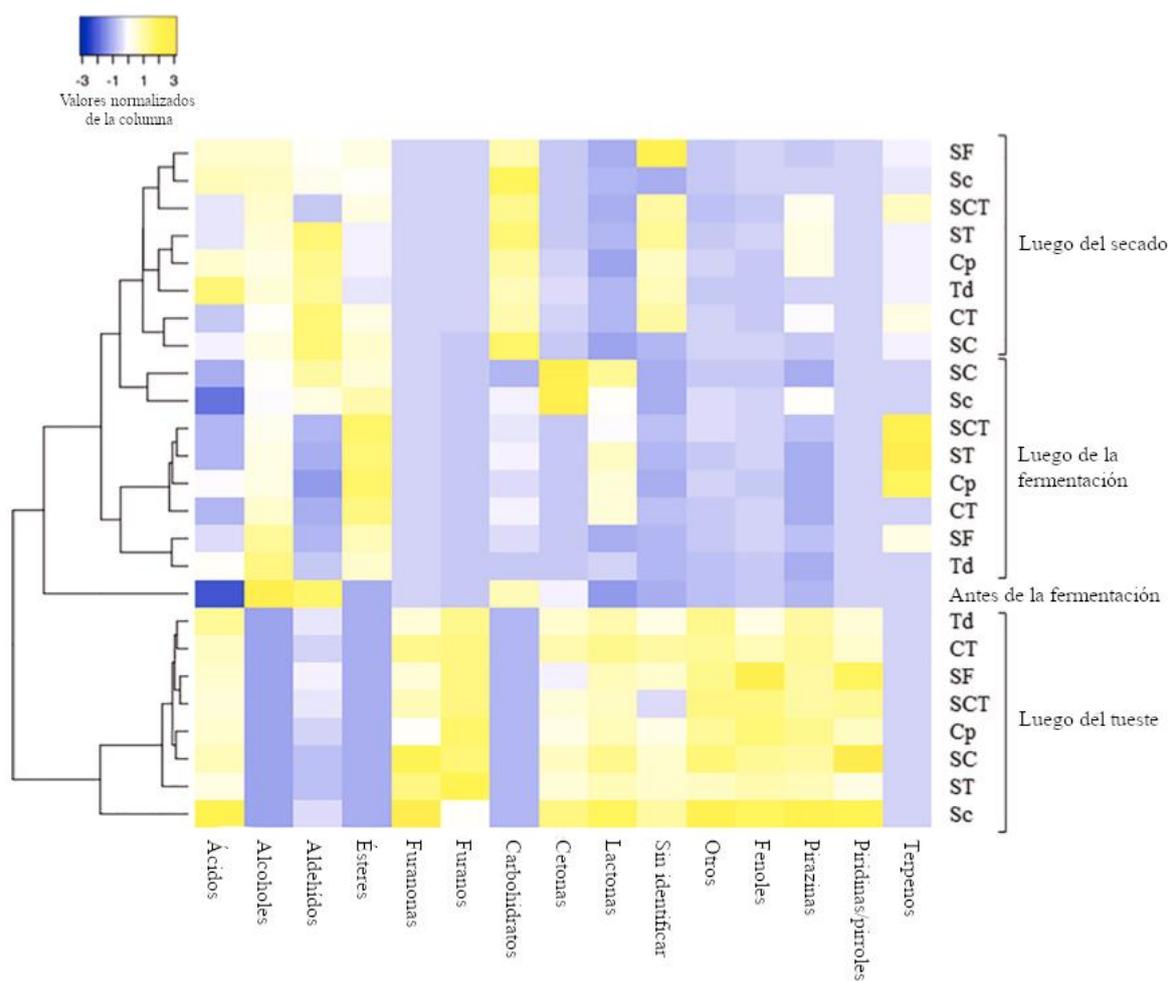
Se detectaron 164 compuestos volátiles diferentes en el café verde y tostado mediante microextracción en fase sólida acoplada a cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM) (material suplementario: cuadro 1 y 2). Los alcoholes y los aldehídos fueron las principales clases químicas encontradas antes de la fermentación. El 2-heptanol, el 3-etil-4-metilpentanol y el hexanal fueron los compuestos más abundantes hallados en el café antes de la fermentación (15,42 %, 12,97 % y 11,05 %, respectivamente). Solamente se detectó ácido acético (2,60 %).

