



AVANCES TÉCNICOS

402

Cenicafé

Gerencia Técnica / Programa de Investigación Científica / Diciembre de 2010
Fondo Nacional del Café

FUNDAMENTOS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN EL BENEFICIO DEL CAFÉ

Gloria Inés Puerta Quintero*

Las fermentaciones son procesos metabólicos de las levaduras y de varias bacterias que transforman compuestos químicos orgánicos, principalmente azúcares, en otras sustancias orgánicas más simples como etanol, ácido láctico y ácido butírico.

hace miles de años, con el fin de preservar los alimentos y para producir bebidas y comestibles con sabores, texturas y aromas específicos, como el yogur, quesos, kumis, chocolate, cerveza, vinos, panes y encurtidos. En los últimos

siglos, mediante las fermentaciones se han desarrollado diversos antibióticos, medicamentos, ácidos y combustibles, entre otros productos industriales.

Los procesos de fermentación han sido usados por el hombre desde

*Investigador Científico
III. Calidad y Manejo
Ambiental. Centro Nacional
de Investigaciones de Café.
Cenicafé, Chinchiná, Colombia.



En café, en la etapa de fermentación que se desarrolla en el beneficio húmedo, ocurren varios procesos de transformación del mucílago, que incluyen despolimerizaciones, fermentaciones, oxidaciones, cambios físico-químicos y se producen ácidos y otros compuestos. De esta forma, el mucílago se descompone y se desprende del grano, y las sustancias formadas se eliminan de los granos por medio del lavado. El tipo y la cantidad de las sustancias producidas en la fermentación dependen de los microorganismos, de la calidad del sustrato y de las condiciones en el beneficio del café.

La separación del mucílago del grano de café es necesaria en el beneficio húmedo, para facilitar el secado del grano y producir bebidas suaves, y además, es crítica para la calidad del grano y de la bebida, debido a que cualquier defecto que se ocasione por falta de control es un daño irreversible, que no se puede modificar en los procesos siguientes del beneficio, ni en la preparación de la bebida (9). Los defectos más comunes que se originan por fermentaciones no controladas son los granos vinagres, manchados y decolorados, y los aromas y sabores agrios, a cebolla, a sucio, rancio y el conocido nauseabundo o *stinker* (7).

Para entender mejor estos procesos de degradación, se presentan algunas generalidades acerca de los nutrientes, los microorganismos, la descomposición de las sustancias orgánicas, las enzimas, los metabolismos celulares y los tipos de fermentación.

Los nutrientes. Son las sustancias químicas requeridas por las células vivas para realizar el metabolismo de biosíntesis llamado anabolismo y el catabolismo o degradación, del cual se obtiene la energía necesaria para el crecimiento y funcionamiento de los organismos.

La molécula de ATP (trifosfato de adenosina) es la molécula de energía de las células y está conformada por un nucleótido¹ de tres fosfatos, del cual se producen por hidrólisis y rompimiento de sus enlaces el ADP (difosfato de adenosina), un grupo fosfato y la energía. Las plantas, las algas y algunas bacterias, mediante la fotosíntesis, transforman la energía del sol en ATP, pero

los hongos y la mayoría de animales y microorganismos obtienen la energía al consumir plantas y otros animales, vivos o en descomposición, los cuales están formados de sustancias orgánicas e inorgánicas (14).

Los nutrientes se clasifican en proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, sales minerales y agua. Las proteínas se componen de aminoácidos, contienen carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y algunas azufre, además, tienen diferentes funciones en las células de los seres vivos como estructura, formación, regulación, defensa, contracción, transporte, catálisis, entre otras, y se encuentran principalmente en las carnes, los huevos, los lácteos, los pescados y las legumbres.

Por su parte, los lípidos son insolubles en agua, comprenden los triglicéridos y los fosfolípidos que contienen fósforo; incluyen los aceites vegetales, las grasas de animales, las ceras de abejas y conforman las membranas celulares, las hormonas y los ácidos biliares. Del mismo modo, las principales fuentes de minerales y vitaminas son las frutas, verduras, carnes y lácteos. Mientras que los carbohidratos o glúcidos son la principal fuente de energía de todos los seres vivos, contienen C, H y O, y en su estructura varios grupos hidroxilo (-OH) y un grupo carbonilo aldosa (-CHO) o uno cetosa (C=O) (3, 5, 19). Los carbohidratos se clasifican de acuerdo con el número de azúcares en la molécula (Tabla 1).

Cabe anotar que los monosacáridos y los disacáridos son dulces y solubles en agua, y los disacáridos y los polisacáridos se pueden hidrolizar mediante enzimas o con soluciones acuosas de ácidos, para producir los correspondientes disacáridos y monosacáridos.

Los compuestos pécticos están formados por moléculas de ácido D-galacturónico con diferentes grados de esterificación con grupos metilo -CH₃, y también contienen azúcares como L-ramnosa, D-galactopiranososa y L-arabinofuranosa (19). Éstos incluyen los ácidos pécticos o ácido poligalacturónico no esterificado y sus pectatos, la protopectina insoluble en agua, los ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación y sus

¹Sustancias formadas por pentosas (azúcares de cinco carbonos) como la ribosa, una base nitrogenada como la adenina y uno o varios grupos fosfatos. Tienen diferentes funciones en el metabolismo celular, sistema inmunológico, síntesis de proteínas, absorción de los nutrimentos y conformación de los ácidos nucleicos.

