

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

FACULTAD DE INGENIERÍA
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA

**REMOCIÓN DEL MUCILAGO DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS
MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE CELULASA.**

TESIS DE GRADO

TELMA ISELA LINARES VALENCIA

CARNET 11457-04

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, OCTUBRE DE 2015

CAMPUS CENTRAL

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

FACULTAD DE INGENIERÍA
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA

**REMOCIÓN DEL MUCILAGO DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS
MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE CELULOSA.**

TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE

INGENIERÍA

POR

TELMA ISELA LINARES VALENCIA

PREVIO A CONFERÍRSELE

EL TÍTULO DE INGENIERA QUÍMICA EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADA

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, OCTUBRE DE 2015

CAMPUS CENTRAL

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

VICERRECTORA ACADÉMICA: DRA. MARTA LUCRECIA MÉNDEZ GONZÁLEZ DE PENEDO
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN:
DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO
P. JULIO ENRIQUE MOREIRA CHAVARRÍA, S. J.
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: LIC. ARIEL RIVERA IRÍAS
SECRETARIA GENERAL: LIC. FABIOLA DE LA LUZ PADILLA BELTRANENA DE LORENZANA

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA

DECANO: MGTR. JOSE CARLOS RICARDO VELA SCHIPPERS
VICEDECANO: MGTR. JORGE ANTONIO GUILLEN GALVAN
SECRETARIA: MGTR. KAREN GABRIELA MORALES HERRERA
DIRECTOR DE CARRERA: DR. MARIO RENE SANTIZO CALDERON

NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

ING. JORGE EMILIO GODÍNEZ LEMUS

TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN

MGTR. MIRIAM ESTELA CHAVEZ RAMIREZ
ING. ISIS ARACELY LOPEZ CIFUENTES DE GALVEZ ING.
JUAN CARLOS GARCÍA CERÓN

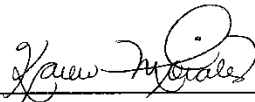
Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado de la estudiante TELMA ISELA LINARES VALENCIA, Carnet 11457-04 en la carrera LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA, del Campus Central, que consta en el Acta No. 02186-2015 de fecha 29 de septiembre de 2015, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

**REMOCIÓN DEL MUCILAGO DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS
MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE CELULASA.**

Previo a conferírsele el título de INGENIERA QUÍMICA en el grado académico de LICENCIADA.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 8 días del mes de octubre del año 2015.



**MGTR. KAREN GABRIELA MORALES HERRERA, SECRETARÍA
INGENIERÍA
Universidad Rafael Landívar**



Guatemala, 24 de Julio 2015

Ingeniero
Mario Santizo
Director de Carrera Ingeniería Química

Por medio de la presente yo, Ingeniero Jorge Godínez, que me identifico con Código 22150 en mi condición de catedrático de la Universidad Rafael Landívar, me dirijo a usted con la finalidad de dar por validado el Trabajo de Graduación denominado "REMOCIÓN DEL MUCILAGO DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMATICOS MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE CELULASA" de la alumna Telma Isela Linares Valencia, quien se identifica con el Número de Carnet 1145704.

Sin nada más que agregar,

Atentamente:



Ing. Jorge Godínez
No. 22150

Dedicatoria

Esta tesis la dedico a:

- **A Dios** Dador de vida, por permitirme culminar mis estudios universitarios.
- **A la Virgen María** Por su compañía, protección a lo largo de toda mi vida y por ser un gran ejemplo de madre.
- **A mi hijo** André Nicolas Rivera Linares, por ser el motor, alegría e inspiración de mi vida.
- **A mis padres** Edgar Octavio Linares López, y Telma Yolanda Valencia Velásquez de Linares. Por todo el amor, apoyo y comprensión que me han brindado en el transcurso de mi vida.
- **A mi hermano** Edgar Octavio Linares Valencia. Por ser mi apoyo y ejemplo de vida.
- **A mis abuelos** Napoleón Valencia Guevara, y Angélica Velásquez Ibarra de Valencia; Felipe Linares Cermeño, y Dora Amanda López Vargas de Linares.
- **A mis tíos, en especial a** Napoleón Valencia Velásquez y Dora Lisseth Linares López.
- **A mi prima** Paola Alejandra Linares López.
- **A todos mis amigos y compañeros de la Universidad:** Por haber compartido conmigo todas las alegrías y preocupaciones de la formación profesional y humana, y son parte importante en mi vida.

A TODOS, MUCHAS GRACIAS...

Agradecimiento

A Dios por permitirme seguir adelante, darme la confianza, paz y sabiduría para culminar mis estudios universitarios.

A mis padres y hermano por siempre apoyarme, y estar a mi lado a lo largo del proceso de elaboración de trabajo de graduación.

A mi hijo, por darme la fuerza y amor para culminar mis estudios universitarios.

A la Universidad Rafael Landívar, por ser mi casa de estudios y brindarme una educación superior sólida, sin separarme de mi formación espiritual y el apoyo de asistencia económica por medio del programa de Beca Landívar.

A mi asesor el Ing. Jorge Godínez y Ing. Sara Crespo, por guiarme a lo largo del proceso de formulación del trabajo de graduación.

A mi amiga y colega Ing. Ana Lucia Lavarreda Paz, por el apoyo y compañía en la elaboración del presente trabajo de investigación.

Resumen Ejecutivo

El objetivo del presente trabajo de graduación, fue reducir el tiempo de operación y disminuir la carga contaminante de agua de lavado en el proceso de desmucilación del café, sin arriesgar la calidad del grano, mediante el análisis de remoción del mucílago a través de proceso enzimático, utilizando celulasa como catalizador de la reacción de hidrólisis de los azúcares reductores presentes mucílago.

Para llevar a cabo este estudio se efectuaron tres diferentes pruebas del proceso de desmucilación variando la temperatura de operación (12, 24 y 35°C) y dos pruebas adicionales variando concentraciones de enzima (50 y 200%).

Para cada uno de las pruebas se efectuó el proceso de desmucilación utilizando la fermentación natural para la eliminación del mucílago del grano de café, esto con el fin de tener un punto de comparación entre ambos procesos y así mismo comprobar la eficiencia y eficacia del proceso enzimático.

Se logró determinar que el proceso enzimático es recomendable para efectuar el proceso de desmucilación, debido a que el tiempo promedio de operación comparado con el proceso de fermentación natural disminuyó a más de la mitad (62%) y el agua residual generada en el proceso se redujo un 95%, observando que el café conservo las mismas características físicas (color, textura y aroma) que por medio de fermentación natural.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: temperatura de 12°C el tiempo disminuyo 23 ± 0.005 hr ($1,380 \pm 0.005$ min), temperatura 24°C disminuyo 6.13 ± 0.005 hr (367 ± 0.005 min) y a Temperatura disminuyo 35°C: 6.13 ± 0.005 hr (367 ± 0.005 min).

De igual manera el agua miel generada en el proceso enzimático, aumento el porcentaje de azúcares reductoras presentes en el agua de lavado en un 369%, lo cual facilita que se reutilización del agua miel para diferentes procesos, como por ejemplo la síntesis de etanol o el mismo beneficio de café.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Lo escrito sobre el tema.....	2
3. Resumen Crítico del Marco Teórico.....	3
3.1. Café.....	3
3.2. Mucílago de Café.....	9
3.3. Enzimas.....	12
3.4. Celulasas.....	18
3.5. Cellulase plus # 407.....	21
4. Planteamiento del Problema.....	22
4.1. Objetivos.....	23
4.1.1. Objetivo General.....	23
4.1.2. Objetivos Específicos.....	23
4.2. Variables.....	23
4.2.1. Variable Independiente.....	23
4.2.2. Variable Dependiente.....	24
4.3. Definición de las variables.....	24
4.3.1. Independientes.....	24
4.3.2. Dependientes.....	25
4.4. Alcances y Límites.....	26
4.4.1. Alcances.....	26
4.4.2. Límites.....	27
4.5. Aporte.....	27
5. Sujetos y Unidades Análisis.....	28
5.1. Unidades de Análisis.....	28
5.2. Instrumentos.....	28
5.3. Procedimiento.....	32
6. Diseño y Metodología estadística.....	33
6.1. Diseño Experimental.....	33
6.1.1. Experimentos.....	33
6.1.2. Tratamientos y Repeticiones de los Experimentos.....	34
6.1.3. Descripción de Unidades Experimentales.....	34
6.1.4. Variable Respuesta.....	35
6.1.5. Metodología de Análisis.....	35
7. Presentación de resultados.....	36

8. Discusión de Resultados	47
9. Conclusiones	52
10. Referencias	53
Anexos	56
Anexo No. 1	56
Anexo No. 2.....	57
Anexo No. 3.....	59
Anexo No. 4.....	60
Anexo No. 5.....	61
Anexo 6: Tablas de resultado de procesos	68
Anexo No. 8.....	93

ÍNDICE FIGURAS

Figura No. 1: Anatomía y Morfología del cultivo de cafeto.....	3
Figura No. 2: Cultivo de cafeto.	4
Figura No. 3: Estructura del fruto de cafeto.	4
Figura No. 4: Formación del complejo enzima sustrato, seguido de la liberación del producto.	14
Figura No. 5: Modelo molecular de la celulosa, unidos por puentes de hidrogeno.....	18
Figura No. 6: Café cereza, arábigo.	61
Figura No. 7: Despulpado manual del café.....	61
Figura No. 8: Enzima Celulasa.	62
Figura No. 9: Solución de enzima Celulasa.....	63
Figura No. 10: Café despulpado con la solución de la enzima.....	63
Figura No. 11 : Medición de ph inicial de las muestras.	64
Figura No. 12: Solución Cúprica de Licor de Fehling, y los reactivos que la forman.....	65
Figura No. 13: Solución Sódica de Licor de Fehling, y los reactivos que la forman.	65
Figura No. 14: Licor de Fehling, y las soluciones A y B.....	66
Figura No. 15: Dilución de agua miel.....	67
Figura No. 16: Determinación del título de agua miel obtenida en el proceso de desmucilación.	67

ÍNDICE TABLA

Tabla No. 1	9
Tabla No. 2	9
Tabla No. 3	9
Tabla No. 4	28
Tabla No. 5	34
Tabla No. 6	37
Tabla No. 7	38
Tabla No. 8	39
Tabla No. 9	40
Tabla No. 10	41
Tabla No. 11	42
Tabla No. 12	43
Tabla No. 13	44
Tabla No. 14	45
Tabla No. 15	46
Tabla No. 16	59
Tabla No. 17	69
Tabla No. 18:.....	70
Tabla No. 19	72
Tabla No. 20	73
Tabla No. 21	75
Tabla No. 22	76
Tabla No. 23	78
Tabla No. 24	79
Tabla No. 25	81
Tabla No. 26	82
Tabla No. 27	84
Tabla No. 28	85
Tabla No. 29	87
Tabla No. 30	88
Tabla No. 31	90
Tabla No. 32	91
Tabla No. 33:.....	92

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica No. 1	45
Gráfica No. 2	46
Gráfica No. 3	68
Gráfica No. 4	68
Gráfica No. 5	71
Gráfica No. 6	71
Gráfica No. 7	74
Gráfica No. 8	74
Gráfica No. 9	77
Gráfica No. 10	77
Gráfica No. 11	80
Gráfica No. 12	80
Gráfica No. 13	83
Gráfica No. 14	83
Gráfica No. 15	86
Gráfica No. 16	86
Gráfica No. 17	89
Gráfica No. 18	89

1. Introducción

El Beneficio de café cumple con el papel de generar un grano con altos estándares de calidad, el proceso de desmucilación actúo como una de las etapas más importantes y delicadas, debido a la degradación del mucílago a sustancias solubles (azúcares).

Por esta razón surgió el objetivo de analizar la remoción del mucílago del café por medio de procesos enzimáticos, mediante el uso de Celulasa, como catalizador de la reacción de hidrólisis de las azúcares insolubles presentes en el mucílago, con esto se pretendió obtener beneficios en el proceso de desmucilación en dos diferentes aspectos, operacional, con la reducción de tiempo de operación y ambientalmente por medio de disminución de carga contaminante en el efluente de agua de lavado, sin poner en riesgo la calidad del grano de café.

Los objetivos se cumplieron efectuado pruebas del proceso de desmucilación a tres diferentes temperaturas (12, 24 y 35°C) con el fin de simular las ubicaciones de los beneficios de café en Guatemala. El café se adquirió en forma de cereza, al cual se le realizó el proceso de despulpe de forma manual.

Ya que el café se encontró despulpado, inmediatamente se inició con el proceso de desmucilación, con el fin de prevenir la sobre fermentación y así dañar el grano. El tiempo de reacción de la enzima Celulasa en el proceso vario de acuerdo a la temperatura de operación entre 45 min a 2 horas aproximadamente.

Para comprobar la ausencia del mucílago de café en el grano, se realizara análisis de pH en el transcurso del tiempo de reacción, esto debido a que el mucílago conto con un ph inicial de 6 y por la degradación de los azúcares presentes en el mucílago se acidifica hasta llegar a un ph de 4, brindando el punto final de la reacción. Al transcurrir el tiempo de reacción, se lavó el grano de café.

Se comprobó la ausencia del mucílago en el grano por medio de una prueba cuantitativa (titulación) del agua miel generada en el proceso, la cual indicó la ausencia del mucílago en el grano y la eficacia del proceso enzimático aumentando porcentaje de azúcares reductores en el agua miel y así se disminuyó así la cantidad de Demanda química de oxígeno. Generando un proceso amigable con el ambiente.

Con los resultados obtenidos se recomienda el uso de proceso enzimático, utilizando la celulasa, para la remoción del mucílago de café.

2. Lo escrito sobre el tema

Figuroa (1990), explica que el beneficiado del café (remoción del mucílago del café) generalmente es recomendable realizarlo en el menor tiempo posible, el cual debe iniciarse poco tiempo después de que se realiza la cosecha del café. Este proceso debe ser completo pero controlado para que no llegue a sobre-fermentación. El beneficiado común consiste en la fermentación natural del mucílago. Sin embargo, se han desarrollado diferentes métodos rápidos como la remoción mecánica o la remoción enzimática del mucílago. Por lo tanto, estos métodos son de elevado costo y usualmente están fuera del alcance de productores pequeños.

El equipo técnico del Centro Guatemalteco de Producción más Limpia (1994), centran principalmente en describir el proceso de beneficio del café en húmedo realizado en Centroamérica, indican proceso de desmucilado se puede realizar por medio de fermentación natural, enzimático (pectinasa), mecánicos. De la misma manera, describe la situación actual que vive el sector cafetalero, en donde muestra que las aguas residuales generadas por el proceso tienen generalmente alta carga orgánica y un pH ácido. En la mayoría de las operaciones del beneficiado húmedo se utiliza agua como medio o agente de transporte y clasificación, provocando su contaminación en menor o mayor grado. El trabajo presenta una tabla (observar Anexo 3, tabla No. 16 (pág. 59)), donde se muestran las operaciones en las que se utiliza agua y las principales características contaminantes de los efluentes.