Otras clases químicas, principalmente ésteres y lactonas, surgieron después de las 72 h de fermentación anaeróbica. El ácido octanoico (éster etílico, afrutado) fue el más abundante entre los ésteres tras la fermentación en un biorreactor cerrado, excepto en el tratamiento SC. Los tratamientos que mostraron la mayor abundancia de este compuesto fueron ST y Cp (17,57 % y 16,40 %, respectivamente). El tratamiento inoculado con Td produjo un aumento en la concentración de

alcoholes volátiles y algunas pirazinas tras las 72 horas de fermentación. Los compuestos 2-metilpirazina (nuez, tostado, dulce, almendra y picante) y 2,6-dimetilpirazina (cacao, café y nuez tostada) únicamente estuvieron presentes en el tratamiento Sc (material suplementario: cuadro 1). Solo los tratamientos Sc y SC produjeron muchas cetonas al final de la fermentación (fig. 3).

Hasta el final del secado, los grupos químicos sufrieron modificaciones, de los cuales los hidrocarburos, los aldehídos y las pirazinas fueron los más abundantes. Los tratamientos Sc, SC y ST presentaron las mayores concentraciones de hidrocarburos (9,56 %; 9,02 % y 8,84 %, respectivamente) (material suplementario: cuadro 1). Se hallaron las concentraciones más altas de pirazinas en los tratamientos Cp, CT, ST y SCT (fig. 3), de las cuales las más abundantes fueron la 2-etil-5-metilpirazina y la 2-metoxi-3-(2-metilpropil)pirazina. Se produjo salicilato de metilo (descriptor sensorial: caramelo y menta) tras las 72 h de fermentación y su concentración aumentó en todos los tratamientos hasta el final del secado.

Tras el tueste la concentración de alcoholes, aldehídos y ésteres disminuyó más del 90 %, 60 % y 90 %, respectivamente, y el único hidrocarburo detectado fue el tetradecano solo en el tratamiento Sc (0,26 %) (material suplementario: cuadro 2). Además, se produjeron furanonas, furanos, lactonas, pirazinas y pirroles/piridinas (fig. 3). Entre estos



**Figura 3.** Mapa de calor del grupo de compuestos volátiles, con las intensidades normalizadas, que presenta una diferencia significativa entre la fermentación espontánea y la inoculada (levaduras individuales y coinoculación). Sc: *S. cerevisiae*; Cp: *C. parapsilosis*; Td: *T. delbrueckii*; SC: *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis*; ST: *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii*; CT: *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii*; SCT: *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii* y SF: fermentación espontánea.

grupos, los principales compuestos encontrados tras el tueste fueron el 5-metil-2-furancarboxialdehído, el 2-furanmetanol; furfural y 2-etil-5-metilpirazina. Sin embargo, se detectaron más compuestos pertenecientes a las clases de lactonas y pirroles/piridinas en menor abundancia (<3 % y 1 %, respectivamente). Todos los tratamientos después del tueste presentaron una considerable concentración de ácido acético y las más altas se hallaron en los tratamientos Sc (22,84 %) y Td (18,62 %) (material suplementario: cuadro 2). Sin embargo, este ácido no parece estar directamente relacionado con la acidez del café y la puntuación final.