Tabla 1. Clasificación y ejemplos de carbohidratos.

| Carbohidratos | | Azúcares | Fuente |
|--|-----------------------|---|---|
| Monosacáridos Con tres a siete carbonos | Glucosa o dextrosa | Glucosa | Sangre, leche, almidón, glucógeno |
| | Fructosa o levulosa | Fructosa | Frutas, uvas, miel |
| | Galactosa | Galactosa | Hidrólisis de la lactosa |
| | Ribosa | Ribosa | Base de los ácidos nucleicos |
| | Ramnosa | Ramnosa metilado | Frutos y vegetales, polímeros de pectinas, lipolisacáridos de algunas bacterias |
| Disacáridos | Sacarosa | Glucosa y fructosa | Caña de azúcar, remolacha |
| | Lactosa | Glucosa y galactosa | Leche de mamíferos, glicolípidos del sistema nervioso |
| | Maltosa | Glucosa | Granos germinados de la cebada, también se obtiene de la hidrólisis del almidón |
| Oligosacáridos de tres a nueve monosacáridos | Rafinosa | Galactosa y sacarosa | Legumbres, arveja |
| | Fructo-oligosacáridos | Fructosa y glucosa | Fibra soluble, tomate, cebolla, ajo, plátano, alfalfa, puerro, espárrago |
| | Maltodextrina | Glucosa | Se obtiene del almidón |
| Polisacáridos Conformados por diez a miles de azúcares | Almidón | Amilosa y amilopeptina Polímero de la glucosa | Sustancia de reserva de las plantas, tubérculos, cereales y legumbres |
| | Celulosa | Polímeros de la glucosa | Sustancia estructural de las paredes celulares de los vegetales, papel, madera, algodón |
| | Glucógeno | Polímeros de la glucosa | Se almacena en el hígado y en los músculos de humanos y animales |
| | Hemicelulosa | Pentosas, hexosas, pentosanos, hexosanos, ácidos urónicos | Tallos de plantas, maderas, cáscaras de frutas, cereales integrales |
| | Pectina | Ácido galacturónico | Cáscaras y mucílago de los frutos |
| | Gomas | Varios | Algarrobo, alerce, microorganismos |

sales, los pectinatos y las pectinas que contienen ácidos pectínicos. El ácido galacturónico es un azúcar ácido natural de la galactosa.

Las sustancias pécticas se extraen de las cáscaras de las frutas, en especial de los cítricos, la manzana y la guayaba, y también conforman la pulpa y el mucílago de café (6, 12). Las pectinas se usan en las industrias farmacéutica y cosmética y en alimentos para mejorar su textura como en las mermeladas, donde se aprovecha la propiedad de las pectinas de formar geles y jaleas cuando se mezclan y cocinan con jugos de azúcares y con ácidos y polialcoholes (3).

Los azúcares también se catalogan en **reductores y no reductores**. Se dice que un azúcar es reductor cuando puede oxidarse. En las reacciones *redox* ocurre una

transferencia de electrones y, por lo tanto, los elementos, iones o compuestos cambian su número de oxidación. Estas reacciones suceden en forma simultánea: un elemento se oxida, cede los electrones, y el otro elemento se reduce, acepta los electrones. En el caso de las sustancias orgánicas, como los carbohidratos, la reducción ocurre cuando aumentan los enlaces con el hidrógeno en los átomos de carbono y la oxidación cuando el sustrato dona o pierde hidrogeniones (5, 14).

Los monosacáridos son reductores, la maltosa y la lactosa son reductores, pero la sacarosa es un azúcar no reductor. Esta característica reductora de los azúcares sirve para diferenciar aldosas de cetosas y para verificar la calidad de los productos obtenidos en las fermentaciones.

Los microorganismos. Comprenden las bacterias, los hongos, las levaduras, los virus y algunas algas, y como su nombre lo indica son seres microscópicos, con diferentes formas y requerimientos para su crecimiento. Las bacterias, hongos y levaduras descomponen diversos compuestos y contribuyen al equilibrio ambiental; algunos son patógenos, otros deterioran los alimentos, muchos son beneficiosos para la salud y varios son aprovechados en diferentes industrias.

Los microbios requieren para su desarrollo de agua, proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, y condiciones ambientales y propiedades específicas,

como temperatura, actividad del agua, pH, potencial de óxido-reducción y presencia o ausencia de oxígeno (4, 8, 14). Estas propiedades se pueden modificar mediante tratamientos térmicos, procesos de acidificación y fermentaciones y con los empaques.

Los principales microorganismos fermentadores son las levaduras, las bacterias lácticas, *Lactobacillus* spp. y *Streptococcus* spp., las *Enterobacteriaceae*, algunas especies de *Clostridium* y las bacterias propiónicas y metánicas (4, 13, 14) (Tablas 2 y 5). Las levaduras son anaerobias facultativas, crecen en presencia de oxígeno, pero en medios anaerobios fermentan los azúcares.

