

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ, SEGÚN EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN Y REFRIGERACIÓN

Gloria Inés Puerta-Quintero*; Sara Ríos-Arias**

RESUMEN

PUERTA Q., G.I.; RÍOSA., S. Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. Cenicafé 62 (2): 23-40. 2011

En Colombia, la mayoría de los caficultores procesan el café por fermentación y en varias fincas el mucílago se remueve mecánicamente del grano. Para determinar las degradaciones y estabilidad del mucílago de café hasta su posible uso y disposición, se cuantificaron los contenidos de agua, cenizas, lípidos, proteínas, azúcares totales, azúcares reductores, fibra, alcohol, acidez total y el aporte calórico del material fresco, fermentado a temperatura promedio de 20,5°C y conservado en refrigeración, a 6,6°C, hasta por 74 horas. El mucílago fresco presentó entre 85% a 91% de agua y entre 6,2% y 7,4% de azúcares, constituidos por 63% de azúcares reductores. El contenido de azúcares y las levaduras y bacterias del mucílago de café explican su propiedad perecedera, y la ocurrencia de su fermentación natural. Durante la fermentación a temperatura ambiente, los azúcares totales y reductores del mucílago de café disminuyeron, aumentó la acidez, se formó el etanol y se degradaron los lípidos. En refrigeración estos cambios fueron más lentos y se retrasaron las fermentaciones alcohólica y láctica, y se conservaron hasta por 24 horas las características del mucílago de café. La refrigeración se recomienda para el almacenamiento del mucílago de café hasta su utilización como sustrato de fermentación o en otros procesos agrícolas, industriales o pecuarios, también como forma de conservación del café despulpado hasta su procesamiento. Los resultados de esta investigación contribuyen al conocimiento sobre la química y la cinética de la fermentación del café.

Palabras clave: Beneficio, almacenamiento, azúcares reductores, alcohol, acidez, calorías.

ABSTRACT

In Colombia, most coffee growers process coffee by fermentation and in several farms, the mucilage is removed mechanically from the grain. In order to determine the degradation and stability of coffee mucilage until its possible use and disposal, the contents of water, ash, lipids, proteins, total sugars, reducing sugars, fiber, alcohol, total acidity and caloric intake of the fresh material, fermented at an average temperature of 20.5°C and stored under refrigeration at 6.6°C for up to 74 hours were quantified. The raw mucilage showed between 85% and 91% of water and between 6.2% and 7.4% of sugars, which consisted of 63% of reducing sugars. The content of sugars, as well as the yeasts and bacteria from coffee mucilage, explain their perishable property and the occurrence of its natural fermentation. During fermentation at room temperature, the total and reducing coffee mucilage sugars dropped, the acidity increased, ethanol was formed, and the lipids were degraded. These changes were slower under refrigeration conditions, alcoholic and lactic fermentations were also delayed, and coffee mucilage features were preserved up to 24 hours. Refrigeration is recommended for storing coffee mucilage until it is used as fermentation substrate or in other agricultural, industrial or livestock processes, it is also a way of preserving pulped coffee until it is processed. The results of this research contribute to knowledge about the chemistry and kinetics of coffee fermentation.

Keywords: Processing, storage, reducing sugars, alcohol, acidity, calories.

* Investigador Científico III. Disciplina de Calidad. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

** Tecnóloga Química. Auxiliar IV de Investigación (hasta 1999). Disciplina de Química Industrial. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

En los países cafeteros se han usado diversos métodos, prácticas y condiciones de beneficio para retirar el mucílago del grano de café. En Colombia, el café se procesa en las fincas por el método húmedo, y la mayoría de los caficultores usan el proceso de fermentación con el fin de separar el mucílago de los granos, para lo cual dejan los granos despulpados sin agua, en tanques abiertos, otros adicionan agua o dejan los granos inmersos en agua durante varias horas después de la fermentación. Además, en algunas fincas grandes, se usa el desmucilagador mecánico para remover el mucílago de café, y así se obtiene un residuo en menor tiempo, comparado con la fermentación, pero que es necesario disponer o utilizar de forma adecuada, para evitar su vertimiento directo a las fuentes de agua.

El mucílago y las mieles fermentadas de café se generan en forma discontinua, en cantidades que dependen de la producción de café, en cada época y zona cafetera colombiana. Así mismo, las cantidades de mucílago en los frutos y granos de café varían con la madurez del fruto, es así como los frutos maduros y frescos contienen en promedio 10,4% (entre 1,1% y 27,3%) en peso de mucílago y los granos despulpados un 18,8%. En consecuencia, por cada tonelada de café cereza que se procese en la finca pueden obtenerse entre 80 y 140 kilogramos de mucílago, según la madurez y la cantidad de agua usada en el desmucilagado mecánico.

Las fermentaciones son procesos bioquímicos realizados por levaduras, bacterias y enzimas, que degradan principalmente los azúcares de los sustratos (24, 30, 31). El mucílago de café está compuesto esencialmente por agua, azúcares y sustancias pécticas (12, 15, 19, 20, 29) y contiene principalmente levaduras de los géneros *Saccharomyces*,

Torulopsis, *Candida* y *Rhodotorula*, así como bacterias lácticas *Lactobacillus* y *Streptococcus*, y otras bacterias y hongos (3, 8, 21, 22, 26). El recuento y tipos de microorganismos en la fermentación del café dependen de los contenidos en la cereza y mucílago y de las condiciones ambientales, como la temperatura y gases, entre otros (24, 25, 31).

Por su composición microbiana y química, el mucílago se fermenta en forma natural en las condiciones ambientales de las zonas cafeteras que presentan temperaturas que pueden variar entre el día y la noche de 12 a 34°C. La velocidad de estas degradaciones depende del sistema de fermentación y la temperatura externa también influye en el desarrollo y metabolismo de los microorganismos.

La refrigeración, la congelación y el enfriamiento se usan precisamente como métodos para conservar las características de los alimentos y productos durante el almacenamiento. La refrigeración consiste en mantener los productos a temperaturas bajas, en general de 1 a 8°C, este método permite retrasar la velocidad de degradación, inhibe el crecimiento de los microorganismos termófilos y de algunos mesófilos, y así, disminuye la actividad de las enzimas de los microorganismos presentes en el sustrato.

Se han desarrollado varios estudios sobre los posibles usos del mucílago de café como materia prima en la producción de etanol, pectinas, alimentación animal, entre otros (1, 2, 3, 9, 10, 12, 13, 16, 27, 28), y también se encuentran algunas publicaciones sobre la composición química de este subproducto (3, 12, 13, 15, 19, 20).

Para determinar las degradaciones y estabilidad de este residuo hasta su posible uso y disposición, se cuantificaron los contenidos

de agua, cenizas, lípidos, proteínas, azúcares totales y reductores, fibra, alcohol, acidez total y el aporte calórico del mucílago de café fresco, fermentado a temperatura promedio de 20,5°C y conservado en refrigeración a 6,6°C, por tiempos sucesivos de hasta 74 horas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El experimento se realizó en los laboratorios de Cenicafé, Manizales (Caldas), localizados a 5° 00' latitud Norte, 75° 36' longitud Oeste y 1.310 m de altitud, con un promedio de temperatura 20,7°C, temperatura máxima de 27,4°C, temperatura mínima de 16,5°C y humedad relativa del 78%.