### 3.5. Cata de café

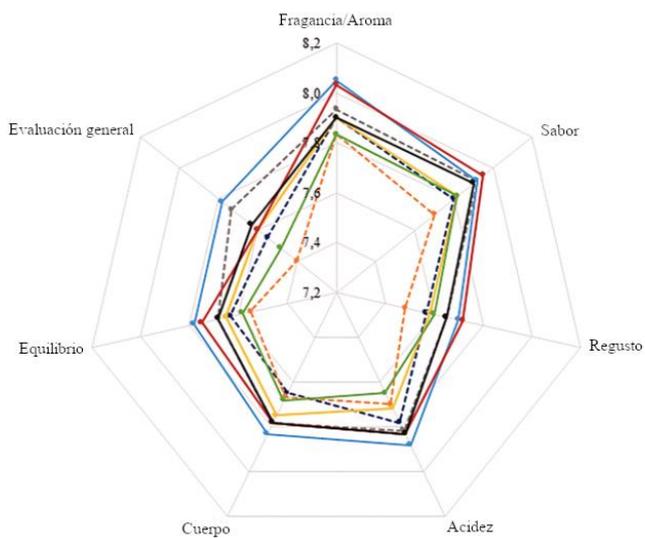
Se clasificaron todos los cafés como cafés de especialidad. En las figuras 4 y 5 se muestran los resultados del análisis sensorial de los cafés fermentados con y sin inoculación. Las puntuaciones de todos los atributos oscilaron entre

7,4 y 8,1 (fig. 4); sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$  mediante la prueba de Tukey). En comparación con los demás tratamientos, el Td obtuvo las puntuaciones más bajas para el sabor, el regusto y la evaluación general; en cambio, el tratamiento CT obtuvo las puntuaciones más altas para el aroma (8,1), la acidez (7,9), el cuerpo (7,8), el equilibrio (7,8) y la evaluación general (7,8). Este tratamiento obtuvo una puntuación inferior a la del tratamiento SCT debido a los atributos de sabor y regusto. Además, el cuerpo, el sabor general, el regusto y la acidez presentaron una correlación alta y positiva con la población de *C. parapsilosis* (0,924; 0,792; 0,793; 0,786; 0,738; respectivamente) y una correlación baja con *T. delbrueckii* y *S. cerevisiae* (<0,3) (material suplementario: cuadro 3).

El tratamiento Cp mostró puntuaciones más altas en comparación con los otros tratamientos inoculados con una sola levadura. Es posible notar que la diferencia más significativa entre este

tratamiento y la fermentación espontánea fueron los atributos de aroma y sabor generales. Los tratamientos Sc, SC y ST obtuvieron puntuaciones más bajas (83,9; 84,0 y 83,7, respectivamente) que la fermentación espontánea (84,4) (fig. 4). Estos resultados mostraron que la inoculación con *S. cerevisiae* CCMA 0543 en el café de baja altitud fue desfavorable en comparación con la fermentación espontánea (fig. 4). El tratamiento Td también fue desfavorable para el café de baja altitud de la región de Caparaó.

Los catadores Q Grader definieron además los descriptores sensoriales (fig. 5). Todas las muestras presentaron descriptores de chocolate y caramelo excepto el tratamiento Td, que solo presentó el descriptor chocolate. Se percibió el elemento descriptivo nuez/almendra solo en los tratamientos inoculados con *S. cerevisiae* CCMA 0543 (Sc, SC, ST y SCT). No se detectó el elemento descriptivo afrutado en CT, Td, ST, ni en la fermentación espontánea. Se percibió el elemento descriptivo pepino cuando se inoculó *T. delbrueckii* CCMA 0684 (Td) de forma indirecta (fig. 5) y obtuvo la puntuación final más baja (83,3), significativamente diferente de los otros tratamientos. A pesar de no contar con un elemento descriptivo diferente al de la fermentación espontánea, el tratamiento CT obtuvo



**Figura 4.** Puntuación media de los atributos evaluados mediante el protocolo de cata de la *Specialty Coffee Association* (cinco Q Graders). Se evaluaron los tratamientos por triplicado. Todos los tratamientos obtuvieron una puntuación de 10 en cuanto a la uniformidad, el dulzor y la taza limpia. Tratamientos: - - - Sc: *S. cerevisiae*; - - - Cp: *C. parapsilosis*; - - - Td: *T. delbrueckii*; — SC: *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis*; — ST = *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii*; — CT: *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii*; — SCT: *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii* y — fermentación espontánea.

la puntuación final más alta (85) y presentó una diferencia significativa respecto a los otros tratamientos (fig. 5), lo que puede atribuirse a las puntuaciones de los demás atributos evaluados (fig. 4).