Ponce y Pérez (2002), en su estudio se centra en el origen, la forma en que actúa y el uso en la industria de la enzima celulasa. La celulasa es una enzima hidrolítica que actúa en el rompimiento de los enlaces glicosídicos β -1,4 presentes en los polisacáridos celulosa y hemicelulosa, respectivamente. Las celulasas son de gran importancia en la industria debido a que tienen un enorme potencial para convertir la lignocelulosa en glucosa y azúcares solubles. Por último se refiere a cómo ha sido la enzima utilizada en la industria, la biotecnología empezó al principio de los años 80, primero en la alimentación animal seguida por aplicaciones en la industria de alimentos. Posteriormente esta enzima empezó a usarse en la industria de lavandería, textil y de la pulpa de papel. En las últimas dos décadas su uso se ha incrementado en forma considerable y actualmente representan cerca del 20% del mercado mundial de las enzimas. La enzima celulasa, se usa también en la industria alimentaria para la clarificación de jugos y vinos, remoción del mucílago del café, extracción de saborizantes, aceites de plantas y semillas, maceración de materia vegetal, acondicionamiento para aves y cerdos y en la industria de panificación, por mencionar algunas. En el trabajo indica que por la alta demanda de la enzima Celulasa en la industria se empiezan a buscar alternativas que permitan la obtención de la enzima en menor tiempo y con propiedades específicas para el proceso en el que será utilizado.

Ríos (2009), indica las características del café y del mucílago. Así como, el uso alternativo del mucílago de café como subproducto del proceso, como es la

generación de etanol. Uno de los objetivos principales del estudio fue la propuesta de un procedimiento adecuado que permita fijar las mejores condiciones de operación para la generación de etanol a partir del mucílago, así como buscar las condiciones adecuadas, tales como cantidad de levadura, tiempo de reacción, dilución y esterilización de la muestra. El proyecto plantea una solución ambientalmente favorable para un desecho industrial de gran demanda de oxígeno. Concluyendo que el proceso de desmucilación para mejores resultados debe realizarse inmediatamente después de la recolección del fruto. La conversión máxima alcanzada de etanol fue de 45% volumen de etanol por cada gramo de azúcar fermentable en la muestra (agua miel) a una temperatura de operación de 25°C y un pH de 4.3.

3. Resumen Crítico del Marco Teórico.

3.1. Café

3.1.1. Cultivo de café

Los cafetos son arbustos de las regiones tropicales, de hojas puntiagudas y de color verde oscuro y flores blancas. Los frutos, llamados cerezas, normalmente maduran en un plazo de 8 a 10 meses después de la floración. Cada fruto suele contener en su interior dos semillas, las cuales son los granos de café. En la figura No. 1 se muestra la anatomía y la morfología que presenta el cultivo del café (Hernández 1988).

Figura No. 1: Anatomía y Morfología del cultivo de cafeto



Fuente: Hernández (1988).

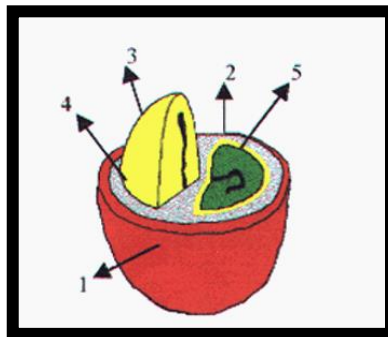
La cereza tiene en su interior los granos, la cual adquiere un color rojizo al momento que se encuentra en el punto de cosecha (Figura No. 2). La piel roja envuelve una pulpa carnosa, bajo la cual hay una sustancia gelatinosa y azucarada que es el mucílago; éste protege a su vez una cascarilla denominada pergamino, dentro de la cual están los granos envueltos por una película plateada. (Figura No. 3).

Figura No. 2: Cultivo de cafeto.



Fuente: Portal Oficial de Turismo (2007)

Figura No. 3: Estructura del fruto de cafeto.



1. Epicarpio o cáscara.
2. Mesocarpio o mucílago.
3. Endocarpio o pergamino
4. Espermodermo o película plateada.
5. Endospermo o grano limpio.

Fuente: La Pulpa del Café (1997)

3.1.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica es la siguiente (Anacafé, 2008):

- Reino: Vegetal
- División: Antófitas
- Sub-división: Angiospermas
- Clase: Dicotiledóneas
- Sub-Clase: Simpétalas
- Orden: Rubiales
- Familia: Rubiáceas
- Género: Coffea
- Especies: Arábica (café arábigo) y Canéphora (café robusta).

3.1.3. Origen del cultivo de Café (en el mundo y Guatemala)

El cultivo del café o cafeto, para ser más exacto, la especie arábica es originaria de África, Etiopía. El cafeto fue trasladado de África a Asia, específicamente a Yemen, a través del Mar Muerto y el Golfo de Adén. De Yemen se extendió el cultivo a la parte tropical de Arabia. Los árabes exportaban su café primero a Siria,

Persia (Irak), Turquía y por último a Europa. A inicios del Siglo XVIII, los holandeses llevaron el cafeto a los invernaderos del Jardín Botánico de Ámsterdam, en donde después fue distribuido al resto de Europa. Luego entre 1714-1719 los holandeses introdujeron el cafeto a América, por las Guyanas. Por otra parte, en la misma época, Francia llevaba el cafeto a sus colonias en las Antillas en 1723 (Hoy Reunión). (Anacafé, 1998)

En 1760, los padres Jesuitas fueron los que introdujeron el cultivo de café a Guatemala, quienes lo trajeron como planta ornamental para sus jardines de Antigua Guatemala. Luego se expandió a Jutiapa. A partir de 1860, surgieron en las fincas grandes dedicadas al cultivo de café en los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez, Suchitepéquez, Retalhuleu, Escuintla, Alta Verapaz y Quetzaltenango. En 1865, el café representó a Guatemala en la Exhibición Internacional de París. En 1871, el cultivo del café fue considerado ya un renglón principal en la economía del país y pasó a ocupar el primer lugar entre los productos de exportación. El 4 de noviembre de 1960, fue creada la Asociación Nacional de Café (ANACAFÉ). (Anacafé, 1998)

3.1.4. Especies y Variedades de Café en Guatemala

En Guatemala la especie que principalmente se cultiva es la *Coffea Arábica*, que es la especie más difundida en el mundo, del 70-90% de la producción de café a nivel mundial. A continuación se presentan las especies de café que se cultivan en Guatemala:

I. Typica:

Tiene la importancia histórica de ser la base del desarrollo de la caficultura en Guatemala y en la América tropical, donde predominó su cultivo hasta la década de los cincuenta, a partir de los cuarenta empezó a ser sustituida por el café Bourbon. También se le conoce como Café Árabe. Esta variedad de café tiene forma cónica, es un arbusto de aproximadamente 3.5 a 4 mts de altura. A partir de esta variedad se derivaron otras por mutación como el Pache Común (Guatemala) y Villalobos (Costa Rica). (Anacafé, 1998)

II. Bourbon:

Su mejor conformación y mayor floración le da una capacidad de producción de 20-30% superior a la especie Typica, con una calidad equivalente a la misma. El café Bourbon se ha cultivado en zonas medias y altas de 3,500 – 6,500 pies. Otras especies de café Bourbon son el Salvadoreño o Híbrido Salvadoreño y el Híbrido Tico o Montecristo. (Anacafé, 1998).

III. Caturra:

Esta especie fue descubierta en Brasil como una mutación de la especie Bourbon. En la década de los cuarenta fue introducida a Guatemala. Es una variedad de alta producción y buena calidad, que requiere de una buena fertilización. Es una especie que se adapta muy bien en las diferentes regiones del país, las condiciones óptimas para el desarrollo de la especie serían: (Anacafé, 1998).

- Costa Sur o Boca Costa: en altitudes 1,500-3,500 pies y con precipitaciones de 2500-3500mm anuales.
- Región Central: en altitudes 3,000-5,500 pies.
- Verapaces: en altitudes 2,500 – 3,500 pies.

IV. Catuaí:

Esta especie de cafeto es originaria de Brasil, nació del cruce de la especie Mundo Novo y Caturra. La introducción de esta especie en Guatemala se dio en 1970. Esta especie se adapta muy bien en rangos de altitud de: (Anacafé, 1998).

- Costa sur o Boca costa: en altitudes 2,000 – 4,500 pies.
- Región central y norte del país: en altitudes 3,500 pies.

V. Pache Común:

Esta especie es una mutación de la especie Typica encontrada en Santa Cruz Naranjo, Departamento de Santa Rosa, en el año de 1949. Las plantaciones de la especie Pache se establecieron principalmente, en la región de Oriente, donde las condiciones de crecimiento son las óptimas, pero también se cultiva muy bien en regiones de la Boca costa y Zacapa. El rango de altitud en la que se cultiva está entre 3,500-5,500 pies. (Anacafé, 1998).

VI. Pacamara:

Esta especie es originaria de El Salvador, la cual nació del cruce entre la especie Pacas y Maragogy. Se adapta bien en el rango de altitud de 3000 - 4,000 pies y precipitaciones pluviales de 2,500 – 3,000 mm. (Anacafé, 1998).

VII. Catimor:

Su nombre hace referencia a una gran cantidad de líneas descendientes del cruce entre especies realizado en Portugal en 1,959, entre el Timor (Resistente a la Roya) y Caturra. En general son muy precoces y productivos con rendimiento superior a otras variedades comerciales. Se adapta muy bien a regiones bajas y medias, en rangos de altitudes de

2,000 - 3,000 pies, con precipitaciones pluviales superiores a los 3,000 mm anuales. (Anacafé, 1998).

VIII. Mundo Novo:

Es una especie originaria de Brasil, la cual surgió como resultado de una hibridación (cruce de dos especies) natural entre Typica y Bourbon. Se adapta bien en las regiones del centro y oriente del país, en rangos de altitud de 3,500 a 5,500 pies y precipitaciones anuales de 1,200 - 1,800 mm. (Anacafé, 1998).

IX. Maragogype:

Esta especie surgió en Brasil por medio de una mutación de Typica. La calidad de taza de Maragogype es muy apreciada en los mercados especiales, aunque su productividad es muy baja. (Anacafé, 1998).

X. Robusta:

Especie que representa una variedad tipo de la especie *Coffea canephora*, la cual se cultiva principalmente en África y Asia. Esta especie se cultiva generalmente en altitudes de 1,500 – 2,500 pies. (Anacafé, 1998).

3.1.5. Proceso de obtención del grano de café.

A continuación, se presenta detalladamente el proceso productivo de obtención de café, en el Anexo 1 (pág.56) se presenta el diagrama de flujo del proceso.

I. Recepción de la cereza.

La recolección del fruto del cafeto consiste en recoger manualmente sólo los granos de café maduros en su punto (granos de cafeto que alcanzan el estado de madurez completa, normalmente de color rojo o amarillo). Es la técnica más costosa, que obliga a pasar durante días varias veces sin interrupción por el mismo arbusto pero que obtiene las mejores calidades de café. El despalillado consiste en raspar la rama de las cerezas. Este método puede ser mecanizado. Se recoge por esta técnica expeditiva una mezcla heterogénea de cerezas más o menos maduras, y es el origen de cafés más ácidos (debido a los frutos aún verdes), por esta razón hasta la fecha aún se sigue utilizando la técnica tradicional de recolección a mano. Al terminar la recolección es importante poseer un lugar apropiado para recibir el volumen total de la cosecha diaria ya que de esta forma se busca que se conserve sin fermentar hasta el inicio del despulpe.

II. Despulpado.

Este proceso consiste en la separación de la pulpa y la cáscara del grano de café, es decir que esta operación logra eliminar el epicarpio (cáscara) y parte del mesocarpio (mucílago). El proceso de despulpe es aconsejable realizarlo aproximadamente en un tiempo máximo de 8 a 12 horas después de la cosecha del café, para evitar la fermentación del grano.

III. Remoción de mucílago.

Después del proceso de despulpado, se realiza la eliminación del mucílago del café, la cual es una operación cuidadosa y su importancia radica en la operación del proceso de fermentación natural u otros medios para acelerar el proceso de fermentación (procesos enzimáticos, medios químicos, agua caliente, desmucilaginado mecánico), ya que una deficiente remoción de mucílago puede deteriorar la calidad del grano o crear retardos en las etapas siguientes del beneficio, causando reducción en la eficiencia.

IV. Lavado.

Este proceso tiene como objetivo separar los granos de café del pergamino, es decir ayuda a desechar el mucílago del grano. Esta fase del proceso de beneficio húmedo (beneficio húmedo convierte el café cereza en café pergamino), en el cual se utilizan volúmenes considerables de agua; que son aproximadamente son 6,000 lt por quintal de café, lo que representa un fuerte impacto negativo de las aguas de los arroyos y ríos. Este proceso requiere de un cuidado especial porque si los granos quedan rodeados de materia orgánica y microorganismos, éstos continúan su acción y originan las fases nocivas del proceso de fermentación del café puesto a secar, durante todo el tiempo en que la humedad sea suficiente para que puedan seguir viviendo.

V. Secado.

Este proceso consiste en reducir la humedad hasta llegar a un 12%, la cual es ideal para obtener café pergamino después del lavado. El sistema de secado más utilizado es el de patio, asoleadero o planilla. La operación consiste en exponer el café a los rayos directos del sol en una capa delgada de 5 cm y cada vez más gruesa mientras el proceso de secado transcurre. El tiempo del proceso de secado depende de la región del país donde se realiza el proceso, a continuación se presentan el tiempo de secado según la altitud de la región:

- Zonas bajas (hasta 600 mts.) 4-6 días
- Zonas medias (600-1,000 mts.) 6-8 días
- Zonas altas (más de 1,000 mts) 8-10 días

VI. Envasado.

3.2. Mucílago de Café.

El mucílago del café, posee de 0.5 a 2 mm de espesor y se encuentra fuertemente adherido a la cáscara del grano de café, es decir al pergamino. Las características físicas del mucílago, es un líquido coloidal, liofílico, siendo por lo tanto un hidrogel. Químicamente, el mucílago contiene agua, pectinas, azúcares y ácidos orgánicos. Tabla No. 1. (Ríos 2009).

Tabla No. 1
Composición química (%) del mucílago del fruto del café

Azúcares Insolubles (Pectinas, celulosa, betagluconasas, etc.)	80%
Azúcares solubles	20%

Fuente: Ríos (2009)

Al hablar del porcentaje que representa el mucílago del café en la cereza, se puede decir que el 11% del peso húmedo y alrededor del 4 - 5% del peso seco (tabla No. 2 y 3). El mucílago se obtiene como subproducto en el beneficiado del café, está localizado entre la pulpa y la cáscara del grano como ya se mencionó con anterioridad. (Ríos 2009).