Tabla 2. Tipo, condiciones y propiedades del sustrato para el desarrollo de algunos microorganismos fermentadores.

| Factores del sustrato | Levaduras | Bacterias lácticas | Bacterias <i>Enterobacteriaceae</i> | Bacteria <i>Clostridium butyricum</i> |
|---|--|--|---|--|
| Hábitat frecuente | Sustancias ricas en carbohidratos como frutos, granos y cereales | Leche, vegetales, intestino y mucosas de humanos y animales | Intestinos humanos y animales, cavidad bucal, fosas nasales, genitales, suelos, agua y vegetales | Tracto intestinal de animales y humanos, frutas, y vegetales |
| Temperatura | Son mesófilas, la mayoría crece entre 5 y 39°C, con óptimos de 28 a 35°C. Varias entre 3 y 10°C | Son mesófilas, crecen óptimamente entre 25 y 30°C, pero pueden reproducirse a 0°C | Son mesófilas, entre 22 y 37°C | Se desarrollan entre 10 y 65°C, forma esporas |
| Presencia o ausencia de oxígeno (aerobiosis o anaerobiosis) | Son anaerobias facultativas, crecen mejor en presencia de oxígeno; en ausencia de oxígeno fermentan la glucosa | Son aerobias microaerófilas, necesitan oxígeno en concentración inferior al aire, 5 al 10%; en ausencia fermentan los azúcares | Son anaerobias facultativas, oxidan sustancias en condiciones aeróbicas; en ausencia de oxígeno fermentan glucosa y lactosa | Anaerobia, fermenta azúcares, ácidos y aminoácidos |
| Gases en el ambiente como N ₂ o CO ₂ | Inhiben su crecimiento, aunque son más resistentes que los hongos | Inhiben su crecimiento | Favorecen el crecimiento | Favorecen el crecimiento de las bacterias anaerobias |
| Actividad del agua (aw) | aw entre 0,84 y 0,97 aw 0,62 para las levaduras osmotolerantes | Superior a 0,94 | Superior a 0,95 | Superior a 0,95 |
| pH | La mayoría entre 3,5 y 4,5, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> tolera pH entre 2,3 y 8,6 | pH de 3,8 a 7,2, pero toleran medios muy ácidos entre 2,3 y 4,0 | La mayoría a pH entre 4,0 y 9,0 | Crece a pH neutro de 7,0 a 7,4 |
| Potencial redox, Eh ² (mv) | +200 a + 400 | -300 a +100 | -200 a +100 | -300 a + 30 |

Potencial de óxido-reducción. Se mide en milivoltios e indica la tendencia de una sustancia a ceder o ganar electrones (oxidarse o reducirse). A mayor valor positivo la sustancia gana electrones y para valores más negativos o menos positivos la sustancia se oxida.

Por su parte, las bacterias lácticas son aerobias microaerófilas, es decir, viven en ambientes con concentración de oxígeno inferior a la del aire, y sin oxígeno fermentan los carbohidratos para producir ácido láctico. Las bacterias entéricas son anaerobias facultativas y producen fermentaciones lácticas, fórmicas y de otras mezclas de ácidos. En tanto que las especies de *Clostridium* producen diversas neurotoxinas, incluso *C. butyricum*, que por fermentación produce ácido butírico.

Las enzimas. Las enzimas son sustancias químicas orgánicas que elaboran las células de los organismos vivos, humanos, animales, microorganismos y vegetales. Su función es la biocatálisis, es decir, la aceleración de las reacciones químicas en las células, la disminución de la energía de activación y por lo tanto, el aumento de la velocidad o cantidad de producto formado por unidad de tiempo.

Así, estas sustancias hacen que sean más rápidas las transformaciones de sustancias orgánicas complejas en otras más simples, sin necesidad de modificar la temperatura, la presión o la concentración del sistema. Estos biocatalizadores tienen la propiedad de actuar sobre una sustancia o sustrato específico, del cual se obtiene uno o varios productos y, además, poseen forma y estructura particulares. Las enzimas son específicas al pH del medio. Las enzimas digestivas se degradan a temperaturas superiores a 60°C y por debajo de 0°C, pero en general, las enzimas son activas hasta 100°C.

Algunas enzimas están formadas solo de proteínas, como las enzimas digestivas, que aceleran el metabolismo de las proteínas, los carbohidratos y los lípidos de los alimentos para obtener los aminoácidos, la glucosa y los ácidos grasos, respetivamente. Sin embargo, la mayoría de las enzimas están formadas por una proteína y por otras sustancias llamadas cofactores o coenzimas. Los iones metálicos Fe^{+2} , Mg^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , son cofactores en enzimas como la ureasa, catalasa, hidrogenasa, nitrato reductasa y alcohol-deshidrogenasa (14, 16, 17).

Por su parte, compuestos orgánicos como vitaminas del grupo B, C, E, K y los nucleótidos conforman las coenzimas. Cabe destacar la dinucleótido de nicotinamida adenina, abreviada NAD^+ en su forma

oxidada y NADH en su condición reducida, que contiene la vitamina B3 y es una de las coenzimas que intercambian electrones e hidrogeniones en las células de todos los seres vivos para la producción de energía (14).

Las coenzimas no son específicas respecto a las enzimas que se unen y por consiguiente, una misma coenzima puede unirse a un gran número de enzimas distintas. Se han identificado cerca de 4.000 enzimas, sus nombres científicos terminan en el sufijo *asa* y según la reacción que catalicen se clasifican en seis grupos que son: oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas (17, 19, 20).

