





Influencia de la enzima pectina-transeliminasa en los tiempos de fermentación y en la calidad organoléptica del café robusta

Influence of the pectin-transeliminase enzyme on fermentation times and on the organoleptic quality of robust coffee

Influência da enzima pectina-transeliminase nos tempos de fermentação e na qualidade organoléptica do café robusta

Luis Alberto Duicela Guambi^{1*}, Rey Gastón Loor Solórzano²,
Elvis Alfonso Portillo Páez³ y Willian Paul Chilán
Villafuerte⁴

¹Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. Av. 10 de Agosto y Granda Centeno. Calceta, Ecuador. Correo electrónico: luis.duicela@espam.edu.ec.  ²Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Pichilingue. Km 5 vía Quevedo-El Empalme. Quevedo, Ecuador. Correo electrónico: rey.loor@iniap.gob.ec.  ³Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia. Av. Guajira. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. Correo electrónico: elvisalfonso@gmail.com.  ⁴Solubles Instantáneos C.A. Proyecto Café. Av. Carlos J. Arosemena km 2. Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: willianchilan@hotmail.com. 

Resumen

El café es la bebida más consumida en el mundo, después del agua. Los cafés robustas (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) lavados tienen una demanda creciente en los nichos de cafés especiales. En la preparación de cafés lavados, un factor crítico es la fermentación natural del mucílago siendo una alternativa el uso de enzimas. La finalidad del estudio fue evaluar la influencia de la enzima pectina-transeliminasa en los tiempos de fermentación y en la calidad organoléptica del café robusta ecuatoriano, para lo cual se

Recibido el 13-08-19. Aceptado el 13-11-19.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: luis.duicela@espam.edu.ec

establecieron cinco tratamientos: tres cafés lavados usando enzimas en dosis: E1=100 mL.t⁻¹, E2=200 mL.t⁻¹ y E3=300 mL.t⁻¹ de café cereza; un café lavado convencional (HC) y un café natural (VS). El experimento se realizó en las localidades: Guayas (L1), Santa Elena (L2) y Orellana (L3). Para la evaluación sensorial se dispuso de un panel de cuatro catadores aplicando el protocolo SCAA. La evidencia experimental permitió determinar que la fermentación del mucílago sin enzimas demoró 1200 min y usando enzimas se redujo entre 39 y 42 min. Entre las calificaciones sensoriales de los catadores no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$). En Orellana se obtuvo una calidad sensorial de $80,35 \pm 0,30$ puntos que resultó estadísticamente mayor comparada con Guayas y Santa Elena. Los cafés lavados tuvieron mayores calificaciones sensoriales que el café natural: E1=E2=E3=HC>VS ($p < 0,01$). Los atributos fragancia/aroma, sabor, residual, equilibrio sal/acidez, equilibrio amargo/dulce, cuerpo, balance y puntaje de catador se correlacionaron positivamente con la calificación sensorial ($p < 0,05$). Los atributos sensoriales no fueron afectados negativamente por el uso de enzimas pectolíticas.

Palabras clave: café especial, nicho de mercado, catación, atributos sensoriales, pectinasas.

Abstract

Coffee is the most consumed beverage in the world, after water. Robust washed coffees (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) have a growing demand in market niches of specialty coffee. In the preparation of washed coffees, a critical factor is the natural fermentation of the mucilage being an alternative the use of enzymes. The purpose of the study was to evaluate the influence of the enzyme pectin-transeliminase on fermentation times and on the organoleptic quality of Ecuadorian robusta coffee, for which five treatments were tested: Three coffees washed using enzymes in doses: E1=100 mL.t⁻¹, E2=200 mL.t⁻¹ and E3=300 mL.t⁻¹ of coffee cherry, a conventional washed coffee (HC) and a natural coffee (VS). The experiment was carried out in the localities: Guayas (L1), Santa Elena (L2) and Orellana (L3). The sensory evaluation was carried out by a panel of four tasters applying the SCAA standards. The experimental evidence allowed to determine that the fermentation of the mucilage without enzymes took 1200 min and using enzymes was reduced to 39-42 min. Among the members of the panel of tasters, there were no significant statistical differences ($p > 0.05$). In Orellana, the sensory quality was 80.35 ± 0.30 points, which was statistically higher compared to Guayas and Santa Elena. Washed coffees had higher sensory scores than natural coffee: E1=E2=E3=HC>VS ($p < 0.01$). The attributes fragrance/aroma, flavor, residual taste, salt/acidity balance, bitter/sweet balance, body, balance and taster score correlated positively with the sensory score ($p < 0.05$). The sensory attributes were not adversely affected by the use of pectolytic enzymes.

Key words: specialty coffee, niche markets, cupping, sensory attributes, pectinases.

Resumo

O café é a bebida mais consumida no mundo, depois da água. Os cafés robustos e lavados (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) estão em crescente demanda em nichos especiais de café. Na preparação de cafés lavados, um fator crítico é a fermentação natural da mucilagem e o uso de enzimas é uma alternativa. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da enzima pectina-transeliminase nos tempos de fermentação e na qualidade organoléptica do café robusta equatoriano, para os quais foram estabelecidos cinco tratamentos: três cafés lavados com enzimas em doses: E1 = 100 mL.t⁻¹, E2 = 200 mL.t⁻¹ e E3 = 300 mL.t⁻¹ de café cereja; um café lavado convencional (HC) e um café natural (VS). O experimento foi realizado nas localidades: Guayas (L1), Santa Elena (L2) e Orellana (L3). Para a avaliação sensorial, um painel de quatro provadores estava disponível, aplicando o protocolo SCAA. As evidências experimentais tornaram possível determinar que a fermentação da mucilagem sem enzimas demorou 1200 min e o uso de enzimas foi reduzido entre 39 e 42 min. Não houve diferença significativa entre os escores sensoriais dos provadores ($p > 0,05$). Em Orellana, foi obtida uma qualidade sensorial de $80,35 \pm 0,30$ pontos, que foi estatisticamente maior em comparação com Guayas e Santa Elena. Os cafés lavados apresentaram escores sensoriais mais altos que o café natural: E1 = E2 = E3 = HC > VS ($p < 0,01$). Os atributos fragrância / aroma, sabor, residual, equilíbrio sal / acidez, equilíbrio amargo / doce, corpo, equilíbrio e pontuação do provador foram correlacionados positivamente com a pontuação sensorial ($p < 0,05$). Os atributos sensoriais não foram afetados negativamente pelo uso de enzimas pectolíticas.

Palavras-chave: café especial, nicho de mercado, degustação, atributos sensoriais, pectinases.

Introducción

El café es la bebida más consumida en el mundo, después del agua. Las especies de café más cultivadas son: arábigo y robusta. En el café robusta se distinguen tres grupos: Congolensis, Conilón y Guinensis (Leroy *et al.*, 2014). El robusta tipo Congolensis fue introducido al Ecuador en 1951, donde actualmente evidencia una alta diversidad entre y dentro de clones (Loor *et al.*, 2017).

La caficultura en el Ecuador tiene importancia en los órdenes económico, social y ambiental. En lo económico

Introduction

Coffee is the most consumed drink in the world, after water. The most cultivated coffee species are: Arabica and Robusta. Robusta coffee has three groups: Congolensis, Conilon and Guinensis (Leroy *et al.*, 2014). The Robusta Congolensis type was introduced to Ecuador in 1951 and it shows high diversity between and within clones (Loor *et al.*, 2017).