Origen del café. Se procesaron muestras de *Coffea arabica* L. variedad Colombia de fruto rojo. El café fue cultivado en fincas ubicadas en Chinchiná y en lotes experimentales de la Estación Central Naranjal localizada en Chinchiná, a 04° 58' latitud Norte, 75° 39' longitud Oeste, 1.381 m de altitud, donde se presentan las siguientes condiciones climáticas: temperatura 21,3°C, humedad relativa 78%, precipitación anual de 2.634 mm, con 237 días de lluvia y 1.690 horas de brillo solar.

Beneficio del café. Para obtener la mayor cantidad de frutos de café maduros, las cerezas se recolectaron de forma selectiva, en fechas de acuerdo a las floraciones. Luego, en el beneficiadero, cada lote de café recibido se pasó por una zaranda de motor y por selección manual, para retirar frutos verdes, secos y pintones, después el café se despulpó sin agua y se pasó por una zaranda de motor para retirar pulpas y frutos sin despulpar, posteriormente se desmucilagino mecánicamente en un equipo con capacidad de carga de 600 kg/h de café cereza y un flujo de agua de 1,6 L/min.

El mucílago obtenido se fermentó en canecas plásticas, en sistemas discontinuos, estáticos y abiertos. Durante los días de ejecución de esta investigación, la temperatura del aire varió de 15,4 a 30,5°C (promedio 20,5°C), humedad relativa del 81,7% (37,0% a 98,0%), según datos climáticos de Cenicafé. La temperatura de almacenamiento en refrigeración varió entre 4,8 y 8,0°C y la humedad relativa de 51,2% a 65,0% (promedios 6,6°C y 58%, respectivamente), mediciones efectuadas con termohigrómetro.

Diseño experimental. Se evaluaron 20 tratamientos, en un diseño completamente aleatorio, con arreglo factorial, dos condiciones de temperatura, ambiente y refrigeración, por diez tiempos sucesivos de fermentación y refrigeración del mucílago de café (Tabla 1); el experimento se repitió dos veces. La unidad experimental para la fermentación fue de 50 kg de mucílago de café.

Análisis químicos del mucílago. De cada fermentador y hora de tratamiento se sacaron por duplicado 2 kg de mucílago y se batieron por porciones, en una licuadora doméstica, durante 2 min., la mezcla se pasó por un cedazo para retirar las impurezas gruesas y, luego, se tomaron muestras en las cantidades requeridas para cada análisis.

VARIABLES MEDIDAS. En el mucílago fresco, fermentado y refrigerado se midieron los contenidos de agua, cenizas, K, P, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, lípidos, nitrógeno, azúcares totales y reductores, fibra, alcohol, acidez total y el aporte calórico.

La proteína se estimó con el contenido de nitrógeno y el factor 6,25. Las calorías del mucílago se cuantificaron como la suma de las calorías suministradas por los carbohidratos, proteínas totales, lípidos y alcoholes, mediante las relaciones 4 cal/g para carbohidratos,

Tabla 1. Tratamientos y tiempos de fermentación y refrigeración del mucílago de café.

Tratamiento	Condición de temperatura	Tiempo (h)
Amb-0	Ambiente	0
Amb-4	Ambiente	4
Amb-8	Ambiente	8
Amb-20	Ambiente	20
Amb-26	Ambiente	26
Amb-31	Ambiente	31
Amb-44	Ambiente	44
Amb-52	Ambiente	52
Amb-68	Ambiente	68
Amb-74	Ambiente	74
Refri-0	Refrigeración	0
Refri-4	Refrigeración	4
Refri-8	refrigeración	8
Refri-20	refrigeración	20
Refri-26	refrigeración	26
Refri-31	refrigeración	31
Refri-44	refrigeración	44
Refri-52	refrigeración	52
Refri-68	refrigeración	68
Refri-74	refrigeración	74

4 para proteínas, 9 para lípidos y 7 para alcoholes. Los carbohidratos se estimaron como la diferencia entre 100, la humedad, las cenizas, los compuestos orgánicos y el estimado del dióxido de carbono producido en las fermentaciones del mucílago; las sustancias pécticas como la diferencia entre el contenido de carbohidratos y los azúcares totales y la fibra.

Se siguieron los métodos de la A.O.A.C. (5). Todas las metodologías se estandarizaron previamente en el laboratorio con muestras de mucílago fresco, refrigerado y fermentado. En la Tabla 2 se indican las unidades de los resultados para cada variable medida.

Análisis de resultados. Se determinaron promedio, mínimo, máximo y la desviación típica para cada variable, tiempo y condición, análisis de varianza y comparación de las medias con la prueba T entre las condiciones para cada tiempo, y mediante la discriminación Duncan entre los tiempos para cada condición, a un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se observan los contenidos de los compuestos químicos del mucílago de café fresco, obtenido mecánicamente con 1,6 L de agua por minuto. El mucílago fresco presentó en promedio 89,1% de agua, de

Tabla 2. Métodos de determinación de los componentes químicos del mucílago de café.

Determinación química	Unidad	Método	Cantidad de muestra	Equipo
Humedad	%, b.h.*	Desecación en estufa A.O.A.C. 925.45	5 g	Estufa
Cenizas	%, b.s. **	Calcificación a 500°C A.O.A.C. 7.009/84, 942.05/90, 900.02, 44.1.05.D	2 g	Mufla
Minerales K, P, Ca, Mg Mn, Fe, Cu, Zn	%, b.s.	Digestión ácida de cenizas Espectrometría de absorción atómica A.O.A.C. 990.08	Cenizas obtenidas de 2 g	Espectrofotómetro de absorción atómica
Lípidos	%, b.s.	Extracción con bencina A.O.A.C. 7.060/84, 920.39/90	1 g seco	Extractor de grasas Soxhlet
Nitrógeno total	%, b.h.	Kjeldahl A.O.A.C. 973.48	5 g	Digestor y titulador
Fibra cruda	%, b.s.	A.O.A.C. 7.066/84, 962.09/90	El residuo libre de grasa obtenido de 1 g seco	Fibertec
Azúcares totales	%, b.h.	Método de Lane Eynon con hidrólisis ácida. A.O.A.C. 31.034/84, 923.09	20 g	Buretas, plancha de calentamiento
Azúcares reductores	%, b.h.	Método de Lane Eynon. A.O.A.C. 31.034/84, 923.09	15 g	Buretas, plancha de calentamiento
Almidón	mg/mL	Reacción con yodo A.O.A.C. 935.24, 27	1 mL	Beaker, gotero
Acidez total	mg CaCO ₃ /L mucílago, b.h.	Reacción con yodo A.O.A.C. 935.24, 27	5 mL	Titulador
Alcoholes	%, b.h.	Oxidación con dicromato y titulación con sulfato ferroso amonio A.O.A.C.969.12	25 g	Destilador y Titulador

*b.h. base húmeda, **b.s. base seca

esta forma es un sustrato para fermentación muy húmedo al compararlo con la pulpa de café, que contiene 74,8% a 76,7% (9, 15), la caña de azúcar de 73% a 76% y las uvas 78,5%. El promedio medido del contenido de humedad del mucílago de café fue mayor que los valores reportados por Martínez (19) y por Calle (13), 84,2% y

75,0%, respectivamente; por su parte, Rolz *et al.* (29), presentan valores entre 79,9% y 93,6%, y Arias y Ruiz (3), obtuvieron valores de 87,9% y 92,2% de agua en el mucílago de café. Estas diferencias pueden deberse a la madurez del fruto y también por el agua adicionada en el procesamiento del café y en el desmucilaginado mecánico.

