

Universidad del Valle de Guatemala

Facultad de Ingeniería



“Remoción de mucílago y fermentación del café mediante la implementación de enzima Pectinex Ultra SP-L”

Trabajo de graduación presentado por

Andrea Celeste Hidalgo Martínez

para optar al grado académico de

Licenciada en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala

2017

“Remoción de mucílago y fermentación del
café mediante la implementación de enzima
Pectinex Ultra SP-L”

Universidad del Valle de Guatemala

Facultad de Ingeniería



“Remoción de mucílago y fermentación del café mediante la implementación de enzima Pectinex Ultra SP-L”

Trabajo de graduación presentado por

Andrea Celeste Hidalgo Martínez

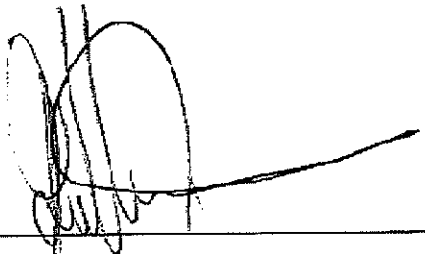
para optar al grado académico de

Licenciada en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala

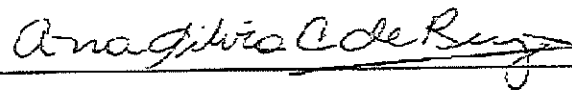
2017

Vo. Bo:

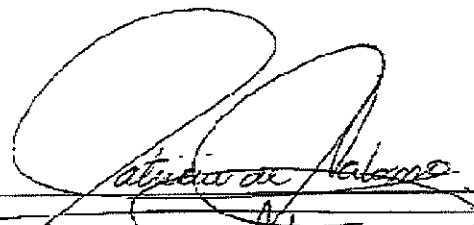
(f) 

Ing. Joseph Luttmann

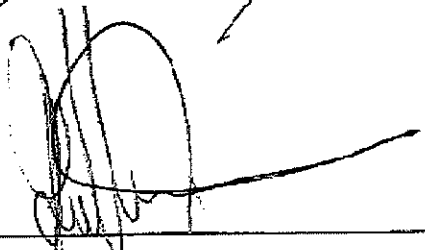
Tribunal

(f) 

Lic. Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) 

Lic. Patricia Palacios de Palomo

(f) 

Ing. Joseph Luttmann

Fecha de aprobación: Guatemala 05 de Diciembre del 2017

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo está dedicado:

Primeramente, a Dios por darme la oportunidad día a día de poder desarrollarme en cada aspecto de mi vida, y así poder culminar mis estudios y este trabajo de graduación.

A mis padres, Ronald A. Hidalgo Mérida y Marta A. Martínez Cabrera, por apoyarme en cada una de mis decisiones, darme amor incondicional y haberme acompañado en cada etapa de mi vida hasta hoy. Además, a mis hermanos por ser parte de este apoyo y soporte, y sobre todo ser una de las razones por las que busco superarme.

A mis asesores, Ing. Joseph Luttmann y esposa Anneliese Luttmann, y la empresa Alimtek, por la paciencia, haberme guiado y apoyado a lo largo de este trabajo, proveyéndome de un tema problema para el desarrollo de este trabajo, recursos, y la enzima utilizada.

A Finca Medina y su personal, principalmente a Don Israel y Arnoldo, por su ayuda durante el trabajo de campo, la información aportada y la oportunidad de poder realizar este trabajo dentro de las instalaciones.

A la Universidad del Valle de Guatemala y catedráticos, por la educación superior de excelencia brindada a lo largo de este periodo. A la Lcda. Ana Silvia Colmenares y Lcda. Patricia Palacios, por su apoyo incondicional durante los 5 años de carrera y el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE

Lista de cuadros	ix
Lista de figuras	x
Resumen	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
A. Café en Guatemala	2
B. Finca Medina	3
C. Fermentación natural	4
D. Enzimas pectolíticas	5
E. Enzima Zymucil	6
F. Celulasa	7
III. MARCO TEÓRICO	8
A. Beneficio del café	8
B. Fermentación del café	10
C. Mucílago del café	10
D. Enzimas	11
E. Pectinex Ultra SP-L	12
F. Taza del café	13
G. Contaminación de aguas residuales	13
IV. JUSTIFICACIÓN	15
V. OBJETIVOS	17
A. General	17
B. Específicos	17

VI.	MATERIALES Y MÉTODOS	18
	A. Muestreo y análisis	18
	B. Diagrama de flujo	19
	C. Toma de muestra	20
	D. Preparación de las muestras	20
	E. Análisis sensorial	20
	F. Determinación de pH	21
	G. Determinación de temperatura	21
	H. Determinación de sólidos totales	21
	I. Determinación de grados Brix	21
	J. Control de fin de proceso de desmucilaginación	22
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
VIII.	CONCLUSIONES	34
IX.	RECOMENDACIONES	35
X.	BIBLIOGRAFÍA	36
XI.	ANEXOS	38

Lista de cuadros

Cuadro No. 1 Cronograma de toma de muestras	20
Cuadro No. 2 Resultados del tiempo en que se dio por terminado el proceso de fermentación y desmucilagianción de las muestras del café de primeros análisis en cubetas.	24
Cuadro No. 3 Puntuaciones de calidad de taza del café del análisis de las pruebas utilizando 500ppm de enzima Pectinex Ultra SP-L	25
Cuadro No. 4 Resultados de propiedades fisicoquímicas iniciales y finales de las primeras pruebas realizadas en cubetas	27
Cuadro No. 5 Resultados de la determinación de sólidos suspendidos en agua utilizada para pruebas con enzima Pectinex Ultra SP-L	28
Cuadro No. 6 Resultados del tiempo en que se dio por terminado el proceso de fermentación y desmucilagianción de las muestras del café de segundo análisis en cubetas	29
Cuadro No. 7 Resultados de propiedades fisicoquímicas iniciales y finales de las segundas pruebas realizadas en cubetas	30
Cuadro No. 8 Diferencia de °Brix en la segunda prueba en cubetas con respecto a la concentración de enzima agregada	32

Lista de figuras

Figura No. 1 Finca Medina vista aérea	3
Figura No. 2 Modelo de reacción enzimática	11
Figura No. 3 Relación de concentración de la enzima - tiempo tomado para concluir la etapa de desmucilaginación en las primeras pruebas en cubetas	24
Figura No. 4 Porcentaje de pérdida de peso según concentración de la enzima utilizada para las primeras pruebas en cubetas	27
Figura No. 5 Comportamiento de pH con respecto a la concentración de enzima agregada en las primeras pruebas en cubetas	28
Figura No. 6 Relación de concentración de la enzima con el tiempo tomado para concluir la etapa de desmucilaginación de segunda prueba en cubetas	29
Figura No. 7 Porcentaje de pérdida de peso según concentración de la enzima utilizada para segunda prueba en cubetas	30
Figura No. 8 Comportamiento de pH con respecto a la concentración de enzima agregada en la segunda prueba en cubetas	32
Figura No. 9 Relación de concentración de enzima utilizada – sólidos suspendidos finales en la segunda prueba en cubeta	33
Figura No. 10 Despulpado de café cerezo	44
Figura No. 11 Vaciado de tanques de fermentación	45
Figura No. 12 Agua de recirculación utilizada para tanques de fermentación	46
Figura No. 13 Lavado de café luego de haber concluido con proceso de fermentación	47
Figura No. 14 Personal de Finca Medina explicando la calidad del café según su altura	48
Figura No. 15 Proceso de catación de café en Finca Medina	49
Figura No. 16 Secado de muestras en paribuelas	50
Figura No. 17 Patio de secado	51
Figura No. 18 Segunda prueba en cubetas (de izquierda a derecha: Control, 100ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm, 500ppm)	52

RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue el optimizar el tiempo de fermentación y desmucilaginación en el grano de café, evaluando el proceso y controlando características fisicoquímicas iniciales y finales del agua utilizada; además de determinar si existe una reducción en la pérdida de peso y si afectó en la calidad de taza del café, esto al implementar la enzima Pectinex Ultra SP-L en el proceso.

Para cumplir con los diferentes objetivos se llevaron a cabo dos diferentes pruebas donde se utilizaron concentraciones de 100 a 500 partes por millón de la enzima Pectinex Ultra SP-L. La primera prueba se realizó en duplicado para cada concentración durante 10 días de trabajo, la cual no dio los resultados esperados, por lo que se decidió realizar una segunda prueba. En esta segunda prueba, se evaluaron las diferentes concentraciones en un solo día de trabajo, para controlar que todas las variables (clima, origen de café utilizado, agua utilizada) fueran las mismas.

Para cada una de estas pruebas se realizó una prueba control a la cual no se le agregó enzima. De esta manera se tenía un parámetro de comparación para poder evaluar la eficiencia y eficacia de la implementación de la enzima y que los resultados tuvieran validez.

El objetivo principal de este trabajo se logró cumplir ya que la enzima disminuye el tiempo de fermentación y desmucilaginado desde parámetros normales (36-48 horas) hasta 3 horas, esto sin afectar la calidad de taza del café. Además, se evaluaron las características fisicoquímicas del agua implementada durante el proceso de fermentación. Los resultados demostraron que hubo una disminución de pH, a la cual se le atribuye la aceleración de tiempo en la etapa de desmucilaginado. Esta agua resultante puede utilizarse para una recirculación teniendo el mismo efecto para próximas partidas; de no reutilizarse, esta debe pasar por un proceso de tratamiento de aguas residuales antes de ser descartadas.

Por otro lado, se logró disminuir el porcentaje de la pérdida de peso luego de aplicar la enzima Pectinex Ultra SP-L durante el proceso de fermentación.

La enzima cuenta con gran potencial de proveer beneficios significativos al caficultor, como la disminución del tiempo de fermentación y la reducción del porcentaje de pérdida de peso del café.

I. INTRODUCCIÓN

El café es de los productos más comerciados a nivel mundial. En Guatemala, el café forma parte de los cinco principales productos agrícolas de exportación, siendo así parte importante de los ingresos económicos del país, exportando alrededor del 67% del total producido a Estados Unidos y la Unión Europea.

Los beneficios de café cuentan con la tarea de producir tazas de café con altos estándares de calidad que logren cubrir la alta demanda del producto. Parte importante durante la producción de café es la etapa de remoción del mucilago y fermentación del café debido a que largas o incompletas fermentaciones pueden llegar a producir defectos en el grano con respecto a apariencia, sabores y olores, y pudieran ocasionar rechazo del producto, lo cual se traduce a pérdidas económicas.

Esta es la razón por la que se ha considerado la implementación de la enzima Pectinex Ultra SP-L como catalizador en la reacción involucrada en la degradación del mucilago a azúcares solubles, optimizando el tiempo de fermentación. Por otro lado, acelerar esta etapa en época de alta demanda lo cual evita que el café cortado permanezca por largos períodos de tiempo antes de iniciar el proceso de despulpado, con las consecuentes bajas en calidad de este.

Además, se busca la disminución de pérdida de peso del café acortando el tiempo de fermentación ya que, en esta etapa se pierde alrededor del 19% del peso por la degradación del mucilago, la cual representa pérdidas económicas para el caficultor.

Para esto es necesario llevar a cabo pruebas que representen el proceso de remoción del mucilago, en las cuales se pretende medir; temperatura y pH inicial y final para conocer las condiciones óptimas a las que trabaja Pectinex Ultra SP-L y si puede adecuarse para cualquiera de las 8 regiones cafetaleras que existen en Guatemala, el tiempo en que la fermentación se dio y, pesos iniciales y finales para poder determinar si existió una disminución en la pérdida de peso.

Por último, se ha considerado el impacto ambiental que el proceso de beneficiado de café puede llegar a causar principalmente a las aguas residuales, por lo que se pretende determinar las características de las aguas mieles cuando se ha utilizado Pectinex Ultra SP-L en el proceso.

II. ANTECEDENTES

A. Café en Guatemala

El café es el segundo producto más exportado a nivel mundial después del petróleo. A Guatemala llegaron las primeras plantaciones de café en 1773 como parte de una iniciativa presentada por sacerdotes jesuitas (Wagner, 2001).

En Guatemala se produce café de calidad, altamente cotizado en el mercado internacional. La calidad del café proviene de su origen y en Guatemala existen diferentes altitudes y microclimas que permiten que se pueda realizar el cultivo del café a lo largo de la república. Todos los cafés de altura presentan combinaciones de sabores balanceados, dulces y elegantes, aromas y acidez placentera y cuerpo (Anacafé, 2014).

Por parte de Anacafé, se realizó la promoción del café guatemalteco clasificándolos en ocho regiones, siendo estas:

1. Acatenango:

- Cosechado a la sombra a alturas de 2,000 msnm.

2. Antigua:

- Se cultiva por encima de 1,500 msnm en suelos volcánicos.

3. Atitlán:

- Suelo rico en materia orgánico a alturas mayores de 1,500 msnm.

4. Cobán:

- Cultivos entre 1,300 a 1,500 msnm en climas nubosos, de lluvia y frío.

5. Fraijanes:

- El café se cultiva a alturas de 1,400 a 1,700 msnm en suelos volcánicos llenos de minerales.

6. Huehuetenango:

- El café se cultiva en suelos que alcanzan elevaciones de hasta 2,000 msnm en un clima con vientos áridos y secos.

7. Oriente:

- Suelos balanceados en minerales con alturas que van de los 1,300 a 1,700 msnm.

8. San Marcos:

- Suelos ricos en minerales y lluvias torrenciales el café es cultivado en alturas de 1,300 a 1,800 msnm.

(Anacafé, 2014)

B. Finca Medina

Ubicada en las faldas del volcán de Agua en las afueras de Antigua Guatemala, a 75 kilómetros de la Ciudad de Guatemala. Finca Medina fue fundada en 1842 y sigue activa hoy día, produciendo café de clase mundial exportando a diferentes países como EEUU, Alemania, Japón, Italia, España, Corea, entre otros (Finca Medina, 2017).

Finca Medina es miembro de Anacafé y la Asociación de Café Antigua. Cumple con los estándares de producción sostenible hacia el medio ambiente y cuenta con gran variedad de iniciativas hacia la preservación de los recursos naturales. Esto ha logrado una empresa de gran calidad que cuenta con una variedad de certificaciones como:

- Rainforest Alliance
- UTZ
- Q Grader

(Finca Medina, 2017)

Figura No. 1 Finca Medina vista aérea.