Tabla No. 2
Fraccionamiento de los granos de café en seco

100 gramos de fruto de café	29% pulpa seca de café
	12% cascarilla de pergamino
	4% mucílago
	55% granos de café verde (grano oro)
	Al tostarlo puede perder hasta un 16% de peso en humedad

Fuente: Ríos (2009)

Tabla No. 3
Distribución porcentual de las estructuras principales del café en cereza (base
seca)

	Arábigos (%)	Bourbón (%)	Otras Mezclas (%)
Pulpa	26.5	29.6	28.7
Cascarilla	10.0	11.2	11.3
Mucílago	13.5	7.5	4.6
Fruto de café	50.0	51.7	55.4

Fuente: Ríos (2009)

El mucílago es importante eliminarlo durante el proceso del beneficiado del café, debido a que es considerado un residuo tóxico para el medio ambiente, debido a su contenido en ácidos orgánicos insolubles. Por esta razón, en los últimos años ha incrementado el interés por la utilización de este residuo para la obtención de productos de alto valor agregado, principalmente para la síntesis de etanol. (Ríos 2009).

La remoción del mucílago del café se puede realizar por fermentación natural del mismo, mecánicamente por medio de desmucilaginosos.

El proceso de remoción de mucílago por medio de fermentación natural tiene como finalidad la descomposición del mucílago que cubre el pergamino. Este mucílago una vez descompuesto, se disuelve en agua y se elimina por medio del agua de lavado.

El control del tiempo del proceso de remoción del mucílago es un factor sumamente determinante en la calidad final del grano, debido a que si existe una sobrefermentación, se producen daños en el grano de café dándole sabor y aroma a vinagre. Por lo tanto es importante considerar el tiempo de fermento, la cual puede durar de 12 a 18 horas, dependiendo de las siguientes variables: (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, s.f.)

- La temperatura del lugar: la temperatura es un factor de suma importancia en el proceso de fermentación, ya que se tiene una zona independiente de temperatura óptima en la cual se lleva a cabo la fermentación; a medida que se aleja de la temperatura óptima su actividad disminuye notablemente. Por lo tanto a medida que el proceso se aleja de la temperatura optima el tiempo de fermentación se hace más prolongado.
- La altura de la masa de café en el tanque: a mayor altura de la capa de café, es menor el tiempo de fermentación.
- El uso de agua: se recomienda la fermentación en seco ya que acelera el proceso y se debe permitir que las aguas mieles (Aguas residuales del proceso de despulpado y lavado del café, considerado como uno de los mayores contaminantes orgánicos en el sector cafetalero) salgan al exterior del tanque.
- El grado de madurez del café.
- La cantidad de mucílago en el grano.

Por ser el tiempo de fermentación factor definitivo en la calidad del café, como se mencionó con anterioridad, es necesario realizar muestreos periódicos del café en el tanque de fermento, para determinar el punto óptimo de lavado. (Federación Nacional de Cafetera de Colombia, s.f.)

La forma más práctica y fácil de determinar el tiempo final de la fermentación o punto de lavado del café, consiste en sacar una muestra de café del tanque y lavarlo con abundante agua. Luego se frota entre las manos y si se siente áspero y da un sonido de “cascajeo”, se debe iniciar el lavado de la masa de café, empleando agua limpia. Otra manera de determinar el punto de lavado es por medio del pH, durante el proceso de fermentación o degradación del mucílago a ácidos galacturónicos, ácidos orgánicos (principalmente ácido acético y láctico), azúcares reductores, alcohol; se produce una reducción del pH inicial desde un valor de 6.0 de los granos recién despulpados hasta un valor de 4.0 el cual indica el inicio del proceso de lavado. (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, s.f.; Del Panta, Lorenzo; Regio, Gabriele y Gil Pichacho, Dario; s.f.)

No se deben mezclar en un mismo tanque fermentador lotes de café despulpados en diferentes días. La mezcla de estos cafés causa el defecto sobre fermentación.

3.2.1. Usos Actuales de Mucílago de café.

El mucílago de café por su alto contenido de diferentes tipos de azúcares, es un subproducto del proceso ideal para la elaboración de bio-fertilizantes, los cuales pueden ser enriquecidos con minerales y pueden llegar a ser utilizados en los cultivos del propio café o del plátano. (Ríos 2009).

El mucílago de café es un excelente sustrato para el cultivo de hongos, bacterias y otros microorganismos benéficos y deseables para la recuperación de la calidad del suelo, es decir que ayuda a recuperar los recursos agotados en el suelo por el maltrato provocado por algunas de las prácticas utilizadas en la agricultura convencional.

Se han realizado investigaciones del uso de mucílago de café para la elaboración de alimento de animales, bebidas, vinagre, abono orgánico, fuente de biogás, cafeína, pectina, enzimas pécticas y proteína.

3.2.2. Contaminación por el mucílago de café en el beneficiado

Uno de los grandes problemas que se encuentran hoy en día es el reto de seguir produciendo y beneficiando café de muy buena calidad sin causar un impacto negativo con respecto al agua residual generada en el proceso.

La conciencia ambiental ha aumentado en el ámbito nacional e internacional y determina la obligación y compromiso de desarrollar tecnología apropiada que permita trabajar la demanda química de oxígeno (DQO) generada por tonelada de café procesado en el beneficiado húmedo convencional. El beneficiado húmedo de un kilogramo de café verde provoca, mediante la generación de las aguas de lavado y de proceso de despulpado, una contaminación equivalente a la generada por 5.6 personas adultas por día. (Ríos 2009).

La contaminación generada por el lavado del café en la fermentación natural para la remoción de mucílago, es de 30 gramos de demanda química de oxígeno (DQO) por kg de café cereza estableciendo un gasto aproximado de 4.2 litros de agua por kg de café cereza lavado, lo cual representa el 26% de la contaminación potencial generada por el beneficio húmedo del café. (Rios, 2009).

Los estudios muestran que la concentración de DQO de las aguas del fermento del café se encuentra entre 7,000 y 12,000 mg/l, con un pH de 3.8. Para tener un parámetro de comparación, un agua negra urbana tiene generalmente entre 500 a 1,000 mg/l de DQO. En el portal de Soluciones Ambientales S.A. de C.V., en el artículo “Tratamiento biológico de la pulpa de café” (2007), describe que en ocasiones en una cuenca hidrológica vierten sus aguas varias agroindustrias o una sucesión de fincas cafetaleras y que en el mismo río se pueden juntar también las aguas negras de las localidades cercanas. La importancia de tratar las aguas de los beneficios radica en que la oxidación de la materia orgánica contenida en el agua se efectúa por medio de la microflora de bacterias que se alimentan de la materia orgánica consumiendo el oxígeno disuelto en el agua. En caso de descargas importantes de materia orgánica como es el caso del vertido del agua de fermentación, se agota rápidamente el oxígeno y se destruye por asfixia la fauna y flora acuática. (Ríos 2009).

3.3. Enzimas

“Las enzimas son catalizadores solubles, de naturaleza orgánica y estado coloidal, elaborados por las células vivas, pero actúan independientemente de estas. Tiene poder catalítico específico y se destruyen por el calor a 100°C”. (Thorpe, Bray, James, 1976)

Una enzima es una proteína que se combina con uno o más compuestos de forma que al reaccionar específicamente aumenta la velocidad de reacción que lo haría sin la enzima, por lo tanto las enzimas son proteínas construidas para catalizar reacciones con otros compuestos.

Las enzimas son como las demás proteínas, se componen de los mismos 20 aminoácidos y adoptan formas características fijadas por la secuencia de aminoácidos, tienen estructura primaria y se pliegan en una configuración particular de manera que sus grupos reactivos están dispuestos del modo apropiado para dar al conjunto de actividades biológicas. (McGilvery, 1977)

Los grupos reactivos de una enzima tienen dos funciones:

- La primera función es unir los compuestos particulares en proximidad al sitio donde tiene lugar la catálisis; la enzima tiene así especificidad para un

cierto número de compuestos. Algunas enzimas son tan específicas que solamente catalizan la reacción de uno o dos compuestos fisiológicos. Los compuestos que se unen de forma adecuada, se dice son sustratos de la enzima. La especificidad se produce a partir de orientaciones espaciales complementarias entre sustrato y enzima. (McGilvery, 1977)

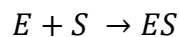
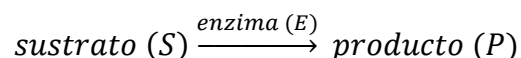
- La segunda función de los grupos reactivos de la enzima es realizar mecanismos catalíticos. Esto lleva consigo un cambio en la conformación del complejo enzima- sustrato que debilita los enlaces del sustrato logrando configuraciones más reactivas. La enzima también aporta grupos catalíticos convencionales del tipo que se ven en otras reacciones orgánicas (ácidos en general, bases en general y centros nucleofílicos), pero además la enzima tiene la ventaja de tener los grupos químicos cercanos al sustrato respectivo, según un espaciado adecuado. (McGilvery, 1977).

3.3.1. Especificidad de las enzimas

Los grupos reactivos de las enzimas están espaciados según posiciones muy definidas y así esta especificidad geométrica permite un alto grado de control sobre el proceso catalítico comparado con otros catalizadores ordinarios.

- Unión Enzima-Sustrato: los compuestos cuyas reacciones se catalizan por enzimas, se denominan sustratos, es decir que “El sustrato es la sustancia sobre la cual actúa la enzima” (Thorpe, Bray, James, 1976).

La formación del complejo enzima sustrato es el primer paso de las reacciones enzimáticas. Un sustrato se une casi siempre por interacción no covalente, a una porción pequeña de la enzima llamada sitio activo.



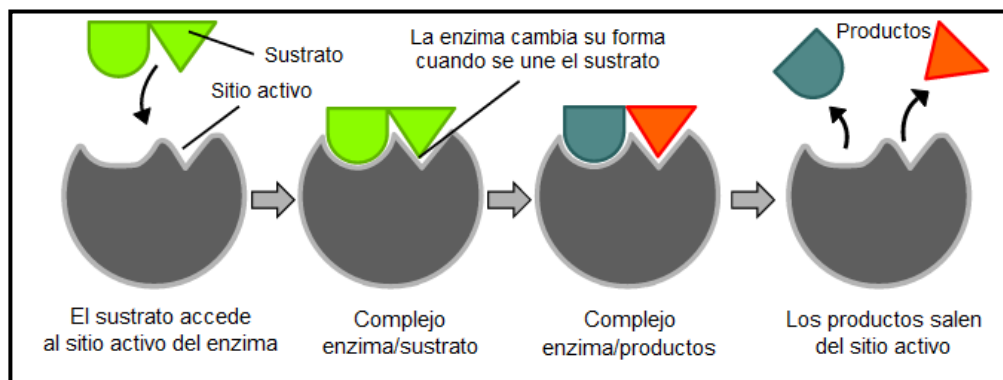
La reacción catalizada se lleva a cabo en el sitio activo, por lo regular se realiza en varios pasos. El primer paso es la unión del sustrato a la enzima, la cual se da gracias a la interacción altamente específica entre sustrato y las cadenas laterales y grupos de esqueleto de los aminoácidos que constituyen el sitio activo. Existen dos modelos importantes para describir el proceso de unión.

- Modelo de cerradura o llave: la cual supone un alto grado de semejanza entre la forma del sustrato y la geometría del sitio de unión en la enzima.

- Modelo de ajuste inducido: este modelo toma en cuenta el hecho de que las proteínas poseen cierta flexibilidad tridimensional. La unión del sustrato induce un cambio de conformación en el sitio activo de la enzima cuyo resultado es un cambio conformacional que da lugar a la formación del producto.

La enzima y el sustrato se deben unir para formar el complejo ES (enzima-sustrato), una vez que el sustrato queda unido y se forma el estado de transición, ya puede haber catálisis. Esto implica un reacomodo de enlaces. En el estado de transición, el sustrato se coloca en orientación correcta respecto a los átomos que intervienen en dichos enlaces. Después de que se rompen unos enlaces y se forman otros, el sustrato se transforma en producto, el cual se separa de la enzima. Este proceso se puede ver resumido en la figura No. 4 (Campbell, Farrell. 2004).

Figura No. 4: Formación del complejo enzima sustrato, seguido de la liberación del producto.



Fuente: Dyadic (2010)

Puesto que los grupos de la enzima que forman los enlaces están fijos en el espacio del sitio activo, resulta que la enzima debe estar construida para reaccionar con un sustrato en particular; su especificidad geométrica determina la especificidad de sustrato. Una enzima, o bien puede ser altamente específico, con grupos reactivos, que encajan en uno o muy pocos compuestos estrechamente relaciones, o puede tener una especificidad amplia, catalizando las transformaciones de una amplia variedad de compuestos que contengan un grupo análogo en una parte de su molécula. (McGilvery, 1977).

3.3.2. Clases de Enzimas

El nombre de la mayor parte de las enzimas se nombran añadiendo el sufijo “asa” a la parte principal del nombre del sustrato sobre el cual actúan. Por ejemplo:

- Las amilasas actúan sobre el almidón.
- Las carbohidrasas actúan sobre los carbohidratos.
- La lactasa actúan sobre la lactosa.
- Las proteasas actúan sobre las proteínas.

Por mencionar algunas, pero existen unas pocas enzimas, como la tripsina y la amilasa, que se conocen por sus nombres históricos.

Las enzimas suelen clasificarse en función de la reacción que cataliza. Esta clasificación mantiene el esquema dado por el comité de la “Unión Internacional de Bioquímica Y Biología Molecular (IUBMB), el esquema de clasificación asigna un número único, llamado número de clasificación de la enzima, o número EC (de enzyme classification) para cada enzima. La clasificación de las enzimas se muestra a continuación:

- I. Óxido-reductuasa: “Estas enzimas catalizan reacciones de oxidación-reducción, y pueden agruparse de distintas maneras, la mayor parte de este tipo de enzima se les llama, en general deshidrogenadas” (Horton, H. Robert, coaut.; 2008). La más sencilla es dividirla en tres grupos diferentes:
 - Oxidasas: estas enzimas utilizan oxígeno como aceptor de hidrógenos. Como por ejemplo la tirosina, citocromo-oxidasa, uricasa.
 - Deshidrogenasas: estas enzimas utilizan otras sustancias como aceptor de hidrógenos, pueden utilizar oxígeno. Como por ejemplo deshidrogenasas málicas, succínicas y lácticas.
 - Hidroperoxidasas: utilizan como sustrato el peróxido de hidrógeno. Como por ejemplo las peroxidasas y catalasas.
- II. Enzimas de transferencia (Transferasas): Estas enzimas catalizan la transferencia de un grupo o radical de una molécula (A) a otra molécula (B) y pueden necesitar la presencia de coenzima (Horton, H. Robert, coaut.; 2008):
$$BAR + B \leftrightarrow A + BR$$
- III. Hidrolasas: Catalizan hidrólisis. Es una clase especial de transferencia donde el agua sirve como aceptor del grupo transferido (Horton, H. Robert, coaut.; 2008).