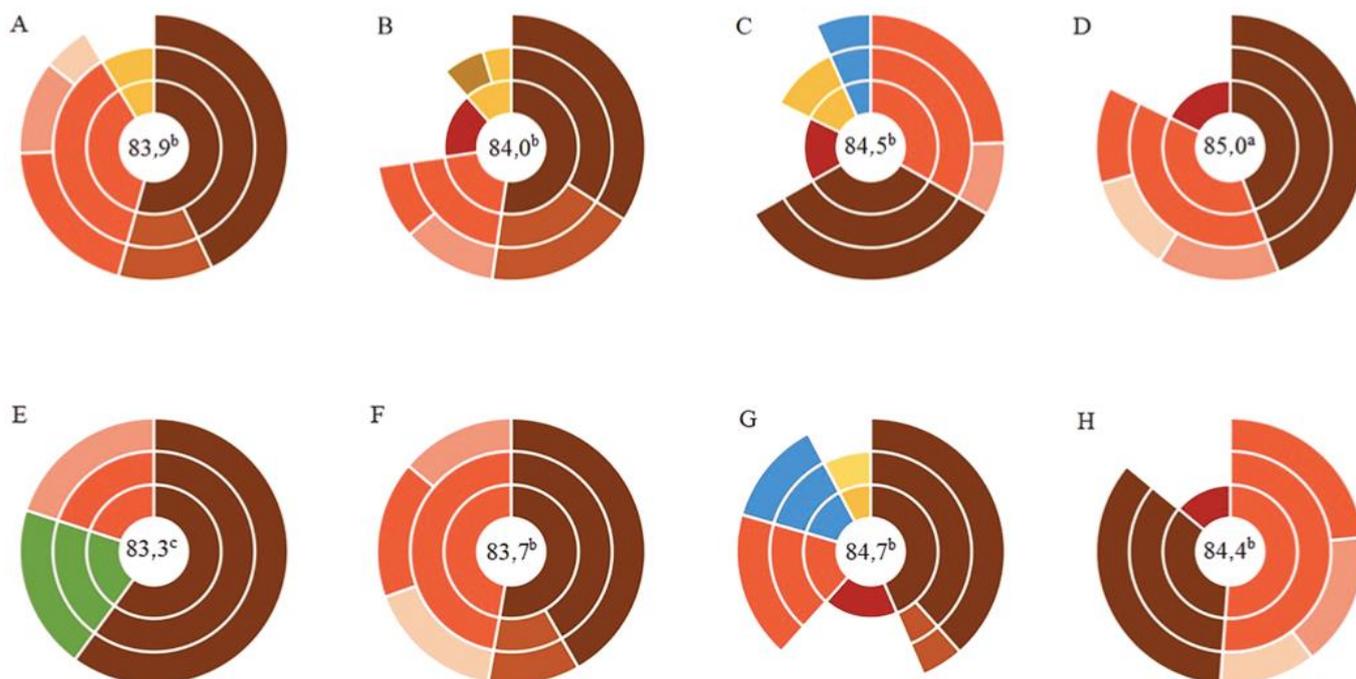
#### 4. Discusión

Las poblaciones de *S. cerevisiae*, *C. parapsilosis* y *T. delbrueckii* ya han sido monitoreadas por PCR cuantitativa en diferentes procesos durante la fermentación de café (Bressani *et al.*, 2018; da Mota *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2017). Sin embargo, es la primera vez que se utiliza esta técnica para monitorear la dinámica poblacional de las levaduras mediante coinoculación durante la fermentación de café. La población de *S. cerevisiae* aumentó desde inicio del secado hasta el día 9 debido a su condición de anaerobio facultativo (Lagunas, 1981).