C. Fermentación natural

Se realizaron pruebas en cosechas principales del 2007-2008 en el beneficio experimental de Cenicafé en Chinchiná, Caldas en Colombia. La temperatura media de trabajo anual es de 20.8°C, con un promedio de humedad relativa de 83.5%.

El tiempo requerido para remover hasta un 97% de mucílago con cuatro alturas de llenado en los tanques (100%, 75%, 50%, 25%) fue de, 16.25 horas, 16.2 horas, 16.4 horas y 16.4 horas respectivamente para las diferentes alturas en los tanques de café clasificado. También se evaluó el tiempo de café sin clasificar con los mismos porcentajes de altura de llenado y los resultados fueron, 15.4 horas para el 100%, 14.6 horas para el 75%, 15.0 horas para el 50% y 25%.

Estos resultados se le atribuyen a factores como; el ingreso de la materia prima al beneficio, siendo mayor la cantidad de frutos secos para el café sin clasificar, disminuyendo el tiempo de remoción del mucílago debido a que, la cantidad de mucílago a degradar en estos es menor, además de que la masa del café posee más microorganismos, lo cual hace que la cantidad de sustrato sea menor y mayor la actividad microbiana que pudo acelerar este proceso, por el aumento de la temperatura y disminución del pH.

El café sin clasificar presenta tres veces más frutos secos, en relación a la prueba donde el café fue clasificado, con valores de 7.6% de frutos secos en la prueba sin clasificar y 1.8% en la prueba donde sí fue clasificado el café. Esto se considera suficiente para alterar las condiciones de proceso y elevar la temperatura.

La disminución del pH se debe a un aumento en la acidez de la masa, lo que se debe a la producción de ácidos y rompimiento de pectinas. El pH es independiente de la cantidad de café depositado en los tanques, y puede disminuir hasta valores de 3.1% a 3.5%, tanto para café clasificado y café sin clasificar.

Además, se evaluó la calidad de taza por medio de un análisis sensorial, en el cual se evaluó la intensidad y calidad de los atributos de conforman la calidad de la bebida de café. Los resultados fueron de 94.8% para el café clasificado y 92.3% para el café sin clasificar, indicando una calidad media normal. El café que cuenta con una clasificación previa presenta mejor calidad en taza (Peñuela, 2010).

D. Enzimas Pectolíticas

Se utilizó la enzima con acción pectolítica Rohapect TPL para determinar su efecto sobre la remoción del 98% mucílago de café de Caldas, Manizales en Colombia donde la temperatura media es de 21.2°C y humedad relativa de 78%.

En el año 2010 la industria desarrollo la enzima Rohapect TPL, la cual es una pectinasa que puede utilizarse para granos de café. Se produce a partir de *Aspergillus niger* la cual cataliza las reacciones de ruptura de la pectina. La actividad enzimática máxima de esta enzima es a 50°C a un pH de 5.0. Este producto cumple con las especificaciones de seguridad de la FAO y Codex para enzimas de grado alimenticio.

Como hipótesis en esta investigación se planteó que la remoción del mucílago utilizando la enzima Rohapect TPL no depende de la interacción entre la concentración de esta y la temperatura del ambiente. Se utilizó café de Variedad Castillo, procedente de Caldas, Colombia.

Se evaluó la remoción del mucílago del café despulpado utilizando 5 concentraciones de la enzima en 3 condiciones de temperatura diferente. Se utilizó 90kg de café cereza, y se procuró que la etapa de fermentación sea inmediata luego de la recolección de la materia prima (menor a 6 horas).

Para garantizar la calidad del producto procesado, se removieron frutos vanos, secos y brocados. Los frutos de café clasificados (aprox. 50kg para cada unidad experimental) se despulparon, depositaron en cilindros plásticos, y se agregó la concentración de enzima correspondiente a razón de 10 mL de agua por 1.0kg de café ya despulpado. Para homogenizar el café, se utilizó una paleta de madera.

Los tratamientos con las diferentes concentraciones fueron llevados a cuartos con las temperaturas definidas. Se cuantificó el mucílago removido luego de 30 minutos que la enzima se agregó tomando 200g de muestra de café. Esto prueba se realiza cada 30 minutos hasta que la remoción del mucílago fue superior a 98%. Luego de obtener esos valores, el café se lavó en cuatro enjuagues.

Como resultados se obtuvieron valores promedio de remoción de mucílago de 82.7% y 91.9% con desviaciones estándar de 1.9% y 6.7%. De esta manera se puede observar además que el promedio de esta variable no muestra una tendencia con relación a la temperatura de trabajo a la que se almacenaron los diferentes tratamientos. Los tratamientos que alcanzaron mayor remoción de mucílago en una hora fueron las concentraciones que estuvieron entre 300 y 400 ppm. Aun así, los valores no alcanzan el 98% deseado (Peñuela A., U. Pabón, *et. al.*, 2010).

E. Enzima Zymucil

En Cenicafé se realizó una investigación orientada a la evaluación del uso de una enzima específica para degradar la pectina del café en la etapa de desmucilaginado. Se utilizó específicamente una pectin-liasa “Zymucil”, la cual cataliza las reacciones de ruptura de la pectina a moléculas con menor peso molecular. La actividad enzimática es de 50°C a un pH de 5.0. Este es un producto que cumple con las especificaciones de la FAO y del Codex para enzimas de grado alimenticio.

La investigación fue realizada para determinar el tiempo en el que la remoción del mucílago es mayor al 98% y el efecto que pueda llegar a tener la enzima sobre la calidad del café y contaminación de aguas residuales. Con este fin, se evaluaron diferentes concentraciones de la enzima aplicadas a una misma masa de café despulpado a tres diferentes temperaturas para encontrar la más adecuada; las concentraciones fueron de 100, 200, 300 y 400 mg de enzima por kg de café despulpado.

Los resultados de este análisis fueron valores de remoción de mucílago superiores a 84.9% a partir de la primera hora de reacción de la enzima. Para obtener valores superiores a 98% deben esperarse 3 horas para luego continuar con la etapa de lavado. Por otro lado, se determinó que no hay efecto con respecto a la variable temperatura ya que no hay mayor diferencia en los porcentajes de remoción del mucílago para las diferentes temperaturas.

Además, se evaluó el agua del lavado con café con y sin enzima de los cuales se determinó la demanda química de oxígeno, contenido de sólidos totales y suspendidos y pH. De esto se determinó que es necesario seguir realizando el tratamiento posterior a los efluentes para remover la mayor cantidad de carga orgánica antes de que esta agua sea liberada.

Para determinar el efecto que la enzima podría causar a la calidad del café se controló que las etapas posteriores se realizaran de la manera que normalmente se realizan para el proceso que no utiliza la enzima y realizó un análisis sensorial, el cual no presentó defectos o rechazos y la proporción de tazas obtuvo un valor mayor a 75 puntos (Peñuela, A, *et. al.*, 2011).

F. Celulasa

El objetivo principal del estudio fue remover el mucílago de café utilizando métodos enzimáticos utilizando celulasa como catalizador de la reacción de hidrólisis de azúcares insolubles que están presentes en el mucílago.

Para lograr esto se llevó a cabo dos experimentos para comprobar la efectividad del proceso enzimático; en el primero se evaluó el cambio de pH durante el transcurso de la reacción de demucilaginación y en el segundo evaluando los azúcares reductores que resultan en el agua de lavado. Además, se realizó una tercera prueba, la cual se realiza comúnmente en los beneficios de café, la cual se efectúa por medio de los sentidos del tacto y color del grano de café.

Cada experimento se realizó a tres diferentes temperaturas (12°C, 24°C y 32°C) para simular el comportamiento del proceso enzimático de las tres regiones que existen en el territorio guatemalteco. Esto permitió que se tuviera un mejor parámetro de comparación para el análisis de resultados y la eficacia que pudiera tener la enzima con respecto al tiempo de reacción. También se realizó una última prueba a 24°C utilizando el doble y la mitad de la concentración de enzima (200% y 50%) especificada por el fabricante, para obtener un factor determinante de comparación del método utilizado tradicionalmente. En total fueron 48 las muestras analizadas, las cuales se dividieron en 6 repeticiones para cada condición.

Se logró determinar que el proceso enzimático es altamente recomendable para reducir el tiempo del proceso de desmucilaginación, ya que se obtuvo una disminución de más de la mitad (62%) del tiempo requerido para la fermentación natural, además que el agua residual generada se redujo hasta un 95% sin afectar la calidad del café (Linares, 2014).

III. MARCO TEÓRICO

A. Beneficio del café

El Beneficio del café consiste en la transformación del fruto de café maduro a un café pergamino seco, con un porcentaje de humedad de 12%, en punto comercial a través de una serie de etapas. Este puede ser húmedo, seco y honey, entre los más conocidos y utilizados. Estos procesos aportan diferentes características sensoriales al producto final (Anacafé, 2009a).

En Guatemala y toda Centroamérica, el proceso de beneficiado de café que se utiliza es el método húmedo. Este cuenta con las etapas de recolección, recibo y clasificación del fruto, seguido del despulpado, clasificación, remoción del mucílago, lavado del café fermentado, clasificación del café lavado y manejo de subproductos (Anacafé, 2009a).

1. **Recolección del fruto:** Primera etapa del proceso. Se recolectan únicamente aquellos frutos que se encuentren completamente maduros. La recolección depende de las condiciones climatológicas. La cosecha se realiza principalmente durante los meses de octubre a marzo, con mitaca (cosecha) durante todo el año con una producción de menor volumen.

2. **Recibo y clasificación del fruto:** Debe recibirse únicamente fruto maduro y no debe ser mezclado con frutos de diferentes días de corte.

- a. **Recibo:** Existen tres clases de recibidores comunes en Guatemala los cuales son; tanque sifón que además clasifica los frutos indeseables gracias a su implementación de agua y densidad del fruto, semiseco y seco.

- b. **Clasificación:** Es necesaria para eliminar aquellos frutos indeseables de menor densidad.

3. **Despulpado del fruto:** En esta etapa, la pulpa es eliminada aprovechando la cualidad lubricante que provee el mucílago del café. Debe despulsarse el mismo día que se realizó el corte.

4. **Clasificación de café despulpado:** Para la clasificación del café pueden utilizarse zarandas y cribas rotativas. El grano debe ser clasificado por tamaño, densidad o ambas características.

5. **Remoción del mucílago:** El mucílago es un material gelatinoso insoluble en agua, por lo que es necesario realizar una hidrólisis y poder lavarlo con mayor facilidad.

a. Fermentación natural: Consiste en una degradación bioquímica en tanques por periodos que van de 12 a 48 horas que depende de, temperatura del ambiente, capacidad de drenaje, altura de la masa de café, calidad de agua empleada, estado de madurez del fruto, microorganismos que pueden estar presentes, etc.

b. Desmucilaginado mecánico: De esta manera se elimina el mucílago del grano en forma continua y reduce el tiempo que conlleva fermentar de manera natural. Se utilizan equipos mecánicos con procesos de secamiento inmediatos para evitar fermentaciones no deseables.

6. Lavado de café fermentado

a. Lavado manual: Se quita la miel que puede quedar adherida al pergamino y se realiza a manera de inmersión de paso de corrientes de agua en canales de correteo.

b. Lavado mecánico: Se utilizan bombas de impulsor abiertas utilizando un flujo laminar constante.

7. Secado de café lavado: Se debe bajar la humedad del café a un 10-12%. En esta etapa existe volatilización de los diferentes compuestos aromáticos característicos del café cuando se emplean temperaturas altas.

a. Secado natural: El secado al Sol es el más común. Se aprovecha la energía solar y la proporcionada por el aire, y reduce los costos de inversión y operación.

b. Secado mecánico: Se utilizan secadoras tipo Guardiola de diferentes capacidades. Lo ideal es realizar una combinación de secado de patio y un sistema mecánico.

8. Almacenamiento: El café debe almacenarse en ambientes controlados, libres de humedad, insectos, gasolinas, insecticidas, polvo, luz, etc. El café seco se conserva muy bien en ambientes frescos con temperaturas máximas de 20°C y humedades relativas de 65%. El café se almacena con una humedad comercial de 10-11% (Anacafé, 2009a).

B. Fermentación del café

La fermentación se ha utilizado desde ya hace mucho tiempo para proveer de sabor, aroma, modificar texturas y conservar la calidad de los alimentos y bebidas (Cenicafé, 2015).

La fermentación del café se ha clasificado como un punto crítico del proceso de café. Este es un proceso natural, en el cual la duración de la fermentación es considerada la respuesta más importante (Peñuela, 2010). En la tecnología de la fermentación del café es necesario realizar ciertos análisis y controles de temperaturas, calidad del agua utilizada, sanidad y calidad del café a fermentar y el tiempo de este proceso; esto para conservar los sabores característicos y especiales obtenidos, implementando buenas prácticas en cada una de las etapas del beneficio (Cenicafé, 2015).

La fermentación del café es un proceso exotérmico, en el cual se libera energía debido a las reacciones bioquímicas para la producción de alcoholes y ácidos (Peñuela, 2010)

C. Mucílago del café

Cuando el café es recién despulpado, este se encuentra cubierto por una capa mucilaginosa, la cual es rica en azúcares y pectina, y cubre un 20% aproximado del peso del fruto. El pH del mucílago se encuentra en un rango de 5.6 a 6.2 (Anacafé, 2009b).

En el café despulpado, el rango de mucílago inicial es de 26.1% a 30.6%, y esta puede variar ya que este es un compuesto coloidal con alta capacidad de retención de agua, por lo tanto, puede depender de las condiciones climáticas al momento de la recolección (Peñuela, 2010).

El contenido de humedad del fruto maduro depende del régimen de lluvias en los días anteriores a la recolección. Esto es de gran importancia debido a que, entre mayor sea la hidratación, mayor será el contenido de mucílago y esto afectará los rendimientos de café maduro a oro (Anacafé, 2009b).

Los objetivos que tiene la remoción del mucílago del café son; el facilitar la etapa de secado del café pergamino, evitar el deterioro de la calidad del café que puede ocurrir como consecuencia de fermentaciones no deseables, prevenir post fermentaciones que pueden ocurrir en el secado al Sol, y evitar que los granos queden adheridos entre sí y puedan ocasionar problemas mecánicos en el proceso (Anacafé, 2009b)

Para la etapa de remoción del mucílago en el beneficio húmedo, después del despulpado, el café se deposita en pilas de fermentación. La descomposición del mucílago en la fermentación está relacionada con la acidificación que produce la pectólisis enzimática (Peñuela, 2010).