- IV. Liasas: Catalizan la lisis de un sustrato, en general un enlace doble; son reacciones de eliminación, no hidrolíticas y no oxidantes. En dirección inversa, las liasas catalizan la adición de un sustrato a un doble enlace de un segundo sustrato. Una liasas que cataliza una reacción de adición en las células es frecuentemente llamada sintasa (Horton, H. Robert, coaut.; 2008).
- V. Isomerasas: Catalizan cambios estructurales dentro de una misma molécula (reacción de isomerización). “Como esta reacción solo tiene un sustrato y un producto son de las reacciones más simples” (Horton, H. Robert, coaut.; 2008).
- VI. Ligasas: Catalizan la ligadura o unión de dos sustratos. Estas reacciones necesitan un suministro de energía potencial química de un nucleósido trifosfato, como el ATP. “Las ligasas son usualmente llamadas sintetetasas”. (Horton, H. Robert, coaut.; 2008).

3.3.3. Condiciones para la acción de las enzimas

La eficiencia y eficacia con que una enzima actúa sobre el sustrato se halla influida por varios factores, los cuales se describen a continuación:

- I. Contacto entre enzima y sustrato: las moléculas de enzima y sustrato deben de estar en contacto directo para que se lleve a cabo la formación del complejo enzima-sustrato el cual es un compuesto intermedio del proceso. (Thorpe, 1976). Es de suma importancia que la enzima y el sustrato se mezclen bien para que se produzca con eficiencia y eficacia la acción enzimática, este acto no resulta difícil cuando se trata de sustratos solubles.
- II. Concentración de la enzima y sustrato: la cantidad de enzima presente no determina el equilibrio final de la reacción que cataliza; si determina en cambio, el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio de reacción (Thorpe, 1976). La velocidad de la acción enzimática se halla también influida por la concentración del sustrato. Para una cantidad dada de enzima, la velocidad de reacción se vuelve constante.
- III. Temperatura: “La velocidad de una reacción química suele duplicarse o triplicarse aproximadamente, cada 10°C de aumento de temperatura. Esta regla no es válida para las enzimas” (Thorpe, 1976). Un aumento en la

temperatura acelera una reacción enzimática, pero al mismo tiempo incrementa la inactivación de la enzima, por desnaturalización proteínica.

La temperatura que logra equilibrar la reacción se denomina “temperatura óptima” y para la mayoría de enzimas se halla en el rango de los 37°C. La exposición de las enzimas a temperatura de 60°C suele inactivarlas, y la ebullición a 100°C las destruye. (Thorpe, 1976).

Si disminuye la temperatura se reduce la velocidad de reacción enzimática. A 0°C la mayor parte de las enzimas son prácticamente inactivas.

- IV. Concentración de hidrogeniones: Las enzimas son sensibles a las condiciones de pH del medio en que se encuentran. Una pequeña variación de pH puede inhibir su acción. (Thorpe, 1976). Es importante determinar el pH óptimo de reacción, debido a que radica la posibilidad de control de la reacción mediante un ajuste de pH. Es decir que el pH puede determinar el estado de los grupos activos ionizables, y por ello, su disponibilidad para la unión con el sustrato. El pH puede llegar a influir también en el estado de ionización del sustrato o en la estabilidad del complejo enzima-sustrato. (Thorpe, 1976).
- V. Coenzimas y Activadores: Algunas enzimas trabajan solo de modo eficiente si se halla también presente otra sustancia específica. Esta, puede ser un ion inorgánico o un compuesto orgánico, los cuales se denominan activadores o coenzimas. (Thorpe, 1976).
 - a. Activadores: Sustancias que aumentan específicamente la actividad de una enzima completa. En ausencia de activadores, la enzima puede mostrarse inactiva o lenta. Los activadores suelen ser iones inorgánicos, pero se conocen también como activadores orgánicos, entre estos se encuentran; el Cl^- , el Mg^{+2} y el Ca^{+2} . (Thorpe, 1976).
 - b. Coenzimas: es un conjunto diverso de compuestos orgánicos, muchos de los cuales son vitaminas o están relacionadas metabólicamente con las vitaminas. Entre las cuales se puede mencionar riboflavina, la tiamina y el ácido fólico (Campbell, Farrell, 2004).
- VI. Inhibidores: son compuestos que se unen a una enzima e interfieren con su actividad catalítica al impedir ya sea la formación del complejo enzima-sustrato (ES) o su conversión en enzima producto (E + P). (Horton, H. Robert, coaut.; 2008). Existen varios tipos de inhibición los cuales son:

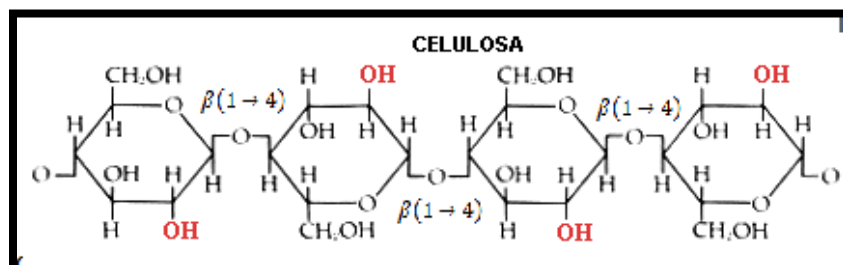
- Inhibición competitiva: Inhibición reversible de una reacción catalizada por una enzima mediante un inhibidor que impide la unión del sustrato.
- Inhibición no competitiva: Inhibición de una reacción catalizada por enzima mediante un inhibidor reversible que se une solo al complejo enzima-sustrato (ES), no a la enzima libre.
- inhibición acompetitiva: Inhibición de una reacción catalizada por una enzima el inhibidor no puede unirse a la enzima libre, sino únicamente al complejo enzima-sustrato (ES). Una vez formado el complejo con el inhibidor (EIS) la enzima queda inactiva.
- inhibición mixta: el inhibidor se puede unir a la enzima al mismo tiempo que el sustrato. Sin embargo, la unión del inhibidor afecta la unión del sustrato, y viceversa. (Campbell, Mary K; Farrell, Shawn O. 2004).

3.4. Celulasas

Celulasas y hemicelulasas son un grupo de enzimas que tiene un sin número de aplicaciones en productos industriales. El término “celulasas” describe las enzimas naturales que degradan polímeros de celulosa.

“La celulosa es un homopolisacárido lineal de la β -D-Glucosa, y todos los residuos están unidos por enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ glucosídicos. (Figura No. 5) Las cadenas individuales de polisacáridos están unidas por puentes de hidrógeno. (Campbell, Farrell. 2004).

Figura No. 5: Modelo molecular de la celulosa, unidos por puentes de hidrogeno.



Fuente: Hipertextos del Área de Biología (2015)

La diferencia entre la celulosa y el almidón radica en sus enlaces, ya que el almidón está unido por $\alpha(1 \rightarrow 4)$, lo cual determina la diferencia de las propiedades macroscópicas de estos dos polímeros naturales. El Almidón cumple con la propiedad de almacenamiento de energía en forma de glucosa y, en consecuencia, utilizados por los seres humanos

como ingrediente alimenticio, mientras que la celulosa son polímeros estructurales, que se utiliza para la producción de papel y textiles. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

Las Celulasas pueden dividirse en tres grupos distintos:

- Los endo-1,4- β -glucanasas, los cuales catalizan la rotura hidrolítica dentro de los polímeros de celulosa;
- el exo-1,4- β –glucanasas, que atacan el polímero de los extremos,
- Beta-Glucosidasas: Cortan la celobiosa y otros oligosacáridos para producir glucosa.

Celulasas se encuentran en los hongos y bacterias. Estas enzimas se encuentran en los hongos *AspérgillusTrichoderma* generalmente pero también en menor proporción las enzimas bacterianas. Esta enzima también puede ser utilizada como una enzima multicomponentes, que contienen todas las enzimas tipos y se encuentran en *Trichodermareesei* (*JecorinaHypocrea*), o como un solo componente producto de la enzima, que consta de uno solo de los tres tipos de enzimas. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

El multicomponente preparado enzimático puede producir a partir de celulosa seleccionado sobreproducción de cepa del organismo de tipo salvaje, mientras que el monocomponentecelulasas se produce principalmente en sistemas de producción recombinante. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

Las Hemicelulasas degradan carbohidratos o mezclados polímeros, que no contienen glucosa o otros monómeros de glucosa. Las Hemicelulosas degradan como por ejemplo xilano, pectinas o glucomanano, son parte de muchos materiales naturales de origen vegetal y se utilizan en muchas aplicaciones. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

El uso de celulasas para convertir la biomasa de residuos en azúcares fermentables ha sido el objeto de intensa investigación en los últimos años. Un componente de costo significativo en el proceso general para descomponer la biomasa celulósica ha sido el costo de la enzima celulasa necesario para llevar a cabo el proceso. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

Tanto como 100 veces más proteína nativa celulasa (en comparación con proteína de la amilasa de la degradación de almidón) se necesarios para la conversión de sustrato pretratados (Por ejemplo, rastrojo de maíz) en azúcares fermentables. Dado el costo relativamente alto de las enzimas y la cantidad necesaria para producir las azúcares fermentables, el proceso no ha sido viable. Además, el tratamiento previo de celulósico biomasa, celulosa para la

puesta a disposición la hidrólisis enzimática, ha sido un importante desafío. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

Muchos métodos han sido investigados; todos sufren por el gran capital de inversión, debido a las condiciones extremas del proceso. Una serie de avances se han hecho importantes hacia la reducción del costo de las enzimas en producción de etanol de maíz pretratados rastrojo, principalmente a través de programas administrados por la Energía Renovable Nacional (NREL). Estas mejoras han venido de la reducción del costo de producir las enzimas, mejorando la mezcla de enzimas. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

Se prevé que los procesos enzimáticos los costos de hidrólisis se reducirán aún más por una mejora continua en las enzimas como así como nuevos procesos que utilizan elevadas temperaturas y más efectivo tratamiento previo procesos.

Una de las estrategias para reducir al mínimo los costos de producción de etanol es ejecutar sacarificaciones simultáneas y la fermentación, o SSF, que utilizar ethanólógens diseñado para operar en ambientes de alta temperatura. Además, el organismo de fermentación de la capacidad de utilizar C5 azúcares derivados del componente de la hemicelulosa, y tienen productividades aceptables en la presencia de numerosos subproductos del proceso de pretratamiento de biomasa, llevaría a menor costo total de producción. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

3.4.1. Uso en la industria de la enzima Celulasa.

El principal uso de celulasas es en la industria textil, papel, y las industrias de detergentes.

La aplicación en la industria textil de las enzimas celulasas, es cambiar la apariencia de la tela. Ya que por procesos enzimáticos, remoción de las fibras de celulosa en la superficie, en el proceso de la llamada piedra de lavar pantalones de mezclilla, lo que les da el aspecto envejecido. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

En la industria del papel, se utilizan las enzimas celulasas para aumentar la eficiencia del proceso de fabricación de papel por el ahorro energía o permitiendo mayor velocidad de la máquina. Las propiedades del papel también pueden ser influenciadas por el uso de celulosa. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

Como ingredientes de los detergentes, la enzima celulasa ayuda en el proceso de limpieza y puede mantener la apariencia de nueva a los tejidos lavados mediante la eliminación de pastillas o micro fibrillas de la

superficie de las prendas a base de celulosa. (McAuliffe; Aehle; White; Ward. 2007).

3.5. Cellulase plus # 407

CELLULASE PLUS # 407 Es una enzima obtenida por medio de la fermentación de *Trichoderma longibrachiatum*. Este es un producto inofensivo, de grado alimenticio y certificado como Kosher (Sistema de control de calidad alimenticia, según las normas judías). Tiene un amplio rango de utilidad en procesos de la industria de alimentos tales como panadería, obtención de gluten, fermentación de alcohol, y alimentación animal.

Su alto nivel de celulasa y gluconasa, permite romper las grandes cadenas de polisacáridos, incluyendo la celulosa y β -glucanatos (polisacáridos de monómeros D-glucosa ligados con enlaces glucosídicos) en los granos de café, las paredes celulares de las frutas, granos de destilación, aceites, etc. (Ver hoja técnica de la CELLULASE PLUS # 407 en el Anexo 2 (pág. 57)).

La aplicación principal en el beneficiado húmedo corresponde en el proceso de desmucilaginado del grano. Reduciendo los tiempos de este proceso, mejorando la calidad del grano y mejorando el impacto ambiental de los efluentes de beneficiado.

4. Planteamiento del Problema

El café guatemalteco ocupa en la actualidad el séptimo lugar de producción a nivel mundial, representando el 4% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional en el año 2014 (Anacafé, 2015). Debido a que el café cumple con un papel muy significativo en la economía, es importante contar con un beneficiado óptimo para obtener un grano con altos estándares de calidad, este proceso debe de ser eficiente, eficaz y amigable con el ambiente.

El proceso de beneficio de café, consiste en obtener un café pergamino completamente seco partiendo del fruto de café tipo cereza. La cereza está compuesta de diferentes capas, de las cuales una de ellas es Mucílago, representando entre el 13.5 al 22% de la estructura principal de café.

En un Beneficio de café el proceso de desmucilación cumple un papel muy importante ya que define la calidad final del grano, debido a que al contar con un grano libre de mucílago facilita el secado del mismo y al contrario al permanecer el mucílago un tiempo prolongado adherido al grano los azúcares que lo componen pueden llegar a la sobre fermentación y así generar productos de baja calidad dañando el grano con un sabor y aroma a vinagre.

Actualmente en la industria existen diferentes métodos de desmucilación, entre los cuales se encuentran el Método de Fermentación Natural, Mecánico y Enzimático. Debido a la alta demanda del producto, el tiempo de proceso cumple con un papel muy importante en un Beneficiado, por esta razón se ha incrementado el desarrollo de métodos químicos y enzimáticos. Pero es importante mencionar que en la actualidad los métodos de desmucilación más usados son por medio de Fermentación Natural y Mecánica.

En Guatemala el método de fermentación Enzimático se ha usado con el objetivo de disminuir el tiempo de operación utilizando un producto denominado "Demucil", obteniendo tiempos de producción de 20 min. Aunque el tiempo disminuyó muy considerablemente este método fue abandonado debido a que ocasionó problemas en la integridad física del personal que laboraba con dicha enzima y al alto costo que implicaba (Anacafé, 2015).

Debido a lo mencionado anteriormente es importante corregir la mala imagen con la que se cuenta el proceso enzimático en las diferentes fincas del país, recomendando un proceso enzimático, utilizando la Celulasa como catalizador de la reacción, obteniendo un producto de alta calidad, disminuyendo el tiempo de producción y amigable con el ambiente.