La mayor parte de las enzimas son intracelulares, se elaboran en el interior de las células y catalizan reacciones dentro de las células. Pero algunas son extracelulares, se producen en el interior de las células y luego son eliminadas al exterior, como las enzimas digestivas, las proteasas, las pectinasas y las celulasas.

Muchas enzimas se extraen de algunas bacterias y hongos, de los cereales como la cebada, y del estómago y glándulas de varios animales, y se usan para la producción de quesos, concentrados para animales, detergentes, textiles de lana, seda, algodón y fibras sintéticas, medicamentos, panes, jugos, bebidas alcohólicas y papel, entre otros. Las principales enzimas industriales son: las proteasas como las tripsinas, la papaína y la renina, quimosina o cuajo; las carbohidrasas que comprenden las amilasas como la diastasa de la cebada germinada, que convierte en azúcares los almidones de la papa, yuca y maíz, que luego pueden fermentarse en alcohol; la lactasa; y la invertasa que cataliza la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y fructosa; las lipasas como las lipolasas; y las enzimas oxidativas que son las catalasas y las peroxidasas (2, 9, 14, 15, 16, 17, 19, 20).

Las pectinasas se usan en el procesamiento de vegetales, vinos, jugos, textiles y comprenden la poligalacturonasa, la pectinestearasa, la pectinaliasa y la pectatoliasa (19). Por su parte, las enzimas celulolíticas hidrolizan la molécula de la celulosa en su monómero, la glucosa, y las hemicelulasas son muy usadas en la panadería (2, 7).

Descomposición de las sustancias orgánicas. El desarrollo de estos procesos depende de varios factores como la disponibilidad de oxígeno y de agua, la luz, el tipo de organismo y la composición química de la sustancia (Tabla 3). En general, los vegetales almacenados son descompuestos por mohos y bacterias aerobias, en tanto que los productos de origen animal como carnes, quesos y conservas son degradados tanto por microorganismos anaerobios como anaerobios facultativos (3, 4, 19).

Metabolismo celular. Consiste en las reacciones *redox* que ocurren dentro de las células de todos los organismos vivos para la producción de energía. Comprende los metabolismos de síntesis o de formación de enlaces químicos para la elaboración de proteínas, lípidos, coenzimas y polisacáridos, y también las degradaciones de los compuestos como la digestión, la respiración celular y la fermentación, donde se obtienen sustancias más simples y se libera energía.

Los electrones e hidrogeniones liberados en las reacciones *redox* del metabolismo celular son transferidos a varias enzimas de una manera secuencial, hasta que al final del proceso una molécula toma los electrones y así se reduce (14, 16, 18). De esta forma, dependiendo del tipo de organismo y de la sustancia receptora final de los hidrogeniones o de los electrones se diferencian tres tipos de metabolismos, que son: la respiración aerobia, la respiración anaerobia y la fermentación, cuyas características se resumen en la Tabla 4. Es de

anotar que la glicólisis es la primera etapa de todos los metabolismos celulares.

Respiración celular aerobia. Requiere de oxígeno, el cual es tomado por las personas y los animales de la atmósfera a través de los pulmones, las branquias, la tráquea o la piel, y por los vegetales mediante los estomas ubicados en las hojas. En este proceso se oxidan completamente moléculas como la glucosa y se forma dióxido de carbono, agua y energía.

Respiración celular anaerobia. Este proceso es realizado por bacterias anaerobias estrictas y facultativas de los géneros *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Desulfovibrio*, *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Methanopyrus*, *Shewanella*, *Geobacter*, *Geospirillum* y *Geovibrio*. Estas bacterias predominan en los suelos, pantanos, mucosas y en partes del cuerpo donde hay poco oxígeno, como la placa dental, las vías respiratorias altas, los genitales, el intestino, el colon, y a veces se encuentran en las glándulas sebáceas de la piel (1, 4).

A diferencia de la respiración aerobia, en la anaerobia no hay un grupo único de reacciones que la describan, pero en ésta también se presenta una serie de enzimas transportadoras de electrones, hasta que los hidrogeniones son transferidos a la sustancia receptora disponible que puede ser nitrato, sulfato, nitrito o dióxido de carbono. De esta forma, se oxidan las coenzimas que

Tabla 3. Procesos de transformación de sustratos orgánicos, según las condiciones de oxigenación.

| Degradación | Sustrato | Microorganismos | Proceso | Productos |
|-------------|----------------------------|--------------------|---|--|
| Aerobia | Carbohidratos | Bacterias, enzimas | Oxidación completa, respiración celular | Dióxido de carbono (CO ₂) y agua (H ₂ O) |
| | Proteínas | Bacterias | - | CO ₂ , iones amonio (NH ₄ ⁺), iones sulfato (SO ₄ ⁼) y agua |
| | Lípidos | Bacterias | Enranciamiento | Ácidos grasos |
| Anaerobia | Azúcares, lactosa, glucosa | Bacterias lácticas | Fermentación láctica | Ácido láctico (CH ₃ CH(OH)-COOH) |
| | Azúcares, glucosa | Levaduras | Fermentación alcohólica | CO ₂ y etanol (CH ₃ CH ₂ -OH) |
| | Proteínas | Bacterias | Putrefacción | CO ₂ + metano (CH ₄) + sulfuro de hidrógeno (H ₂ S) + ión amonio (NH ₄ ⁺) |