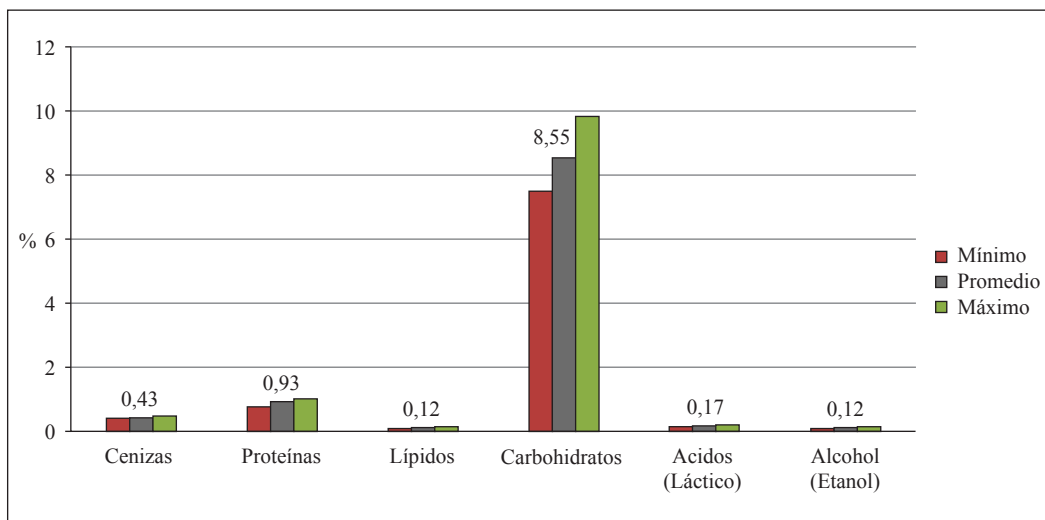


Figura 1. Composición química del mucílago de café, en base húmeda.

La materia seca representó del 9,0% al 14,9% del peso del mucílago de café fresco, conformada principalmente por carbohidratos, con un valor promedio de 81,4%, seguido de los compuestos nitrogenados con 8,7% y las cenizas con 4,04% en base seca (b.s.). La materia seca del mucílago de café disminuyó durante la fermentación, debido a las degradaciones de la materia orgánica y a la producción y emisión del dióxido de carbono.

La composición química inicial del mucílago de café fresco, procesado en condiciones ambiente y en refrigeración no presentó diferencias significativas. Por el contrario, entre la fermentación y la refrigeración se presentaron diferencias en las degradaciones de las sustancias químicas contenidas en el mucílago de café. En la Figura 2 se presenta la variación de los contenidos de humedad, cenizas, proteínas, lípidos, fibra, azúcares totales y reductores del mucílago de café, durante la fermentación a temperatura ambiente promedio de 20,5°C y en refrigeración a temperatura promedio de 6,6°C, hasta por 74 horas. Igualmente, se

presentan las ecuaciones de ajuste exponencial para las degradaciones de los compuestos del mucílago de café en el tiempo.

Agua. En la condición ambiente, el promedio del contenido de humedad del mucílago de café varió de 88,6% inicial al 92,4% a las 74 horas de fermentación, y presentó el menor valor promedio (87,7%) a las 31 horas, que podría deberse a evaporación del agua durante la fermentación, debido a los cambios de temperatura ambiente entre el día y la noche. Posteriormente, se registró un aumento significativo del contenido de agua con el tiempo de fermentación del mucílago desde las 44 horas (Tabla 3), el cual se debe a la formación de agua en la oxidación del etanol obtenido de la fermentación alcohólica y también al agua producida en la respiración celular de los microorganismos (24).

En refrigeración, la humedad del mucílago de café se mantuvo entre 88,6% y 90,4%, sin cambios estadísticamente significativos en el tiempo. Entre condiciones se presentaron diferencias significativas en la humedad

promedio del mucílago de café a las 8 horas con un valor mayor en el refrigerado de 90,18%, y a las 68 horas con un valor mayor en la condición ambiente de 92,6%.

Cenizas. Representaron en promedio el 0,43% del peso del mucílago húmedo fresco, 2,95% a 4,62% en base seca. Por su parte, Martínez (19) reportó 0,65% de cenizas en base húmeda en el mucílago de café, Calle (13) 2,7% en b.s., y Pee y Castelein (22) citan 0,845% en b.h. de datos de Coleman *et al.* (1955) y 4,12% en b.s. de datos de Nadal (1959), mientras que Arias y Ruiz (3) presentaron valores de 0,33% y 0,35% de cenizas en b.h. Estas diferencias pueden deberse a las variedades usadas en estos estudios.

El contenido de cenizas del mucílago de café no varió estadísticamente en el tiempo y se mantuvo entre 0,42% y 0,47% en refrigeración y entre 0,42% y 0,53% en ambiente. El mucílago de café presentó en promedio 1,60% de K, 0,21% de Ca, 0,10% de P, 0,08% de Mg, 0,040% de Fe, 0,007% de Zn, 0,004% de Mn y 0,002% de Cu, (en base seca). Martínez (19) reportó 1,63% de

Ca y 0,64% de Fe en el mucílago, valores muy altos con respecto a los encontrados en este estudio.

Se hallaron diferencias significativas entre las condiciones, ambiente y refrigeración a las 4 horas para el contenido de P y Mn, con un mayor valor en el mucílago fermentado; a las 8 h hubo mayor contenido de Fe, en refrigeración; a las 26 h mayor contenido de Mn en condiciones ambiente; a las 44 h el Fe fue mayor en refrigeración; a las 52 h el Zn fue mayor en ambiente; a las 68 h fueron mayores los contenido de Mg y Cu a temperatura ambiente, y a las 74 h el K, P, Ca, Mn y Cu presentaron los mayores valores promedio en la condición ambiente.

Lípidos. Representaron en promedio el 0,12% del peso del mucílago fresco (0,86% a 1,45% en base seca). A temperatura ambiente los lípidos del mucílago de café se degradaron durante la fermentación, con un decrecimiento en función exponencial de la concentración de lípidos a través del tiempo, con un coeficiente de determinación de 0,98, así mismo, se presentaron cambios

Tabla 3. Promedio de la humedad del mucílago de café, según el tiempo de fermentación, a temperatura ambiente.