La inoculación de cultivos iniciadores durante la fermentación fomenta la conservación, el valor nutritivo, las cualidades sensoriales y aumenta el valor económico del producto final. Además, la población debe ser capaz de llevar a cabo la fermentación, colonizar el producto e imponerse sobre otros microorganismos a lo largo del proceso (Silva *et al.*, 2013).

La fermentación del café resulta ser compleja y depende de una serie de poblaciones microbianas que desempeñan un papel específico. El crecimiento microbiano hizo aumentar la temperatura durante la fermentación (19,5 °C; temperatura ambiente: 17 °C) y esta, combinada con un entorno ácido, contribuye a la proteólisis de la semilla y a la formación de precursores del sabor para el posterior aroma del café (Muñoz *et al.*, 2019).

La planta de café produce ácidos orgánicos, como el cítrico, el málico y el succínico, y sus concentraciones pueden verse afectadas por los rasgos genéticos, las condiciones de crecimiento (la altitud, los métodos agrícolas y el grado de madurez del fruto), el método de poscosecha, el grado de tueste y el método de extracción (Diviš, Pořízka y Kříkala, 2019; Martínez *et al.*, 2017; Evangelista *et al.*, 2014). La microbiota presente utiliza esos ácidos como fuente de carbono en los procesos fermentativos complejos, como por ejemplo, la fermentación del ácido cítrico por las bacterias ácido lácticas (BAL). Además, la acidez constituye uno de los parámetros que interfieren en la calidad de la bebida y es esencial para la clasificación de los cafés de especialidad (Specialty Coffee Association, 2018). Se desea la presencia del ácido cítrico en el café, ya que también contribuye a la acidez, al sabor



**Figura 5.** Descriptores sensoriales y puntuación final del café fermentado. Tratamientos: A) Sc = *S. cerevisiae*; B) SC = *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis*; C) Cp = *C. parapsilosis*; D) CT = *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii*; E) Td = *T. delbrueckii*; F) ST = *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii*; G) SCT = *S. cerevisiae* + *C. parapsilosis* + *T. delbrueckii* y H) fermentación espontánea. Las agrupaciones de los descriptores siguen la rueda de sabores de la *Specialty Coffee Association* (■ cacao/chocolate, ■ nuez/almendra, ■ acaramelizado, ■ melaza, ■ miel, ■ fruta, ■ fruta seca, ■ fruta amarilla, ■ acidez cítrica, ■ especias y ■ pepino). Las diferentes letras minúsculas indican una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), por la prueba de Tukey. (Para la interpretación de las referencias a los colores en la leyenda de la figura se remite al lector a la versión web de este artículo).

afrutado y a bayas y a la claridad percibida en este último (Vandenberghe *et al.*, 2018). Este ácido puede haber contribuido a la percepción de acidez cítrica en los tratamientos Cp y SCT y afrutado en los tratamientos Sc, SC, Cp y SCT (fig. 5).

La producción de ácido succínico depende del rasgo genético de la cepa de levadura, de la temperatura de fermentación, de la composición química del medio de crecimiento y de la aireación. Su producción al final de la fermentación en un biorreactor cerrado (tratamientos Sc, Cp, SF) y al final del secado (tratamientos Cp, Td, SC, ST y CT) indicaría que las levaduras utilizaron el ciclo del glioxilato y el ciclo reductor del ácido cítrico para equilibrar el NADH/NAD (Ferreira y Mendes-Faia, 2020). Las BAL son un grupo heterogéneo distribuido en diferentes hábitats y conocidas como anaerobios aerotolerantes, es decir, toleran la presencia de oxígeno (Zotta *et al.*, 2018). La producción de ácido láctico indicó el crecimiento de las BAL durante la fermentación en biorreactores cerrados hasta el secado final, ya que las levaduras producen bajos contenidos de este ácido (Ferreira y Mendes-Faia, 2020). Las BAL promueven la fermentación maloláctica a través de la descarboxilación del ácido L-málico en el ácido L-

láctico (Ramírez y Velázquez, 2018). Las levaduras como *S. cerevisiae* pertenecen al grupo Krebs (-), que usan uno o más de los intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbónicos solo en presencia de glucosa u otras fuentes de carbono asimilables (Ferreira y Mendes-Faia, 2020).