Tabla 4. Características de los metabolismos celulares.

| Características | Respiración aerobia | Respiración anaerobia | Fermentación |
|---|---|--|--|
| Organismos | Bacterias aerobias, humanos, animales, vegetales, algas | Bacterias anaerobias estrictas y bacterias facultativas | Levaduras y bacterias anaerobias, aerotolerantes o anaerobias facultativas |
| Requerimiento de oxígeno | Sí | No | No |
| Descripción del proceso | Oxidación completa de la glucosa, obtenida de los azúcares, de la desaminación de las proteínas y de la hidrólisis de los lípidos | Óxido-reducción de azúcares, ácidos dicarboxílicos, ácido láctico y moléculas inorgánicas como hidrógeno, azufre, amoníaco y iones metálicos | Oxidación incompleta de sustancias orgánicas como la glucosa, para producir otros compuestos orgánicos |
| Etapas del metabolismo | Glicólisis, descarboxilación oxidativa, ciclo de Krebs, cadena respiratoria, fosforilación oxidativa, liberación de energía | Glicólisis, transferencia de hidrogeniones a las sustancias receptoras, reoxidación de enzimas, liberación de energía | Glicólisis, oxidación de la sustancia orgánica, formación de productos y liberación de energía |
| Sustancia receptora de los hidrogeniones o electrones | Oxígeno | Moléculas inorgánicas como nitratos, sulfatos, CO_2 | Moléculas orgánicas como los azúcares |
| Productos formados | CO_2 y H_2O | N_2 , Sulfuros S_2 , CH_4 , Fe^{+2} | Etanol, ácido láctico, ácido butírico, ácido málico, CO_2 , metano |
| Energía | Se producen neto 36 moléculas de ATP por cada mol de glucosa | 2 moléculas de ATP | Se producen 2 moléculas de ATP por cada mol de glucosa |

fueron reducidas durante la oxidación de los nutrientes y se forman diferentes productos inorgánicos como H_2S y amoníaco. En el metabolismo anaerobio se genera menos energía que en la respiración aerobia (4, 14). La respiración anaerobia es diferente de la fermentación, en la cual no se requiere de oxígeno, pero tampoco de algún otro receptor externo de electrones o hidrogeniones.

Fermentación. Es un proceso catabólico de oxidación de sustancias orgánicas para producir otros compuestos orgánicos y energía. Los procesos de fermentación son realizados por levaduras y bacterias en ausencia de oxígeno.

En las fermentaciones no interviene la cadena de transporte de electrones, de esta forma el receptor final de los electrones del NADH, que se produce en la glicólisis es un compuesto orgánico con poco poder

oxidante, el cual se reduce para volver a oxidar el NADH a NAD^+ (14, 15). Las moléculas de ATP producidas en las fermentaciones son consumidas por los mismos microorganismos.

Los carbohidratos son los principales sustratos que se fermentan, pero algunas bacterias pueden fermentar otros compuestos como ácidos orgánicos, aminoácidos, purinas y pirimidinas. Los azúcares que se fermentan son la glucosa, la fructosa, la maltosa, la sacarosa y la lactosa, los cuales se obtienen de la caña de azúcar, las melazas, los jugos de las frutas, la remolacha y el suero de la leche.

Las fermentaciones ocurren naturalmente a condiciones ambientales en las frutas y vegetales. Por el contrario, en la industria, estos sustratos y granos y leche con microorganismos específicos se depositan en biorreactores o fermentadores, para producir diversos

alimentos, medicamentos, bebidas alcohólicas, derivados lácteos, encurtidos de vegetales, glicerina, ácidos, alcoholes y cetonas, entre otros (15).

Con las fermentaciones se conservan los alimentos debido al alcohol y a los ácidos producidos, y se forman diversos compuestos que dan sabores, aromas y texturas, como el acetaldehído que confiere al yogur su aroma característico, el diacetilo que da el sabor y aroma a la mantequilla, y los ésteres y los aldehídos que componen el aroma del vino.

Tipos de fermentación. Existen varios tipos de fermentación según el microorganismo, el sustrato y las condiciones (Tabla 5).

Alcohólica. Es realizada principalmente por levaduras que producen etanol y CO_2 . Cuando hay oxígeno las levaduras realizan la respiración, crecen, oxidan completamente la glucosa y así obtienen el ATP, pero en condiciones de anaerobiosis, estos microorganismos fermentan azúcares, como la glucosa y algunas la lactosa. Así, la glucosa se transforma en ácido pirúvico, siguiendo la secuencia de reacciones de la glucólisis, y luego, el ácido pirúvico se transforma en acetaldehído mediante la enzima piruvato Descarboxilasa, seguidamente el acetaldehído se convierte en etanol por medio de la enzima alcohol-deshidrogenasa (4, 14, 15).



La fermentación etílica se usa para la producción de los vinos, cervezas y bebidas destiladas. Adicionalmente, la celulosa de la madera y los residuos agrícolas se convierten en azúcares fermentables mediante una hidrólisis previa con ácidos inorgánicos o con enzimas y, luego se obtiene el bioetanol por fermentación alcohólica.