Además, debe de considerarse la pérdida de peso que se llega a experimentar en todos los granos luego de realizar la recolección, cuando su contenido de humedad es elevado. El café puede presentar niveles altos de pérdida debido a su contenido de agua cuando este se cosecha (Anacafé, 2009b).

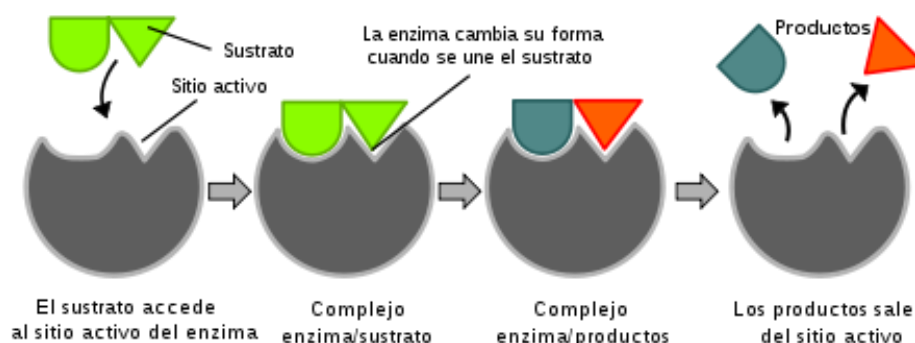
Los rendimientos obtenidos del beneficiado son inferiores debido al metabolismo del grano. También se producen pérdidas de sólidos solubles debido a la difusión al medio líquido por el contacto prolongado del café con el agua. Para disminuir estas pérdidas de peso, es necesario eliminar de manera inmediata el agua utilizada, instalando drenajes adecuados en los tanques de fermentación, esto además mejorará la recuperación de las aguas mieles para hacer más eficiente la recirculación (Anacafé, 2009b).

D. Enzimas

Las enzimas son sustancias biocatalizadoras en reacciones químicas. Tienen como propiedad principal el actuar sobre un sustrato específico. Estas son capaces de elevar la velocidad de reacción hasta 10^{19} veces. Las enzimas trabajan disminuyendo la energía de activación requerida para reacciones específicas a temperaturas moderadas sin alterar el equilibrio de la reacción (García, 2007).

Las enzimas son específicas para cada reacción y es muy raro que formen productos secundarios. Estas contienen una unión enrevesada y única conocida como sitio activo, en la cual los sustratos se unen a ella y es ahí donde varias cadenas laterales de aminoácidos participan en el proceso catalítico, además de ser utilizada para orientar de forma óptima es sustrato (García, 2007).

Figura No. 2 Modelo de reacción enzimática



Las enzimas se clasifican según la reacción en la cual participan como catalizadoras. Entre la clasificación se encuentran las oxido-reductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas (Horton, 2008).

Además, existen condiciones para el uso y acción de las enzimas y en ellas radica su eficiencia y eficacia. Estas son:

1. Contacto que existe entre la enzima y el sustrato, el cual debe ser directo para que se dé la formación del complejo enzima/sustrato (Figura No. 2).
2. Concentración de la enzima y el sustrato, ya que debe entenderse que la cantidad de enzima que existe no va a determinar el equilibrio final de la reacción, pero si el tiempo que se necesite para alcanzar este equilibrio. Para una cantidad de enzima dada, la velocidad será constante.
3. Temperatura, esto porque el aumento de temperatura acelera la reacción, pero también puede inactivar la enzima debido a la desnaturalización. Por ello se considera de suma importancia determinar la temperatura óptima de la enzima (la mayoría se encuentra en rangos de 35°-37°).
4. El pH de es de suma importancia ya que las enzimas son sensibles. Una pequeña variación en el pH puede llegar a inhibir su acción.
5. Sustancias específicas como las coenzimas (orgánicos) o activadores (iones inorgánicos).
6. Inhibidores que pueden llegar a interferir la actividad catalítica de la enzima. Estos pueden ser; competitivos, no competitivos, acompetitivos o mixtos (García, 2007).

La adición de enzimas pectolíticas al proceso de fermentación de café, ayuda a acelerar la transformación del mucílago en compuesto solubles los cuales son eliminados fácilmente mediante la etapa de lavado, además de que ayuda a controlar el proceso evitando que se den defectos en la calidad del café que puedan atribuirse a la fermentaciones prolongadas o remociones incompletas del mucílago (Peñuela A., U. Pabón, *et. al.*, 2010).

E. Pectinex Ultra SP-L

Pectinex Ultra SP-L es una preparación enzimática con actividad declarada de poligalacturonasa (3800 PGNU/mL) la cual hidroliza los enlaces (1-4)-alfa-D-galactosidurónico en pectato y galacturonanos, los encargados de dar estructura a la pared celular. Esta se utiliza en la industria alimenticia, principalmente para la industria de bebidas y zumos de frutas.

La poligalacturonasa se trata de una enzima hidrolasa. Esta inicia el corte hidrolítico en el extremo no reductor de la pectina. Esta se obtiene de *Aspergillus aculeatus*. Esta enzima tiene una temperatura óptima de alrededor de 50°C (Ver Anexo No. 1 en aparatado de Anexos).

F. Taza de café

En la catación del café se evalúa la intensidad y calidad de los diferentes atributos que conforman esta bebida. Los principales componentes de una taza de café son; el aroma, el gusto, el sabor y la textura, y se relacionan con la altura a la que el grano fue cultivado, los factores climáticos, manejo de los cultivos, la especie y su variedad botánica, entre otros (SCAN, 2015).

La bebida de café es el resultado de una serie de procesos, y cuenta con diferentes características, siendo las principales;

1. Impresión visual: Percepción de la apariencia física de los granos del café, tanto verdes como tostados.
2. Olor: Percepción de las sustancias volátiles que libera el café verde, tostado y/o preparado, ya que para cada etapa es diferente.
3. Aroma: Percepción de sustancias olorosas y aromáticas luego de haber degustado la bebida, ya que estas se disuelven en la mucosa del paladar y faringe.
4. Gusto: En un café, esta característica puede ser, ácido, dulce, salado, amargo o combinación de dos o más de estos. Se detecta por medio de la lengua.
5. Sabor: Para esta propiedad se combinan tres elementos que son; el olor, aroma y gusto. Su medición y apreciación son complejas.
6. Textura: Esta se aprecia por medio de los sentidos del tacto, vista y oído. Si el café no ha sido degustado, esta característica no se puede apreciar (SCAN, 2015).

G. Contaminación de aguas residuales

El procesamiento de café por medio de beneficio húmedo es de gran importancia para mantener y destacar la calidad del café; pero esta importancia se contrapone a los diferentes costos ambientales que significa la utilización de este método en términos de contaminación ambiental, afectando el ecosistema, los altos consumos de agua e ineficiencia de insumos energéticos (Jiménez, 2010).

La producción de café conlleva una gran generación de pulpa, mucílago y pergamino, entre otros. Estos subproductos tienen un gran potencial contaminante, lixiviados y producción de aguas residuales, las cuales deben ser tratadas según los acuerdos gubernativos (Jiménez, 2010) dados por el Ministerio de Ambiente de Guatemala.

Según el Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales, en el artículo 13 del capítulo IV del Reglamento de las Descargas y Reuso de Aguas Residuales y de la Disposición de Lodos, Acuerdo Gubernativo No. 236-2006, dictan que, al generar aguas residuales de tipo especial, se debe realizar la caracterización del afluente y efluente e incluir los resultados en el estudio técnico; de igual manera en el artículo 14 del mismo capítulo pide una caracterización de las aguas residuales de re uso e incluirlo en el estudio técnico (MARN, 2006).

En el artículo 20 de este mismo acuerdo se especifican los límites máximos permisibles de descargas aguas residuales a los cuerpos receptores. Entre los parámetros se encuentran temperatura (dentro de un rango de $\pm 7^{\circ}\text{C}$ del cuerpo receptor), sólidos suspendidos (150 mg/L), potencial de hidrogeno (pH 6-9) y materia flotante (ausente). Cada uno de estos parámetros debe de cumplir con este límite máximo para antes de la fecha máxima estipulada (2020, etapa tres).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala la industria cafetalera es de las principales exportadoras, ocupando un lugar importante en la economía, agricultura y desarrollo del país. Representa el 2.5-3.5% de producto interno bruto nacional. El café se encuentra dentro de los cinco principales productos agrícolas de exportación, con el 13% de las transacciones comerciales (Anacafé, 2016).

Producir 225g (una taza) de café oro se valora en alrededor de \$3.00 USD, donde la mano de obra representa el 60% de los costos de fabricación.

En la temporada del 2015-2016, Guatemala exportó \$650 millones de dólares USD en café, lo cual equivale a 3.95 millones de sacos con un peso aproximado de 60kg (Gándara, 2016).

Según Anacafé (Asociación Nacional del Café), existen alrededor de 125,180 productores de café en grano, concentrados en ocho diferentes regiones alrededor de la república, siendo estas Acatenango, Antigua, Atitlán, Cobán, Fraijanes, Huehuetenango, Oriente y San Marcos (Anacafé, 2014). El café guatemalteco se siembra a diferentes alturas, las mejores cosechas se realizan en suelos volcánicos, a alturas mayores a 1500msnm. Además de que el país cuenta con condiciones climáticas que favorecen el crecimiento y desarrollo de aromas, tamaño del grano, estructura y consistencia y distintas calidades.

La época de cosecha de café se da inicio en octubre-noviembre y llega a su fin en marzo-abril. En esta temporada las cerezas de café maduras son cosechadas a mano, a diversas etapas para asegurar que los granos de café se encuentren en su estado óptimo de maduración. El mismo día que el café es cosechado, se despulpa y coloca en pilas de fermentación durante 18-32 horas (Anacafé, 2009) a temperatura ambiente (normalmente 25°C). En la etapa de fermentación, se pierde entre el 15.5% y 22% del peso del fruto maduro debido a la degradación del mucílago, el cual puede llegar a aumentar debido a los tiempos prolongados de fermentación y representa pérdidas económicas para el beneficio, por lo que se han buscado alternativas para acelerar esta etapa del proceso como, adición de microorganismos, ácidos, aguas residuales y métodos mecánicos (Puerta, 2009).

Además, debido a las altas demandas actuales de este producto, el tiempo de procesamiento cumple un papel de gran importancia, por lo que se busca la implementación de estos métodos alternos para acelerar el proceso de fermentación (Linares, 2014).

La separación del mucílago del grano de café cuando este se procesa por beneficio húmedo facilita el secado del grano. Esto además produce una bebida suave, sin sabores extraños o desagradables (Puerta, 2009). Durante la fermentación del café ocurre la descomposición del mucílago y se desprende del grano. Aun así, debe tomarse en cuenta que, durante el tiempo de fermentación, el mucílago no se degrada en su totalidad, o una sobrefermentación puede causar productos de baja calidad (Puerta, 2010).

El beneficio húmedo de café tiene como desafío una constante innovación tecnológica, tomando en cuenta factores económicos y normativos. El beneficiado de café debe ser “limpio y eficiente” y deberá cumplir con las restricciones de las legislaciones vigentes del país, entre los cuales incluye las más importantes; el decreto 19-69 de la Ley del Café el cual considera la importancia que el cultivo de café y su exportación constituyen, el decreto 13-70 que es requerido para el cumplimiento de las funciones señaladas en el acuerdo 19-69, y el acuerdo gubernativo 236-2006 de descargas y reuso de aguas residuales y de las disposición de lodos (Anacafé, 2009a).

En Guatemala, la contaminación de aguas se ha regulado debido al acuerdo gubernativo 236-2006, donde se señala el modelo de reducción progresiva de cargas de demanda bioquímica de oxígeno y los límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales a cuerpos receptores o alcantarillados públicos. De esta manera se logra regular la calidad del agua miel generada por el beneficio (MARN, 2006). Aun así, se conocen casos donde los beneficios de café descartan sus aguas residuales en áreas públicas sin antes realizar los tratamientos pertinentes y pueden causar mortandad en la vida marina, olores fétidos, e incluso problemas en la salud de los residentes vecinos (Morales, 2017).

En el beneficio húmedo se utiliza la fermentación natural en tanques de diferentes materiales, en periodos de tiempo de 6 hasta 48 horas, y dependen de la temperatura ambiente, capacidad de drenaje, altura de la masa de café, calidad de agua utilizada, estado de madurez del fruto, etc. Esto hace necesario determinar el punto de fermentación, realizando muestreos constantes. Además, es necesario lavar las pilas de fermentación para evitar contaminación por granos rezagados (Anacafé, 2009a).

A través de este trabajo se pretende evaluar el proceso de producción de café utilizando la enzima Pectinex Ultra SP-L, buscando optimizar el proceso de remoción del mucilago y fermentación, además de poder determinar si existe una menor pérdida de peso del grano con respecto al proceso normal.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general

1. Optimizar el tiempo de fermentación y desmucilaginado en el grano de café implementado la enzima Pectinex Ultra SP-L en el proceso.