Coffee growing in Ecuador is important in the economic, social and environmental fields. Economically, the contribution to family income and

se destaca la contribución al ingreso familiar y la generación de divisas. En lo social, los caficultores forman un amplio tejido multisectorial, en 23 de las 24 provincias del país. En el orden ambiental, los cafetales se manejan en sistemas agroforestales que aportan significativos beneficios a la conservación de los recursos naturales. A pesar de la importancia del café y de la caficultura, en la actualidad este cultivo, atraviesa una crisis de producción: una oferta de 601.000 sacos de 60 kg (OIC, 2020) y una demanda de 2.200.000 sacos: 200.000 para consumo interno, 1.200.000 requeridos por la industria de soluble y 800.000 para exportación en grano (ANECAFÉ, 2020). La crisis se evidencia en la reducción del ingreso de divisas para el país, la cual pasó de \$ 198 millones en el 2012 (café robusta: \$ 50,6 millones) a \$ 77,8 millones en el 2019 (café robusta: \$ 1,44 millones) (ANECAFÉ, 2020).

En el mundo, los cafés en grano se comercializan como lavados y naturales, dependiendo del método de beneficio. Como beneficio se define al proceso de transformación del café cereza a grano (green coffee: en inglés). Una nueva categorización del café en el mercado mundial, se relaciona con los cafés corrientes y los especiales. Los cafés robustas lavados incursionan en los nichos de especialidades, donde se pagan mejores precios, siempre que la calificación sensorial sea ≥ 80 puntos SCAA (Specialty Coffee Association of América: SCAA, siglas en inglés). En este escenario, como estrategia para sostener los ingresos de los caficultores, se promueve la ampliación de la oferta

the generation of foreign currency stand out. Socially, coffee growers form a broad multi-sector fabric, in 23 of the 24 provinces of the country. In the environmental order, coffee plantations are managed in agroforestry systems that provide significant processings to the conservation of natural resources. Despite the importance of coffee growing, this crop is currently going through a production crisis: An offer of 601,000 bags (60 kg per bag) (OIC, 2020) and a demand for 2,200,000 bags: 200,000 for domestic consumption, 1,200,000 required by industry and 800,000 for grain exports (ANECAFÉ, 2020). The crisis is evident in the reduction of foreign exchange income for the country, which went from \$ 198 million in 2012 (Robusta coffee: \$ 50.6 million) to \$ 77.8 million in 2019 (Robusta coffee: \$ 1.44 million) (ANECAFÉ, 2020).

In the world, the coffee bean is marketed as washed and natural, depending on the method of processing. A processing is defined as the process of transformation from cherry coffee to green beans. A new classification of coffee in the world market shows the categories of ordinary coffee and specialty coffee. Washed Robusta coffee is into specialty niches and better prices are paid, as long as the sensory rating is ≥ 80 SCAA points (Specialty Coffee Association of America: SCAA). In this scenario, as a strategy to sustain the income of coffee growers, the expansion of the offer of different types of washed coffee is being promoted (Oliveros *et al.*, 2011). In the case of Ecuador, washed

de cafés lavados (Oliveros *et al.*, 2011). En el caso del Ecuador, el café robusta lavado se promueve a través del concurso “Taza Dorada” que se orienta a fomentar los cafés finos (ANECAPÉ, 2020).

Una etapa crítica en la preparación de cafés lavados, mediante el beneficio por “vía húmeda”, es la fermentación del mucílago que demora de 20 a 27 h (Duicela, 2017), aunque Peñuela *et al.* (2012) indican que puede demorar hasta 36 h. La eliminación del mucílago puede hacerse por tres formas: friccionando el café despulpado en un desmucilagador mecánico, mediante fermentación natural por un tiempo apropiado o adicionando al café despulpado un producto enzimático (Puerta, 2009; Peñuela *et al.*, 2010). La fermentación es un proceso natural facilitado por enzimas originadas por microorganismos, sin embargo, si se sobrepasa del tiempo óptimo, pueden reducir la calidad (Haile y Kang, 2020). Según Oliveros *et al.* (2011), en la fermentación, el mucílago se degrada por efecto de las pectinasas, provocando la oxidación de los azúcares y la producción de etanol, propanol y butanol, de ácidos láctico, acético, succínico, fórmico y butírico, de dióxido de carbono y sustancias olorosas como aldehídos, cetonas y ésteres. Según Haile y Kang (2020), el mucílago está compuesto de agua (84,2 %), proteína (8,9 %), azúcar reductor (4,1 %), pectatos (0,91 %) y cenizas (0,7 %).

Con estos antecedentes, se evaluó un producto que contiene la enzima pectina-transeliminasa (Granozyme), cuya actividad mínima

Robusta coffee is promoted through the “Golden Cup” contest, which promotes fine coffee (ANECAPÉ, 2020).

A critical stage in the preparation of washed coffee, through the “wet process” processing, is the fermentation of the mucilage that takes from 20 to 27 h (Duicela, 2017), although Peñuela *et al.* (2012) indicate that it can take up to 36 h. The removal of mucilage can be done in three ways: rubbing coffee without pulp in a mechanical demucilager, by natural fermentation for an appropriate time, or adding an enzymatic product to coffee without pulp (Puerta, 2009; Peñuela *et al.*, 2010). Fermentation is a natural process facilitated by the enzymes of the microorganisms, however, if the optimal time is exceeded, they can reduce the quality (Haile and Kang, 2020). According to Oliveros *et al.* (2011), in fermentation, the mucilage is degraded by the effect of pectinases, causing the oxidation of sugars and the production of ethanol, propanol and butanol from lactic, acetic, succinic, formic and butyric acids, carbon dioxide and aromatic substances such as aldehydes, ketones and esters. According to Haile and Kang (2020), the mucilage is composed of water (84.2 %), protein (8.9 %), reducing sugar (4.1 %), pectates (0.91 %) and ash (0.7 %).

A product containing the enzyme pectin-transeliminase (Granozyme) was evaluated, whose minimum activity is 100 PTF.mg⁻¹ (a PTF.mg⁻¹ corresponds to the enzymatic activity that, in a pectin solution at 0.5%, determines the increase in extinction of 0.01 g of enzyme in one minute at pH 5.8 and 35 °C) (GRANOTEC, 2017).

es 100 PTF.mg⁻¹ (un PTF.mg⁻¹ corresponde a la actividad enzimática que, en una solución de pectina al 0,5 %, determina el incremento de la extinción de 0,01 g de enzima en un minuto a pH 5,8 y 35 °C) (GRANOTEC, 2017).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la enzima pectina-transeliminasa en los tiempos de fermentación y en la calidad organoléptica del café robusta.

Materiales y métodos

Ubicación del estudio

El estudio se realizó de julio de 2018 a marzo de 2019, en tres localidades: (L1) Hacienda Denisse, Recinto Las Mercedes, Cantón Isidro Ayora (Provincia Guayas), con coordenadas 01°58'55,9" S, 80°08'16" W y 45 msnm de altitud, (L2) Recinto Cerezal, Parroquia Colonche, cantón Santa Elena (Provincia Santa Elena), con coordenadas 02°15'02" S, 80°34'21" W y 40 msnm de altitud y (L3) Organización ASOSUMACO, parroquia Loreto, Cantón Loreto (Provincia Orellana), con coordenadas 00°42'43.21" S, 77°19'46,7" W y 415 msnm de altitud.

Factor en estudio y tratamientos

El factor en estudio estuvo constituido por los métodos de beneficio para preparar cafés lavados y naturales (cuadro 1). Los cinco (5) tratamientos fueron: (E1) beneficio húmedo enzimático usando 100 mL.t⁻¹ de café cereza, (E2) beneficio enzimático con 200 mL.t⁻¹, (E3) beneficio enzimático con 300 mL.t⁻¹, (HC) beneficio por "vía húmeda" y (VS) beneficio por "vía seca" (café

The objective of this work was to evaluate the influence of the enzyme pectin-transeliminase on fermentation times and on the organoleptic quality of Robusta coffee.