De acuerdo con los sustratos y las cepas, en las fermentaciones por levaduras se obtienen otros alcoholes como propanol, butanol, isobutanol, pentanol, y además, glicerina, ácido succínico, ésteres, aldehídos, cetonas, aminas y compuestos de azufre, entre otros. De otra parte, algunas bacterias *Enterobacter*, *Costridium* y *Lactobacillus* producen etanol, como producto secundario de las fermentaciones de hexosas y pentosas (4, 14, 19).

Láctica. Es realizada por las bacterias *Lactobacilacea* y *Enterobacteriaceae*, algunos protozoos y también en los músculos esqueléticos humanos, y consiste en la obtención de ácido láctico a partir de azúcares. En la fermentación láctica el piruvato producido en la



Tabla 5. Tipos de fermentación y sus productos industriales.

| Tipo de fermentación | Microorganismos fermentadores | Sustratos | Productos |
|----------------------------|--|--|--|
| Alcohólica o etanólica | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. ellipsoideus</i> , <i>S. anamensis</i> , <i>S. carlsbergensis</i> , <i>Candida seudotropicalis</i> , <i>Torulopsis</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Kluyveromyces fragilis</i> , <i>Sarcina ventriculi</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> | Malta de cebada, cereales, arroz, maíz, trigo, jugo de la vid, caña de azúcar, melaza, sorgo, jugos de frutas, remolacha, suero de leche, soya | Etanol, vinos, cerveza, licores, bebidas destiladas, pan, salsas |
| Láctica homofermentativa | <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>S. lactis</i> , <i>S. faecalis</i> , <i>Pediococcus cerevisiae</i> y por la mayoría de los <i>Lactobacillus</i> como <i>L. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> . | Leche, suero de leche, vegetales, sacarosa | Yogur, suero de leche, quesos, mantequilla, kumis, encurtidos |
| Láctica heterofermentativa | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> y <i>L. fermenti</i> , <i>Bifidobacterium bifidus</i> . | Leche, suero de leche, vegetales, sacarosa | |
| Propiónica o propanoica | <i>Propionibacterium freundenreichii</i> , <i>P. shermanii</i> , <i>P. pentosaceum</i> , <i>Micrococcus lactylicus</i> , <i>Clostridium propionicum</i> , entre otras | Productos lácteos, glucosa, sacarosa, lactosa, pentosas, ácido láctico, ácido málico, glicerina | Ácido propiónico, ácido acético y otros ácidos |
| Butírica o butanoica | <i>Clostridium butyricum</i> y <i>Clostridium</i> spp. | Polisacáridos (almidón, glucógeno, pectina), glucosa, proteínas, aminoácidos, purinas, etanol, ácido úrico, xantina | Ácidos butírico, acético, fórmico, láctico, succínico, butanol y otros alcoholes y cetonas |
| Fórmica o ácidomixta | <i>Enterobacter</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Aerobacter aerogens</i> , <i>Erwinia</i> spp., <i>Serratia marcescens</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Salmonella thyphi</i> , <i>Shigella</i> spp., y las bacterias luminosas | Glucosa o lactosa | Ácidos, acético, láctico, málico, fórmico, vinagre, glicerina y disolventes |
| Metánica | <i>Methanobacterium omelianskii</i> , <i>M. formicium</i> y <i>M. ruminantium</i> , <i>Methanosarcina methanica</i> , <i>M. barkeri</i> , <i>Methanococcus mazei</i> y <i>M. vannielii</i> | Alcoholes, ácidos, CO ₂ | Gas metano |
| Maloláctica | <i>Leuconostoc oenos</i> | Ácido málico | Vinos blancos y rojos, cidra |

glicólisis se transforma en ácido láctico mediante la enzima lactato-deshidrogenasa (13, 14, 20). El ácido láctico contribuye a la acidez y sabor de productos lácteos, vegetales, legumbres, cereales, carnes, y además, permite mejorar su estabilidad microbiológica e inocuidad, ya que restringe el crecimiento de otras bacterias que causan su descomposición.

Las bacterias lácticas se clasifican en homofermentativas y heterofermentativas según los productos obtenidos (4, 13, 14). Las bacterias **homofermentativas** producen más del 90% de ácido láctico a partir de la glucosa, y solo se forma una pequeña cantidad de alcohol, anhídrido carbónico y acetoína, dependiendo de

la disponibilidad de oxígeno. Esta fermentación es realizada por *Streptococcus lactis*, *S. faecalis*, *S. termophilus*, *Pediococcus cerevisiae* y por la mayoría de los *Lactobacillus* como *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* y *L. casei*.

En el proceso **heterofermentativo** se obtiene ácido láctico, alcohol y ácido acético o anhídrido carbónico. *Leuconostoc mesenteroides* fermenta la glucosa a alcohol, ácido láctico y anhídrido carbónico, pero convierte la ribosa en ácido acético y ácido láctico. Por otra parte, *Lactobacillus brevis* y *L. fermenti* y también la *Bifidobacterium* producen ácido láctico, alcohol y ácido acético.

Propiónica. Es producida por bacterias anaerobias del género *Propionibacterium*, que predominan en la panza o rumen y tracto intestinal de los rumiantes y producen ácidos grasos. A partir del ácido láctico, en ausencia de oxígeno, se producen ácido propiónico, ácido acético, dióxido de carbono y agua.