B. Objetivos específicos

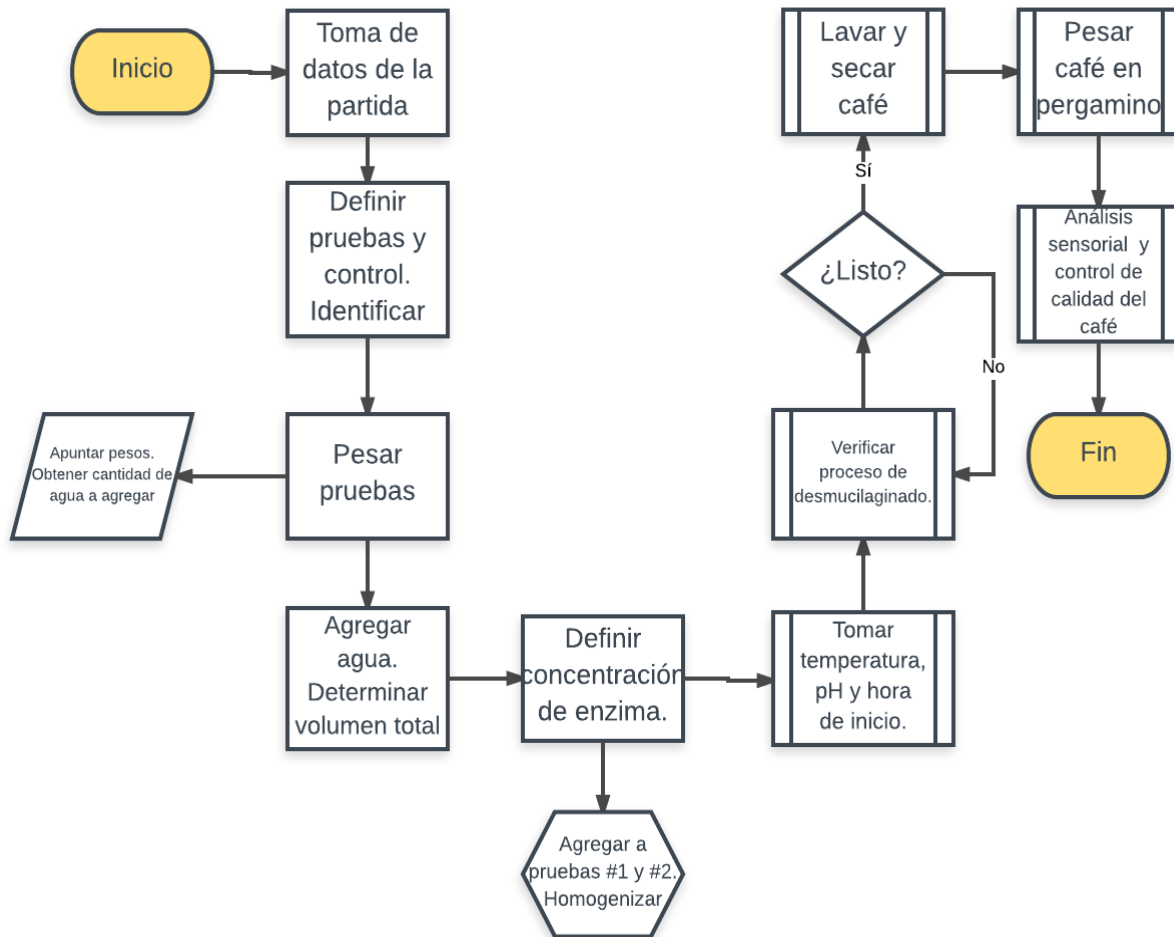
1. Evaluar proceso de fermentación de café al utilizar la enzima Pectinex Ultra SP-L, controlando el tiempo de proceso, pH, temperatura y grados brix del agua utilizada.
2. Determinar el porcentaje de pérdida de peso en el grano de café luego de aplicar la fermentación acelerada utilizando la enzima Pectinex Ultra SP-L.
3. Determinar el efecto del uso de la enzima sobre la calidad de taza de café.
4. Determinar características fisicoquímicas finales como pH, temperatura, grados brix y sólidos totales, de aguas mieles al utilizar la enzima Pectinex Ultra SP-L.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Muestreo y análisis

1. Toma de datos de la partida de café despulpado.
 - Fecha y hora de ingreso
 - Número de partida
 - Región de origen
2. Definir que muestra será el control y pruebas con enzima. Identificar
3. Realizar pesaje de las muestras (g)
4. Agregar agua limpia (no de recirculación) y determinar contenido volumétrico (L)
5. Definir concentración de la enzima (ppm) según volumen de agua obtenido en el inciso anterior.
6. Pesar enzima (mg) de acuerdo con la concentración definida en el inciso anterior.
7. Agregar enzima a pruebas. Homogenizar
8. Tomar temperatura (°C), pH, °Brix, hora de inicio de prueba.
9. Verificar cada 30 minutos el progreso del desmucilaginado.
 - a. Introducir un palo rollizo hasta tocar fondo de la cubeta.
 - b. Sacar palo. Si al sacarlo queda un orificio, se realiza un lavado a una muestra de café y se frota con las manos cerca de la oreja. Si se escucha que truena, el café está listo para ser lavado. De lo contrario se sigue esperando.
10. Después de lavar, el café se pone a secar al Sol durante un aproximado de 7 días (depende del clima), o hasta que alcance una humedad de 10-12%. Realizar movimientos constantes para un secado homogéneo.
11. Pesar café pergamino según número de prueba.
12. Separar granos imperfectos e impurezas.
13. Realizar análisis sensorial y de control de calidad de las muestras.

B. Diagrama de flujo



C. Toma de muestra

Se realizaron dos corridas utilizando cubetas de 15 litros y cinco diferentes concentraciones. Se utilizaron seis cubetas para cada corrida, destinando una para control y a las otras cinco se les adicionó la enzima Pectinex Ultra SP-L en concentraciones de 200ppm, 300ppm, 400ppm, 500ppm o 600ppm.

Cuadro No. 1 Cronograma de toma de muestras

No. Análisis	Semana	Cubeta 1	Cubeta 2	Cubeta 3	Cubeta 4	Cubeta 5	Cubeta 6
1	1	Control	200ppm	300ppm	400ppm	500ppm	600ppm
2	2	Control	200ppm	300ppm	400ppm	500ppm	600ppm

El café utilizado pertenece a la Región de San Martín, Antigua Guatemala, otorgado por Finca Medina. El café siguió el procedimiento que realiza comúnmente de lavado, secado, almacenamiento y control de calidad dentro de la finca, esto para no alterar los resultados y que estos fueran representativos para el caficultor.

D. Preparación de la muestra

Según el volumen de cada prueba, se agregó la concentración de la enzima correspondiente, siendo estas de 100ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm, o 500ppm. A estas además se les tomó; peso inicial, pH inicial, temperatura inicial, grados brix, momento en que fue agregada la enzima (hora del día y fecha) y concentración decidida.

$$ppm = \frac{\text{masa de soluto (mg)}}{\text{masa de solución (L)}} \quad (1)$$

Ecuación No. 1 Partes por millón para elementos sólidos o líquidos

E. Análisis sensorial

Dos catadores de café entrenados y acreditados, pertenecientes al laboratorio de control de calidad de Finca Medina, realizaron el análisis sensorial a las pruebas que fueron llevadas a cabo para el estudio (control, prueba) según estándares de la finca y Anacafé.

Se realizó un análisis técnico al café oro y pergamino que determina defectos de tipo de taza y cosecha, perfil de taza con formato SCAA a oro y pergamino que determina características representativas del café, análisis de tostado y molienda al café tostado y molido que consiste en análisis visual y físico, grado de color tostado, granulometría, taza, nivel de amargo y frescura, y el tipo de café. Esto según estándares de Finca Medina y Anacafé.

F. Determinación de pH

El pH fue medido directamente en las muestras tomadas en las cubetas y en las pilas de fermentación, con potenciómetro digital marca Hanna modelo HI99161 ± 0.1 y papel pH de la marca MERK con rangos de 1 a 14 ± 0.5 . Se tomaron dos lecturas siendo estas, inicial y final para cada muestra.

G. Determinación de temperatura

Las lecturas fueron registradas con un termómetro digital marca Hanna EN13485 ± 0.5 °C. Esta se tomó superficialmente y por inmersión en las muestras tomadas en las cubetas y en las pilas de fermentación. Se tomaron dos lecturas siendo estas, inicial y final para cada muestra.

H. Determinación de sólidos en suspensión totales

Para obtener el valor de sólidos en suspensión totales se utilizaron filtros de 0.45 μ m MERK, los cuales se lavaron con 25mL ± 0.005 mL de agua de-ionizada, secaron por 30 minutos a 104°C en horno dejaron en desecador todo un día y pesaron, previamente al análisis de obtención de los sólidos en suspensión. Luego se filtraron 100mL ± 0.005 mL de la muestra de agua y se secó durante una hora en recipientes de aluminio con tapadera a 104°C en el mismo horno. Se enfrió el filtro en desecadora durante un día y pesó en balanza analítica marca OHUSE ± 0.001 g. El proceso se realizó en triplicado y se obtuvieron resultados utilizando la ecuación No. 2.

$$SST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(x - x_0) \left(\frac{1000mg}{g} \right)}{V} \quad (2)$$

Ecuación No. 2 Determinación de sólidos en suspensión totales

Donde:

$SST =$ Sólidos suspendidos totales

$x =$ peso promedio después de filtrar (g)

$x_0 =$ peso promedio antes de filtrar (g)

$V =$ Volumen de muestra de agua (L)

I. Determinación de grados brix

Para determinar el cociente total de materia seca en las muestras de agua utilizada para el proceso de fermentación se utilizó refractómetro de marca ATAGO $\pm 0.5\%$. Se tomó una pequeña muestra del agua, de las diferentes evaluaciones en cubetas y pilas. Se tomaron dos muestras de cada evaluación, siendo estas antes y después de que se realizara la fermentación.

J. Control de fin de proceso de desmucilaginación.

Se siguió el proceso dado por Anacafé, en el cual se introduce un palo rollizo hasta tocar fondo cada 30 minutos, se saca el palo y si al sacarlo queda un orificio, se realiza un lavado a una muestra de café, luego se frota con las manos cerca de la oreja. Si se escucha que truena, el café está listo para ser lavado. De lo contrario se sigue esperando.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo principal que se planteó para este trabajo de graduación fue el de optimizar el tiempo de fermentación y desmucilaginado en el grano de café implementado la enzima Pectinex Ultra SP-L para este proceso. El trabajo de campo fue realizado en Finca Medina en Antigua Guatemala ubicada a 1514 msnm.

Para lograr cumplir con el objetivo se realizaron evaluaciones de la enzima Pectinex Ultra SP-L a diferentes concentraciones evaluando parámetros fisicoquímicos iniciales y finales como pH, grados brix, sólidos suspendidos y temperatura. Además, se controló el tiempo de reacción de la enzima hasta que el proceso de desmucilaginado se dio como finalizado, utilizando el método propuesto por Anacafé descrito en el apartado de metodología inciso J, y la variación del peso durante proceso para determinar una fermentación completa.

Durante los meses de diciembre 2016 a marzo 2017 se realizaron diez pruebas en cubetas de 15L. Durante diez días en el trabajo de campo realizado, se evaluó una concentración diferente con su respectivo control. A estas pruebas se les midieron propiedades fisicoquímicas como, pH inicial y final, temperatura inicial y final, peso inicial y final, y tiempo de fermentación. A lo largo del trabajo se referirá a estas como primeras pruebas en cubetas.

Los resultados con respecto al tiempo en que llevo completarse el desmucilaginado para las primeras pruebas en cubetas se presentan en el Cuadro No. 2. Aunque se buscó encontrar una relación lineal con respecto concentración-tiempo, dado los resultados de estas pruebas, no se logró determinar una que tuviera un valor de R^2 mayor a 0.7, esto para que la calidad del modelo tuviera validez en la réplica de resultados al utilizar la enzima en la industria cafetalera.

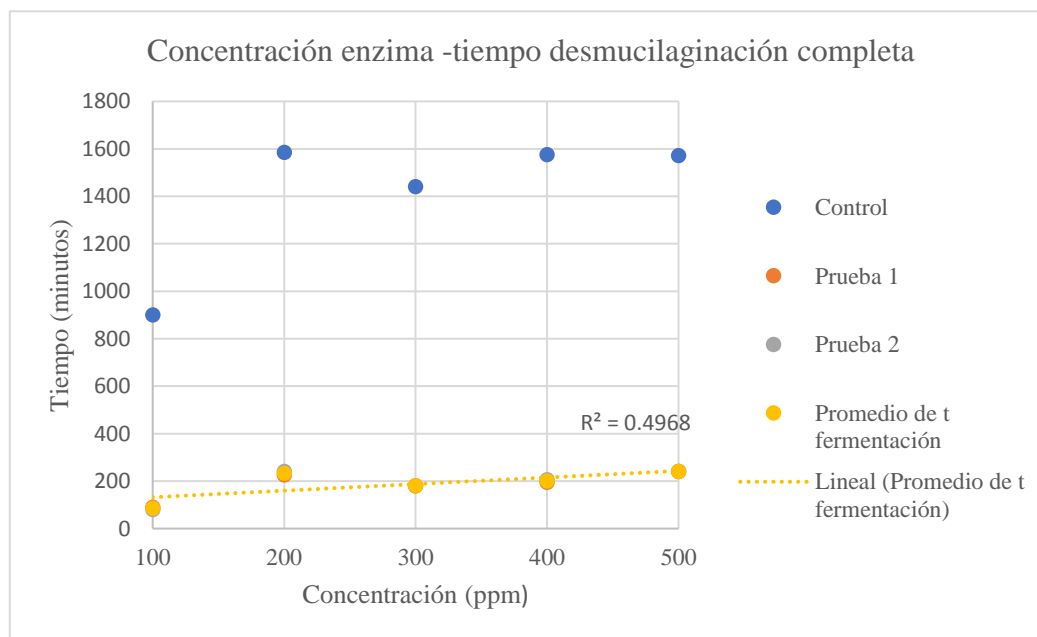
Aunque el tiempo de fermentación disminuyo drásticamente para cada prueba, la relación concentración-tiempo tuvo un R^2 de 0.4968, mucho menor al que se busca de 0.7 para tomar estos datos como válidos y así predecir el comportamiento de la enzima. Dados estos resultados, se consideró pertinente realizar las evaluaciones nuevamente cambiando la manera en que se realizó la toma de muestra. Este nuevo método se describe en el apartado de metodología, inciso C. Se referirá a estas como segunda prueba en cubetas.

Cuadro No. 2 Resultados del tiempo en que se dio por terminado el proceso de fermentación y desmucilagianción de las muestras del café de primeros análisis en cubetas.

Control	Concentración	Prueba #1	Prueba #2	Promedio de las pruebas	Reducción tiempo de fermentación*
15 horas	100ppm	1 hora 30 minutos	1 hora 20 minutos	85.00 minutos ±0.01	13.6 horas
26 horas 25 minutos	200ppm	3 horas 45 minutos	4 horas	232.50 minutos ±0.01	22.5 horas
24 horas	300ppm	3 horas	3 horas	180.00 minutos ±0.01	21 horas
26 horas 15 minutos	400ppm	3 horas 15 minutos	3 horas 25 minutos	200.00 minutos ±0.01	22.9 horas
26 horas 12 minutos	500ppm	4 horas	4 horas	240.00 minutos ±0.01	22.2 horas

*La reducción del tiempo de fermentación se obtuvo de la comparación del control de cada prueba con el promedio obtenido del tiempo de fermentación para cada concentración.

Figura No. 3 Relación de concentración de la enzima - tiempo tomado para concluir la etapa de desmucilagianción de las primeras pruebas en cubetas.