Tiempo de fermentación (hora)	Humedad (%)	
	Promedio*	Desviación típica
0	88,6 cd	2,2
4	88,3 cd	1,6
8	87,8 d	1,4
20	88,7 cd	1,7
26	89,4 bcd	1,8
31	87,7 d	1,3
44	90,7 abc	1,7
52	91,5 ab	1,6
68	92,6 a	1,2
74	92,4 a	1,1

* Valores con letras distintas indican diferencias estadísticas, Duncan, nivel significancia 5%

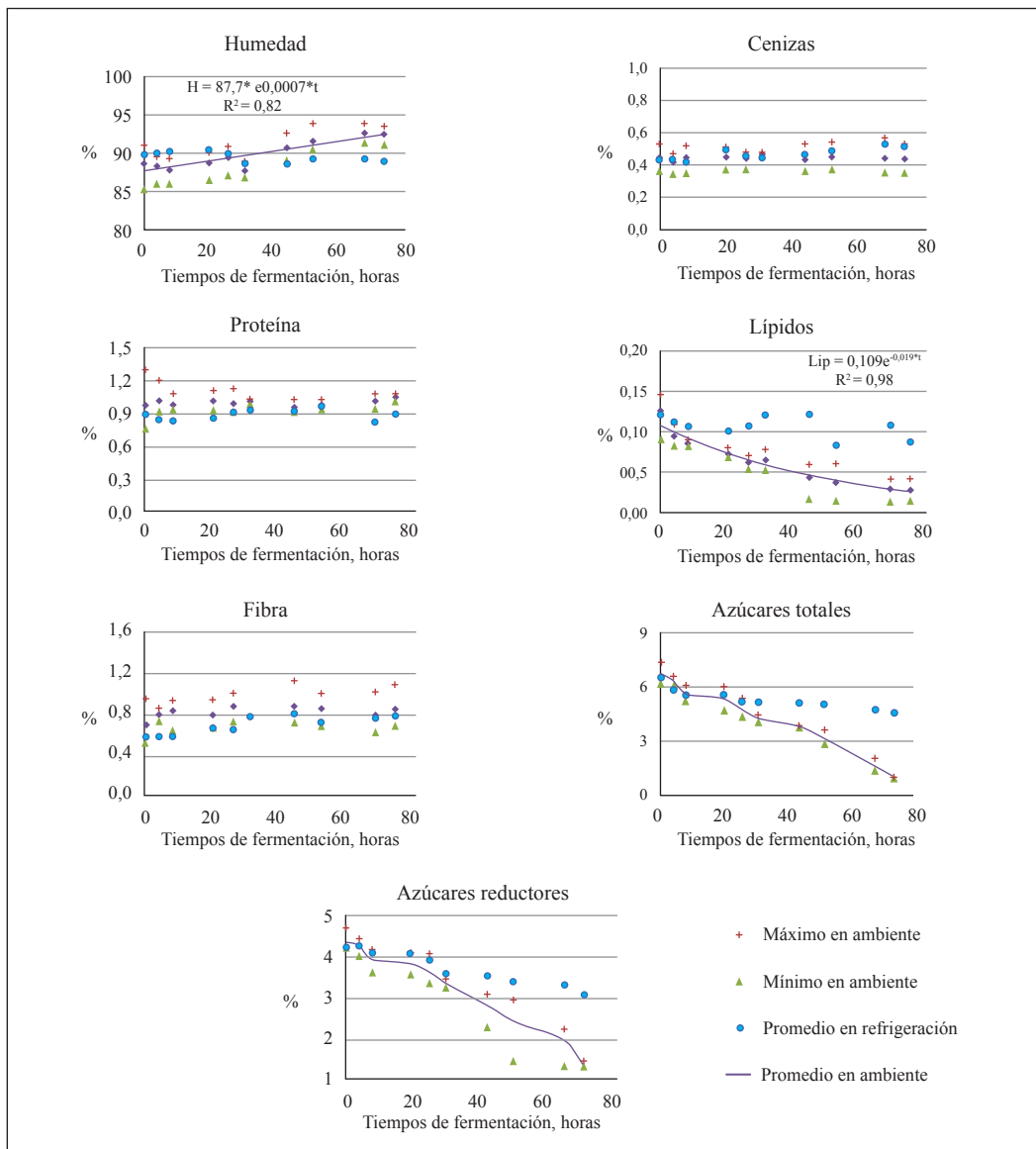


Figura 2. Contenido de humedad, cenizas, proteínas, lípidos, fibra, azúcares totales y reductores del mucilago de café durante la fermentación (porcentajes en base húmeda), en condiciones ambiente (15,4 a 30,5°C, promedio 20,5°C, humedad relativa 37,0% a 98,0%, promedio de 81,7%) y en refrigeración (4,8 a 8,0°C y 51,2% a 65,0% de humedad relativa, promedios 6,6°C y 58%).

significativos de su contenido desde las 4 horas y a las 20 y 44 horas (Tabla 4), estas degradaciones indican actividad de lipasas en el sustrato en fermentación.

En refrigeración, la degradación de los lípidos fue más lenta, así, a las 20 horas de fermentación en el ambiente se había descompuesto cerca del 40% de los lípidos

Tabla 4. Promedios de los lípidos del mucílago de café, según el tiempo de fermentación, a temperatura ambiente.

Tiempo de fermentación (Horas)	Lípidos(%) (Promedio)
0	0,126 a
4	0,095 b
8	0,086 bc
20	0,072 cd
26	0,061 de
31	0,065 cde
44	0,043 ef
52	0,037 f
68	0,029 f
74	0,027f

*Valores con letras distintas indican diferencias estadísticas, Duncan, nivel significancia 5%.

del mucílago, y a condiciones refrigeradas un 16%; desde las 8 horas los contenidos en el mucílago fermentado fueron significativamente menores que los del refrigerado (Tabla 5).

Proteínas. Conformaron el 0,93% del peso húmedo del mucílago de café maduro (6,37% a 9,52%, en base seca). Rolz *et al.* (29) reportan contenidos de nitrógeno equivalentes

a 0,49% a 1,15% b.h. de proteína, lo mismo que Menchú y Rolz (20) con 0,93% en b.h., y Rodríguez y Ríos (27) con 9,27% b.s., valores que concuerdan con los registrados en este estudio. Pee y Castelein (22) citan los contenidos de nitrógeno reportados por Coleman *et al.* (1955) y Nadal (1959), con valores de 0,13%, y 9,07%, respectivamente, pero no indican si estas concentraciones se expresan en base seca o húmeda.

Las proteínas son constituyentes de las enzimas y también aportan nitrógeno y azufre para el desarrollo de los microorganismos. En el estudio no se registraron cambios significativos en la concentración de las proteínas del mucílago de café durante la fermentación ni durante la refrigeración, con promedios que variaron entre 0,82% y 1,05% b.h.; solamente se observó un mayor valor promedio a las 74 h en el mucílago fermentado con respecto al refrigerado.

Carbohidratos. Constituyeron del 7,50% a 9,82% del peso del mucílago fresco, que correspondió del 82,7% al 83,7% de la materia seca. Los carbohidratos del mucílago de café

Tabla 5. Promedios de los lípidos del mucílago de café, de acuerdo a la condición ambiente o refrigeración, según el tiempo de fermentación.

Tiempo (horas)	Lípidos (% b.h.)			
	Refrigerado		Ambiente	
	Promedio (%)	Desviación típica (%)	Promedio (%)	Desviación típica (%)
0	0,122 a	0,022	0,126 a	0,017
4	0,112 a	0,021	0,095 a	0,011
8	0,107 a	0,016	0,086 b	0,004
20	0,102 a	0,016	0,072 b	0,005
26	0,108 a	0,009	0,061 b	0,007
31	0,121 a	0,021	0,065 b	0,018
44	0,121 a	0,011	0,043 b	0,019
52	0,084 a	0,025	0,037 b	0,019
68	0,109 a	0,033	0,029 b	0,012
74	0,088 a	0,013	0,027 b	0,011

*Valores con letras distintas entre condiciones indican diferencias estadísticas, T nivel significancia 5%.

fresco estuvieron conformados en promedio por 47,9% de azúcares reductores, 29,8% de azúcares no reductores como la sacarosa, 7,3% de fibra y cerca de 15,0% de sustancias no fibrosas, como las sustancias pécticas; no se encontró almidón en el mucílago de café. Rolz *et al.* (29) reportaron datos similares de carbohidratos totales en el mucílago de café fresco, con valores entre 5,1% a 10,7%.