Materials and methods

Study location

The study was carried out from July 2018 to March 2019, in three locations: (L1) Denisse Farm, Las Mercedes campus, Isidro Ayora canton (Guayas Province), with coordinates 01°58'55.9" S, 80°08'16" W and 415 meters above sea level, (L2) Cerezal Campus, Colonche Parish, Santa Elena canton (Santa Elena Province), with coordinates 02°15'02" S, 80°34'21" W and 40 meters above sea level and (L3) ASOSUMACO Organization, Loreto Parish, Loreto canton (Orellana Province), with coordinates 00°42'43.21" S, 77°19'46.7" W and 415 meters above sea level.

Study factor and treatments

The factor under study consisted of the processing methods for preparing washed and natural coffee (table 1). The five (5) treatments were: (E1) enzymatic wet processing using 100 mL.t⁻¹ of coffee cherries, (E2) enzymatic processing with 200 mL.t⁻¹, (E3) enzymatic processing with 300 mL.t⁻¹, (HC) processing by "wet process" and (VS) processing by "dry process" (natural coffee). The experimental unit was a sample of 10 kg of cherry coffee, this quantity allows obtaining approximately 6.2 kg of coffee pulpless, which is equivalent to 2.15 kg of coffee beans. The experimental variable was the fermentation time (min), defined as

natural). La unidad experimental, estuvo conformada por la muestra de 10 kg de café cereza, esta cantidad permite obtener aproximadamente 6,2 kg de café despulpado, que equivale a 2,15 kg de café en grano. La variable experimental fue el tiempo de fermentación (min), definido como el tiempo que transcurre desde el momento del despulpado hasta el punto óptimo de lavado, en los tratamientos con la adición de enzimas (E1, E2 y E3) y mediante el beneficio por vía húmeda (HC).

the time that elapses from the moment of the remove the pulp to the optimal washing point, in the treatments with the addition of enzymes (E1, E2 and E3) and through the processing of wet route (HC).

Sample preparation

The preparation of the samples was adjusted differently to the treatments under study. Firstly, Robusta coffee harvest was carried out in full maturity, later, the cherry coffee was separated (vain, tender, overripe and dry fruits) by density in containers

Cuadro 1. Descripción de los métodos de beneficio de café en estudio.

Table 1. Description of the coffee process under study.

Tratamientos	Código	Descripción de los métodos de beneficio
1	E1	Beneficio húmedo enzimático usando dosis de 100 mL.t ⁻¹ de café cereza (equivale a 1,0 mL por cada 10 kg de café cereza)
2	E2	Beneficio húmedo enzimático usando dosis de 200 mL. t ⁻¹ de café cereza (equivale a 2,0 mL por cada 10 kg de café cereza)
3	E3	Beneficio húmedo enzimático usando dosis de 300 mL.t ⁻¹ de café cereza (equivale a 3,0 mL por cada 10 kg de café cereza)
4	HC	Beneficio por la vía húmeda (Testigo: sin adición de enzimas)
5	VS	Beneficio por la vía seca

Preparación de la muestra

La preparación de las muestras se ajustó diferenciadamente a los tratamientos en estudio. En primer lugar, se realizó la cosecha del café robusta en pleno estado de madurez, posteriormente, se hizo el boyado del café cereza (separación por densidad, en recipientes con agua, de los frutos

with water (floating), and finally, an initial weight of 10 kg of cherry coffee was taken per treatment / location.

For the preparation of washed coffee using the “enzymatic wet process” E1, E2 and E3, the pulp of cherry coffee was removed in a de-pulping equipment (calibrated); pulpless samples from E1, E2, E3

vanos, tiernos, sobremaduros y secos) y finalmente, el pesaje inicial de 10 kg de café cereza boyado por tratamiento / localidad.

Para la preparación del café lavado mediante el beneficio “húmedo enzimático” E1, E2 y E3, se procedió a realizar el despulpado del café cereza en un equipo despulpador (calibrado), las muestras despulpadas de los tratamientos E1, E2, E3, se colocaron en tinas plásticas, añadiéndose sobre ellas el producto enzimático, en las dosis pertinentes. Para la adición del producto enzimático, en una botella plástica, de 500 mL, se colocó una parte de agua limpia (\pm 200 mL) y con una jeringa se agregó el producto enzimático. La botella con agua con el producto enzimático se agitó y luego se agregó a la masa de café despulpado, removiéndola frecuentemente para asegurar su dispersión. Se determinó el punto óptimo de fermentación mediante la prueba del tacto, que se basa en la sensación a cascajo, al restregar el grano fermentado con las manos. El café fermentado, en su punto óptimo, se lavó con agua limpia. El café pergamino húmedo se colocó en tres zarandas de malla plástica (repeticiones) para su secado debajo de una marquesina, hasta que el grano alcanzara un valor de humedad de 10 a 12 %.

Para la preparación de los cafés lavados mediante el beneficio por la “vía húmeda” (HC): Las muestras de café despulpado se colocaron en tinas plásticas para la fermentación natural, sin añadir agua. Con la prueba del tacto se determinó el punto óptimo de fermentación. El café fermentado se

were placed in plastic tubs, adding the enzymes. The enzyme solution was prepared adding enzyme with a syringe in clean water (\pm 200 mL) placed in a 500 mL plastic bottle. The bottle with the solution was shaken and then added to the pulpless coffee mass and stirring frequently to ensure its dispersion. The optimum fermentation point was determined by the touch test, which is based on the husk sensation, by scrubbing the fermented grain with the hands. The fermented coffee at its optimum, was washed with clean water. The wet parchment coffee was placed in three plastic mesh grids (repetitions) for drying under a canopy, until the bean reached a humidity value of 10 to 12 %.

For the preparation of the washed coffee through the processing of the “wet process” (HC): The samples of pulpless coffee were placed in plastic vats for natural fermentation, without adding water. The optimum fermentation point was determined with the touch test. The fermented coffee was washed with clean water. Each sample of wet parchment coffee (HC) was placed in three individual grids for drying under the canopy, until the bean reached a moisture value of 10 to 12 %.

For the preparation of natural coffees (VS): The coffee cherry separated, was placed directly in plastic mesh grids under a canopy to dry the fruits with all the wraps. The drying was carried out until reaching a “dry ball” coffee with a humidity of 10 to 12 %.

For the preparation of coffee samples before sending them to the laboratory to determine their quality:

lavó con agua limpia. Cada muestra de café pergamino húmedo (HC), se colocó en tres zarandas individuales para su secado debajo de la marquesina, hasta que el grano alcanzó un valor de humedad del 10 al 12 %.

Para la preparación de los cafés naturales (VS): El café cereza luego del boyado, se colocó directamente en zarandas de malla plástica, debajo de una marquesina, para el secado de los frutos con todas las envolturas. El secado se realizó hasta alcanzar un café “bola seca” con una humedad del 10 al 12 %.

Para la preparación de muestras de café previo a su envío al laboratorio de calidad: Los cafés en pergamino E1, E2, E3 y HC y el café “bola seca” VS, secos, fueron colocados en fundas de polipropileno, etiquetadas, para su conservación hasta el momento de la catación. La conservación, preparación del grano y evaluación sensorial se realizó en el laboratorio de Calidad Integral de Café y Cacao de la Estación Pichilingue del INIAP, Quevedo, Los Ríos.

Comparación de los atributos organolépticos de los cafés Robustas

Las 45 muestras de café en grano: tres (3) localidades x cinco (5) métodos de beneficio y tres (3) repeticiones, fueron conservadas hasta la catación realizada del 7 al 9 de enero de 2019.