En la Figura No. 3 se grafican los tiempos tomados para cada una de las pruebas realizadas a las diferentes concentraciones. Puede observarse que la línea de fermentación natural tiene tiempos elevados comparados con los tiempos de fermentación de las pruebas. Además, se graficó el promedio de tiempo de fermentación de las pruebas con la enzima. Se esperaba que el tiempo de fermentación fuera reduciendo gradualmente conforme la concentración de la enzima aumentaba, lo cual no fue así. Los resultados pudieron ser afectados por las condiciones con las que se trabajó cada prueba, ya que estas variaron según el día de trabajo de campo por la temperatura ambiental, el agua utilizada, la región a la que pertenecía el café utilizado y el peso de la muestra.

Por otro lado, la fermentación se realizó con éxito sin afectar la calidad del café, lo cual puede observarse en los resultados de análisis de calidad de taza del café, para el cual se utilizó las muestras de las pruebas con concentración de 500ppm. Se decidió utilizar esta concentración porque, al ser la prueba con más cantidad de enzima, se quiso determinar si esta concentración afectaba la calidad en taza del café. Los resultados pueden observarse en el Anexo No. 3 del apartado de anexos. Las puntuaciones específicas del control y las pruebas se encuentran en el Cuadro No. 3.

Este análisis sensorial fue elaborado por catadores de Anacafé y de la Finca Medina, quienes siguen los criterios dados por la *Green Coffee Association of New York* (GCA) y *Specialty Coffee Association of America* (SCAA). De esta manera se determinó que la calidad del café no varía dado que los resultados son bastante similares para el control y las dos pruebas. También cabe resaltar que el café es considerado de excelente calidad al obtener puntuaciones mayores a 70.0.

Cuadro No. 3 Puntuaciones de calidad de taza del café del análisis de las pruebas utilizando 500ppm de enzima Pectinex Ultra SP-L

	Control	Prueba #1	Prueba #2
Puntuación	79.88	80.38	79.75

Con respecto a las propiedades fisicoquímicas evaluadas para estos análisis, se evaluó el pH inicial y final, la temperatura inicial y final, y el peso inicial y final para cumplir con el objetivo del estudio. El promedio de los resultados obtenidos se observa en el Cuadro No. 4.

Entre estas propiedades se encuentra el pH. Este se ve afectado debido al proceso de oxidación de los azúcares del mucílago, acidificando el agua utilizada para esta etapa. En la prueba denominada como control, donde no se utilizó enzima, se observa una disminución del potencial de hidrogeno de 0.5. En cuanto a las pruebas donde se utiliza la enzima Pectinex, el potencial de hidrogeno aumentó 0.25 para la prueba de 100ppm, disminuyó 0.25 para la prueba de 200ppm, 0.5 para la de 300ppm, 0.75 para la de 400ppm y 1.75 para la de 500ppm. Por lo tanto, se puede decir que la enzima sí afecta la concentración de iones de hidrogeno, aumentando estos de manera lineal con un R^2 de 0.7171. Se puede observar el comportamiento de estos resultados en la Figura No.5.

Se considera que cuando el pH de la masa de café se encuentra alrededor del rango 4 - 5, el proceso llegó al punto de fermento (Anacafé, 2009b). Por lo tanto, entre mayor sea la concentración de enzima agregada, menor será el tiempo transcurrido para llegar a este pH de referencia.

En el Acuerdo Gubernativo No. 236-2006 se dicta que, el valor de pH de las aguas de descarga residual debe encontrarse en un rango de 6-9. Según los resultados, el agua utilizada para la fermentación en las pruebas donde se utilizó concentraciones mayores a 300ppm no puede ser descargada sin antes pasar por un tratamiento de aumento de pH para alcanzar un valor neutro. Finca Medina por su parte, cuenta con equipo necesario dentro de la finca para realizar los tratamientos pertinentes a las aguas residuales, logrando cumplir con los parámetros indicados según la ley y el Ministerio de Ambiente.

Por otro lado, esta agua que contiene la enzima tiene la ventaja de poder ser reutilizada para acelerar el proceso de fermentación de una próxima partida de café recién despulpado debido a que es un catalizador de la reacción y no forma productos. De esta manera un poco de enzima resulta de gran utilidad y no representa un costo extenso en el beneficio, como podría parecer. Por lo tanto, se considera de gran importancia la recuperación de estas aguas mieles para la recirculación y hacer más eficiente próximos procesos.

Con respecto al cambio de la temperatura, no hay cambios significativos cuando se compara entre las diferentes concentraciones y el control. Debido al proceso de fermentación, la masa de café aumenta su temperatura, lo cual favorece la velocidad de reacción. Con una temperatura inicial promedio de $23.5^{\circ}\text{C} \pm 0.7$ y según el Acuerdo Gubernativo No. 236-2006, la temperatura de las aguas residuales puede encontrarse entre $16.5^{\circ}\text{C} - 30.5^{\circ}\text{C}$.

Uno de los objetivos hace referencia a la disminución del porcentaje de pérdida de peso. Esta pérdida de peso ocurre debido a la eliminación de sólidos solubles y materia seca que han sido diluidos y separados por el medio líquido, eliminándolos junto con el agua debido al contacto prolongado.

En el Cuadro No. 4 se puede observar el promedio de porcentaje de pérdida de peso del control y las diferentes pruebas que se llevaron a cabo con la enzima. La pérdida de peso después de haber concluido con la fermentación para el control fue, en promedio, de 10.61%, el cual hace referencia a la materia seca y soluble que se perdió debido a la fermentación y desmucilaginado. Con respecto a las pruebas realizadas el promedio de pérdida de peso fue 8.15%, lo cual significa que la enzima interfirió para lograr recuperar 2.46% en promedio de la materia soluble del café, gracias a que se redujo el tiempo en el que el café tuvo contacto con el agua debido a la aceleración del proceso de remoción del mucílago. Esto es de suma importancia para el caficultor debido a que, la implementación de la enzima significa ganancias económicas ya que el café se vende por peso; además, el café no pierde gran cantidad de sólidos solubles que aportan calidad al café y se evita un sobre fermento, el cual pudiera interferir con el sabor, aroma y apariencia del café listo para consumir.

Es necesario conocer los cambios de peso que sufre el café durante el proceso de manufactura para entender la importancia de la enzima en cuanto a los resultados de pérdida de peso. El café se vende en quintales (qq) de café, ya sea café cereza, pergamino u oro. El proceso inicia con el pesaje de quintales de café cereza, donde de 100qq se transforman a 23qq aproximadamente de café pergamino del cual, luego de eliminar la cascarilla, se obtienen alrededor de 18qq de café oro. De esta manera, al utilizar la enzima Pectinex Ultra SP-L, se está recuperando, según estos resultados, un 2.5% del peso; esto significa un aumento de 0.56qq al peso del pergamino, lo cual que se traduce a una ganancia aproximada de US\$78.00 con un precio de US\$140.00 el quintal de café durante el año 2017.

Por otro lado, no se encontró una relación lineal con respecto a la concentración de enzima y el porcentaje de pérdida de peso, con un R^2 de 0.168, lo cual se encuentra alejado del 0.7 que se busca para predecir el comportamiento de la enzima según la dosificación. Por lo tanto, el porcentaje de pérdida de peso no disminuye de manera proporcional con el aumento de la concentración de la enzima, y no puede predecirse el porcentaje de disminución de pérdida de peso para diferentes partidas realizadas según estas primeras pruebas.

Cuadro No. 4 Resultados de propiedades fisicoquímicas iniciales y finales de las primeras pruebas realizadas en cubetas.

Concentración	% Pérdida de peso	pH		Temperatura (°C)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Control	10.61%	6.70 ± 0.44	6.20 ± 0.84	23.52 ± 0.87	25.58 ± 1.47
100 ppm	7.21%	6.00 ± 0.00	6.25 ± 0.35	23.50 ± 0.99	27.35 ± 0.35
200 ppm	8.59%	6.50 ± 0.00	6.25 ± 0.35	22.50 ± 0.42	25.70 ± 0.00
300 ppm	8.18%	6.00 ± 0.00	5.50 ± 0.00	24.30 ± 0.42	24.60 ± 0.00
400 ppm	9.57%	5.75 ± 0.35	5.00 ± 0.00	23.55 ± 0.07	25.60 ± 0.14
500 ppm	7.22%	6.75 ± 0.35	5.00 ± 0.00	23.60 ± 0.57	26.70 ± 0.28

Figura No. 4 Porcentaje de pérdida de peso según concentración de la enzima utilizada para las primeras pruebas en cubetas

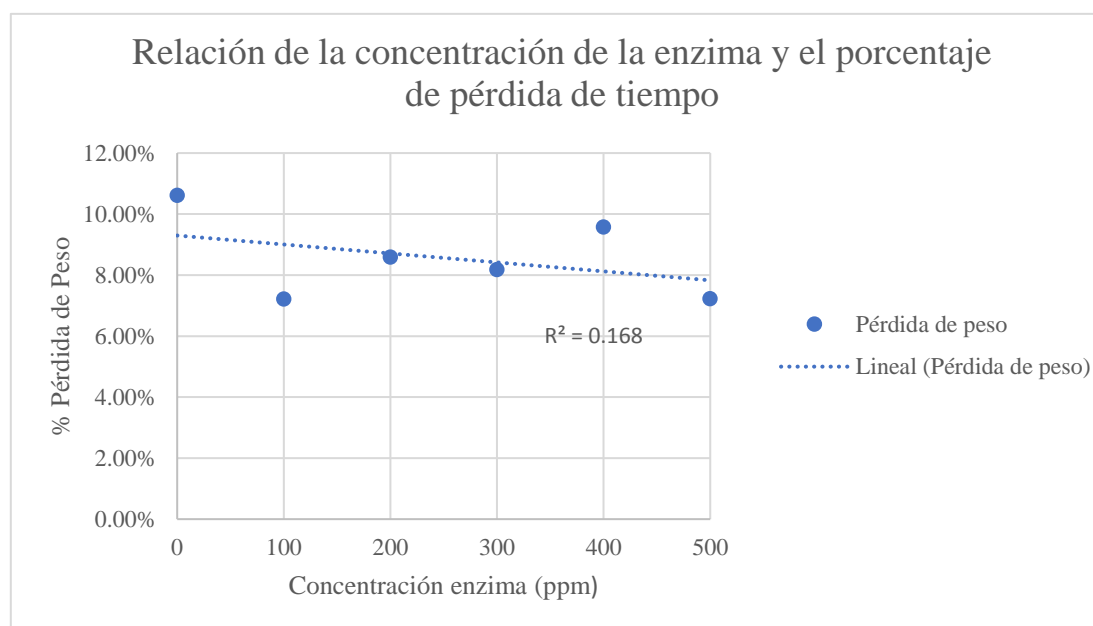
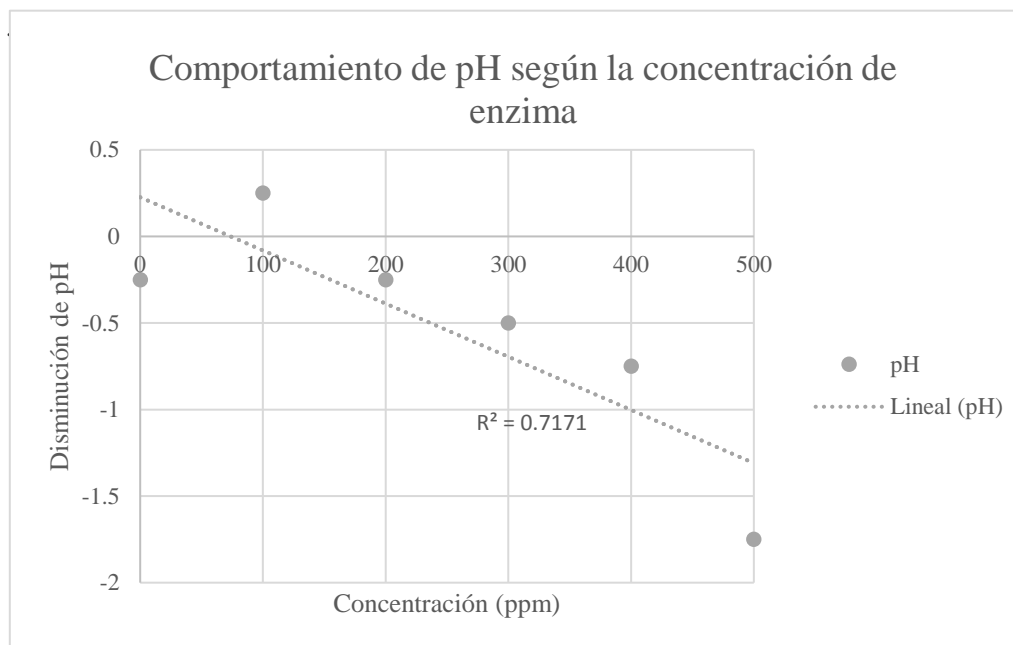


Figura No. 5 Comportamiento de pH con respecto a la concentración de enzima agregada en las primeras pruebas en cubetas.



Debido a las condiciones ambientales pudieron afectar los resultados de las primeras pruebas en cubetas, se decidió realizar una réplica de los análisis en un mismo día para así poder controlar las variables de temperatura inicial, origen del café, peso y agua utilizada. Esta prueba se llevó a cabo en la primera semana de noviembre del año 2017. En estas fechas aún se está dando inicio a las primeras cosechas de café, y solo regiones muy cercanas a la costa tienen fruto de café maduro debido a las altas temperaturas de estas zonas, en comparación a áreas con mayor altura donde se cosecha café.

Para estos nuevos análisis (segunda prueba en cubetas) se trabajó con café proveniente de la región de San Pedro Yepocapa, Chimaltenango; ubicada a 1400msnm. A diferencia de las primeras pruebas donde se utilizó café de la Región de San Martín, Chimaltenango ubicada a 1755msnm, este café no se considera de excelente calidad debido a que es cultivado y cosechado a una altura inferior lo cual afecta la densidad del grano, por lo cual sus tiempos de fermentación son inferiores, aún sin utilizar la enzima en el proceso. La temperatura ambiental era de 18°C durante el día de análisis y se utilizaron 2kg de café en todas las muestras.

Para estas nuevas pruebas se determinó la cantidad de sólidos suspendidos totales en una muestra de 100mL del agua utilizada para la fermentación (con densidad de 0.9967mL/g). El procedimiento utilizado se describe en el apartado de metodología inciso H. Los sólidos suspendidos totales se expresan en mg por L de agua.