Butírica. En ausencia de oxígeno *Clostridium butyricum* fermenta la lactosa y produce ácido butírico, ácido acético, dióxido de carbono y H₂; otros clostridios producen butanol, acetona, alcohol isopropílico y gases H₂ y CO₂. En este tipo de fermentación se generan olores desagradables, como a mantequilla rancia y a sudor. Se puede producir en el ensilado de pastos y forrajes.

Fórmica. Es realizada por las *Enterobacteriaceae*. A partir de la glucosa *Escherichia coli* produce etanol, ácidos succínico, láctico, acético, fórmico y gases H₂ y CO₂, pero no produce butilenglicol. *Aerobacter aerogens* produce estos ácidos, excepto el ácido succínico, y grandes cantidades de butilenglicol, etanol y CO₂. El ácido fórmico no es el principal ácido formado en esta fermentación.

Metánica. Se lleva a cabo por las bacterias metánicas, que son anaerobias obligadas. Esta fermentación se presenta después de que otros microorganismos han fermentado los sustratos y se han producido alcoholes y ácidos grasos, H₂ y CO₂, luego éstos son transformados en metano y agua.

Maloláctica. Consiste en la transformación del ácido málico en ácido láctico y CO₂ por bacterias lácticas *Leuconostoc*. El ácido málico está contenido en el hollejo de las uvas y en la pulpa de muchas frutas. Para algunos vinos este proceso se hace después de la fermentación alcohólica, con el fin de reducir su acidez y para desarrollar ciertos compuestos y sabores.

Es oportuno destacar algunos procesos de **oxidaciones incompletas aerobias** de la materia orgánica, que son diferentes a las fermentaciones. Estos procesos incluyen, la acetificación y la producción de ácido cítrico, donde se requiere de oxígeno y de microorganismos aerobios.

Acetificación. Parte del vinagre que se usa en la mesa y en la industria de alimentos se obtiene por la vía bioquímica, que consiste en inocular con bacterias

aerobias como *Acetobacter* y *Gluconobacter* al etanol que se obtiene por fermentación alcohólica; de esta forma, se oxida a acetaldehído por medio de la enzima alcohol-deshidrogenasa y, luego, se convierte en ácido acético por la enzima acetal-deshidrogenasa (2, 14, 20).

Ácido cítrico. Este ácido se forma en el ciclo de los ácidos tricarbónicos del metabolismo celular aerobio, a partir de la glucosa, también se encuentra en el jugo de los limones y las naranjas. Además, varias especies de los hongos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Candida*, *Saccharomycopsis* y *Trichoderma* producen ácido cítrico (4, 14). El ácido cítrico se utiliza como acidulante, saborizante y conservante de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Para su producción industrial se usan diferentes sustratos y cepas de *Aspergillus niger*.

La fermentación en el beneficio del café



El café baba o despulpado contiene el mucílago que es la materia prima que se fermenta. La calidad y cantidad de esta materia prima depende de varios factores, principalmente de la madurez del fruto y del control en el despulpado. El promedio de la proporción en peso del mucílago en el fruto de café fresco verde es de 1,26%, en el pintón 8,31%, en el maduro alcanza 10,00% y en el sobremaduro 8,99%, mientras que en el fruto seco en el árbol o en el suelo no hay mucílago. Con respecto al café despulpado, el mucílago representa en promedio

el 14,80%, 18,19% y 16,70% del peso húmedo de los granos pintones, maduros y sobremaduros, respectivamente.

El mucílago de café fresco contiene cerca de 90% de agua, 1% de proteínas, 0,45% de minerales, 0,1% de lípidos y 8% a 10% de carbohidratos, con 2,4% a 7,4% de azúcares reductores (11, 12). De otra parte, los principales microorganismos del mucílago de café son levaduras *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* y *Rhodotorula*; las bacterias *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*; y algunos hongos, cuyo recuento depende de la manipulación de los frutos de café durante la recolección y de las condiciones en que permanecen los granos en el beneficio del café (10).

Usualmente, en el beneficio del café, para la etapa de fermentación natural los granos despulpados se depositan en tanques sin tapa y se dejan allí, con o sin agua, hasta su lavado y secado. Durante este período y dependiendo de los microorganismos, las enzimas naturales, la composición del sustrato y las condiciones, ocurren varios procesos, entre los que se encuentran:

- Crecimiento de microorganismos
- Respiración celular aerobia
- Fermentación alcohólica por las levaduras del mucílago
- Fermentaciones lácticas por las bacterias lácticas
- Despolimerización e hidrólisis de las sustancias pécticas por pectinasas naturales
- Formación de disacáridos y monosacáridos
- Acetificación del alcohol obtenido de las fermentaciones
- Fermentaciones propiónica, butírica y otras despolimerizaciones y degradaciones
- Acidificación del medio y variación del pH. Así, cuando no se adiciona agua al tanque el promedio del pH inicial del mucílago es de 5,36 y varía a 3,45 a las 16 a 18 horas de proceso; y cuando se agrega agua, el pH inicial es de 5,64 y cambia a 4,23.
- Cambios en el color, olor, densidad y °Brix del mucílago.
- Formación de etanol, dióxido de carbono, agua y diversos ácidos carboxílicos como láctico, málico, acético, propiónico, butírico, cítrico, succínico,

y aldehídos y cetonas, entre otros compuestos orgánicos

- Generación de energía y cambios en la temperatura de la masa de café
- Evaporación de agua

Es necesario precisar que el mucílago de café no es degradado completamente durante las 14 a 18 horas de la fermentación natural. Sin embargo, este tiempo es suficiente para facilitar su desprendimiento del grano y para eliminar las sustancias formadas mediante el lavado, y así producir café de muy buena calidad.