Unidad experimental

Las muestras de café pergamino seco y de café “bola seca” fueron trilladas y clasificadas para tener café en grano. La preparación de las muestras se realizó, según los estándares SCAA (SCAA, 2010). Cada muestra se conforma por cinco tazas

The parchment coffee E1, E2, E3 and HC and the “dry ball” coffee (VS), dried, were placed in labeled polypropylene sleeves for preservation until the cupping. The conservation, preparation of the grain and sensory evaluation was carried out in the Comprehensive Quality Laboratory of Coffee and Cocoa of the Pichilingue Station of INIAP, Quevedo, Los Ríos.

Comparison of the organoleptic attributes of Robusta coffee

The 45 samples of coffee beans: three (3) locations x five (5) methods of processing and three (3) repetitions, were kept until the cupping carried out from January 7 to 9, 2019.

Experimental unit

The samples of dry parchment coffee and “dry ball” coffee were threshed and classified. Sample preparation was performed according to SCAA standards (SCAA, 2010). Each sample is made up of five 150 mL cups with 8.75 g of ground coffee. These five cups constitute the effective experimental unit.

Preparation of samples for sensory evaluation

Before tasting, the green coffee samples were prepared starting with threshing. The roasting was done in an experimental toaster. The beans were roasted for 11-13 minutes at a temperature of 190 °C to 210 °C until reaching a medium to medium dark color. The roasted samples were cooled and stored in non-permeable covers for 8-12 hours before milling.

Roasted coffee was weighed individually at the rate of 8.75 g per 150 mL cup. The grinding was done in an electric mill, 15 minutes before

de 150 mL con 8,75 g de café molido. Estas cinco tazas constituyen la unidad experimental efectiva.

Preparación de muestras para evaluación sensorial.

Previo a la catación se prepararon las muestras de café verde, empezando con la trilla. El tostado se realizó en una tostadora experimental. El color del tueste fue entre medio y medio oscuro, lo cual tomó un tiempo entre 11 y 13 minutos (la norma indica 9 - 14 minutos), a una temperatura de 190 °C a 210 °C. Las muestras tostadas fueron enfriadas y guardadas en fundas no permeables, dejando en reposo de 8 a 12 h antes de la molienda.

El café tostado se pesó individualmente a razón de 8,75 g por taza de 150 mL. La molienda se hizo en un molino eléctrico, 15 minutos antes de la preparación de la infusión, colocándose tapas a cada taza para mantener su fragancia y aroma. El tamaño de las partículas de la molienda fue de grado medio. Entre muestras se muele una pequeña cantidad (± 10 g) de la nueva muestra para limpiar el molino y evitar residuos de la muestra previa. Para preparar la infusión se añadió, a las tazas con café molido, agua limpia y sin olor, calentada hasta 93 °C, dejando en reposo durante cuatro (4) minutos.

Formato de la prueba de taza

El formato para la calificación sensorial tenía una estructura sistemática, en el cual se registraron los 10 atributos organolépticos, cuyo proceso implicó cinco etapas:

Etapas 1. Evaluación de la fragancia y aroma: en las cinco tazas de muestra,

the preparation of the infusion, with lids placed on each cup to maintain its fragrance and aroma. The size of the grinding particles was medium. Between samples, a small amount (± 10 g) of the new sample is ground to clean the mill and avoid residue from the previous sample. To prepare the infusion, clean water was heated to 93 °C and added to the cups with ground coffee, making an infusion for four (4) minutes.

Cup test format

The format for sensory rating had a systematic structure, in which ten organoleptic attributes were recorded, involving five stages:

Stage 1. Fragrance and aroma evaluation: In the five sample cups, the fragrance was initially evaluated, lifting the lid of each cup (dry olfactory impression), then hot water was added, making an infusion for three (3) to five (5) minutes and the aroma was assessed.

Stage 2. Evaluation of taste, aftertaste, salt / acidity equilibrium, bitter / sweet equilibrium and body: When the samples reached 70 °C (8 - 10 minutes), the flavors were evaluated and rated.

Stage 3. Assessment of equilibrium, uniformity and clarity: As the coffee cooled and reached room temperature, these attributes were evaluated.

Stage 4. Taster score: Sensory evaluation concluded when the cups reached ± 16 °C and each taster gave a combined assessment of all attributes.

Stage 5. Sensory evaluation: The sensory rating of each sample is the sum of the 10 partial scores, adjusted with the subtraction of two points

en un primer momento se evaluó la fragancia, levantando la tapa de cada taza (impresión olfativa en seco), luego se añadió el agua caliente, dejando en reposo de tres (3) a cinco (5) minutos y se valoró el aroma.

Etapa 2. Evaluación del gusto, regusto, equilibrio sal/acidez, equilibrio amargo/dulce y cuerpo: Cuando las muestras alcanzaron 70 °C (8 - 10 minutos), se evaluaron y calificaron los sabores.

Etapa 3. Evaluación del balance, uniformidad y limpidez: A medida que se enfrió el café y alcanza la temperatura ambiente, se evaluaron estos atributos.

Etapa 4. Puntaje de catador: La evaluación sensorial concluyó cuando las tazas alcanzaron ± 16 °C y cada catador dio una valoración combinada de todos los atributos.

Etapa 5. Evaluación sensorial: La calificación sensorial de cada muestra es la suma de los 10 puntajes parciales, ajustado con la resta de dos puntos/taza cuando se detectan defectos secundarios y cuatro puntos/taza si se tratara de defectos capitales. En el presente estudio no se encontraron defectos de taza.

Variables experimentales

Las 10 características organolépticas, según los estándares de la SCAA (2010), son las siguientes:

Fragancia/Aroma: La fragancia se evaluó sobre base seca (tostado-molido) y el aroma sobre base húmeda (con adición de agua caliente).

Sabor: Es la impresión combinada de todas las sensaciones gustativas y aromas retronasales que van de la boca a la nariz (notas a frutas, nueces, especias y dulces).

/ cup when secondary defects are detected and four points / cup if they were capital defects. In the present study, no cup defects were found.

Experimental variables

The 10 organoleptic characteristics, according to SCAA standards (2010), are as follows:

Fragrance / Aroma: The fragrance was evaluated on a dry basis (roasted - ground) and the aroma on a wet basis (with the addition of hot water).

Flavor: It is the combined impression of all the taste sensations and retronasal aromas that go from the mouth to the nose (notes of fruits, nuts, spices and sweets).

Residual flavor: It is the positive quality of the flavor that emanates from the back of the tongue and remains until after the coffee is expectorated.

Salt / Acidity Equilibrium: It is an attribute caused by the mixture of salty and acidic flavors. Acidity results from the gustatory appreciation of organic acids.

Bitter / Sweet Equilibrium: It is a combination of bitterness and sweetness. The bitterness arises from the content of potassium, caffeine and chlorogenic acid, while the sweetness originates from sugars.

Body: It is the tactile sensation in the mouth caused by the stimulation of vapors and soluble solids, when absorbing the drink.

Cup Uniformity: Refers to the constant taste among the five cups in the sample. The variation between cups of the same sample indicates a lack of uniformity.

Sabor residual: Es la cualidad positiva del sabor que emana de la parte posterior de la lengua y permanece hasta después de que el café se expectora.

Equilibrio sal/acidez: Es un atributo originado por la mezcla de sabores salados y ácidos. La acidez resulta de la apreciación gustativa de los ácidos orgánicos.