Durante las fermentaciones, la glucosa y los monosacáridos son consumidos y fermentados por las levaduras y bacterias, los disacáridos son degradados en monosacáridos y varios polisacáridos son hidrolizados. Sin embargo, aún después de 74 horas de proceso, no todos los azúcares del mucílago de café se fermentaron, ni todas las sustancias pécticas se degradaron. Por su parte, Avallone *et al.* (7) afirman que los polisacáridos del mucílago de café se descomponen más por la acidificación del medio que por enzimas.

Azúcares totales. Constituyeron del 6,15% al 7,40% del peso húmedo del mucílago (48,01% a 70,48% en base seca) y estuvieron

conformados por 63% de azúcares reductores y 37% de azúcares no reductores.

Aguirre (1), Pee y Castelein (22), Elías (15) y Cabrera *et al.* (12) reportan datos de Wilboux (1956) y Picado (1934), con un contenido de azúcares totales de 45,8% b.s. para mucílago de café Robusta, y de otra parte, Pee y Castelein (22) citan 26,09% de azúcares totales, como dato de Nadal 1959, pero no indican la procedencia de las muestras. Por el contrario, los datos reportados por Menchú y Rolz (20), de 7% b.h. de azúcares totales del mucílago y el valor de 6,43% b.h. obtenido por Rodríguez y Ríos (27), concuerdan con los hallados en el presente estudio.

En la fermentación, los azúcares reductores del mucílago de café son oxidados por las levaduras y bacterias lácticas para producir etanol, ácido láctico y otros compuestos. De otra parte, los azúcares no reductores son degradados primero por hidrólisis y luego por fermentación de los azúcares reductores obtenidos. Así, la sacarosa se hidroliza

Tabla 6. Promedios de los azúcares totales del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y de refrigeración.

Tiempo de fermentación (horas)	Azúcares totales (%)		Tiempo de refrigeración (horas)	Azúcares totales (%)	
	Promedio*	Desviación típica		Promedio	Desviación típica
0	6,79a	0,51	0	6,54a	0,43
4	6,32 a	0,24	4	5,88 b	0,61
8	5,64 b	0,45	8	5,56 bc	0,46
20	5,36 b	0,56	20	5,61 bc	0,51
26	4,75 c	0,49	26	5,21 cd	0,23
31	4,29 cd	0,23	31	5,18 cd	0,15
44	3,82 d	0,04	44	5,13 cd	0,16
52	3,18 e	0,33	52	5,08 cde	0,32
68	1,60 f	0,31	68	4,74 de	0,19
74	1,00 g	0,00	74	4,49 e	0,05

*Valores con letras distintas entre tiempos, para cada condición, indican diferencias estadísticas, según la prueba Duncan, al 5%.

en el medio ácido de la fermentación, se invierte y forma glucosa y fructosa que son fermentables.

Para el mucílago fermentado se encontraron variaciones significativas del contenido de azúcares totales a las 8 h, a las 26 horas y después de 52 horas, mientras que el primer cambio significativo en la concentración de azúcares totales en el mucílago refrigerado se observó a las 4 horas, con una menor reducción en comparación con el material que se dejó a temperatura ambiente (Tabla 6). Entre condiciones ambiente hubo cambios significativos en el promedio de los azúcares totales a partir de las 31 horas, con un mayor contenido en el material refrigerado.

Azúcares reductores. Conformaron del 4,00% al 4,61% del peso del mucílago fresco que correspondió del 28,82% al 45,00% en base seca. Estos valores son similares a los reportados por otros autores, así: 4,11% b.h. por Martínez (19), 30% b.s. por Picado (1934), citado por Aguirre (1), Pee y Castelein (22), Elías (15) y Cabrera *et al.* (12); 5,07% b.h.

promedio obtenido por Rodríguez y Ríos (27), aunque estos últimos autores también presentaron en su informe valores de 2,41% b.h. como valor mínimo. En comparación, los mostos de uvas industriales contienen entre el 6,0% y el 12,0% p/v, b. h. de carbohidratos fermentables.

Los azúcares reductores del mucílago de café fermentado disminuyeron desde las primeras horas, con cambios significativos hasta las 74 horas; este decrecimiento mostró una relación exponencial entre el porcentaje de azúcares y el tiempo de fermentación. En el material refrigerado esta concentración no varió significativamente hasta las 31 horas, luego decreció y presentó otros cambios a las 74 horas (Tabla 7).

Entre condiciones se presentaron cambios significativos en el promedio de los azúcares reductores a partir de las 44 horas, con un mayor contenido en el material refrigerado. Arias y Ruiz (3) también reportaron disminución de azúcares reductores durante el almacenamiento a 4°C.

Tabla 7. Promedios de los azúcares reductores del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y de refrigeración.

Tiempo de fermentación (horas)	Azúcares totales (%)		Tiempo de refrigeración (horas)	Azúcares totales (%)	
	Promedio*	Desviación típica		Promedio	Desviación típica
0	4,16 a	0,22	0	4,03 a	0,03
4	4,08 ab	0,23	4	4,04 a	0,04
8	3,65 abc	0,31	8	3,86 a	0,19
20	3,51 bcd	0,29	20	3,82 a	0,17
26	3,26 cd	0,40	26	3,65 a	0,22
31	2,91 d	0,12	31	3,22 b	0,34
44	2,25 e	0,47	44	3,14 b	0,36
52	1,78 e	0,86	52	2,97 bc	0,35
68	1,18 f	0,54	68	2,87 bc	0,53
74	0,44 g	0,10	74	2,56 c	0,35

* Valores con letras distintas entre tiempos para cada condición, indican diferencias estadísticas, según la prueba de Duncan al 5%.

Fibra. La fibra del mucílago de café es una sustancia insoluble que contiene celulosa y hemicelulosas (7), pero no contiene lignina. La fibra constituyó del 0,54% al 0,99% en peso del mucílago fresco y del 5,38% al 7,46% en base seca, valores que son inferiores a los reportados como celulosa por Picado (1934) citado por Aguirre (1), Pee y Castelein (22), Elías (15) y Cabrera *et al.* (12), pero similares al 0,55% b.h. y 6,9% b.s., reportados por Arias y Ruiz (3), y a 8,9% b.s. de Avallone *et al.* (7).

La concentración de fibra en el mucílago fermentado presentó un alto valor a las 31 horas, cuando la humedad del mucílago disminuyó, y en la refrigeración su contenido aumentó después de las 20 horas. Entre ambas condiciones las diferencias fueron significativas a las 4 h, 8 h y 26 h con respecto al material fresco y a los tiempos posteriores.