El ácido cítrico también se convierte en ácido láctico y ácido acético, tras el metabolismo del piruvato, o en ácido succínico a partir del ciclo del ácido tricarbónico (Gänzle, 2015). El ácido acético también contribuye a la acidez final de la bebida (Bressani *et al.*, 2018) y resulta ser responsable del aroma afrutado, vinoso y fermentado (Seninde y Chambers IV, 2020). La producción de ácido acético depende de varios factores, como la cepa utilizada, el contenido de azúcar, el nitrógeno y las vitaminas del medio. Durante esta producción se activan las enzimas piruvato descarboxilasa, acetaldehído deshidrogenasa y acetil-CoA sintetasa. La síntesis de acetil-CoA a partir del ácido acético aumenta tras una expresión excesiva del gen ACS2 (Ferreira y Mendes-Faia, 2020). Las levaduras también producen ácido acético durante la fermentación (Pereira *et al.*, 2019) y este se halló en todos los tratamientos después de la fermentación y del secado final (material suplementario: cuadro 2).

Las diferentes regiones del espectro detectadas en la IR-TF se correlacionan con los compuestos que dan los diferentes aromas del café y corroboran la gran variedad identificada por la técnica MEFS-CG-EM. La región del espectro de  $1700\text{ cm}^{-1}$  es crucial porque está relacionada con los compuestos que le otorgan las distintas fragancias al café (Belchior *et al.*, 2019). El contenido de ácido carboxílico alifático contribuye a la acidez de la bebida y a la claridad percibida por el paladar (Lyman *et al.*, 2003). Los compuestos derivados de la trigonelina contribuyen a la calidad sensorial del café, en especial al aroma del café tostado (Belchior *et al.*, 2019).

Se produjeron diferentes compuestos al final de la fermentación en un biorreactor cerrado, en particular alcoholes y ésteres. Las levaduras degradan aminoácidos a través de la vía de Ehrlich (proceso catabólico) o utilizan el acetyl-CoA producido en la glucólisis para sintetizar ésteres (Pereira *et al.*, 2019). Se detectó el alcohol fenetílico (con olor agradable parecido a miel, rosa, madera y flores) en concentraciones considerables en todos los tratamientos (material suplementario: cuadro 1).

Del mismo modo, también se pueden producir alcoholes superiores, aldehídos, cetonas, terpenos, así como diferentes moléculas mediante el metabolismo del carbono y el nitrógeno (Dzialo *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2013).

Durante la fase aeróbica, los compuestos de pirazinas, hidrocarburos y aldehídos se producen con mayor intensidad y es así que se observó un aumento significativo de pirazinas, sobre todo en el tratamiento CT (fig. 3). Muñoz *et al.* (2019) afirmaron que el secado afecta significativamente a la calidad final del cacao, lo que modularía el sabor. Estos autores consideran que el secado ayuda a obtener el máximo desarrollo del sabor, ya que se producen alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos y pirazinas (Rodríguez-Campos *et al.*, 2012). Sin embargo, se necesita estudiar con más detalle los metabolismos de las levaduras en el café con procesamiento en seco.

El café se trata de una matriz compleja que contiene muchos compuestos volátiles, en especial después del tueste, por lo que es poco probable que un compuesto químico específico pueda determinar el sabor o el aroma de la bebida. El grupo carbonilo resultar ser esencial porque conforma diferentes clases químicas, como los aldehídos, los ésteres, las cetonas, los ácidos carboxílicos y las amidas. La presencia de este grupo puede afectar a los centros aromáticos y gustativos de la nariz y la boca, lo que aporta diferentes cualidades sensoriales. Por

ejemplo, según el tipo y la concentración de este grupo, los aldehídos tienen olores agudos, que van desde olor a madera hasta pepino, fruta cocida y frutos secos. Las cetonas tienen los mismos olores pero menos acentuados. Los ácidos presentan aromas que van desde el vinagre hasta el chocolate o el caramelo quemado y algunos no presentan ningún olor (Lyman *et al.*, 2003).