Equilibrio amargo/dulce: Es una combinación del amargor y dulzor. El amargor surge por el contenido de potasio, cafeína y ácido clorogénico, mientras que el dulzor se origina en los azúcares.

Cuerpo: Es la sensación táctil en la boca causada por la estimulación de los vapores y sólidos solubles, al momento de absorber la bebida.

Uniformidad de la taza: Se refiere al gusto constante entre las cinco tazas de la muestra. La variación entre tazas de una misma muestra indica falta de uniformidad.

Equilibrio de la taza: Es el indicativo de que el conjunto de atributos tiene suficiente complejidad sin que una característica abrume u opaque a las demás.

Limpieza o limpidez: Se refiere a la ausencia de impresiones negativas que puedan interferir desde la primera ingestión hasta el regusto o sabor residual.

Puntaje del catador: El catador realiza una valoración global de la calidad de taza, combinando todos los atributos, según su particular criterio.

La evaluación sensorial: Es la suma de los puntajes parciales de los 10 atributos, se califica sobre 100 puntos, con un ajuste por defectos en la taza.

Cup equilibrium: This is an indication that the set of attributes has enough complexity without one characteristic overwhelming or dulling the others.

Cleanliness or limpidity: Refers to the absence of negative impressions that can interfere from the first ingestion to the aftertaste or residual flavor.

Taster's score: The taster performs a global assessment of the cup quality, combining all the attributes, according to their particular criteria.

Sensory evaluation: It is the sum of the partial scores of the 10 attributes, is rated on 100 points, with an adjustment for defects in the cup.

Cupping panel

The panel was made up of two expert tasters in sensory evaluation of Robusta coffee, accredited by the Coffee Quality Institute (CQI: Coffee Quality Institute) and two tasters in the process of accreditation, one from INIAP and the other from ESPAM.

Statistical analysis.

To perform the statistical analysis, the SPSS-22 program was used (Leech, Barrett and Morgan, 2014). In evaluating the effect of the enzymes on the fermentation time, the washed coffees resulting from the enzyme treatments E1, E2 and E3 were first compared with each other, then compared with the wet method (HC). To evaluate the doses of the enzymes E1, E2 and E3, the "Friedman analysis of variance by ranks" (non-parametric technique) was performed, the statistical significance of which is tested with χ^2 (Chi-square) with a significance level $\alpha = 0.05$. The formula for the Friedman statistic is:

Panel de catación

El panel estuvo conformado por dos catadores expertos en evaluación sensorial de café robusta, acreditados por el Instituto de la Calidad del Café (CQI: Coffee Quality Institute) y dos catadoras en proceso de acreditación, una del INIAP y otra de la ESPAM.

Análisis estadístico.

Para realizar el análisis estadístico, se usó el programa SPSS-22 (Leech, Barrett y Morgan, 2014). En la evaluación del efecto del producto enzimático sobre el tiempo de fermentación, los cafés lavados resultantes de los tratamientos enzimáticos E1, E2 y E3, primero se compararon entre sí, luego se comparó con el método por vía húmeda (HC). Para evaluar las dosis del producto enzimático E1, E2 y E3, se realizó el "Análisis de varianza por rangos de Friedman" (técnica no paramétrica), cuya significación estadística se prueba con χ^2 (Ji-cuadrada) con un nivel de significación $\alpha=0,05$. La fórmula del estadístico de Friedman es:

$$X_r^2 = \frac{12}{at(t+1)} \sum R^2 - 3 a (t+1)$$

Dónde: X_r^2 = Estadístico de Friedman, a = localidades, t = tratamientos, $\sum R^2$ = Suma de los rangos de los tratamientos elevados al cuadrado.

X_r^2 se contrastó con el estadístico Ji-cuadrado (χ^2), grados de libertad (GL) = $t-1$ y $\alpha=0,05$.

Las hipótesis estadísticas fueron:

H_0 = No hay diferencia estadística entre tiempos de fermentación $E1=E2=E3$.

H_1 = Al menos un tratamiento es estadísticamente diferente.

$$X_r^2 = \frac{12}{at(t+1)} \sum R^2 - 3 a (t+1)$$

Where: X_r^2 = Friedman statistic, a = localities, t = treatments, $\sum R^2$ = Sum of the ranges of the treatments squared.

X_r^2 was compared with the Chi-square statistic (χ^2), degrees of freedom (GL) = $t-1$ and $\alpha = 0.05$.

The statistical hypotheses were:

H_0 = There is no statistical difference between fermentation times $E1 = E2 = E3$.

H_1 = At least one treatment is statistically different.

The decision rule was as follows:

If $X_r^2 < X_{0.05}^2$: H_0 is accepted

If $X_r^2 \geq X_{0.05}^2$: H_1 is accepted

In the analysis of the sensory scores (mean \pm standard error) and the confidence limits of the parameter μ with $\alpha = 0.05$ were calculated. The analysis of variance (ADEVA), for the variable "sensory rating", was based on a randomized block design (BA) of five treatments with an arrangement to determine the effect of localities, tasters and treatments. The analysis of variance was supplemented by orthogonal comparisons. Correlation analyzes (r) were performed with the means of the attributes ($\alpha = 0.05$). In addition, principal component analysis (PCA) was performed, a technique that transforms a set of correlated original variables into a smaller set of uncorrelated variables or principal components, to explain the contributions to the total variance. The reliability of the model was tested with the KMO coefficient (closer to 1 is better) and with the Bartlett test

La regla de decisión fue la siguiente:

Si $X_r^2 < X_{0,05}^2$: Se acepta H_0

Si $X_r^2 \geq X_{0,05}^2$: Se acepta H_1

En el análisis de las calificaciones sensoriales se calculó (media \pm error típico) y los límites de confianza del parámetro μ con $\alpha = 0,05$. El análisis de varianza (ADEVA), para la variable “calificación sensorial”, se basó en un diseño de bloques al azar (BA) de cinco tratamientos con un arreglo para determinar el efecto de localidades, catadores y tratamientos. El ADEVA se complementó con las comparaciones ortogonales. Los análisis de correlación (r) se realizaron con las medias de los atributos ($\alpha=0,05$). Se realizó, además, el análisis de componentes principales (ACP), técnica que transforma un conjunto de variables originales correlacionadas en un conjunto menor de variables no correlacionadas o componentes principales, para explicar las contribuciones a la varianza total. Se probó la confiabilidad del modelo con el coeficiente KMO (más próximo a 1 es mejor) y con la prueba de Bartlett ($GL=45$ y $\alpha=0,05$), se determinó la significación estadística.

Resultados y discusión

En las tres localidades estudiadas: Guayas (L1), Santa Elena (L2) y Orellana (L3), el tiempo de fermentación del café despulpado, en el beneficio por “vía húmeda” (sin adicionar enzimas) fue 1200 ± 29 min (± 20 h) y con los métodos de beneficio “húmedo enzimático” se redujo a 39 a 42 min (cuadro 2).

($GL = 45$ and $\alpha = 0.05$), the statistical significance was determined.

Results and discussion

The fermentation time of the pulpless coffee resulting from the wet process (without adding enzymes) in the three locations studied was 1200 ± 29 min (± 20 h), while with the wet process with enzymes it was reduced between 39 to 42 min (table 2).

Peñuela *et al.* (2010), reported longer fermentation times (180 min), in a study carried out in Colombia, using Zynmucil (IPF, 2011) and Rohapect TPL with a dose of 1 mL.10 kg^{-1} of pulpless coffee (equivalent to 16 kg of cherry coffee). On the other hand, Matiello *et al.* (2014), in Brazil, using Novozym 33095 reduced the fermentation time to 150 min.