Para llevar a cabo el experimento se utilizó café tipo Arábigo, proveniente de la Finca Las Viñas (Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa), este tipo de café cuenta con 99% de las exportaciones en Guatemala.

La enzima Celulasa, tiene diferentes aplicaciones en la industria, como por ejemplo en la industria textil y alimenticia. Contando con certificación Kosher, haciendo un producto de alta calidad. Cumpliendo con el objetivo de degradar por medio de hidrólisis los azúcares que componen el mucílago, reduciendo los tiempos de operación, cuidando la calidad del grano (debido que es un proceso controlado) y reduciendo la carga contaminante del efluente.

Es por esto que se plantea la siguiente interrogante: ¿Es posible implementar el método enzimático, utilizando celulasa, para el proceso de desmucilación de café, reduciendo el tiempo de operación sin poner en riesgo la integridad del grano?

4.1. Objetivos

4.1.1. Objetivo General

Remover el mucílago del café por medio de procesos enzimáticos utilizando Celulasa.

4.1.2. Objetivos Específicos

1. Disminuir los tiempos de operación del proceso de remoción del mucílago de café por medio de procesos enzimáticos.
2. Propiciar la reutilización de agua residual de lavado, generada en el proceso de remoción de mucílago de café.
3. Analizar el comportamiento de la enzima Celulasa en el proceso de desmucilación del café a tres diferentes temperaturas, simulando las diferentes ubicaciones de los beneficios de café en Guatemala.
4. Analizar el comportamiento de la enzima Celulasa en el proceso de desmucilación del café a tres diferentes concentraciones.

4.2. Variables

4.2.1. Variable Independiente

- Temperatura (Remoción de Mucílago de Café).
- Concentración de enzima Celulasa adicionada.
- Concentración de azúcares insolubles presentes en el mucílago de café.

- Volumen utilizado de Agua (H₂O) para el proceso de desmucilación.

4.2.2. Variable Dependiente

- pH.
- Concentración de mucílago de café removido.
- Tiempo total del proceso de remoción de mucílago de café.

4.3. Definición de las variables

4.3.1. Independientes

- **Temperatura**

Definición Conceptual: “propiedad física que determina el sentido de flujo de calor en un objeto que está en contacto con otro objeto” (Kotz; Treichel, 2003). La temperatura es una magnitud escalar relacionada con la energía interna de un sistema termodinámico, más específicamente está relacionada con la parte de la energía interna conocida como energía sensible. “La temperatura se mide comúnmente con los termómetros de líquido en capilares de vidrio, en donde el líquido se expande cuando se calienta. Así un tubo uniforme, parcialmente lleno de mercurio, alcohol o algún otro fluido, puede indicar el grado de “calentamiento” por la longitud de la columna de fluido. De cualquier modo se asignan valores numéricos al grado de calentamiento mediante una definición arbitraria”. (Smith Van Ness, 2004).

Definición Operacional: la temperatura de operación que se utiliza para la hidrolización del mucílago afecta directamente el tiempo de reacción de la enzima Celulasa. Para la remoción de mucílago del café por medio del proceso enzimático, se utilizaron tres diferentes temperatura de operación de la enzima (12, 24 y 35°C), simulando las diferentes regiones en las que se encuentran los beneficios en Guatemala.

- **Concentración de enzima Celulasa adicionada.**

Definición Conceptual: “las enzimas son los catalizadores de naturaleza proteínica de la biosfera” (Conn; Bruening, 1998). La concentración de la enzima catalasa es la proporción en peso total de pulpa a hidrolizar que se agregará para llevar a cabo la reacción.

Definición Operacional: la concentración de la enzima Celulasa está determinada directamente por la temperatura de reacción y el tiempo deseado para la reacción de desmucilación. La concentración de enzima utilizada en el proceso fue en las tres pruebas realizadas de

500ppm (500g/ton café despulpado o húmedo), siguiendo las especificaciones del fabricante.

Se realizaron dos corridas a 24°C, utilizando el doble y la mitad de la concentración de la enzima Celulasa.

- **Concentración Azúcares Insolubles presentes en el mucílago de café.**

Definición Conceptual: los Azúcares Insolubles son azúcares insolubles, que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar con otras especies (McMurry, 2004).

Definición Operacional: los Azúcares Insolubles (celulosa, pectinas principalmente) son las más comúnmente hidrolizables por la enzima celulasa. La concentración inicial de polisacáridos insolubles varió según el café a utilizar, por lo tanto se definió que la concentración inicial de Polisacáridos Insolubles en la muestra fue del 80% del peso del café (1.81gr.), esta variable fue disminuyendo en el transcurso de la reacción de hidrólisis de los azúcares Insolubles.

- **Volumen utilizado de Agua (H₂O) para el proceso de desmucilación.**

Definición Conceptual: el agua interviene en prácticamente todas las reacciones químicas. Su naturaleza se compone de tres átomos, dos de hidrogeno y uno de oxigeno que unidos entre sí forman una molécula de agua (H₂O). La geometría de la molécula de agua y sus propiedades la hacen considerarse el disolvente universal. (Campbell; Farrell, 2004).

Definición Operacional: el agua en el proceso principalmente se utilizó para el lavado del grano de café y así remover el mucílago del mismo. El agua en el proceso de desmucilación vario según el método utilizado; para Fermentación Natural 200 ml de agua y para el proceso enzimático 10 ml de agua (1 Lt de agua por 500 ppm de enzima).

Adicional para el lavado se utilizó un volumen de 2L de agua para media libra de café húmedo en el proceso.

4.3.2. Dependientes

- **pH**

Definición Conceptual: el pH es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] presentes en determinadas sustancias. (Kotz; Treichel, 2003).

Definición Operacional: indicador de la ausencia del mucílago del café en el grano, pH inicial de 6 y final de 4.

- **Concentración de Azúcares Reductores (Mucílago de café removido)**

Definición Conceptual: el mucílago es una capa de aproximadamente 0,5 a 2 mm de espesor que está fuertemente adherida a la cáscara del grano de café. (Ríos, 2009).

Definición Operacional: esta fue sin duda la variable más importante, de está dependió la factibilidad del proyecto, midiendo si es posible la remoción de mucílago bajo procesos enzimáticos. Esta variable se determinó por medio del porcentaje de azúcares reductores presentes en el agua de lavado (40%- 45% en fermentación natural y mayor de 45% por medio de proceso enzimáticos).

- **Tiempo total del proceso de remoción de mucílago de café.**

Definición Conceptual: el tiempo es la magnitud física con la que medimos la duración o separación de acontecimientos sujetos a un cambio. (Tippens, 1999).

Definición Operacional: fue variable importante, determinó la disminución de los tiempos de operación comparado con el tiempo de operación utilizando el método tradicional (Fermentación Natural).

4.4. Alcances y Límites

4.4.1. Alcances

En este trabajo de graduación se centró en el análisis del proceso de remoción del mucílago de café de la variedad Arábica por medio de procesos enzimáticos, mediante la utilización de Celulasa como catalizador de la reacción de hidrólisis de los azúcares insolubles.

La investigación abarcó pruebas a nivel laboratorio del proceso de desmucilación, se realizaron tres experimentos para remover el mucílago del café utilizando la enzima Celulasa, evaluando tres diferentes temperaturas (12, 24 y 35°C) con el fin de simular las condiciones a las que se encuentran localizados los beneficios en Guatemala, para lo cual se mantuvo constante la concentración de enzima (500ppm por libra de café húmedo (café con mucílago)) con el fin de determinar el tiempo de reacción de la enzima bajo la temperatura de operación.

4.4.2. Límites

El estudio se basó en la investigación del uso de procesos enzimáticos para la remoción del mucílago del café, el enfoque realizado se basó en el rendimiento del uso de la enzima Celulasa en el proceso, la calidad de la reacción de hidrolización y los beneficios en el ámbito ambiental obtenidos al utilizar este método. Los resultados obtenidos son propuestas para la implementación del proceso a nivel industrial.

En el transcurso de la investigación se determinó que la muestra de café a utilizar fue únicamente de media libra por corrida, debido a que la degradación de fruto fue un factor de suma importancia en el proceso de desmucilación.

Una variable que se debió considerar para determinar la eficacia del proceso es la Demanda Química de Oxígeno (DQO). Debido al costo que implicaba realizar esta prueba en un laboratorio externo a la Universidad Rafael Landívar únicamente se realizó el análisis de los azúcares presentes en el agua de lavado de la muestra.

El estudio se centró únicamente a pruebas nivel laboratorio para ver la eficiencia y eficacia del proceso de remoción del mucílago de café.

Por último, cabe mencionar que el presente estudio es de naturaleza investigativa por lo que no se enfatizó en ningún análisis de factibilidad económica.

4.5. Aporte

El principal aporte fue a la industria cafetalera de Guatemala, al presentar un proceso enzimático de remoción del mucílago, por medio de la utilización de la Celulasa, cuidando la calidad del grano de café, reduciendo tiempos de producción, carga contaminante en el efluente de lavado, sin afectar la demanda, el precio de productos y el prestigio del café guatemalteco a nivel nacional e internacional.

A la Universidad Rafael Landívar, con un estudio de Tesis en la rama de Ingeniería Química, que brinda los lineamientos para el diseño experimental y el desarrollo de un proceso amigable con el ambiente sin poner en riesgo la calidad del grano de café, para la remoción del mucílago del mismo.

A los estudiantes de Ingeniería Química como un documento de referencia para los trabajos de investigación que deban realizar.

5. Sujetos y Unidades Análisis




5.1. Unidades de Análisis.






La unidad de análisis fue el mucílago obtenido del café tipo cereza. La variedad del café utilizado es arábica, específicamente del tipo Bourbon, la cual fue obtenida de la Finca Las Viñas, localizada en el Pueblo Nuevo Viñas, departamento de Santa Rosa.






5.2. Instrumentos




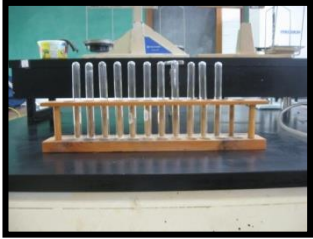
Los instrumentos y equipo utilizados se muestran en la siguiente tabla No. 4

Tabla No. 4
Instrumentos y equipos utilizados.

Cantidad	Instrumento / Equipo	Descripción.	Uso
2	Probeta 	<ul style="list-style-type: none"> - De plástico de 500 ml y de 50 ml (para la titulación). - Incertidumbre de ± 0.05 ml 	Medición de volumen de agua (H_2O) utilizada para agua de lavado. Y agua como medio de dilución de la enzima. Así como también para realizar las soluciones que forman el reactivo de Fehling.
1	Beacker 	<ul style="list-style-type: none"> - De vidrio de 500 ml. - Incertidumbre; ± 0.05 ml. 	Utilizado como reactor para la reacción de hidrolización de los azúcares presentes en el mucílago de café.
2	Erlenmeyer 	<ul style="list-style-type: none"> - Erlenmeyer de vidrio de 200ml. - Incertidumbre: ± 0.05 ml 	Utilizado como reactor para llevar a cabo la titulación mediante el reactivo de Fehling.

1	<p>Varrila de Vidrio</p> 	De vidrio	Utilizada para mezclar la enzima y el café.
1	<p>Termómetro de mercurio</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - De vidrio de escala de 0 a 100°C - Incertidumbre: $\pm 0.005^{\circ}\text{C}$ 	Utilizado para corroborar las temperaturas a las que se realizó la remoción de mucílago del café (12, 24 y 35°C)
1	<p>Cronómetro</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Cronómetro digital DM-001. - Cronometro de 23 h, 59 min y 59 seg. - Precisión de 1/100 seg. (± 0.005 seg) 	Toma mediciones en el tiempo correspondiente.
1	<p>Incubadora</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Marca Precisión. - Capacidad: <ul style="list-style-type: none"> - temperatura: 5 a 65°C. - 115 Vols - 100 Watts - pH: 1 - Incertidumbre: $\pm 0.005^{\circ}\text{C}$ 	Utilizada para mantener la temperatura de operación de desmucilación ($35 \pm 0.01^{\circ}\text{C}$)
1	<p>Balanza</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Balanza marca OHAUS. Con capacidad de 0 a 2610g (5lb 2onz) de triple riel. - Incertidumbre: $\pm 0.005\text{g}$ 	Utilizada para pesar el café y la enzima Celulasa para cada una de las corridas realizadas.

1	Balón aforado 	- Vidrio de 500ml. - Incertidumbre: $\pm 0.05\text{ml}$	Utilizado para la preparación de diluciones del agua miel obtenida en el proceso de lavado de café, para realizar la titulación.
1	Bureta 	- Vidrio de 50ml. - Incertidumbre: $\pm 0.05\text{ml}$	Utilizada para la titulación.
3	Pipetas graduada 	- Vidrio de 10ml. - Incertidumbre: $\pm 0.05\text{ml}$	Utilizada para llevar a cabo mediciones de dosis de enzima utilizada en el proceso, así como también para las mediciones de titulación (reactivo de Fehling)
1	Pipeteador 	- De Pastico	Utilizado para succionar la solución de enzima y mediciones de titulación a través de una pipeta.
1	Pinzas para bureta 	- De acero.	Utilizadas para elaborar el sistema en el cual se realizara la titulación.

1	<p>Estufa.</p> 	<p>- Estufa cerámica marca ThermolyneCimarec 2.</p>	<p>Utilizado para mantener la temperatura optima en que trabaja el licor de Fehling.</p>
1	<p>Potenciómetro</p> 	<p>- Potenciómetro marca Hanna. - Con capacidad: - ph: hasta 10.1 - temperatura: 0 a 10.32°C - Incertidumbre: ±0.005</p>	<p>Utilizado para realizar mediciones de pH en el transcurso del proceso de desmucilación.</p>
1	<p>Embudo</p> 	<p>Embudo plástico.</p>	<p>Utilizado para facilitar el traslado del agua miel diluida ala bureta para la titulación.</p>
	<p>Tubos de ensayo</p> 	<p>- Tubos de ensayo de vidrio. -incertidumbre: ±0.05ml</p>	<p>Utilizados para guardar las muestras de agua miel para posteriormente realizarles la titulación.</p>

Fuente: Elaboración Propia (2014)

5.3. Procedimiento

A continuación se describe la metodología seguida para llevar a cabo la investigación con el objetivo de llegar a resultados tangibles.