Literatura citada

1. ALCALÁ, L.; BETRIU, C.; GARCÍA S., J. E.; REIG, M. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2004. [En línea]. Disponible en Internet: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap16.htm>. (Consultado en febrero 2010).
2. DELLWEG, H. Biotechnologie. Weinheim : VCH, 1987. 324 p.
3. KAIRUZ DE C., L. A. Introducción al estudio de la composición de los alimentos. Bogotá : Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2002. 162 p. (Colección Julio Carrizosa Valenzuela No. 10).
4. KRÄMER, J. Lebensmittelmikrobiologie. Stuttgart : Eugen Ulmer, 1987. 270p.
5. MATISSEK, R.; SCHNEPEL, F.M.; STEINER, G. Lebensmittelanalytik. Berlin : Springer- Verlag, 1992. 440p.
6. MINJARES C., A.; VINIEGRA G., G.; AUGUR, C. Comparative studies of pectinase production by *Aspergillus niger* in solid state and submerged fermentations. Production of Enzymes and their Applications: Chapter 28. p. 347-353. En: ADVANCES in solid state fermentation. (2 : Febrero 27-28 1997 : Montpellier). Dordrecht : Kluwer Academic Publishers : 1997. 630p.
7. PUERTA Q., G. I. Frecuencia de defectos en la bebida de café. p. 20-32. En: INFORME anual de actividades de investigación. Disciplina Calidad y Manejo Ambiental. Chinchiná. Cenicafé, 2007, 87p.
8. PUERTA Q., G.I. La humedad controlada del grano preserva la calidad del café. Chinchiná: Cenicafé, 2006, 8p. (Avances Técnicos No. 352).

9. PUERTA Q., G.I. Riesgos para la calidad y la inocuidad del café en el secado. Chinchiná: Cenicafé, 2008, 8p. (Avances Técnicos No. 371).
10. PUERTA Q., G. I.; MARÍN M., J. OSORIO B, G.A. Composición microbiológica del mucílago de café. P. 44-45. En: INFORME anual de actividades de investigación. Disciplina Química industrial. Chinchiná. Cenicafé, 1996, p.v.
11. PUERTA Q., G. I.; RÍOS A., S. Composición química del mucílago de café. p. 2-3. En: INFORME anual de actividades de investigación. Disciplina Química industrial. Chinchiná. Cenicafé, 1996, p.v.
12. RODRÍGUEZ V., N. Caracterización del mucílago de café utilizado como materia prima para la producción de pectinas. p.34. En: INFORME anual de actividades de investigación. Disciplina Química industrial. Chinchiná. Cenicafé, 1999, 90p.
13. SALMINEN, S.; WRIGHT, A. VON. Lactic acid bacteria. Nueva York : Marcel Dekker, 1993. 442p.
14. SCHLEGEL, H.G. Microbiología general. Barcelona : Ediciones Omega, 1979. 448 p.
15. STANBURY, P.F.; WHITAKER, A. Principles of fermentation technology. Oxford : Pergamon Press, 1984. 255 p.
16. TREVAN, M.D.; BOFFEY, S.; GOULDING, K.H.; STANBURY, P. Biotecnología: principios biológicos. Zaragoza : Acribia, 1990. 284 p.
17. WISEMAN, A. Manual de biotecnología de las enzimas. Zaragoza : Acribia, 1991. 444 p.
18. WISEMAN, A. Principios de biotecnología. Zaragoza : Acribia S.A., 1986. 252p.
19. WONG, D.W.S. Química de los alimentos: Mecanismos y teoría. Zaragoza : Acribia, 1989. 476 p.
20. WOOD, B.J.B. Microbiology of fermented foods. Londres : Blackie Academic and Professional, 1998. 440p.

Caficultor



Para lograr buena calidad y sabores consistentes en la bebida de café de la finca, es necesario realizar una **fermentación controlada**, así:

- Especificar y estandarizar la calidad del café baba que se deposita en el tanque
- Medir y vigilar las condiciones de higiene, los materiales, el agua y el oxígeno en la fermentación
- Fijar el tiempo que permanecen los granos de café en el proceso de fermentación
- No dejar los granos de café inmersos en los ácidos generados en la fermentación, por tiempos indeterminados o variables
- En el lavado del café, retirar completamente del grano las sustancias de degradación obtenidas
- Secar los granos de café en capas delgadas y en condiciones higiénicas

Edición: Sandra Milena Marín L.
Fotografía: Gonzalo Hoyos Salazar
Diagramación: María del Rosario Rodríguez L.
Imprenta:

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.

Cenicafé
Centro Nacional de Investigaciones de Café
"Pedro Uribe Mejía"

Chinchiná, Caldas, Colombia
Tel. (6) 8506550 Fax. (6) 8504723
A.A. 2427 Manizales
www.cenicafe.org
cenicafe@cafedecolombia.com