The differences in the fermentation times of the mucilage could be attributed to the variation in the dose of the enzymes or to the frequent removal of the pulpless coffee mass with enzymes, applied in the present study, which is not used in the Colombian and Brazil works (Puerta, 2010; Peñuela, 2010; Matiello *et al.* 2014).

Homoscedasticity was observed for fermentation time in the enzymatic treatments E1, E2 and E3 were (homogeneous variances), contrary to the heteroscedasticity shown for the same variable in HC treatments. Friedman’s analysis of variance by ranges established that the fermentation times of the mucilage, in the three doses of enzymes, were statistically equal. The calculated Friedman statistic was:

Cuadro 2. Tiempos de fermentación del café despulpado en función de las dosis de producto enzimático.**Table 2. Fermentation times of the pulpless coffee as a function of the enzyme doses.**

Métodos de beneficio	Duración de la fermentación			Media ± Error (Minutos)	Reducción del tiempo de fermentación
	(minutos)				
	Guayas	Santa Elena	Orellana		
E1: 100 mL.t ⁻¹ de café cereza	42	37	46	42±3	96 %
E2: 200 mL.t ⁻¹ de café cereza	34	40	45	40±3	97 %
E3: 300 mL.t ⁻¹ de café cereza	36	38	42	39±2	97 %
HC: Húmedo convencional	1200	1250	1150	1200 ±29	0 %

El tiempo de fermentación en el beneficio por “vía húmeda” fue 20 h (Testigo).

The fermentation time in the “wet” process was 20 h (Testigo).

Peñuela *et al.* (2010), reportó mayores tiempos de fermentación (180 min), en un estudio realizado en Colombia, usando Zynmucil (IPF, 2011) y Rohapect TPL con una dosis de 1 mL.10 kg⁻¹ de café despulpado (equivale a 16 kg de cereza). Por otra parte, Matiello *et al.* (2014), en Brasil, usando Novozym 33095 redujo el tiempo de fermentación a 150 min.

Las diferencias en los tiempos de fermentación del mucilago, pudiera atribuirse a la variación en la dosis del producto enzimático o a la remoción frecuente de la masa de café despulpado con enzimas, aplicada en el presente estudio, que no se detalla en las investigaciones de Colombia y Brasil (Puerta, 2010; Peñuela, 2010; Matiello *et al.* 2014).

La variable tiempo de fermentación en los tratamientos enzimáticos E1, E2 y E3 fueron homocedásticas (varianzas homogéneas),

$$X_r^2 = \frac{12}{3(3)(4)} (110) - 3 (3)(4) = 0,67$$

Being Chi squared (X^2) with GL = t-1, $\alpha = 0.05$ and X^2 critical = 5.99

As $X_r^2 = 0,67 < X_{0.05}^2 = 5.99$: H_0 is accepted. Therefore, there is no statistically significant difference for fermentation times: E1 = E2 = E3.

The analysis highlights the means, standard error and upper and lower limits of μ with $\alpha = 0.05$ (table 3). The washed coffees from treatment E3 had $\mu = 80.66 \pm 0.34$ points and those from HC treatment $\mu = 80.72 \pm 0.34$ points and natural coffee (VS) a value $\mu = 76.44 \pm 0.59$ points.

Analyzing n = 180 sensory scores, 53 % had ≥ 80 points and 47 % had < 80 points, which is indicative that Ecuador has a high potential to produce specialty coffee. The analysis of variance determined that there

distantes de la varianza del tratamiento HC, que resultó heterocedástica. El Análisis de varianza por rangos de Friedman permitió establecer que los tiempos de fermentación del mucilago, en las tres dosis de enzimas, resultaron estadísticamente iguales. El estadístico de Friedman calculado fue:

$$X_r^2 = \frac{12}{3(3)(4)} (110) - 3(3)(4) = 0,67$$

Siendo J_i cuadrado (X^2) con $GL=t-1$, $\alpha=0,05$ y $X_{crítico}^2 = 5,99$

Como $X_r^2 = 0,67 < X_{0,05}^2 = 5,99$: Se acepta H_0 . Por lo tanto, no hay diferencia estadística significativa para tiempos de fermentación: $E1=E2=E3$.

En el análisis se destaca las medias, error típico y límites inferior y superior de μ con $\alpha=0,05$ (cuadro 3). Los cafés lavados del tratamiento E3 tuvieron $\mu = 80,66 \pm 0,34$ puntos y los del tratamiento HC $\mu = 80,72 \pm 0,34$ puntos y el café natural (VS) un valor $\mu = 76,44 \pm 0,59$ puntos.

was no difference in the tasters' scores ($p = 0.86$); however, there were differences between the localities ($p = 0.0037$), repetitions ($p = 0.0004$) and treatments ($p = 0.00001$) (table 4). Orthogonal comparisons made it possible to separate the effects by treatments: $E1 = E2 = E3 = HC > VS$, verifying with the Tukey test ($\alpha = 0.05$) (table 5). The Orellana locality (L3) had a higher score ($p < 0.05$) compared to Guayas and Santa Elena: $L3 > L1 = L2$ (table 6). The variations detected in the evaluation of different processing methods have no influence on sensory attributes (Koskei *et al.*, 2015).

In the correlation matrix (table 7), it is observed that the fragrance / aroma, flavor, residual flavor, salt / acidity equilibrium, bitter / sweet equilibrium, body, equilibrium and taster score, are positively and significantly correlated with the sensory score ($p < 0.05$). The uniformity and limpidity characteristics were

Cuadro 3. Calificación sensorial de cafés robustas, error típico y límites inferior y superior del parámetro μ con el 95 % de confianza.

Table 3. Sensory rating of Robusta coffee, standard error and upper and lower limits of the μ parameter with 95% confidence.

Métodos de beneficio	Tipo de café	Evaluación sensorial	Límite Inferior	Límite Superior
		Media \pm error	de μ	de μ
E1: 100 mL.t ⁻¹ de café cereza	Lavado	79,81 \pm 0,55	78,73	80,88
E2: 200 mL.t ⁻¹ de café cereza	Lavado	79,92 \pm 0,39	79,16	80,69
E3: 300 mL.t ⁻¹ de café cereza	Lavado	80,66 \pm 0,34	80,00	81,32
HC: Húmedo convencional	Lavado	80,72 \pm 0,34	80,05	81,40
VS: Vía seca	Natural	76,44 \pm 0,59	75,30	77,59

Analizando n=180 calificaciones sensoriales, el 53 % tuvo ≥ 80 puntos y el 47 % tuvo < 80 puntos, que resulta un indicativo del potencial del Ecuador para producir cafés de especialidades. Con el ADEVA se determinó que no hubo diferencia en las calificaciones de los catadores ($p=0,86$); pero si hubo diferencias entre las localidades ($p=0,0037$), repeticiones ($p=0,0004$) y tratamientos ($p=0,00001$) (cuadro 4). Las comparaciones ortogonales posibilitaron separar los efectos por tratamientos: $E1 = E2 = E3 = HC > VS$, verificándose con los rangos de Tukey_{0,05} (cuadro 5). La localidad Orellana (L3) tuvo mayor puntaje ($p < 0,05$) comparado con Guayas y Santa Elena: $L3 > L1 = L2$ (Cuadro 6). Las variaciones detectadas en la evaluación de distintos métodos de beneficio no tienen influencia en los atributos sensoriales (Koskei *et al.*, 2015).

correlated with each other ($r = 0.901^*$), but it was not significant with the sensory evaluation.