- a. Se identificó la necesidad de reducir los tiempos de proceso de remoción del mucílago de café y de disminuir la carga contaminante causada por el agua de lavado, sin afectar la calidad del café.
- b. Se procedió a recopilar información sobre la forma en que actuó la enzima Celulasa como catalizador en la reacción de remoción de mucílago de café, así como también la ausencia del mucílago en el grano del café.
- c. Se definieron los objetivos del proyecto, con ayuda de la información recopilada en el inciso anterior, con lo cual se determinó si por medio del proceso enzimático, mediante el uso de Celulasa se removió el mucílago del café, obteniendo los beneficios ya mencionados (inciso a).
- d. Se eligió el procedimiento de remoción de mucílago de café, con el cual se obtuvieron resultados recurrentes y satisfactorios para los objetivos.
- e. Por medio del procedimiento seleccionado se determinó el equipo adecuado para llevar a cabo el proceso de remoción del mucílago de café.
- f. Se realizaron pruebas a nivel laboratorio del proceso de remoción del mucílago de café. Se efectuaron 5 corridas utilizando enzima Celulasa, a tres temperaturas diferentes (12, 24 y 35°C) y así se obtuvo el mucílago de café por medio del agua de lavado comprobando su presencia por medio de titulación y el tiempo de reacción por medio del cambio de pH a la hora del desprendimiento del mucílago del grano de café.
- g. Realizar un análisis los resultados obtenidos.
- h. Elaboración de Conclusiones y Recomendaciones

Ver Anexo 4 (Pág. 60), donde se muestra un diagrama de Gantt del procedimiento que se llevó a cabo para realizar este proyecto de ingeniería. (Milton, 2003).

6. Diseño y Metodología estadística

6.1. Diseño Experimental

Se efectuaron dos experimentos a tres diferentes temperaturas y un experimento adicional a una temperatura de 24°C y dos diferentes concentraciones de enzima, para comprobar la eficiencia del proceso enzimático en la remoción de mucílago de café, a partir de la Celulasa, con el fin de llevar a cabo la simulación de las temperaturas de las tres diferentes regiones a las que se encuentra localizados los beneficios de café en Guatemala. En el transcurso del experimento se mantuvieron las condiciones de operación fijas (presión y concentración de enzima) y se manipulo la temperatura de operación para obtener diferentes resultados y comprobar la eficiencia y eficacia del proceso enzimático.

6.1.1. Experimentos

Se realizaron tres experimentos, cada uno con las mismas fases, teniendo como variación la temperatura del proceso y concentración de enzima, para lograr observar el comportamiento de la Celulasa en el proceso de remoción del mucílago de café.

Por lo tanto las variables modificadas para la remoción del mucílago de café fueron:

- Temperatura.
- Tiempos de reacción de fermentación.
- Concentración de enzima.

Y las variables que se mantuvieron fijas del proceso fueron:

- Presión

Los pasos del proceso se enumeran a continuación, en el anexo 5 (Pág. 61) se encuentra detallada.

1. Análisis inicial del cultivo del café.
2. Despulpado del café.
3. Análisis inicial de la enzima Celulasa.
4. Preparación de la muestra.
5. Verificar condiciones de operación.
6. Lavado de Muestra.
7. Análisis de la muestra mediante titulación.
8. Análisis de agua residual de lavado de proceso.

6.1.2. Tratamientos y Repeticiones de los Experimentos

En el estudio de remoción del mucílago del café los procesos realizados consistieron en variar la concentración de enzima Celulasa como catalizador, así como la temperatura de operación utilizada.

Se realizaron 8 repeticiones de cada experimento de los cuales se tomaron 6 muestras, las cuales fueron analizadas por titulación de 4azúcares solubles. El número de repeticiones se determinó mediante la Ecuación No. 1 (Metodología de Análisis, Pág 41)

De la misma manera se realizó una muestra patrón a la que no se le adicionara enzima, es decir se efectuó la remoción de mucílago de café por medio de fermentación natural, como medio de comparación del tiempo de reacción de la enzima en el proceso de desmucilación.

A continuación se presenta una tabla en la cual se detalla el proceso realizado en la remoción de mucílago de café.

Tabla No. 5

Detalles del proceso de remoción de mucílago de café por proceso enzimáticos.

No. de Corridas	pH inicial grano de café	Temperatura de operación (°C±0.005)	Peso de café húmedo (lb ±0.005)	Concentración de enzima (ppm)	Peso de enzima Celulasa (gr ±0.005)	% Azúcares Solubles	% Azúcares Insolubles	pH final grano de café (indicador desprendimiento de mucilago)	No. de muestras
1	6 ±0.005	12	0.5	500	0.34	20%	80%	4 ±0.005	6
2	6 ±0.005	12	0.5	0	0	20%	80%	4 ±0.005	6
3	6 ±0.005	24	0.5	500	0.34	20%	80%	4 ±0.005	6
4	6 ±0.005	24	0.5	250	0.17	20%	80%	4 ±0.005	6
5	6 ±0.005	24	0.5	1000	0.68	20%	80%	4 ±0.005	6
6	6 ±0.005	24	0.5	0	0	20%	80%	4 ±0.005	6
7	6 ±0.005	35	0.5	500	500	20%	80%	4 ±0.005	6
8	6 ±0.005	35	0.5	0	0	20%	80%	4 ±0.005	6

6.1.3. Descripción de Unidades Experimentales

Cada una de las corridas la concentración de reactivos se mantuvo constante con los siguientes valores:

- Café despulpado: 0.5 lb
- Concentración de enzima: 500ppm

La temperatura de la solución varió para determinar la velocidad de reacción:

- Temperatura 1: 12°C.
- Temperatura 2: 24°C.

- Temperatura 3: 35°C.

6.1.4. Variable Respuesta

Las variables de respuesta que proporcionaron el cumplimiento de los objetivos de trabajo de graduación, fueron los azúcares solubles presentes en el agua de lavado (determinados por titulación) y el cambio de ph en el transcurso del proceso.

6.1.5. Metodología de Análisis

Se seleccionó la población a estudiar, la cual es el grupo total de objetos (en nuestro caso el café despulpado) del cual se seleccionara un sub-conjunto llamado muestra, de los cuales ayudaron a concluir los resultados obtenidos de la población. La muestra se determinó mediante el uso la ecuación No. 1. (Triola, 2004) Tomando en cuenta como tamaño de la población 8.

Ecuación No. 1: Tamaño de Muestra

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * \sigma^2}{e^2(N - 1) + Z_{\alpha}^2 * \sigma^2}$$

Dónde:

N=tamaño de la población (N = 12)

Z= Nivel de confianza (95 %, Z = 1.96)

σ = Desviación estándar de la población ($\sigma = 0,5$)

e = Límite aceptable de error muestral (e =1% (0,01))

Dando como resultado 6.46 muestras de cada población, por lo tanto se realizó únicamente 6, debido a que se efectuaron duplicación de cada muestra. En total se analizaron 48 muestras, las cuales se analizaron 6 muestras para cada una de las condiciones de operación (8 corridas u condiciones de operación), ver Tabla No. 5 (Pág. 40).

La metodología de análisis utilizada para la validación de los resultados del experimento de remoción de mucílago de café por procesos enzimáticos, fue por medio del análisis de regresión lineal. Con este método se compararon los resultados y así se concluyó la eficacia del proceso.

7. Presentación de resultados.

En la Tabla No. 6 se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 6

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de fermentación natural a temperatura de 24°C y 0.5lb de café húmedo.

Tabla No. 6: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE FERMENTACIÓN NATURAL A TEMPERATURA DE 24°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO										
No.	Cambio de Ph		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G´)	gr azúcares reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	6.65 ±0.005	4.05 ±0.005	690 ±0.005	640	±40.99	246 ±0.01	4.85 ±0.01	3.03 ±0.01	4.75	±0.12
2	5.5 ±0.005	4.01 ±0.005	570 ±0.005			257 ±0.01	4.64 ±0.01	2.82 ±0.01		
3	6.07 ±0.005	4.03 ±0.005	630 ±0.005			244 ±0.01	4.89 ±0.01	3.07 ±0.01		
4	6.07 ±0.005	3.98 ±0.005	630 ±0.005			246 ±0.01	4.85 ±0.01	3.03 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4.02 ±0.005	660 ±0.005			252 ±0.01	4.73 ±0.01	2.92 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	3.97 ±0.005	660 ±0.005			260 ±0.01	4.58 ±0.01	2.77 ±0.01		
pH Promedio	6.03 ±0.005	4.01 ±0.005								
Desviación Estándar	0.369 ±0.005	0.03 ±0.005								

En la tabla No. 7, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural a condiciones de operación de temperatura de 12°C. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 7

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de fermentación natural a temperatura de 12°C y de 0.5lb de café húmedo.

Tabla No. 7: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE FERMENTACIÓN NATURAL A TEMPERATURA DE 12°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO										
No.	Cambio de pH		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G´)	gr azúcares reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	5.98 ±0.005	4.01 ±0.005	1860 ±0.005	1870	±15.49	250 ±0.01	4.77 ±0.01	2.95 ±0.01	4.36	±0.3
2	5.92 ±0.005	4 ±0.005	1860 ±0.005			295 ±0.01	4.04 ±0.01	2.23 ±0.01		
3	5.97 ±0.005	4.02 ±0.005	1860 ±0.005			274 ±0.01	4.35 ±0.01	2.54 ±0.01		
4	5.93 ±0.005	3.99 ±0.005	1860 ±0.005			278 ±0.01	4.29 ±0.01	2.47 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4 ±0.005	1890 ±0.005			275 ±0.01	4.33 ±0.01	2.52 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	3.98 ±0.005	1890 ±0.005			274 ±0.01	4.35 ±0.01	2.54 ±0.01		
pH Promedio	5.95 ±0.005	4 ±0.005								
Desviación Estándar	0.028 ±0.005	0.014 ±0.005								

En la tabla No. 8, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural a condiciones de operación de temperatura de 35°C. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 8

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de fermentación natural a temperatura de 35°C y 0.5lb de café húmedo.

Tabla No. 8: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE FERMENTACIÓN NATURAL A TEMPERATURA DE 35°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO										
No.	Cambio de pH		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G´)	gr azúcares reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	6.65 ±0.005	4.04 ±0.005	540 ±0.005	550	±24.49	261 ±0.01	4.57 ±0.01	2.75 ±0.01	4.37	±0.15
2	5.5 ±0.005	4.03 ±0.005	510 ±0.005			274 ±0.01	4.35 ±0.01	2.54 ±0.01		
3	6.07 ±0.005	4 ±0.005	570 ±0.005			263 ±0.01	4.53 ±0.01	2.72 ±0.01		
4	6.07 ±0.005	4.03 ±0.005	570 ±0.005			278 ±0.01	4.29 ±0.01	2.47 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4.02 ±0.005	570 ±0.005			274 ±0.01	4.35 ±0.01	2.54 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	4.01 ±0.005	540 ±0.005			287 ±0.01	4.15 ±0.01	2.34 ±0.01		
pH Promedio	6.03 ±0.005	4.02 ±0.005								
Desviación Estándar	0.369 ±0.005	0.015 ±0.005								

En la tabla No. 9, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, utilizando la enzima Celulasaa a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 9

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de procesos enzimáticos a temperatura de 24°C, 0.5lb de café húmedo Y 0.34 g enzima celulasa.

Tabla No. 9: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS A TEMPERATURA DE 24°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO Y 0.34 G ENZIMA CELULASA										
	Cambio de Ph		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G´)	gr azúcar reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	6.65 ±0.005	4.02 ±0.005	285 ±0.005	273	±17.54	185 ±0.01	6.44 ±0.01	4.63 ±0.01	6.56	±0.14
2	5.5 ±0.005	4.02 ±0.005	240 ±0.005			176 ±0.01	6.77 ±0.01	4.96 ±0.01		
3	6.07 ±0.005	4.01 ±0.005	285 ±0.005			179 ±0.01	6.66 ±0.01	4.84 ±0.01		
4	6.07 ±0.005	4.03 ±0.005	270 ±0.005			182 ±0.01	6.55 ±0.01	4.74 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4.03 ±0.005	270 ±0.005			186 ±0.01	6.41 ±0.01	4.59 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	4.02 ±0.005	285 ±0.005			182 ±0.01	6.55 ±0.01	4.74 ±0.01		
Ph Promedio	6.03 ±0.005	4.02 ±0.005								
Desviación Estándar	0.369 ±0.005	0.008 ±0.005								

En la tabla No. 10, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, utilizando la enzima Celulasa a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C y el doble de concentración de enzima. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 10

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de procesos enzimáticos a temperatura de 24°C, 0.5lb de café húmedo Y 0.68g enzima celulasa

Tabla No. 10: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS A TEMPERATURA DE 24°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO Y 0.68 G ENZIMA CELULASA (200% DE ENZIMA)										
	Cambio de pH		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G ⁻)	gr azúcar reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	6.65 ±0.005	4.01 ±0.005	210 ±0.005	195	±9.49	167 ±0.01	7.14 ±0.01	5.32 ±0.01	7.18	±0.11
2	5.5 ±0.005	4 ±0.005	180 ±0.005			163 ±0.01	7.31 ±0.01	5.5 ±0.01		
3	6.07 ±0.005	4.06 ±0.005	195 ±0.005			166 ±0.01	7.18 ±0.01	5.37 ±0.01		
4	6.07 ±0.005	4.01 ±0.005	195 ±0.005			170 ±0.01	7.01 ±0.01	5.2 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4.03 ±0.005	195 ±0.005			166 ±0.01	7.18 ±0.01	5.37 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	3.99 ±0.005	195 ±0.005			164 ±0.01	7.27 ±0.01	5.45 ±0.01		
Ph Promedio	6.03 ±0.005	4.02 ±0.005								
Desviación Estándar	0.369 ±0.005	0.025 ±0.005								

En la tabla No. 11, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, utilizando la enzima Celulasa a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C y la mitad de concentración de enzima. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 11

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de procesos enzimaticos a temperatura de 24°C, 0.5lb de café húmedo Y 0.17g enzima celulasa (50% de enzima)

Tabla No. 11: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS A TEMPERATURA DE 24°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO Y 0.17 G ENZIMA CELULASA (50% DE ENZIMA)										
No.	Cambio de pH		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G')	gr azúcar reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	5.98 ±0.005	4.02 ±0.005	345 ±0.005	340	±7.75	209 ±0.01	5.7 ±0.01	3.89 ±0.01	5.69	±0.17
2	5.92 ±0.005	4 ±0.005	345 ±0.005			198 ±0.01	6.02 ±0.01	4.21 ±0.01		
3	5.97 ±0.005	3.99 ±0.005	345 ±0.005			216 ±0.01	5.52 ±0.01	3.7 ±0.01		
4	5.93 ±0.005	4.01 ±0.005	330 ±0.005			213 ±0.01	5.6 ±0.01	3.78 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4.01 ±0.005	345 ±0.005			212 ±0.01	5.62 ±0.01	3.81 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	4.03 ±0.005	330 ±0.005			210 ±0.01	5.68 ±0.01	3.86 ±0.01		
Ph Promedio	5.95 ±0.005	4.01 ±0.005								
Desviación Estándar	0.028 ±0.005	0.014 ±0.005								

En la tabla No. 12, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, utilizando la enzima celulasa a condiciones de operación de temperatura de 12°C. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 12

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de procesos enzimáticos a temperatura de 12°C, de 0.5lb de café húmedo Y 0.34 g enzima celulasa.