La formación de furanos después del tueste se debe en parte a la caramelización del azúcar o a una reacción del azúcar y un aminoácido. Éstos alcanzan una concentración máxima en un tueste medio y otorgan aromas dulces, a caramelo y a quemado a las bebidas de café (Seninde y Chambers IV, 2020). Las pirazinas y las cetonas se forman mediante la reacción de Maillard (azúcares y aminoácidos) (Gonzalez-Rios *et al.*, 2007) y la 2-etil-5-metilpirazina (con sabor similar a café y jarabe de azúcar) fue un compuesto relevante, ya que se halló en todas las muestras, pero en menor concentración en la fermentación espontánea.

La disminución de la concentración de ésteres tras el tueste puede relacionarse con el aumento de los ácidos carboxílicos en todos los tratamientos, principalmente el ácido acético. Este mostró una mayor concentración cuando se inoculó con *S. cerevisiae* CCMA 0543 (Sc) y *T. delbrueckii* CCMA 0684 (Td) (material suplementario: cuadro 2).

Para calcular la puntuación final se suman las puntuaciones de cada atributo y se restan los defectos. Por otro lado, la puntuación de la evaluación general se basa en la experiencia sensorial de cada catador, ya que se trata de una apreciación personal. En este caso, el equilibrio y el cuerpo estuvieron más correlacionados sobre todo con esta última. La coinoculación de *T. delbrueckii* y *C. parapsilosis* con una población de alrededor de  $10^6$  células/g presentó las notas más altas de acidez, cuerpo, aroma, equilibrio y evaluación general. A diferencia de otros estudios (da Mota *et al.*, 2020; Bressani *et al.*, 2018; Evangelista *et al.*, 2014), los tratamientos Sc, Td y ST obtuvieron puntuaciones sensoriales más bajas que la fermentación espontánea, aunque estos hayan sido clasificados previamente como cafés de especialidad. Este resultado indica que las características peculiares de la región de Caparaó influyen en la microbiota y, como consecuencia, modifican su metabolismo. Sin embargo, las diferencias de los descriptores sensoriales de cada tratamiento son esenciales porque satisfacen la demanda de diferentes nichos de consumidores y aumentan los descriptores. La fermentación mediante cultivos iniciadores aporta

diferentes notas; por ejemplo, a frutas, a frutos secos/almendra y a ácido cítrico (fig. 5), así como también provee atributos más equilibrados en la bebida (fig. 4). El efecto del terruño, la cantidad y la combinación de diferentes levaduras también deben considerarse al evaluar la influencia de la fermentación en la calidad del café.

## 5. Conclusiones

La inoculación de levaduras por separado o en conjunto en la fermentación influye en la calidad de los cafés de baja altitud. Los cafés inoculados con poblaciones de levadura alrededor de  $10^6$  células/g obtuvieron las más altas puntuaciones sensoriales. Los análisis químicos, como la cromatografía y la IR-TF, son esenciales para determinar la formación o pérdida de metabolitos a lo largo del proceso de poscosecha y después del tueste (como los ácidos, los compuestos volátiles y la cafeína). Por otro lado, la inoculación de levaduras da lugar a diferentes descriptores sensoriales y diferencias en los demás atributos evaluados. Se notó el sabor a especias en todos los tratamientos inoculados con *C. parapsilosis* CCMA 0544 y las notas a nueces/almendras están presentes en los tratamientos inoculados con *S. cerevisiae*. La combinación de levaduras no pertenecientes al género *Saccharomyces* (*C. parapsilosis* CCMA 0544 y *T. delbrueckii* CCMA 0684) resulta ser el cultivo iniciador más indicado para el café de baja altitud (600 m), ya que presentó la mejor puntuación final evaluada por catadores Q Grader (puntuación de 85). Debido a los prometedores resultados, la fermentación con coinoculación de levaduras debe incluirse en el procesamiento poscosecha de los cafés de baja altitud. Además, se deben realizar más estudios en cafés de diferentes variedades y altitudes