The ACP allowed verifying the intensity of the correlations between attributes, verifying that clarity and uniformity showed differences with the rest of the organoleptic characteristics and that the E3 treatment is close to the HC treatment (figure 1). The washed coffees were statistically equal. Fragrance / aroma, flavor, residual flavor, salt / acidity equilibrium, bitter / sweet equilibrium, body, equilibrium and taster score are positively related to sensory rating ($p < 0.05$), making up the main component of organoleptic quality. The KMO coefficient = 0.83 indicates that the multivariate analysis is reliable. Bartlett's test gave a value of $P = 0.0001$, therefore, there is a reduced probability of error.

Cuadro 4. Análisis de varianza de la “calificación sensorial” de los cafés robustas.

Table 4. Analysis of variance of the “sensory rating” of Robusta coffee.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	F _{0,05}	F _{0,01}	p
Localidad	2	64,01	32,01	5,81	3,05	4,74	0,00370 **
Repetición	2	89,25	44,63	8,10	3,05	4,74	0,00040 **
Métodos de beneficio	4	448,11	112,03	20,34	2,43	3,44	0,00001 **
<i>E1 vs E2</i>	(1)	0,22	0,22	0,04	3,90	6,80	(0,840) NS
<i>E2 vs E3</i>	(1)	9,86	9,86	1,79	3,90	6,80	(0,180) NS
<i>E1, E2, E3 vs HC</i>	(1)	9,40	9,40	1,71	3,90	6,80	(0,193) NS
<i>HC vs VS</i>	(1)	329,73	329,73	59,84	3,90	6,80	(0,00000001)**
Catadores	3	4,12	1,37	0,25	2,66	3,91	0,8617 NS
Localidad x tratamiento	8	256,54	32,07	5,82	2,00	2,62	0,00001**
Error experimental	160	881,08	5,51				
Total	179	1743,1					

NS: no hay diferencia estadística, *: diferencia estadística con el 95 % de confianza, **: diferencia estadística con 99 % de confianza.

NS: there is no statistical difference, *: There is a statistical difference with 95% confidence, **: statistical difference with 99 % confidence.

Cuadro 5. Promedios de calificación sensorial, error estándar y rangos de Tukey en relación con los métodos de beneficio del café robusta.

Table 5. Averages of sensory qualification, standard error and Tukey ranges in relation to Robusta coffee processing.

Métodos de beneficio	Tipo de café	Media ± Error estándar	Observaciones	Rangos de Tukey _{0,05}
E1: 100 mL.t ⁻¹ de café cereza	Lavado	79,81 ± 0,39	36	A
E2: 200 mL.t ⁻¹ de café cereza	Lavado	79,82 ± 0,39	36	A
E3: 300 mL.t ⁻¹ de café cereza	Lavado	80,66 ± 0,39	36	A
HC: Húmedo convencional	Lavado	80,72 ± 0,39	36	A
VS: Vía seca	Natural	76,44 ± 0,39	36	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Averages with a common letter are not significantly different ($P > 0.05$).

Cuadro 6. Promedios de calificación sensorial, error estándar y rangos de Tukey en relación con las localidades de estudio del café robusta.

Table 6. Averages of sensory qualification, standard error and Tukey ranges in relation to the study locations of the Robusta coffee.

Localidad	Media	Error estándar	n	Rangos de Tukey _(0,05)
Orellana	80,35	0,30	60	A
Santa Elena	79,17	0,30	60	B
Guayas	79,02	0,30	60	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Averages with a common letter are not significantly different ($p > 0.05$).

En la matriz de correlaciones (cuadro 7), se observa que la fragancia/aroma, sabor, residual, equilibrio sal/acidez, equilibrio amargo/dulce, cuerpo, balance y puntaje de catador, se correlacionan positiva y significativamente con el puntaje sensorial ($p < 0,05$). La características uniformidad y limpidez se correlacionan entre sí ($r = 0,901^*$), pero no resultó significativa con la evaluación sensorial.

The estimated cost of preparing a quintal of parchment coffee using enzymes was \$ 0.87 with the advantage of being able to start drying the same day of harvest. The coffee processors seek the profitability of the processing methods (Koskei *et al.*, 2015), therefore, the E1 enzyme treatment would be less costly.

The results allowed determining that the enzymatic product based on pectin-transeliminase, used to accelerate fermentation of the

Cuadro 7. Matriz de correlaciones lineales entre atributos organolépticos del café robusta.

Table 7. Matrix of correlations between organoleptic attributes of Robusta coffee.

Atributo de taza	Fragancia Aroma (FR/AR)	Sabor (SA)	Sabor residual (SARES)	Equilibrio sal: acidez (ES/AC)	Equilibrio amargo: dulce (EA/D)	Cuerpo (CU)	Uniformidad (UN)	Balance (BA)	Limpidez (LI)	Puntaje de catador (PC)	Calificación sensorial (EVSEN)
FR/AR	1										
SA	0,947*	1									
SARES	0,941*	0,992**	1								
ES/AC	0,976**	0,977**	0,977**	1							
EA/D	0,956*	0,950*	0,966**	0,991**	1						
CU	0,910*	0,986**	0,996**	0,964**	0,956*	1					
UN	0,009NS	0,322NS	0,292NS	0,148NS	0,101NS	0,357NS	1				
BA	0,922*	0,997**	0,991**	0,960**	0,933*	0,99**	0,386NS	1			
LI	-0,136 NS	0,126NS	0,054NS	-0,062NS	-0,150NS	0,099NS	0,901*	0,181NS	1		
PC	0,936*	0,997**	0,999**	0,974**	0,957*	0,996**	0,328	0,996**	0,101NS	1	
EVSEN	0,925*	0,997**	0,993**	0,969**	0,946*	0,993**	0,372NS	0,999**	0,157NS	0,998**	1

NS: no hay correlación significativa, *: correlación es significativa en el nivel de significación $\alpha=0,05$, **: correlación es significativa en el nivel de significación $\alpha=0,01$.

NS: no significant correlation, *: correlation is significant at significance level $\alpha = 0.05$, **: correlation is significant at significance level $\alpha = 0.01$.

El ACP permitió verificar la intensidad de las correlaciones entre atributos, comprobándose que la limpidez y uniformidad se alejan de los otros caracteres y que el tratamiento E3 se aproxima al tratamiento HC (figura 1). Los cafés lavados resultaron estadísticamente iguales, según el ADEVA, complementada con la prueba de medias (Tukey_{0,05}). La fragancia/aroma, sabor, residual, equilibrio sal/acidez, equilibrio amargo/dulce, cuerpo, balance y puntaje de

mucilage, had no detrimental effects on the organoleptic quality of coffee, coinciding with Peñuela *et al.* (2010) Matiello *et al.* (2014); Koskei *et al.*, (2015) and Fadri *et al.* (2020); therefore, it is considered a beneficial alternative for the preparation of Robusta washed coffee.