Tabla No. 12: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS A TEMPERATURA DE 12°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO Y 0.34 G ENZIMA CELULASA										
	Cambio de pH		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G´)	gr azúcar reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	6.63 ±0.005	4.01 ±0.005	495 ±0.005	490	±7.75	176 ±0.01	6.77 ±0.01	4.96 ±0.01	6.51	±0.15
2	5.5 ±0.005	3.99 ±0.005	480 ±0.005			181 ±0.01	6.59 ±0.01	4.77 ±0.01		
3	6.07 ±0.005	4.01 ±0.005	495 ±0.005			184 ±0.01	6.48 ±0.01	4.66 ±0.01		
4	6.07 ±0.005	4.02 ±0.005	495 ±0.005			187 ±0.01	6.37 ±0.01	4.56 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4 ±0.005	495 ±0.005			186 ±0.01	6.41 ±0.01	4.59 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	3.99 ±0.005	480 ±0.005			185 ±0.01	6.44 ±0.01	4.63 ±0.01		
Ph Promedio	6.03 ±0.005	4 ±0.005								
Desviación Estándar	0.362 ±0.005	0.012 ±0.005								

En la tabla No. 13, se presentan los resultados obtenidos del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, utilizando la enzima Celulasa a condiciones de operación de temperatura de 35°C. (Ver Anexo 6, pág 68).

Tabla No. 13

Resultados obtenidos del proceso de desmucilación del café por medio de procesos enzimáticos a temperatura de 35°C, de 0.5lb de café húmedo Y 0.34 g enzima celulasa.

Tabla No. 13: RESULTADOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE DESMUCILACIÓN DEL CAFÉ POR MEDIO DE PROCESOS ENZIMÁTICOS A TEMPERATURA DE 35°C, UTILIZANDO 0.5LB DE CAFÉ HUMEDO Y 0.34 G ENZIMA CELULASA										
	Cambio de pH		Tiempo total de operación (min)			Determinación de azúcares reductores				
	pH inicial de la muestra	pH final de la muestra	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación	Gotas de agua miel (G ⁺)	gr azúcar reductores	aumento de azúcar reductor en la muestra (gr)	gr azúcar reductores promedios	Desviación estándar gr azúcar reductores
1	6.65 ±0.005	4.03 ±0.005	240 ±0.005	235	±7.75	172 ±0.01	6.93 ±0.01	5.12 ±0.2	6.97	±0.14
2	5.5 ±0.005	4.01 ±0.005	240 ±0.005			170 ±0.01	7.01 ±0.01	5.2 ±0.01		
3	6.07 ±0.005	4.04 ±0.005	225 ±0.005			178 ±0.01	6.7 ±0.01	4.88 ±0.01		
4	6.07 ±0.005	4.02 ±0.005	240 ±0.005			168 ±0.01	7.1 ±0.01	5.28 ±0.01		
5	5.98 ±0.005	4.01 ±0.005	225 ±0.005			169 ±0.01	7.05 ±0.01	5.24 ±0.01		
6	5.93 ±0.005	4.01 ±0.005	240 ±0.005			170 ±0.01	7.01 ±0.01	5.2 ±0.01		
Ph Promedio	6.03 ±0.005	4.02 ±0.005								
Desviación Estándar	0.369 ±0.005	0.013 ±0.005								

En la tabla No. 14, se presentan los tiempos totales de cada uno de los procesos de desmucilación realizados a las diferentes condiciones de operación, de la misma manera se presenta una gráfica en donde muestra cada uno de estos tiempos (Gráfica No. 1).

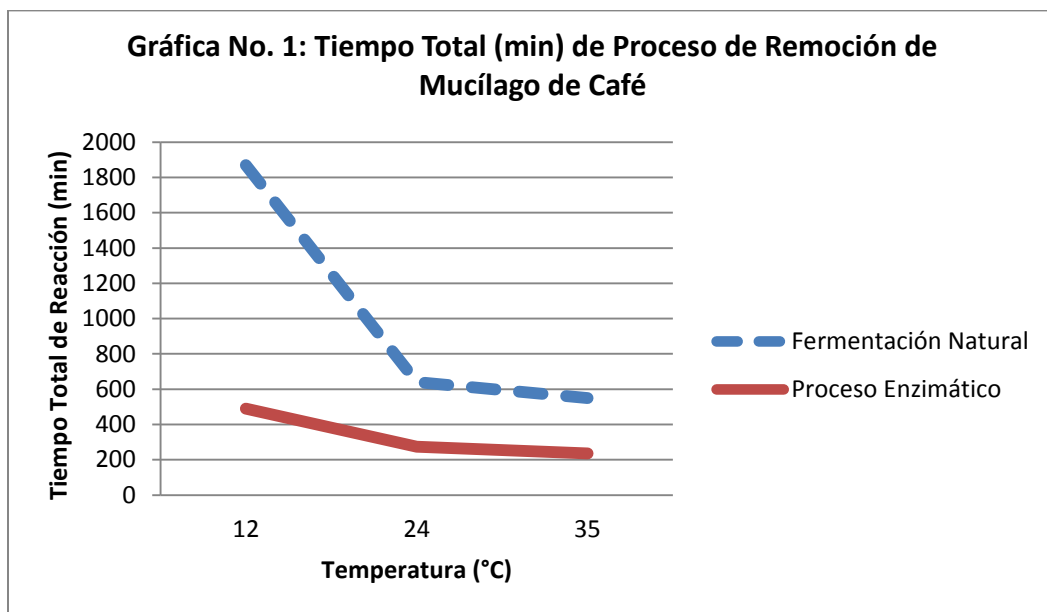
Tabla No. 14

Tiempo total de proceso de Remoción de Mucílago de Café

Tabla No. 14: Tiempo total de proceso de Remoción de Mucilago de Café								
	No. De Corrida	Temperatura (°C)	Concentración de enzima (gr)	Tiempo Total de Reacción (min)	Tiempo Total de Reacción (hr)	Tiempo Total de Reacción %		
Fermentación Natural	1	12 ±0.01	0 ±0.005	1870 ±0.005	31.17 ±0.005	100%		
	2	24 ±0.01	0 ±0.005	640 ±0.005	10.67 ±0.005	100%		
	3	35 ±0.01	0 ±0.005	550 ±0.005	9.17 ±0.005	100%		
Proceso Enzimático	4	12 ±0.01	0.34 ±0.005	490 ±0.005	8.17 ±0.005	174%		
	5	24 ±0.01	0.34 ±0.005	273 ±0.005	4.54 ±0.005	157%		
	6		0.68 ±0.005	195 ±0.005	3.25 ±0.005	165%		
	7		0.17 ±0.005	340 ±0.005	5.67 ±0.005	131%		
	8	35 ±0.01	0.34 ±0.005	235 ±0.005	3.92 ±0.005	114%		

Gráfica No. 1

Tiempo Total De Proceso de Remoción de Mucílago de Café



En la tabla No. 15, se presentan los azúcares reductores totales de cada uno de los procesos de desmucilación realizados a las diferentes condiciones de operación, de la misma manera se presenta una gráfica en donde muestra cada uno de los azúcares reductores presentes en la muestra. (Gráfica No. 2).

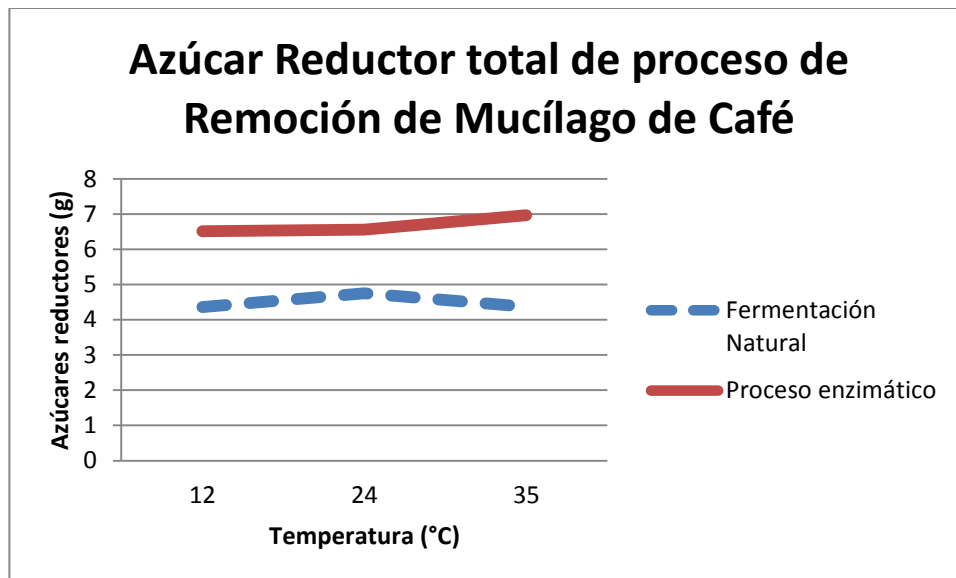
Tabla No. 15

Azúcares Reductores Proceso de Remoción Mucílago de café

Tabla No. 15: Azucar Reductor total de proceso de Remoción de Mucilago de Café						
	No. De Corrida	Temperatura (°C)	Concentración de enzima (gr)	gr azucar reductores promedios	Azucares Reductores %	
Fermentación Natural	1	12 ±0.005	0 ±0.005	4.36 ±0.005	100%	
	2	24 ±0.005	0 ±0.005	4.75 ±0.005	100%	
	3	35 ±0.005	0 ±0.005	4.37 ±0.005	100%	
Proceso Enzimático	4	12 ±0.005	0.34 ±0.005	6.51 ±0.005	149%	
	5	24 ±0.005	0.34 ±0.005	6.56 ±0.005	138%	
	6		0.68 ±0.005	7.18 ±0.005	151%	
	7		0.17 ±0.005	5.69 ±0.005	120%	
	8	35 ±0.005	0.34 ±0.005	6.97 ±0.005	159%	

Gráfica No. 2

Azúcares reductores totales del proceso de Remoción de Mucílago de Café,



8. Discusión de Resultados

El objetivo principal del presente trabajo de graduación fue estudio de remoción de mucílago de café por medio de proceso enzimático utilizando la Celulasa como catalizador de la reacción de hidrólisis de los azúcares insolubles presente en el mucílago de café.

Se llevaron a cabo dos experimentos para comprobar la efectividad del proceso enzimático, el primero se realizó por medio del cambio de pH en el transcurso de la reacción de desmucilación del café y el segundo por medio de los azúcares reductores resultantes en el agua de lavado. Adicionalmente de estas dos pruebas se realizó una tercera, que es la más utilizada y fácil que se realiza en los beneficios de café, la cual se efectúa por medio del tacto y color del grano de café, debido a que durante el proceso de desmucilación estas dos propiedades cambian de forma drástica, para determinar el punto final de desmucilación se tomó una muestra de café, se lavó y al escuchar que sonaba como cascajo¹, su textura era sumamente áspera y el color pasó de ser una amarillo intenso a pálido (Ver figura No. 17, Anexo No. 8, pág. 93), se puede determinar que el proceso de desmucilación concluyó. Esta última prueba se realizó debido a que es la más utilizada, pero por ser sumamente empírica se decidió realizar las dos primeras pruebas antes mencionadas.

Cada uno de estos experimentos se realizaron a tres diferentes temperaturas (12, 24 y 35°C), para llevar a cabo la simulación del comportamiento del proceso enzimático en las tres diferentes regiones en las que se encuentran localizados los beneficios de café en Guatemala, estas tres temperaturas simularon cada región del país, como por ejemplo en regiones frías, Antigua Guatemala, Huehuetenango, Atitlan; En regiones de clima templado Alta Verapaz, Sacatepéquez y Suchitepéquez y clima cálido Escuintla y Retalhuleu. Con esto se obtuvo un mejor parámetro de comparación y así se logró observar con mayor facilidad los resultados obtenidos, sobretodo la eficacia en tanto al tiempo total reacción en que se llevó a cabo el proceso. Se realizó cada experimento a cada una de las temperaturas por medio del proceso tradicional de desmucilación, el cual es la fermentación natural y por medio de proceso enzimático.

Se realizó una última prueba, a temperatura media (24°C), la cual permitió observar el comportamiento del proceso enzimático cuando se utiliza el doble y la mitad de la concentración de la enzima en el proceso de desmucilación (200% y 50% de la enzima) y así se tuvo un factor determinante de comparación tanto utilizando el método tradicional de fermentación natural, así como también por medio del proceso enzimático utilizando la concentración de enzima especificada por el fabricante.

En total se analizaron 48 muestras de café arábigo, las cuales se dividieron 6 repeticiones para cada condición de operación.

1. Cascajo: Conjunto de frutas secas de cascara dura. (The Free Dictionary, By Farlex; En red)

El primer experimento, consistió en realizar pruebas del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural, a tres diferentes temperaturas. El objetivo de realizar el experimento por medio de fermentación natural se debió a que es necesario tener un punto de comparación entre ambos procesos (natural y enzimático).

La primera condición de operación se realizó a una temperatura de 24°C, bajo el proceso de desmucilación tradicional, fermentación natural, para el proceso se utilizaron 200ml de agua con el objetivo de que la media libra de café quedara completamente sumergida en ella, en este proceso se tomó el pH de la muestra cada 30min, debido al tiempo prolongado de proceso bajo condiciones de fermentación natural.

El tiempo total de reacción por medio de este método bajo estas condiciones de operación fue de 640 min \pm 0.005 (10.67hr \pm 0.005), el tiempo se determinó mediante al cambio de pH, por la presencia de levaduras fermentables (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida Albicans*, entre otras), bacterias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, entre otras), bacterias anaerobias facultativas (*Enterobacter* spp, *E. agglomerans*, entre otras), bacterias aerobias (*Streptomyces*) y hongos propios del mucílago .

La fermentación generó el cambio de Ph por la degradación de las azúcares insolubles, principalmente las pectinas, los cuales se degradaron a ácido galacturónicos², ácido láctico, ácido acético; los azúcares se transforman en primer lugar en alcoholes y luego a ácidos orgánicos y dióxido de Carbono. Mientras transcurrió la fermentación de los azúcares presentes en el mucílago, la formación de ácidos hace que el pH de la masa de granos de café, bajara de un valor de 6.0 que tiene el mucílago fresco, hasta alrededor de 4.0 cuando el grano ya se encuentra en el punto de lavado.

Ya que el pH del proceso llegó a 4, se procedió a lavar el grano, al llegar a este punto se debe de someter a la eliminación de los residuos de mucílago, con el fin de obtener un café pergamino áspero.

Para comprobar la presencia del mucílago de café en el agua de lavado, se determinó la concentración de azúcares reductores presentes en el agua por medio de titulación de los mismos utilizando el reactivo de Fehling. Para llevar a cabo la titulación del agua miel, obtenida del lavado, se le realizaron 2 diluciones, debido a que el color que presenta el agua fue amarillo intenso, por lo tanto se debe diluir para hacer más fácil y no interferir en la identificación de los azúcares fermentables en el agua miel.