Compuestos pécticos. Constituyen cerca del 5% de las paredes celulares de los vegetales y comprenden sustancias insolubles en agua como las protopectinas que tienen todos los grupos carboxilos esterificados con grupos metilo (-CH₃), los ácidos pécticos no metilados que contienen ácido D-galacturónico, sus sales los pectatos de Ca, los ácidos pectínicos esterificados y sus sales los pectinatos, y también las pectinas que son solubles en agua caliente (4, 23, 24).

Las sustancias pécticas conformaron del 0,57% al 2,02% del peso del mucílago fresco (5,39% a 17,45% en base seca). Por su parte, Pee y Castelein (21) reportaron del 29% al 36% de sustancias pécticas en el mucílago, según datos encontrados por Wilbax en 1937 y 1956, pero no indicaron la procedencia, calidad, ni proceso de obtención del mucílago, valores que son mayores a los encontrados en el presente estudio. Aguirre (1) cita a Wilbax en 1937, con 33% de

sustancias pécticas, Pee y Castelein (22) y Cabrera *et al.* (12) presentan datos de 33% b.s. de Picado (1934), y de 5,77% b.h. de datos de Nadal (1959); por su parte, Elías (15) reporta 35,8% de sustancias pécticas.

Por el contrario, los siguientes autores presentaron datos de compuestos pécticos en el mucílago de café, similares a los encontrados en el presente estudio: Martínez (19) con 0,91% en b.h. de ácido péctico; Menchu y Rolz (20), con 2,6% b.h. como ácido galacturónico; Avallone *et al.* (7) con 16,7% y 17,8% b.s.; y Rodríguez y Ríos (27) de 4,6% a 19,1% en base seca.

Durante la fermentación del mucílago se observaron variaciones en la concentración de las sustancias pécticas en el mucílago fermentado de café, pero no se encontró relación entre la degradación de estos compuestos pécticos con el tiempo de proceso. Los cambios en los contenidos de sustancias pécticas en el mucílago fermentado se explican por la actividad de pectinasas naturales del mucílago, que despolimerizan parcialmente los compuestos pécticos en el medio ácido de la fermentación. Las pectinesterasas se encuentran de forma natural en los tejidos de las plantas, además, muchas bacterias, levaduras y hongos producen pectinasas como protopectinasas, poligalacturonasas, pectinesterasas y pectinaliasas. En el mucílago de café se han reportado pectinasas producidas por bacterias *Pseudomonas* y *Xanthomonas campestris* (14) y por *Erwinia herbicola* y *Klebsiella pneumoniae* (6) y en la pulpa de café por *Bacillus* (11).

Así mismo, varias levaduras inclusive *Saccharomyces cerevisiae*, producen poligalacturonasas según Luh y Phaff (1951) y Agate y Bhat (1966), citados por Pee y Castelein (21). Estas enzimas tienen actividad óptima a pH entre 3,5 y 4,5 de acuerdo

con El Sayed (1994) y Abdel *et al.* (1996), citados por Arroyo (4). De la degradación de las sustancias pécicas se forman ácido galacturónico, ramnosa, galactosa, arabinosa, xilosa, fucosa, apiosa y otros compuestos como acetato y metanol.

Acidez total. Es la medida del contenido de las sustancias ácidas presentes en el mucílago de café, incluye los ácidos volátiles como el acético, otros ácidos como el málico, láctico, cítrico, succínico y otros compuestos. López *et al.* (18) reportaron contenidos de ácido galacturónico, málico, láctico, cítrico y propiónico en soluciones obtenidas con café recién despulpado y encontraron variaciones de la concentración de estos ácidos durante la fermentación.

La acidez de un litro de mucílago de café fresco presentó un valor promedio de 969 mg de CaCO_3 , aumentó con el tiempo de fermentación, a las 20 horas se triplicó su valor, y a las 74 horas alcanzó un valor promedio de 7.000 mg de CaCO_3 . Tchana y Jacquet (32), Rolz *et al.* (29) y Menchú y Rolz (20) reportan mayores valores de la acidez volátil y total del mucílago

fermentado con respecto al mucílago fresco. Igualmente, Avallone *et al.* (8) y Jackels y Jackels (17) encontraron aumento de ácidos láctico y acético con el tiempo de fermentación del café.

Los cambios de la acidez del mucílago de café tuvieron un comportamiento de crecimiento exponencial en las primeras horas de fermentación y su valor presentó variaciones significativas durante la fermentación (Tabla 8). Esta acidificación se desarrolló por las bacterias fermentadoras, principalmente las lácticas que producen ácido láctico y por el ácido acético que se produce por bacterias y durante la acetificación del alcohol (23, 24).

En condiciones de refrigeración, la acidez se mantuvo por cerca de 20 h como la del mucílago fresco, luego se incrementó en forma más lenta que en ambiente, y a las 68 h alcanzó valores promedio de 2.000 mg CaCO_3/L . Así mismo, la acidez del mucílago de café según la condición se diferenció desde las 4 horas, con un mayor valor en la fermentación a temperatura ambiente que en refrigeración (Tabla 9).

Tabla 8. Promedios de la acidez del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y de refrigeración.

Tiempo de fermentación (horas)	Acidez (mg CaCO_3/L)		Tiempo de refrigeración (horas)	Acidez (mg CaCO_3/L)	
	Promedio*	Desviación típica		Promedio	Desviación típica
0	969 g	112	0	926 f	61
4	1.481 g	423	4	940 ef	51
8	2.159 f	228	8	1.031 ef	70
20	3.350 e	406	20	1.113 de	31
26	4.330 d	491	26	1.210 d	103
31	4.913 d	425	31	1.464 c	78
44	5.725 c	456	44	1.578 c	83
52	6.125 bc	433	52	1.910 b	178
68	6.663 ab	643	68	2.083 a	105
74	7.156 a	645	74	2.123 a	115

*Valores con letras distintas para cada condición indican diferencias estadísticas, entre tiempos, según la prueba Duncan, al 5%

Tabla 9. Promedios de la acidez del mucílago de café, según la condición de fermentación, ambiente y refrigeración.

Tiempo horas	Acidez (mg CaCO ₃ /L)	
	Refrigerado*	Ambiente
0	926 a	969 a
4	940 b	1.481 a
8	1.031 b	2.159 a
20	1.112 b	3.350 a
26	1.210 b	4.330 a
31	1.464 b	4.913 a
44	1.578 b	5.725 a
52	1.910 b	6.125 a
68	2.083 b	6.663 a
74	2.138 b	7.156 a

*Promedios con letras diferentes entre condiciones indican diferencias estadísticas, según la prueba T al 5%.

Alcohol. El promedio del contenido de etanol en el mucílago fresco fue de 0,12% p/p. La concentración de alcohol aumentó de forma exponencial durante la fermentación a temperatura ambiente y alcanzó valores promedio de 0,46% a las 74 horas.

En las primeras 20 horas la concentración del etanol del mucílago aumentó rápidamente, pero después los cambios fueron más lentos,

esto se debe al consumo del sustrato (el mucílago), a la reducción de las levaduras, a las condiciones ácidas y a la misma presencia del etanol en el sustrato. Después de 44 horas de fermentación, los contenidos de alcohol fueron significativamente mayores con respecto al contenido en el mucílago fresco, y no variaron hasta las 74 horas (Tabla 10). Jackels y Jackels (17) y Avallone *et al.* (8) también reportaron incrementos de etanol con el tiempo de fermentación del café.