Conclusions

The fermentation time of the mucilage using pectolytic enzymes was significantly reduced; this reduction

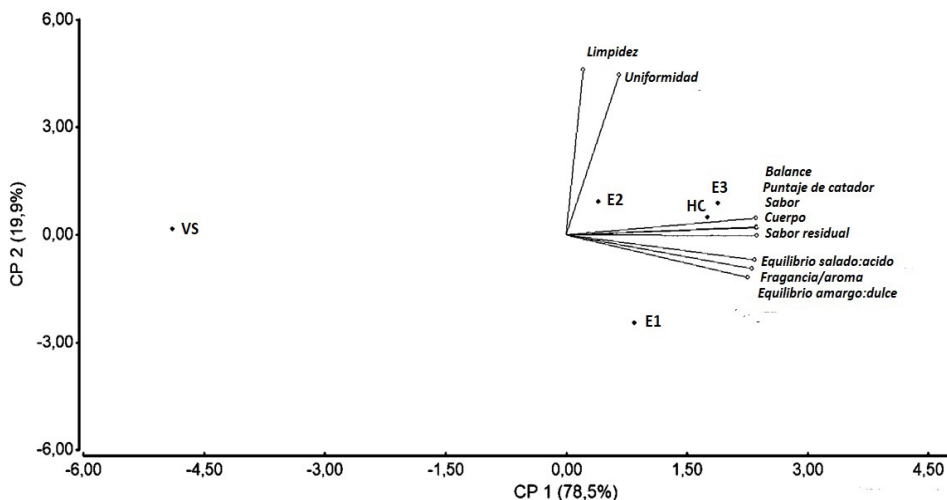
catador se relacionan positivamente con la calificación sensorial ($p < 0,05$), conformando el principal componente de la calidad organoléptica. El coeficiente $KMO = 0,83$ indica que el análisis multivariado es confiable. La prueba de Bartlett dio un valor $p = 0,0001$, por lo tanto, hay una reducida probabilidad de equivocación.

allows minimizing the risks of defective fermentations and managing harvest more efficiently.

The washed coffee, obtained higher scores than the natural coffee in sensory qualifications, with the certain possibility of achieving > 80 SCAA points and having access to the markets for specialty coffees.

Figura 1. Componentes principales de la calidad sensorial del café robusta en relación a los métodos de beneficio.

Figure 1. Principal component analysis of the sensory quality of Robusta coffee in relation to the processing methods.



El costo estimado de preparación de un quintal de café pergamino usando enzimas fue \$ 0,87 con la ventaja de poder iniciar el secado el mismo día de la cosecha. Los procesadores buscan la rentabilidad de los métodos de beneficio (Koskei *et al.*, 2015), por tanto, el tratamiento enzimático E1, resultaría de menor costo.

The pectolytic enzymes used in the fermentation of mucilage did not cause detrimental effects on the organoleptic quality of Robusta coffee, therefore, their application would contribute to the improvement of harvest management.

End of English Version

Los resultados permitieron determinar que el producto enzimático a base de pectina-transeliminasa, usado para acelerar la fermentación del mucílago, no tuvo efectos detrimentales sobre la calidad organoléptica del café, coincidiendo con Peñuela *et al.* (2010) Matiello *et al.* (2014); Koskei *et al.*, (2015) y Fadri *et al.* (2020); por lo tanto, se considera una alternativa beneficiosa para la preparación de cafés robustas lavados.

Conclusiones

La fermentación del mucílago empleando enzimas pectolíticas se redujo significativamente, esta reducción del tiempo en el proceso de beneficio permite minimizar los riesgos de las fermentaciones defectuosas y gestionar la poscosecha de manera más eficiente.

Los cafés lavados, en calificaciones sensoriales, obtuvieron mayores puntajes que el café natural, habiendo la posibilidad cierta de lograr >80 puntos SCAA y tener acceso a los mercados de cafés especiales.

Las enzimas pectolíticas usadas en la fermentación del mucílago no causaron efectos detrimentales sobre la calidad organoléptica del café robusta, por tanto, su aplicación contribuiría a la mejora de la poscosecha.

Literatura citada

ANECAFÉ (Asociación Nacional de Exportadores de Café, EC). 2020. Estadísticas 2019. Disponible en: <http://www.anecafe.org.ec/exportaciones2019>. Fecha de consulta: abril 2020.

Duicela, L.A. 2017. *Café robusta: Producción y poscosecha*. Primera edición. Ed.

Humus. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. Guayaquil, Ecuador. 292 p.

Fadri, R.A., K. Sayuti, N. Nazir, I. Suliansyah. 2020. Production Process and Quality Testing of Arabica Ground Coffee (*Coffea arabica* L.) Solok Regency, West Sumatera. *JAAST* 4(1): 36-55.

GRANOTEC. 2017. Granozyme café 100: Ficha técnica. Nutrición y biotecnología para la salud. Guayaquil, Ecuador. 1 p. Disponible en: <https://www.granotec.com/granozyme>. Fecha de consulta: octubre 2018.

Haile, M., W.H. Kang. 2020. Antioxidant Properties of Fermented Green Coffee Beans with *Wickerhamomyces anomalus* (Strain KNU18Y3). *Fermentation*, 6(1): 1-16.

IPF (Ingredientes y Productos Funcionales, CO.). 2011. Zynmucil: enzima para eliminar rápidamente el mucílago del café. PPT. Disponible en: <https://es.slideshare.net/altotrafico/zynmucil>. Fecha de consulta: octubre 2018.

Koskei, K., M. Muliro, S. Muhoho. 2015. Effects of coffee processing technologies on physicochemical properties and sensory qualities of coffee. *Afr. J. Food Sci.* 9(4): 230-236.

Leech, N. L., K.C. Barrett, G.A. Morgan. 2014. *IBM SPSS for intermediate statistics: Use and interpretation*. Routledge. SPSS. Disponible en: <https://ibm-spss-statistics-base.uptodown.com/windows>

Leroy, T., F. De Bellis, H. Legnate, P. Musoli, A. Kalonji, R.G. Loor, P. Cubry. 2014. Developing core collections to optimize the management and the exploitation of diversity of the coffee *Coffea canephora*. *Genética*. 142(3):185-199.

Loor, R.G., F. De Bellis, T. Leroy, L. Plaza, H. Guerrero, D. López. 2017. Revealing the diversity of introduced *Coffea canephora* germplasm in Ecuador: Towards a national strategy to improve robusta. *The Scientific World Journal*. (2017):1-12.

Matiello, J.B., M. Jordão Filho, I.B. Ferreira, A. Vart, J.C.L. Cesar Filho, A. Höhn. 2014. Efeito de enzima na

- retirada de mucilagem de cafés despolpados. In: Congresso Brasileiro de pesauisas cafeeiras, 40. Serra Negra. Palestras. Brasília, DF: Embrapa Café, 2014, 14 p. Disponible en: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/7685?show=full>. Fecha de consulta: marzo 2019.
- Oliveros, C.E., J.R. Sanz, E. Montoya, C.A. Ramírez. 2011. Equipment for the ecological washing of degraded mucilage by natural fermentation. *Rev. Ingeniería*, (33): 61-67.
- OIC (Organización Internacional del Café). 2020. Producción total de países exportadores. Disponible en: http://www.ico.org/ES/trade_statistics.asp. Fecha de consulta: abril 2020
- ANECAFÉ (Asociación Nacional de Exportadores de Café, EC). 2020. Estadísticas 2019. Disponible en: <http://www.anecafe.org.ec/exportaciones2019>. Fecha de consulta: abril 2020.
- Peñuela, A.E., J.P. Pabón, N. Rodríguez y C. Oliveros. 2010. Evaluación de una enzima pectinolítica para el desmucilaginado del café. *Rev. Cenicafé*, 61(3): 241-250.
- Peñuela, A.E., J.R. Sanz y J.P. Pabón. 2012. Métodos para identificar el momento final de la fermentación de mucilago de café. *Rev. Cenicafé*, 63(1):120-131.
- Puerta, G.I. 2010. Rendimientos y calidad de *Coffea arabica* L., según el desarrollo del fruto y la remoción del mucílago. *Rev. Cenicafé* 61(1): 67-89.
- Puerta, G.I. 2009. Efecto de enzimas pectolíticas en la remoción del mucílago de *Coffea arabica* L., según el desarrollo del fruto. *Rev. Cenicafé*, 60(4):291-312.
- SCAA (Specialty Coffee Association of América, USA). 2010. Protocolos de catación. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/251552648/Protocolos-de-catacion-de-SCAA#scribd>. Fecha de consulta: marzo 2019.