Cuadro No. 5 Resultados de la determinación de sólidos suspendidos en agua utilizada para pruebas con enzima Pectinex Ultra SP-L

	Control	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm
Promedio mg/L	19191	19392	19664	19568	19645	19780

Los resultados obtenidos para los sólidos suspendidos totales se presentan en el Cuadro No. 5 y Figura No. 9. Estos resultados presentan un comportamiento bastante lineal con un R^2 de 0.8139, lo cual indica que entre mayor sea la concentración de la enzima, mayor serán los sólidos en suspensión durante la etapa de fermentación. Esto se debe a la interacción de la enzima con el café ya que, se logra realizar el desprendimiento de la materia sólida, además del mucílago presente en el grano despulpado. Esto resulta de gran importancia para el caficultor ya que se logra separar mayor cantidad de materia sólida del grano de café si se aumenta la concentración de la enzima. Cabe mencionar que según el Acuerdo Gubernativo de Descarga y Reuso de Aguas Residuales 236-2006 es necesario disminuir el contenido de sólidos suspendidos por medio de tratamientos de agua y filtración para alcanzar los valores permitidos de 100mg/L; por esto se recomienda realizar el tratamiento necesario y tomar en cuenta si el agua utilizada se va a recircular para la etapa de fermentación de una próxima partida. Para observar el comportamiento de estos resultados ir a la Figura No. 9

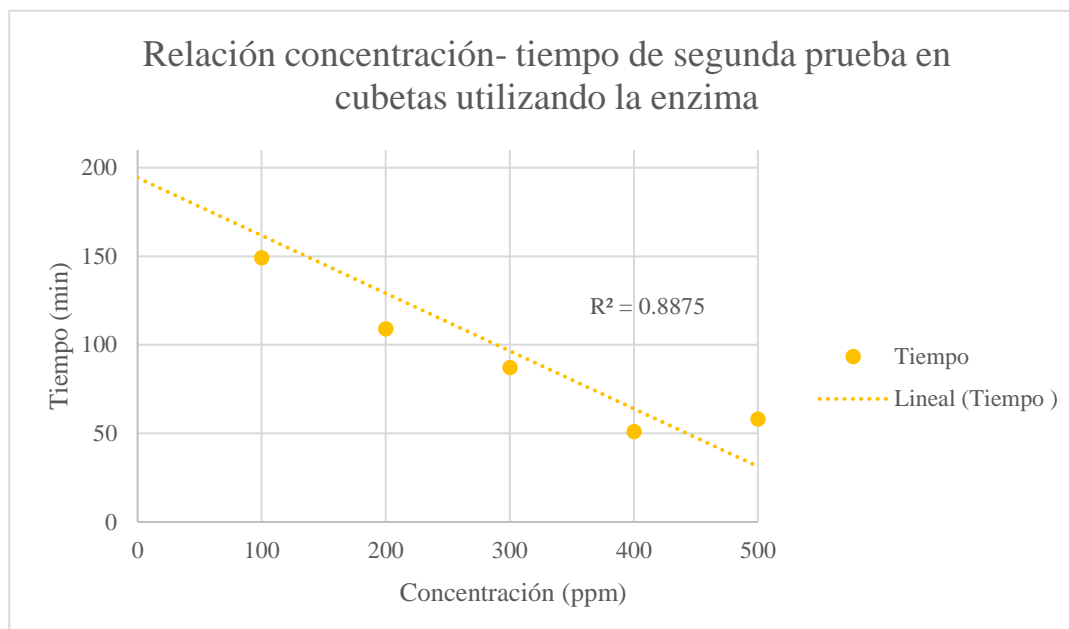
Para esta segunda prueba en cubetas, también se controló el tiempo en el que se alcanza la demucilaginación del grano de café. Estas pruebas presentan un comportamiento más lineal en cuanto al tiempo de fermentación y la concentración de enzima agregada. Con un valor de 0.8875 para el R^2 , se puede decir que la relación de estas dos variables es inversamente proporcional, es decir, entre mayor sea la concentración de enzima agregada menor será el tiempo en que la muestra de café complete la eliminación del mucílago por fermentación. Los resultados obtenidos para esta prueba se encuentran en el Cuadro No. 6 y presentan en la Figura No. 6

Además de haber determinado la relación entre estas dos variables, se puede observar que la concentración óptima para estos análisis es de 400ppm, debido que a esta concentración se alcanza el menor tiempo posible para lograr el desmucilaginado en el grano. Esto quiere decir que la concentración de la enzima no determina el equilibrio de la reacción, y si se sobre pasa la dosis de 400ppm la velocidad de reacción empieza a ser constante y no se lograra un tiempo menor a una hora de fermentación. Es importante volver a mencionar que, debido al origen del café, los tiempos en que se alcanzó la fermentación para estas pruebas fueron menores a las primeras pruebas en cubetas realizadas. Por esto, para cafés de mayor altura, el tiempo de desmucilaginado puede aumentar, siempre cumpliendo con el comportamiento lineal para las diferentes concentraciones implementadas.

Cuadro No. 6 Resultados del tiempo en que se dio por terminado el proceso de fermentación y desmucilaginación de las muestras del café de segundo análisis en cubetas.

	Control	100ppm	200ppm	300ppm	400ppm	500ppm
Tiempo	3 horas 43 minutos	2 horas 29 minutos	1 hora 49 minutos	1 hora 27 minutos	51 minutos	58 minutos

Figura No. 6 Relación de concentración de la enzima con el tiempo tomado para concluir la etapa de desmucilagínación de segunda prueba en cubetas



Para las segundas pruebas en cubetas, también se realizó un análisis de determinación del cambio de pH, temperatura, porcentaje de pérdida de peso y, además, grados brix en las muestras de agua utilizada para realizar la fermentación. Los resultados obtenidos para estas pruebas se encuentran en el Cuadro No. 7.

El comportamiento de los resultados del pH, para estos análisis, presentan valores diferentes en comparación con las primeras pruebas en cubetas realizadas (Cuadro No.4). El comportamiento de esta variable en estos análisis fue bastante similar para las diferentes concentraciones, exceptuando el valor obtenido para la concentración de 400ppm, la cual tuvo un diferencial de potencial de hidrógeno de 0.6, que fue el más alto alcanzado. Este resultado se relaciona con el tiempo obtenido para esta misma concentración ya que se alcanzó la desmucilagínación en menos tiempo con un pH más elevado. La gráfica que representa el comportamiento de estos resultados se presenta en la Figura No. 8.

Cuadro No. 7 Resultados de propiedades fisicoquímicas iniciales y finales de las segundas pruebas realizadas en cubetas

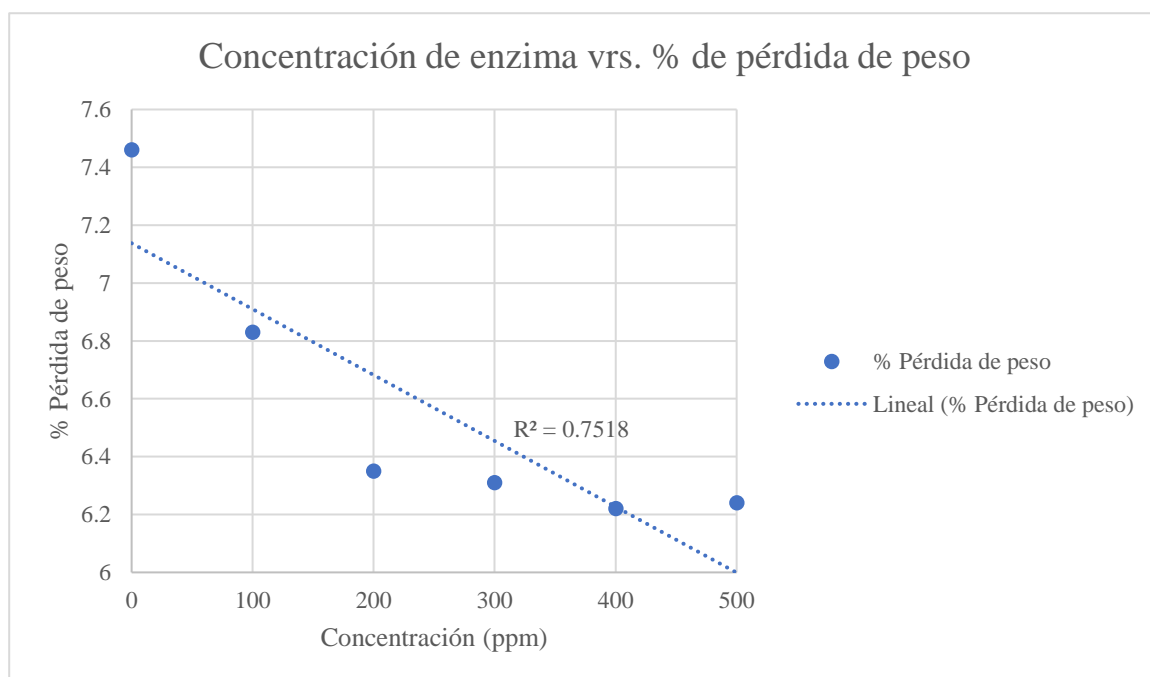
Concentración	% Pérdida de peso	pH		Temperatura (°C)		°Brix	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Control	7.46	6.6 ± 0.5	6.3 ± 0.5	22.7 ± 0.5	23.1 ± 0.5	1.28%	2.11%
100 ppm	6.83	6.6 ± 0.5	6.3 ± 0.5	21.7 ± 0.5	22.0 ± 0.5	1.10%	2.09%
200 ppm	6.35	6.5 ± 0.5	6.2 ± 0.5	21.7 ± 0.5	21.9 ± 0.5	1.43%	2.30%
300 ppm	6.31	6.5 ± 0.5	6.2 ± 0.5	22.1 ± 0.5	22.5 ± 0.5	1.97%	2.42%
400 ppm	6.22	6.5 ± 0.5	5.9 ± 0.5	22.5 ± 0.5	22.5 ± 0.5	2.32%	2.80%
500 ppm	6.24	6.4 ± 0.5	6.3 ± 0.5	22.1 ± 0.5	22.4 ± 0.5	2.00%	2.61%

A diferencia de los resultados para las primeras pruebas en cubetas, el resultado del pH para la segunda prueba en cubetas pudo ser más constante debido a que el café utilizado pertenecía a una misma partida, lo cual no provoca variación ya que la calidad del grano y baba, y la temperatura ambiental fue la misma para todas las muestras.

Para esta segunda prueba, también se hizo la comparación del porcentaje de pérdida de peso luego de dar por terminado el proceso de fermentación. Estos resultados representan una relación inversamente proporcional entre las variables, con un R^2 de 0.7518, ya que, entre mayor es la concentración de la enzima agregada, menor será la pérdida de peso de grano. Se puede observar el comportamiento en la Figura No. 7. Es necesario recordar que el grano de café de la segunda prueba en cubetas es menos denso, lo cual hace que el volumen de café producido sea menor. En promedio, se obtuvo una reducción del porcentaje de pérdida de peso de 6.39%, lo cual permite una ganancia del 1.07% del peso en el producto comparado con el control que tuvo un porcentaje de pérdida de peso de 7.46%.

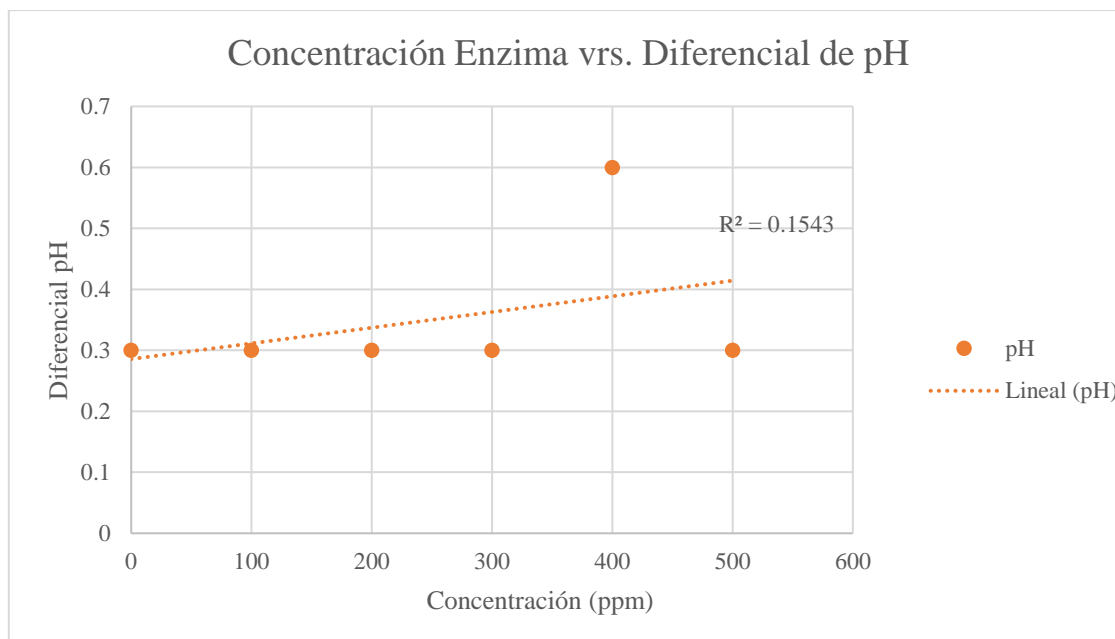
Como se mencionó anteriormente, la concentración óptima para estos análisis es de 400ppm para la cual se obtuvo un porcentaje de pérdida de peso de 6.22%, siendo el mejor resultado para estas pruebas, evitando una pérdida de 1.25% de peso de grano.

Figura No. 7 Porcentaje de pérdida de peso según concentración de la enzima utilizada para segunda prueba en cubetas



Por otro lado, los resultados con respecto a la temperatura, al igual que en los resultados de las primeras pruebas en cubetas, no sufren mayor cambio durante el proceso de fermentación. Aun así, la temperatura ambiental es fundamental para lograr la activación de la enzima y su óptimo funcionamiento.