Por su parte, en condiciones de refrigeración la concentración de etanol en el mucílago no varió de forma significativa con el tiempo de almacenamiento, y a las 74 horas se encontró un valor promedio de 0,15% de alcohol en el mucílago refrigerado. Por consiguiente, la temperatura inferior a 8°C inhibió el crecimiento y el metabolismo fermentativo de las levaduras del mucílago. Entre condiciones se observaron diferencias significativas en el contenido de alcohol del mucílago de café desde las 31 horas (Tabla 11).

Aporte calórico. Las calorías de 100 g de mucílago de café fresco variaron entre 34,9 y 45,6, que se explican por el alto

Tabla 10. Promedios del alcohol del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y de refrigeración.

Tiempo de fermentación (horas)	Alcohol (%)		Tiempo de refrigeración (horas)	Alcohol (%)	
	Promedio*	Desviación típica		Promedio	Desviación típica
0	0,120 d	0,028	0	0,128 ab	0,018
4	0,109 d	0,033	4	0,143 a	0,052
8	0,144 cd	0,012	8	0,116 ab	0,005
20	0,201 c	0,047	20	-	-
26	0,200 c	0,087	26	0,127 ab	0,017
31	0,342 b	0,000	31	0,120 ab	0,018
44	0,450 a	0,000	44	0,128 ab	0,017
52	0,446 a	0,000	52	0,093 b	0,005
68	0,456 a	0,003	68	-	-
74	0,458 a	0,000	74	0,152 a	0,003

*Valores con letras distintas entre tiempos para cada condición indican diferencias estadísticas, según la prueba Duncan, al 5%

Tabla 11. Promedios del contenido de alcohol del mucílago de café, en cada tiempo de fermentación, según la condición ambiente o refrigeración.

Tiempo (horas)	Alcohol (%)	
	Refrigerado*	Ambiente
0	0,128 a	0,120 a
4	0,143 a	0,109 a
8	0,116 b	0,144 a
26	0,127 a	0,200 a
31	0,12 b	0,342 a
44	0,128 b	0,450 a
52	0,093 b	0,446 a
74	0,152 b	0,458 a
68	2.083 b	6.663 a
74	2.138 b	7.156 a

*Promedios con letras distintas entre condiciones indican diferencias estadísticas, según la prueba T al 5%.

contenido de humedad de este material y el bajo contenido de lípidos. Por consiguiente, el mucílago de café no constituye una buena fuente energética como alimento y debe mezclarse con concentrados, como fue demostrado en la alimentación de cerdos por Garavito y Puerta (16).

A medida que aumentó el tiempo de fermentación a temperatura ambiente, disminuyó de forma significativa el aporte calórico del mucílago, después de 52 horas, debido a la transformación de los azúcares en ácidos que tienen más bajo poder energético (Tabla 12). El aporte calórico del mucílago se mantuvo en el material refrigerado entre 36,8 y 46,2 cal/100 g.

Entre condiciones se observaron variaciones significativas del aporte calórico por parte

de cada nutriente y el alcohol, desde las 44 horas, tiempo en el que se aportaron menos calorías por los carbohidratos y más por el alcohol, a condición ambiente (Tablas 12 y 13).

Puede concluirse que:

- El mucílago de café fresco es un material vegetal con alto contenido de agua, 85% a 91%; los azúcares son los principales componentes de su materia seca, 6,2% a 7,4%, conformados por 63% de azúcares reductores. Esta composición química y las levaduras y bacterias naturales del mucílago explican su característica precedera y la ocurrencia natural de su fermentación a temperatura ambiente.
- Las principales variaciones en la composición química del mucílago de café durante la fermentación son la disminución de la concentración de los azúcares, las producciones de ácidos y etanol y la degradación de los lípidos. No se observó relación entre la variación de la concentración de los compuestos pécticos del mucílago de café con el tiempo de fermentación.
- La velocidad de las degradaciones durante la fermentación del mucílago de café depende de la temperatura externa y del tiempo. A temperatura ambiente de 20,5°C la disminución de azúcares es significativa desde las 8 horas, la acidez desde las 8 horas y este valor se triplica a las 20 horas, el etanol aumenta después de 20 horas y los lípidos disminuyen desde las primeras horas. Mientras que en refrigeración el contenido de azúcares cambia después de 26 a 31 horas, la acidez después de 26 horas, el etanol no cambia y los lípidos disminuyen más lentamente.

Tabla 12. Promedios de las calorías de 100 g de mucílago de café y del porcentaje de calorías aportadas por los carbohidratos y por los alcoholes, según el tiempo de fermentación a temperatura ambiente.

Tiempo de fermentación (horas)	Aporte calórico		Calorías aportadas por carbohidratos (%)		Calorías aportadas por Alcohol (%)	
	Calorías	Desviación típica	Promedio	Desviación típica	Promedio	Desviación típica
0	40,0 ab	4,0	85,7 a	0,7	2,2 c	0,5
4	42,1 ab	2,1	86,4 a	1,5	2,0 c	0,5
8	43,7 a	2,9	86,7 a	1,6	2,3 c	0,3
20	42,2 ab	6,7	85,2 a	2,0	3,4 c	0,8
26	38,5 ab	7,2	84,3 a	3,0	3,7 c	1,6
44	34,9 abc	6,6	78,3 b	3,6	9,2 b	1,7
52	32,2 bc	2,3	76,6 b	2,9	9,7 b	0,7
68	23,9 c	5,4	67,6 c	5,8	13,7 a	3,0
74	23,8 c	4,1	67,1 c	7,0	13,7 a	2,4

*Promedios con letras distintas entre tiempos para cada variable indican diferencias estadísticas, según la prueba Duncan al 5%.

Tabla 13. Promedios de las calorías totales del mucílago y el aporte de los carbohidratos, lípidos, proteínas y alcoholes entre las condiciones ambiente y refrigerado a las 44 horas.

Calorías del mucílago de café a las 44 horas	Aporte calórico (Calorías)	
	Refrigerado*	Ambiente
Totales	43,5 a	34,9 a
Porcentaje aportado por carbohidratos	87,0 a	78,3 b
Porcentaje aportado por lípidos	2,5 a	1,5 b
Porcentaje aportado por proteínas	8,5 b	11,0 a
Porcentaje aportado por alcohol	2,0 b	9,2 a

*Valores con letras diferentes para cada variable entre condiciones indican diferencias estadísticas, según al prueba T al 5% de significancia

- La refrigeración, hasta por 24 a 30 horas, a temperatura inferior a 8°C, resultó una forma de conservación adecuada para el mucílago de café y se recomienda como método de almacenamiento de este subproducto, para su posterior utilización como sustrato de fermentación o en otros procesos industriales o pecuarios, y también como forma de conservación del café despulpado hasta su procesamiento, hasta por 20 horas.
- La temperatura inferior a 8°C inhibe el crecimiento y el metabolismo de las levaduras y bacterias naturales del mucílago de café y, por consiguiente, retrasa las fermentaciones alcohólica y láctica.
- La información sobre la composición química del mucílago de café fresco, fermentado y refrigerado obtenida en esta investigación, aporta al conocimiento sobre la cinética química de la fermentación del café,

además, sobre métodos de conservación del mucílago y también es aplicable para estudios de factibilidad técnica de los procesos agroindustriales que se puedan desarrollar con este residuo del beneficio del café.