Figura No. 8 Comportamiento de pH con respecto a la concentración de enzima agregada en la segunda prueba en cubetas



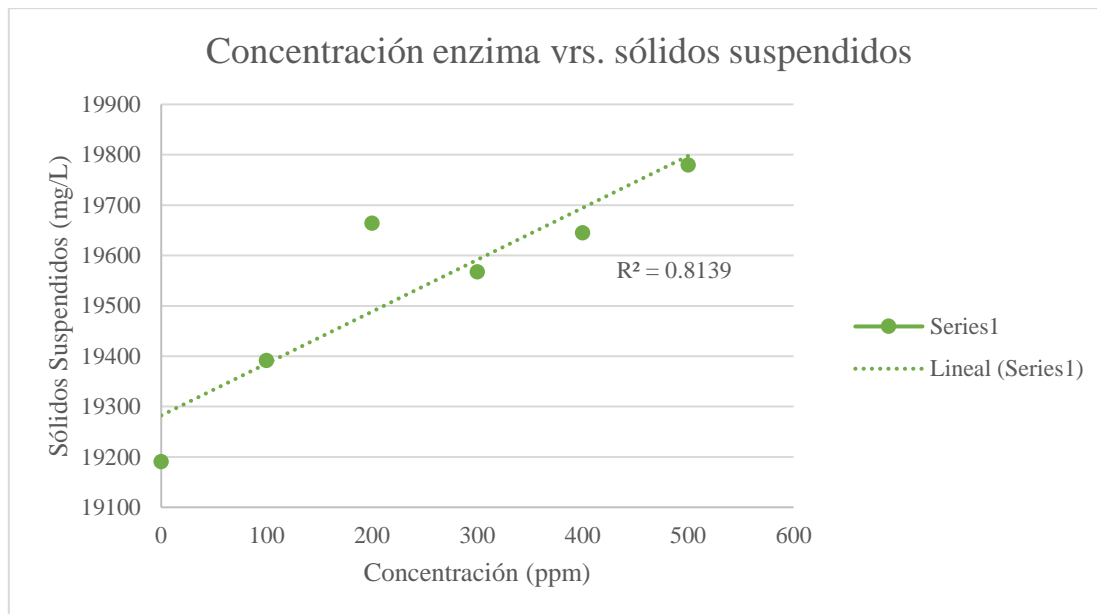
Por último, para esta segunda prueba, se evaluó la concentración de sólidos solubles que existen antes y después de la remoción del mucílago en el grano de café. Los sólidos solubles presentes en el mucílago del café contienen principalmente; sacarosa, glucosa, fructosa, ácidos málico, láctico, acético, etanol, esterres, proteínas y cenizas, por mencionar alguno. Los resultados se presentan en el Cuadro No. 7 y la diferencia obtenida en el Cuadro No. 8. En estos se puede observar que existió un aumento en la concentración de sólidos solubles debido a la disolución de los compuestos mencionados anteriormente en agua. Estos no presentaron un comportamiento lineal con respecto a la concentración de enzima agregada, lo cual pudo deberse al grado de maduración de granos presentes en las diferentes muestras evaluadas.

Cuadro No. 8 Diferencia de °Brix en la segunda prueba en cubetas con respecto a la concentración de enzima agregada

	Control	100ppm	200ppm	300ppm	400ppm	500ppm
Diferencia °Brix	0.84%	0.99%	0.87%	0.45%	0.48%	0.61%

El trabajo se realizó con éxito, pudiendo determinar que la enzima sí disminuye considerablemente el tiempo de fermentación y desmucilagización del café. Se considera necesario realizar pruebas con partidas de café provenientes de las diferentes regiones de Guatemala, y así poder determinar un aproximado del tiempo necesario para que las diferentes concentraciones de enzima logren acelerar esta etapa del beneficio. Además, se determinó que, de hecho, era necesario realizar las pruebas con las mismas concentraciones en un mismo día para que las variables de; origen de café, calidad de agua y temperatura ambiental fueran las mismas y no afectara con el modelo y obtener una relación entre la concentración de la enzima y las diferentes variables evaluadas en este trabajo.

Figura No. 9 Relación de concentración de enzima utilizada – sólidos suspendidos finales en la segunda prueba en cubeta.



VII. CONCLUSIONES

1. La enzima cumple el objetivo de reducir el tiempo de fermentación desde parámetros normales (36-48 horas) hasta 3 horas, dependiendo el origen del café despulpado, sin afectar la calidad de taza del café.
2. La enzima disminuye significativamente la concentración de iones de hidrogeno en la masa de café, lo cual permite el aumento de la velocidad de reacción de remoción de mucílago. Por otro lado, la temperatura de reacción no se ve afectada por la utilización de la enzima. En cuanto a grados brix, estos aumentan de manera lineal en medida que se produce el aumento en la concentración de la enzima en las muestras.
3. Pectinex Ultra SP-L puede ser utilizada en el proceso de beneficio de café asegurando evitar pérdida de peso, sirviendo entonces como aporte económico.
4. El comportamiento de la concentración de la enzima con respecto a las variables de tiempo de fermentación, porcentaje de pérdida de peso y sólidos suspendidos, resultó ser lineal e inversamente proporcional para los primeros dos, cuando las variables extrínsecas son las mismas para las diferentes muestras durante este estudio.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Otra manera de determinar la calidad del agua residual es evaluar la demanda química y bioquímica de oxígeno en el agua, por lo que se recomienda realizar las respectivas evaluaciones para próximos estudios enfocados en la calidad del agua y las repercusiones del producto al ambiente.
2. Se recomienda realizar un análisis para determinar el número de veces en que el agua miel resultante del proceso de fermentación y desmucilaginado al implementar la enzima Pectinex Ultra SP-L puede utilizarse. Esta debe seguir cumpliendo su función de acelerar esta etapa del proceso y no interferir con la calidad en taza del café.
3. Se considera necesario realizar pruebas con café proveniente de diferentes zonas cafetaleras de la república de Guatemala, a las diferentes temperaturas que se trabajan en los beneficios de todo el país para así lograr una estandarización de la concentración y el tiempo necesario para alcanzar el tiempo de fermentación según la necesidad del beneficio.

X. BIBLIOGRAFÍA

Anacafé (Asociación nacional de café en Guatemala). 2014. *Los cafés de Guatemala*. En: https://www.anacafe.org/glifos/index.php/BuenCafe_CafesdeGuatemala [Con acceso 15/01/2017]

Anacafé (Asociación nacional de café en Guatemala). 2009. *La producción del café y sus oportunidades*. En: https://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Produccion_de_cafe_y_oportunidades [Con acceso el 07/01/2017]

Anacafé (Asociación nacional de café en Guatemala). 2009a. *El beneficiado húmedo*. En: https://www.anacafe.org/glifos/index.php/Caficultura_BeneficiadoHumedo# [Con acceso el 19/01/2017]

Anacafé (Asociación nacional de café en Guatemala). 2009b. *Remoción del mucílago*. En: http://www.anacafe.org/glifos/index.php/BeneficiadoHumedo_Mucilago [Con acceso 02/04/2017]

Cenicafé. 2015. *Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad*. Gerencia Técnica del Programa de Investigación Científica. Fondo Nacional del Café. 454. Pp. 12.

Finca Medina. 2017. En: <http://www.fincamedina.com/> [Con acceso 10/11/2016]

Gándara, N. 2016. *Año cafetalero cierra con 3.9 millones de quintales*. Prensa Libre. [Guatemala]. 01 de octubre. En: <http://www.prensalibre.com/economia/economia/ao-cafetalero-cierra-en-39-millones-de-qq> [Con acceso 22/02/2017]

García-Viloca, M., et. Al. 2007. *How Enzymes Work: Analysis by Modern Rate Theory and Computer Simulations*, Science 303: 186-195.

Horton, H., R. Coaut. 2008. *Principios de Bioquímica*. 4ta Edición. Editorial Pearson Education. México.

Jiménez, R. 2010. *Manual de Buenas Prácticas de Manufactura en el Beneficio Asociación de Productores de Café Sostenible de Tarrazú*. Empresa Consultoria Consulstantos S.R.L, San Marcos de Tarrazú, Costa Rica.

Linares, T. 2014. *Remoción del Mucílago del Café por Medio de Procesos Enzimáticos Mediante la Utilización de Celulasa*. Tesis Universidad Rafael Landívar. 105 pp.

MARN. 2006. *Reglamento de las Descargas y Reuso de de Aguas Residuales y de la Disposición de Lodos*. Acuerdo Gubernativo 236-2006.

Morales, M. 2017. *Alarma de contaminación de ríos en Esquipulas*. Prensa Libre [Guatemala]. 31 de enero En: <http://www.prensalibre.com/guatemala/chiquimula/alarma-contaminacion-de-rios-en-esquipulas> [Con acceso 02/02/2017]

Peñuela, A., J. Pabón, *et. al.* 2011. *Enzimas: una alternativa para remover rápida y eficazmente el mucílago del café*. Programa de Investigación Cenicafé, Avances técnicos 406. 8pp

Peñuela, A. 2010. *Remoción del Mucílago de Café a través de Fermentación Natural*. Cenicafé 61(2): 159-173. Colombia

Peñuela A., U. Pabón, *et. al.* 2010. *Evaluación de una Enzima Pectolítica para Desmucilaginado del Café*. Cenicafé 61 (3):241-250.

Puerta, G. 2010. *Fundamentos del Proceso de Fermentación en el Beneficio de Café*. Avances Técnicos 402. Cenicafé. ISSN- 0120-0178.

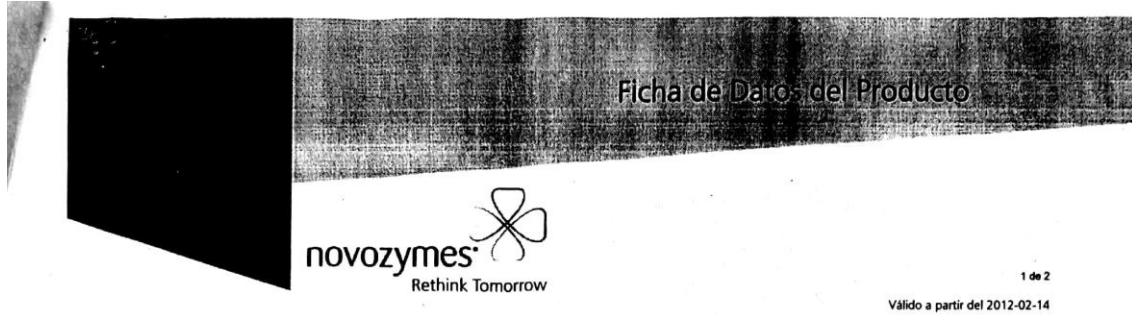
Puerta, G. 2009. *Efecto de Enzimas Pectolíticas en la Remoción del Mucílago de Coffea arabica L., Según el Desarrollo del Fruto*. Cenicafé 60(4):291-312. Colombia

SCAN. 2015. *Evaluación Sensorial del Café*. California, U.S.A. 37 pp.

Wagner, R. 2001. *Historia de Café en Guatemala*. Villegas Editores. Guatemala: Guatemala. 216 pp

XI. ANEXOS

Anexo No. 1 Ficha técnica del producto



1 de 2

Válido a partir del 2012-02-14

Pectinex® Ultra SP-L

En este producto, la actividad enzimática clave es proporcionada por poligalacturonasa que hidroliza los vínculos de (1,4)-alfa-D-galactosidurónico en pectato y otros galacturonanos

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Enzima Declarada	Poligalacturonasa
Actividad declarada	3800 PGNU/ml
Color	Marrón
Forma física	Líquido
Densidad aproximada (g/ml)	1,16
Olor	Ligero olor a fermentación.
Solubilidad	El compuesto activo es fácilmente soluble en agua en todas las concentraciones de uso normal. Los compuestos de estandarización pueden causar turbidez en la solución.

El color puede variar de lote a lote, sin que la intensidad del color sea indicativa de la actividad enzimática.

ESPECIFICACION DEL PRODUCTO

	Límite Mínimo	Límite Máximo	Unidad
Pectinase unit PGNU	3800		/ml
Cuenta Total en Placa		50000	/g
Bacteria coliforme		30	/g
E. coli	No detectado		/25 g
Salmonella	No detectado		/25 g
Metales pesados		Máx 30	mg/kg
Plomo		Máx 5	mg/kg
Arsénico		Máx 3	mg/kg
Cadmio		Máx 0.5	mg/kg
Mercurio		Máx 0.5	mg/kg

COMPOSICION

Ingredientes	Aprox. % (p/p)
Glicerol, CAS no. 56-81-5	45
Agua, CAS no. 7732-18-5	45
Poligalacturonasa, CAS no. 9032-75-1*	5
Cloruro de potasio, CAS no. 7447-40-7	5

*Definida como la conc. enzimática (base de materia seca)

No contiene preservantes

INFORMACION SOBRE ALERGENOS

Alérgeno	Sustancia contenida ¹	Alérgeno	Sustancia contenida ¹
Carne vacuna	no	Lactosa	no
Zanahoria	no	Leguminosas	no
Apio	no	Altramuz	no
Cereales con gluten ²	no	Leche	no
Carne de pollo	no	Moluscos	no
Cacao	no	Mostaza	no
Cilantro	no	Nueces ³	no
Chocolo/malz	no	Maní	no
Crustáceos	no	Carne porcina	no
Huevo	no	Sésamo	no
Pescado	no	Soja	no
Glutamato	no	Dióxido de sulfuro/sulfitos, más de 10 mg por kg o l	no

¹Definición de sustancias según la LeDa/ALBA y las Directivas EU 2000/13/EC y 2007/68/EC, en su forma enmendada

²es decir, trigo, centeno, cebada, avena, pieles, kamut

³es decir, almendra, avellana, nuez, anacardo, nuez pacana, nuez de Brasil, pistacho, macadamia y nuez de Queensland

ORGANISMOS DE PRODUCCION

Organismo de producción: Aspergillus aculeatus

Producido mediante fermentación sumergida de un microorganismo. Se separa la proteína enzimática del organismo de producción y se purifica.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Temperatura de almacenamiento: 0-10 °C (32-50 °F)

El embalaje debe mantenerse intacto, seco y lejos de la luz solar. Siga las recomendaciones y utilice el producto antes de la fecha de consumo preferente para evitar la necesidad de una dosis mayor.

Utilizar preferentemente antes de: Encontrará la fecha de consumo preferente en el certificado de análisis o en la etiqueta del producto.

El producto proporciona un rendimiento óptimo si se almacena según las recomendaciones y se utiliza antes de la fecha de consumo preferente.

Pectinex® Ultra SP-L

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD Y MANEJO

Las enzimas son proteínas. La inhalación de polvo o aerosoles puede inducir sensibilización y provocar reacciones alérgicas en personas sensibilizadas. Algunas enzimas pueden irritar la piel, ojos y membranas mucosas cuando el contacto es prolongado. Consulte el Manual de Seguridad o MSDS para obtener más información sobre la manipulación segura del producto y los derrames.

CUMPLIMIENTO DE NORMAS

El producto cumple con las especificaciones de pureza recomendadas para las enzimas de grado alimentario dadas por el Comité conjunto de expertos en aditivos alimentarios (en inglés, JECFA) de la Organización para la agricultura y la alimentación (en inglés, FAO)/OMS y el código de los productos químicos alimentarios (en inglés, FCC), y con las relevantes especificaciones Chinas para la seguridad alimentaria y normas para enzimas de grado alimentario.

Los certificados Halal y Kosher están disponibles en el Centro de atención al cliente o por medio de su representante de ventas.

Si se utiliza como una ayuda de procesamiento en la producción de alimentos, las asociaciones autorizadas pueden clasificar el producto final como "orgánico".

CERTIFICACIONES

Novozymes suscribe al Pacto Mundial de las Naciones Unidas y la Convención de las Naciones Unidas sobre la diversidad biológica y los informes sobre el rendimiento de la sostenibilidad a través de la iniciativa Global Reporting Initiative (GRI). Vea todos nuestros compromisos en www.novozymes.com.



SEGURIDAD ALIMENTARIA

Novozymes ha llevado a cabo un análisis de peligros y preparó un plan de análisis de riesgo y puntos críticos de control (en inglés HACCP) que describe los puntos de control fundamentales (en inglés, CCP). El plan de HACCP tiene el apoyo de un programa completo como requisito previo, implementado en las prácticas de buenas prácticas de fabricación (en inglés, GMP) de Novozymes.

El producto es elaborado según el plan de HACCP de Novozymes, las prácticas de GMP y los requisitos adicionales controlados por el sistema de gestión de calidad de Novozymes.

El producto cumple con los requisitos de pureza recomendados por el comité JECFA de la FAO/OMS y los requisitos de pureza recomendados por la FCC con respecto a las micotoxinas. El producto cumple con la legislación de la UE con respecto a los pesticidas.

ENVASES

El producto está disponible en diferentes tipos de envases. Póngase en contacto con el representante de ventas para obtener más información.

Novozymes Latin America Ltda
Rua professor Francisco Ribeiro 683
CEP 83707-660 - Araucária - Paraná
Brasil

Tel. +55 41 641 1000
Fax +55 41 643 1443

Para más informaciones, o direcciones de nuestras oficinas, visite: www.novozymes.com

La legislación, las reglamentaciones y los derechos de terceros podrían impedir que los clientes importasen, utilizaran, procesasen o revendiesen los productos que se describen en el presente documento en determinadas formas. Sin otro contrato por escrito entre el cliente y Novozymes para ese efecto, este documento no constituye una declaración o garantía de ningún tipo y se encuentra sujeto a cambio sin previo aviso.

Anexo No. 2 Artículo 20 del Acuerdo Gubernativo 236-2006 del reglamento de las descargas y reuso de aguas residuales y de la disposición de lodos.

Artículo 20. LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES A CUERPOS RECEPTORES. Los límites máximos permisibles de los parámetros para las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores son:

Parámetros	Dimensionales	Valores iniciales	Fecha máxima de cumplimiento			
			Dos de mayo de dos mil once	Dos de mayo de dos mil quince	Dos de mayo de dos mil veinte	Dos de mayo de dos mil veinticuatro
			Etapa			
			Uno	Dos	Tres	Cuatro
Temperatura	Grados Celsius	TCR +/- 7	TCR +/- 7	TCR +/- 7	TCR +/- 7	TCR +/- 7
Grasas y aceites	Miligramos por litro	1500	100	50	25	10
Materia flotante	Ausencia/presencia	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Sólidos suspendidos	Miligramos por litro	3500	600	400	150	100
Nitrógeno total	Miligramos por litro	1400	100	50	25	20
Fósforo total	Miligramos por litro	700	75	30	15	10
Potencial de hidrógeno	Unidades de potencial de hidrógeno	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9
Coliformes fecales	Número más probable en cien mililitros	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^4$
Arsénico	Miligramos por litro	1	0.5	0.1	0.1	0.1
Cadmio	Miligramos por litro	1	0.4	0.1	0.1	0.1
Cianuro total	Miligramos por litro	6	3	1	1	1
Cobre	Miligramos por litro	4	4	3	3	3
Cromo hexavalente	Miligramos por litro	1	0.5	0.1	0.1	0.1
Mercurio	Miligramos por litro	0.1	0.1	0.02	0.02	0.01
Níquel	Miligramos por litro	6	4	2	2	2
Plomo	Miligramos por litro	4	1	0.4	0.4	0.4
Zinc	Miligramos por litro	10	10	10	10	10
Color	Unidades platino cobalto	1500	1300	1000	750	500

TCR = temperatura del cuerpo receptor, en grados Celsius.

Anexo No. 3 Resultados de análisis de calidad de taza de café de las primeras pruebas utilizando enzima Pectinex Ultra SP-L

1. Control

Perfil de Taza		Clase	
Orden Laboratorio: 254		PERGAMINO	
Pro - 178			

FECHA:	13-dic-16		
Finca	MEDINA - 14907	Jurisdicción	Antigua Guatemala / SACATEPEQUEZ
Emitido a	SIEMBRAS VISION SOCIEDAD ANONIMA		
Referencia	SVM-59-1		

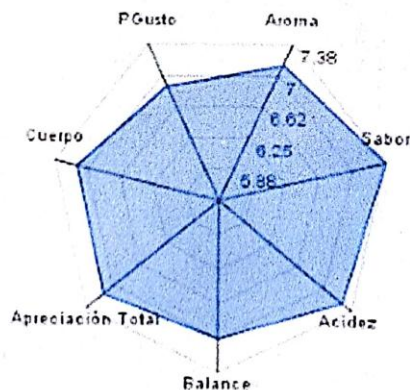
Form: SCAA June 2003

CARACTERISTICAS PERFIL DE TAZA

Aroma	7.12
Sabor	7.38
PGusto	6.88
Acidez	7.25
Cuerpo	7.12
Balance	7.00
Apreciación	7.12

Uniformidad	10.00
Limpieza	10.00
Dulzura	10.00
Defectos	0.00
Punteo:	79.88

Escala de Calidad	
6.00	Bueno
7.00	Muy Bueno
8.00	Excelente
9.00	Excepcional



Comentarios: Acidez: Manzana roja(1), Moderada(2), Aroma: Chocolate(1), Moderado(2), Cuerpo: Líquido(1), Liviano(1), Medio(2), PGusto: Fugaz(2), Medio(2), Sabor: Caramelizados y dulces(1), Caramelo(1), Chocolate(1), Miel(1)

BRAYAN ARMANDO CIFUENTES ALVAREZ

2. Prueba #1

Perfil de Taza		Clase
Orden Laboratorio: 254		PERGAMINO
Pro - 179		

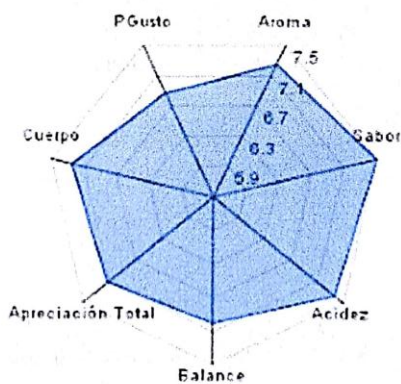
FECHA: 13-dic-16
 Finca: MEDINA - 14907 Jurisdicción: Antigua Guatemala / SACATEPEQUEZ
 Emitido a: SIEMBRAS VISION SOCIEDAD ANONIMA
 Referencia: SVM-59-2
 Form: SCAA June 2003

CARACTERISTICAS PERFIL DE TAZA

Aroma	7.25
Sabor	7.50
PGusto	6.88
Acidez	7.38
Cuerpo	7.25
Balace	7.00
Apresiasi3n	7.12

Uniformidad	10.00
Limpieza	10.00
Dulzura	10.00
Defectos	0.00
Punteo:	80.38

Escala de Calidad	
6.00	Bueno
7.00	Muy Bueno
8.00	Excelente
9.00	Excepcional



Comentarios: Acidez: Acidez seca(1), Intensa(1), Manzana roja(1), Moderada(1), Aroma: Chocolate(1), Intenso(1), Moderado(1), Cuerpo: Completo(1), Liviano(1), Medio(1), PGusto: Fugaz(1), Medio(2), Poco fugas(1), Sabor: Caramelizados y dulces(1), Caramelo(2), Chocolate(1)

BRAYAN ARMANDO CIFUENTES ALVAREZ

3. Prueba #2

Perfil de Taza	Clase
Orden Laboratorio: 254	PERGAMINO
Pro - 180	

FECHA:	13-dic-16	Jurisdicción	Antigua Guatemala / SACATEPEQUEZ
Finca	MEDINA - 14907	Emitido a	SIEMBRAS VISION SOCIEDAD ANONIMA
Referencia	SVM-59-3		

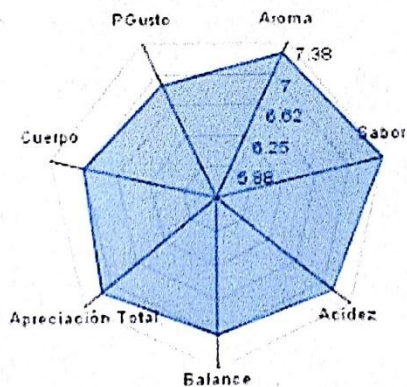
Form: SCAA June 2003

CARACTERISTICAS PERFIL DE TAZA

Aroma	7.25
Sabor	7.38
PGusto	6.88
Acidez	7.12
Cuerpo	7.00
Balace	7.00
Apreciación	7.12

Uniformidad	10.00
Limpieza	10.00
Dulzura	10.00
Defectos	0.00
Punteo:	79.75

Escala de Calidad	
6.00	Bueno
7.00	Muy Bueno
8.00	Excelente
9.00	Excepcional



Comentarios: Acidez: Acidez seca(1), Manzana roja(1), Moderada(2), Aroma: Chocolate(1), Intenso(1), Moderado(1), Cuerpo: Arenoso(2), Liviano(1), Medio(2), PGusto: Fugaz(2), Medio(2), Seco(1), Sabor: Caramelizados y dulces(1), Caramelo(1), Chocolate(1), Miel(1), Sabor poco seco(1)

BRAYAN ARMANDO CIFUENTES ALVAREZ

Anexo No. 4 Finca Medina

Figura No. 10 Despulpado de café cerezo



Figura No. 11 Vaciado de tanques de fermentación



Figura No. 12 Agua de recirculación utilizada para tanques de fermentación



Figura No. 13 Lavado de café luego de haber concluido con proceso de fermentación



Figura No. 14 Personal de Finca Medina explicando la calidad del café según su altura

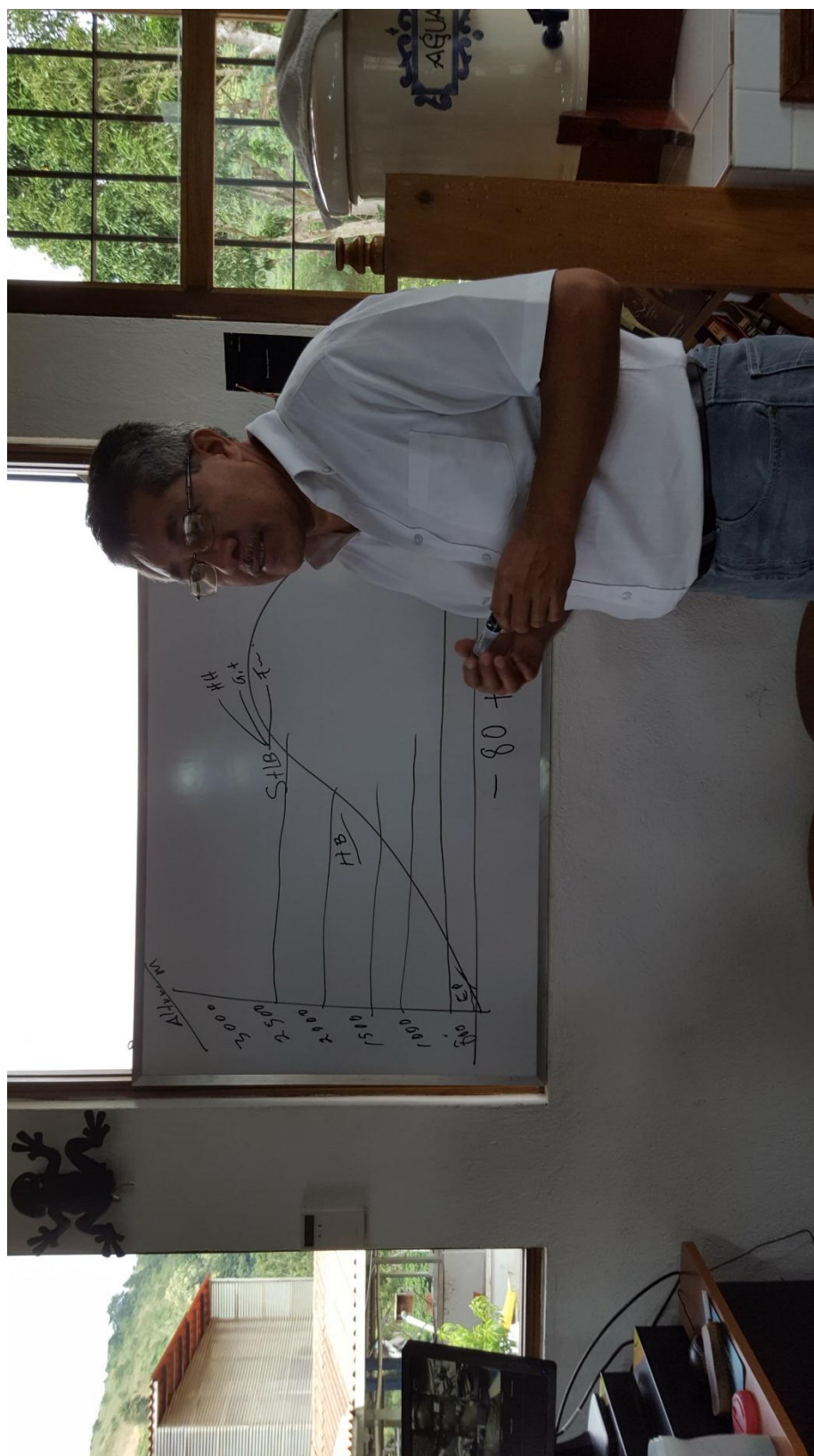


Figura No. 15 Proceso de catación de café en Finca Medina



Figura No. 16 Secado de Muestras en Paribuelas



Figura No. 17 Patio de secado



Figura No. 18 Segunda prueba en cubetas (de izquierda a derecha: control, 100ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm, 500ppm).