AGRADECIMIENTOS

A Esther Cecilia Montoya R., Kevin A. Hincapié V. y al personal de la Estación Central Naranjal por el suministro de café. Esta investigación fue financiada con recursos de la Federación Nacional de Cafeteros y hace parte de las actividades que se desarrollaron en el proyecto QIN0800, Caracterización y utilización del mucílago de café.

LITERATURA CITADA

1. AGUIRRE B., F. La utilización industrial del grano de café y de sus subproductos. Guatemala : ICAITI, 1966. 33 p.
2. ARIAS Z., M.; HENAO N., L.; CASTRILLÓN G., Y. Producción de ácido láctico por fermentación de mucílago de café con *Lactobacillus Bulgaricus* NRRL-B548. [En línea]. México : Redalyc, 2009. Disponible en Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49612069015>. Consultado en Enero de 2012.
3. ARIAS, M.; RUIZ C., A.A. Fermentación alcohólica de mucílago de café con levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Ciencia y tecnología de alimentos 11(1):66-74. 2001.
4. ARROYO O., A.G. Producción de enzimas pectinasas por actinomicetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja. [En línea]. Lima : Universidad mayor de San Marcos, 2002. Disponible en Internet: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/Salud/Arroyo_O_A/T_completo.pdf. Consultado en Enero 2010
5. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international. 18a. ed. Gaithersburg : AOAC, 2006. p.v.
6. AVALLONE, S.; BRILLOUET, J.M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J.P. Involvement of pectolytic microorganisms in coffee fermentation. International journal of food science and technology 37:191-198. 2002.
7. AVALLONE, S.; GUIRAUD, J.P.; GUYOT, B.; OLGUIN P., E.; BRILLOUET, J.M. Polysaccharide constituents of coffee-bean mucilage. Journal of food science 65(8):1308-1311. 2000.
8. AVALLONE, S.; GUYOT, B.; BRILLOUET, J.M.; OLGUIN P., E.; GUIRAUD, J.P. Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. Current microbiology 42:252-256. 2001.
9. BLANDÓN C., G.; DÁVILA A., M.T.; RODRÍGUEZ V., N. Caracterización microbiológica y físico-química de la pulpa de café sola y con mucílago, en proceso de lombricompostaje. Cenicafé 50(1):5-23. 1999.
10. BRESSANI, R. Posibles usos de los subproductos del grano de café. p. 31-43. En: Pulpa de café: Composición tecnología y utilización. Bogotá : CIID, 1978. 152 p.
11. CABELLO V., A.; RUIZ, J.S.; ORIHUELA A., M.L. Bacterial pectinase production using coffee pulp as substrate. Revista latinoamericana de microbiología 24(3):173-180. 1982.
12. CABRERA, S. DE; CALZADA, J.F.; GIL, L.A.; ARRIOLA, M.C. DE. Etanol de cerezas y mucílago de café. p. 129-137. En: SIMPOSIO Internacional sobre la utilización integral de los subproductos del café. (3 : Febrero 16-18 1987 : Guatemala). Guatemala : ICAITI : ANACAFÉ PNUMA, 1987. 162 p.
13. CALLE V., H. Subproductos del café. Chinchiná : CENICAFÉ, 1977. 84 p. (Boletín Técnico No. 6).
14. CASTELEIN, J.M.; PILNIK, W. The properties of the pectate-lyase produced by *Erwinia dissolvens*, a coffee fermenting organism. Lebensmittel-wissenschaft und technologie 9(5):277-283. 1976.
15. ELIAS, L.G. Composición química de la pulpa de café y otros subproductos. p. 19-29. En: PULPA de café: Composición tecnología y utilización. Bogotá : CIID, 1978. 152 p.
16. GARAVITO R., A.; PUERTA Q., G.I. Utilización del mucílago del café en la alimentación de cerdos. Cenicafé 49(3):231-256. 1998.
17. JACKELS, S.C.; JACKELS, C.F. Characterization of the coffee mucilage fermentation process using

- chemical indicators: A field study in Nicaragua. *Journal of food science* 70(5):C321-C325. 2005.
18. LÓPEZ G., C.I.; BAUTISTA R., E.; MORENO G., E.; DENTAN, E. Factors related to the formation of "overfermented coffee beans" during the wet processing method and storage of coffee. p. 373-384. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (13 : Aout 21-25 1989 : Paipa). Paris : ASIC, 1989. 783 p.
 19. MARTÍNEZ N., N.G. Coffee mucilage: Its chemical composition. Coffee and tea industries and the flavor field 82(8):17-18. 1959.
 20. MENCHU E., J.F.; ROLZ, C. Coffee fermentation technology. *Café cacao* the 17(1):53-61. 1973.
 21. PEE, W. VAN; CASTELEIN, J. The yeast flora of fermenting robusta coffee. *East african agricultural and forestry journal* 36(3):308-310. 1971.
 22. PEE, W. VAN; CASTELEIN, J.M. Study of the pectinolytic microflora, particularly the enterobacteriaceae from fermenting coffee in the Congo. *Journal of food science* 37(1):171-174. 1972.
 23. PUERTA Q., G.I. Efecto de enzimas pectolíticas en la remoción del mucilago de *Coffea arabica* L. según el desarrollo del fruto. *Cenicafé* 60(4):291-312. 2009.
 24. PUERTA Q., G.I. Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. Chinchiná : CENICAFÉ, 2010. 12p. (Avances Técnicos No. 402).
 25. PUERTA Q., G.I. La humedad controlada del grano preserva la calidad del café. Chinchiná : CENICAFÉ, 2006. 8 p. (Avances Técnicos No. 352).
 26. PUERTA Q., G.I.; MARÍN M., J.; OSORIO B., G.A. Composición microbiológica del mucilago de café. p. 44-45. En: INFORME anual de actividades de investigación: Disciplina química industrial. Chinchiná : CENICAFÉ, 1996. p.v.
 27. RODRÍGUEZ V., N.; RÍOS A., R. Caracterización del mucilago de café utilizado como materia prima para la producción de pectinas. p.v. En: INFORME anual de actividades de investigación: Disciplina química industrial. Chinchiná : CENICAFÉ, 1999. p.v.
 28. RODRÍGUEZ V., N.; ZAMBRANO F., D.A. Los subproductos del café: Fuente de energía renovable. Chinchiná : CENICAFÉ, 2010. 8 p. (Avances Técnicos No. 393).
 29. ROLZ, C.; MENCHUE., J.F.; ESPINOSA, R.; GARCÍA P., A. Coffee fermentation studies. p. 259-269. En: COLLOQUE International sur la chimie des cafés. (5 : Junio 14-19 1971 : Lisboa). Paris : ASIC : 1971. 434 p.
 30. ROUSSOS, S.; LONSANE, B.K.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA, G. Advances in solid state fermentation. Dordrecht : Kluwer academic, 1997. 631 p.
 31. SCHLEGEL, H.G. Microbiología general. Barcelona : Omega, 1979. 448 p.
 32. TCHANA, E.; JACQUET, M.; GUYOT, B.; VINCENT, J.C. Etude de l'influence des conditions de fermentation sur les caracteristiques d'un café Arabica. p. 309-318. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (11 : Fevrier 11-15 1985 : Lome). Paris : ASIC, 1985. 696 p.