En el agua de lavado del proceso de desmucilación bajo estas condiciones de operación de 12°C fue de 4.75 g \pm 0.01, con lo cual se puede observar que existió un aumento de 3.03 g \pm 0.01 de azúcares reductores en la muestra comparada con la concentración inicial de azúcares reductores en el mucílago (1.81 g), esto es debido a que en el transcurso de la fermentación, como ya se mencionó las pectinas y la celulosa se degradaron a ácido galacturónicos, láctico y acético y a glucosa, para luego formar alcohol. En los beneficios de café el agua miel presenta una composición de 40 a 50% de azúcares reductores, comparado al peso de mucílago (4.54g).

2. El ácido D-galacturónico es un monosacárido de 6 átomos de carbono correspondiente a la forma oxidada de la D-galactosa, por lo que también pertenece al grupo de los azúcares ácidos. (Campbell, Farrell, 2004)

De la misma manera se realizó el procedimiento de fermentación natural para las otras dos diferentes temperaturas, así como también se comprobó la presencia de azúcares reductores en la muestras de agua miel obtenida del lavado del grano de café. El tiempo del proceso de desmucilación para la temperatura de 35°C fue de 550 min ± 0.005 (9.17 hr ± 0.005) y los azúcares reductores presentes de la muestra de agua miel es de 4.37g ± 0.01 , con un aumento de azúcares de 2.56g ± 0.01 . De la misma manera el tiempo de desmucilación de proceso bajo condiciones de operación de 12°C fue de 1,870 min ± 0.005 (31.2hr ± 0.005) y azúcares reductores presentes de la muestra de agua miel es de 4.36g ± 0.01 , con un aumento de azúcares de 2.54g ± 0.02 . Los resultados de estas tres condiciones de operación se resumen en anexo No.6 (Pág. No 68), en la cual detallo el cambio de pH, el tiempo total del proceso y los azúcares reductores presentes en la muestra.

Al observar cada uno de los tiempos de reacción se puede concluir que la temperatura es un factor de suma importancia en el proceso de desmucilación, ya que a baja temperatura el tiempo de reacción fue más prolongado, la actividad enzimática se acelera fuertemente con la temperatura, por el incremento de la energía cinética en el sistema, ya que por cada 10°C de aumento de temperatura, la velocidad de reacción aumentó, esto debido a que cada enzima tiene temperaturas ideales en las cuales aumenta su actividad catalítica, la temperatura ideal en la que se realiza el proceso de desmucilación por medio de fermentación natural oscila entre 24 a 35°C, después de esta temperatura su capacidad disminuye.

Este fenómeno se puede ver muy claramente debido que al comparar los tiempos de reacción se observó que existe una diferencia de 23°C entre las pruebas realizadas entre 12 a 35°C y una diferencia de tiempo de reacción de 22 horas, comprobando que la temperatura de reacción si es un factor de suma importancia en proceso de desmucilación llevado a cabo de manera tradicional (fermentación natural) identificando que a mayor temperatura de operación el tiempo disminuye en un 71%.

El segundo experimento, consistió en realizar pruebas del proceso de desmucilación de café por medio de procesos enzimáticos, utilizando celulase # 407 (celulasa # 407) como medio catalizador de la reacción de desmucilación del café. A las tres diferentes temperaturas de operación.

La primera condición de operación que se evaluó mediante el proceso enzimático fue a temperatura de 24°C y solución enzimática, la cual estaba conformada de 10 ml de agua por 0.34g Celulasa, para media libra de café.

La solución de enzima, se realizó según las especificaciones del fabricante, 500ppm / ton de café, y luego por conversiones estequiometrias se determinó la concentración a utilizar para cada una de las corridas realizadas.

Con lo cual se pudo determinar que el volumen de agua utilizado para el proceso enzimático de desmucilación es mucho menor que para el tradicional de 200ml a 10ml de agua, haciéndolo un proceso amigable para el ambiente ya que el

volumen de agua es aproximadamente 95% menor al agua utilizada por medio del proceso tradicional, considerando que el agua residual generada en el proceso de beneficio de café, la mitad es generada por la fermentación del mucílago (La otra mitad es generada por el despulpado del café).

Al igual que para el proceso de fermentación natural, para identificar el punto de lavado de café se tomó el pH del sistema, con la diferencia que el pH se midió con un intervalo de tiempo de 15min, debido a que el proceso bajo condiciones enzimáticas es más rápido y eficiente, debido a que la enzima Celulasa actúa como catalizador de la reacción, hidrolizando los azúcares no reductores presentes en el mucílago (pectinas, celulosa, etc.).

Los azúcares no reductores, son polisacáridos, polímeros naturales de los carbohidratos, constituidos por un gran número de unidades de monosacáridos unidos mediante enlaces glucídicos. Estos son carbohidratos que se pueden hidrolizar proporcionando unidades de monosacáridos, principalmente glucosa, esto debido a la estructura que compone los azúcares no reductores presentes en el mucílago de café.

Por lo tanto para el primer experimento bajo condiciones enzimáticas se realizó a temperatura ambiente de 24°C, media libra de café y una solución de 10 ml (agua y Celulasa), obteniendo un tiempo total de reacción bajo condiciones de operación constantes de 273 min ± 0.005 (4.54hr ± 0.005) y una concentración de azúcares reductores presentes de la muestra de agua miel de 6.56g ± 0.01 , con un aumento de azúcares de 4.75g ± 0.01 .

Al comparar ambos resultados (fermentación natural y proceso enzimático) bajo las mismas condiciones de operación (temperatura de 24°C), se logró observar que el tiempo de reacción tiene una diferencia de 6.13hr ± 0.005 , siendo más corto en un 74% el proceso de desmucilación utilizando la enzima Celulasa para hidrolizar los azúcares reductores presentes en el mucílago.

De la misma manera se realizó el procedimiento enzimático para las dos diferentes temperaturas de operación (12°C y 35°C), así como también se comprobó la presencia de azúcares reductores en la muestras de agua miel obtenida del lavado del grano de café.

El tiempo del proceso de desmucilación para la temperatura de 35°C fue de 235 min ± 0.005 (3.92 hr ± 0.005) y los azúcares reductores presentes de la muestra de agua miel es de 6.97 g ± 0.01 , con un aumento de azúcares de 5.16 g ± 0.01 .

Igualmente el tiempo de desmucilación de proceso bajo condiciones de operación de 12°C fue de 490 min ± 0.005 (8.17 hr ± 0.005) y los azúcares reductores presentes de la muestra de agua miel es de 6.51 g ± 0.01 , con un aumento de azúcares de 4.7 g ± 0.01 . Los resultados de estas tres condiciones de operación se resumen en anexo No. 6 (Pág. No 72), en la cual muestra el cambio de pH, el tiempo total del proceso y los azúcares reductores presentes en la muestra.

Al observar cada uno de los tiempos de reacción se pudo concluir que proceso enzimático cumplió con el objetivo de disminuir la velocidad de reacción de hidrólisis de los azúcares presentes en el mucílago del café, observando que el

café conservo las mismas características físicas (color, textura y aroma) que por medio de fermentación natural.

Se concluyó que el tiempo promedio disminuyó a más de la mitad (62%) por medio de proceso enzimático comparado con el tiempo total por medio del método tradicional, ver tabla de Tabla No. 14 (Pág. 49), este punto es de suma importancia debido a que al prolongar el tiempo de reacción de fermentación de los azúcares presentes en el Mucílago y así desprender del grano de café pone en riesgo la integridad del mismo, debido a que los azúcares pueden degradarse a ácido o también sintetizan otras enzimas que pueden causar un gran deterioro al grano, obteniéndose un producto heterogéneo y en ocasiones de mala calidad.

Otro factor que determinó la eficiencia del proceso es el aumento de la cantidad de azúcares reductores presentes en el agua miel del método enzimático, notando un aumento de 59% comparado con el proceso tradicional y un 369% al inicial en la muestra (Ver Tabla No. 15, pág. 50), esto es de suma importancia debido a que el agua miel es uno de los factores que generan más contaminación en un Beneficio, por los diferentes elementos que componen el Mucílago, dado que el mayor porcentaje son azúcares no solubles lo cual al utilizando la enzima Celulasa incrementa la cantidad de azúcares solubles en agua, disminuyendo así la cantidad de Demanda química de oxígeno, debido a que los azúcares ya se encuentran degradados.

Por último se observó el comportamiento de la enzima al utilizar la mitad y el doble de la concentración de la recomendada por el fabricante (10 ml de agua por 0.34g Celulasa).

Se realizó una corrida utilizando 0.68 g de Celulasa (Doble de la concentración) obteniendo un resultado de 195 ± 0.005 min (3.25 ± 0.005 hr) y una corrida con una concentración de 0.17g (mitad de la concentración) obteniendo 340 ± 0.005 min (5.67 ± 0.005 hr).

Comparado los tres tiempos obtenidos se pudo observar que la concentración de la enzima utilizada en la reacción influye en la velocidad de reacción de hidrólisis de los azúcares presentes en el Mucílago de café, comprobando que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración de la enzima manteniendo la concentración de sustrato constante.

Esto se puede comprobar que al utilizar el doble de concentración de enzima el tiempo de reacción disminuyo en un 28% (1.29 ± 0.005 hr) a la concentración recomendada por el fabricante. De igual forma sucedió al utilizar la mitad de la concentración de la enzima el tiempo de velocidad de reacción aumento 25% (1.13 ± 0.005 hr) comparado al utilizar la concentración recomendada por el fabricante. Este afecto indicó muy claramente la ecuación de Michaelis-Menten³, en donde la velocidad de reacción de transformación de un sustrato (Mucílago) en un producto (azúcares reductores) utilizando una enzima como catalizador de reacción bajo condiciones estables, depende tanto de la concentración de la enzima como del sustrato, haciéndolos directamente proporcional.

4. Ecuación de Michaelis-Menten: describe la velocidad de reacción de muchas reacciones enzimáticas. En este modelo la enzima se combina reversiblemente con su sustrato para formar el complejo enzima-sustrato (ES) que subsecuentemente se rompe para formar el producto, hecho que regenera a la enzima. (Campbell, Farrell, 2004)



9. Conclusiones

1. El proceso enzimático es un proceso recomendado para la remoción del mucílago del café, utilizando la enzima Celulosa como catalizador de la reacción de hidrólisis de los azúcares no reductores presentes en Mucílago.
2. Se disminuyó el tiempo total de remoción de Mucílago de Café por medio enzimático:
 - Temperatura 12°C: 74% es decir 23 ± 0.005 hr ($1,380 \pm 0.005$ min).
 - Fermentación Natural: 31.17 ± 0.005 hr ($1,870 \pm 0.005$ min).
 - Proceso Enzimático; 8.17 ± 0.005 hr (490 ± 0.005 min).
 - Temperatura 24°C: 38% es decir 6.13 ± 0.005 hr (367 ± 0.005 min).
 - Fermentación Natural: 10.67 ± 0.005 hr (640 ± 0.005 min).
 - Proceso Enzimático: 4.54 ± 0.005 hr (273 ± 0.005 min).
 - Temperatura 35°C: 59% es decir 5.25 ± 0.005 hr (367 ± 0.005 min).
 - Fermentación Natural: 9.17 ± 0.005 hr (550 ± 0.005 min).
 - Proceso Enzimático: 3.92 ± 0.005 hr (235 ± 0.005 min).
3. El agua residual de lavado (agua miel) se redujo en un 95% utilizando proceso enzimático. El agua miel generada en el proceso enzimático aumento el porcentaje de azúcares reductoras presentes en el agua de lavado (un aumento del 100% comparado con la fermentación natural), lo cual facilita que se reutilice el agua miel para el mismo proceso de desmucilación o para generar etanol.
4. Utilizando la enzima Celulasa en el proceso de desmucilación del café se observó que la temperatura es variable dependiente en la determinación del tiempo de reacción. Al elevar la temperatura disminuye la velocidad de reacción al ser catalizada por enzimas y viceversa a menor temperatura la velocidad de reacción es mayor.
5. Utilizando la enzima Celulasa a tres diferentes concentraciones en la remoción del Mucílago de café, observando que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración de la enzima manteniendo la concentración de sustrato constante.

10. Referencias

- Asociación Nacional del Café (Anacafé) (1998). **“Manual de Caficultura”**. (3ª. Ed.). Guatemala. Asociación Nacional del Café (Anacafé).
- Cajas Colon, Miguel Ángel (2010). **“Implementación de un sistema de riego por goteo en el Cultivo de café (coffearabica, rubiaceae) variedad pacas, y Sus implicaciones sobre el rendimiento en finca medina, Ciudad vieja, Sacatepéquez”**. Guatemala de la Asunción. Universidad Rafael Landívar.
- Campbell, Mary K; Farrell, Shawn O (2004). **“Bioquímica”**. (4ª Ed.). México. International Thomson Editores S.A. de C.V.
- Cátedra de química orgánica **“Trabajo de laboratorio No. 4: glucidos: mono, di y polisacáridos”**. (En red) Disponible en: [file:///C:/Users/taty/Downloads/576745312.TRabajo%20Pr%C3%A1ctico%20N%C2%BA%204%20%20MONO,%20DI%20Y%20POLI%20-%20Agronomia%20Zootecnia%20y%20veterinaria2012%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/taty/Downloads/576745312.TRabajo%20Pr%C3%A1ctico%20N%C2%BA%204%20%20MONO,%20DI%20Y%20POLI%20-%20Agronomia%20Zootecnia%20y%20veterinaria2012%20(3).pdf)
- Colombia, Portal Oficial de turismo (2007). **“Clima y Ubicación geográfica del café”**. Colombia. Proexport Colombia. (En Red) Disponible en: <http://www.colombia.travel/es/turista-internacional/actividad/recorridos-tematicos-por-colombia/cafe-colombiano/clima-y-ubicacion-geoGráfica-del-cafe>
- Equipo Técnico del Centro Guatemalteco de Producción más Limpia (1994). **“Manual de Buenas Prácticas Operativas de Producción más limpia en el Sector de Beneficio del café”**. Guatemala. Programa Ambiental Regional para Centroamérica PROARCA. (En red). Disponible en: <http://www.cgpl.org.gt/downloads/p+lcafe.pdf>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (s.f) **“Post-cochecha y Beneficio La remoción del mucílago o baba del café”** (En red) Disponible en: <http://taran.cafedecolombia.com/caficultura/remocion.html>
- Figueroa, R (1990). **“La Caficultura en el Perú”**. (1ª Ed.). Lima, Perú. Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología.
- Flaschka, H. A; Bernard, A. J y Sturrock, P. E. (1976). **“Química analítica cuantitativa, Volumen I”**. (7ª Ed.). México. Editorial Continental, S.A. de C.V (CECSA).

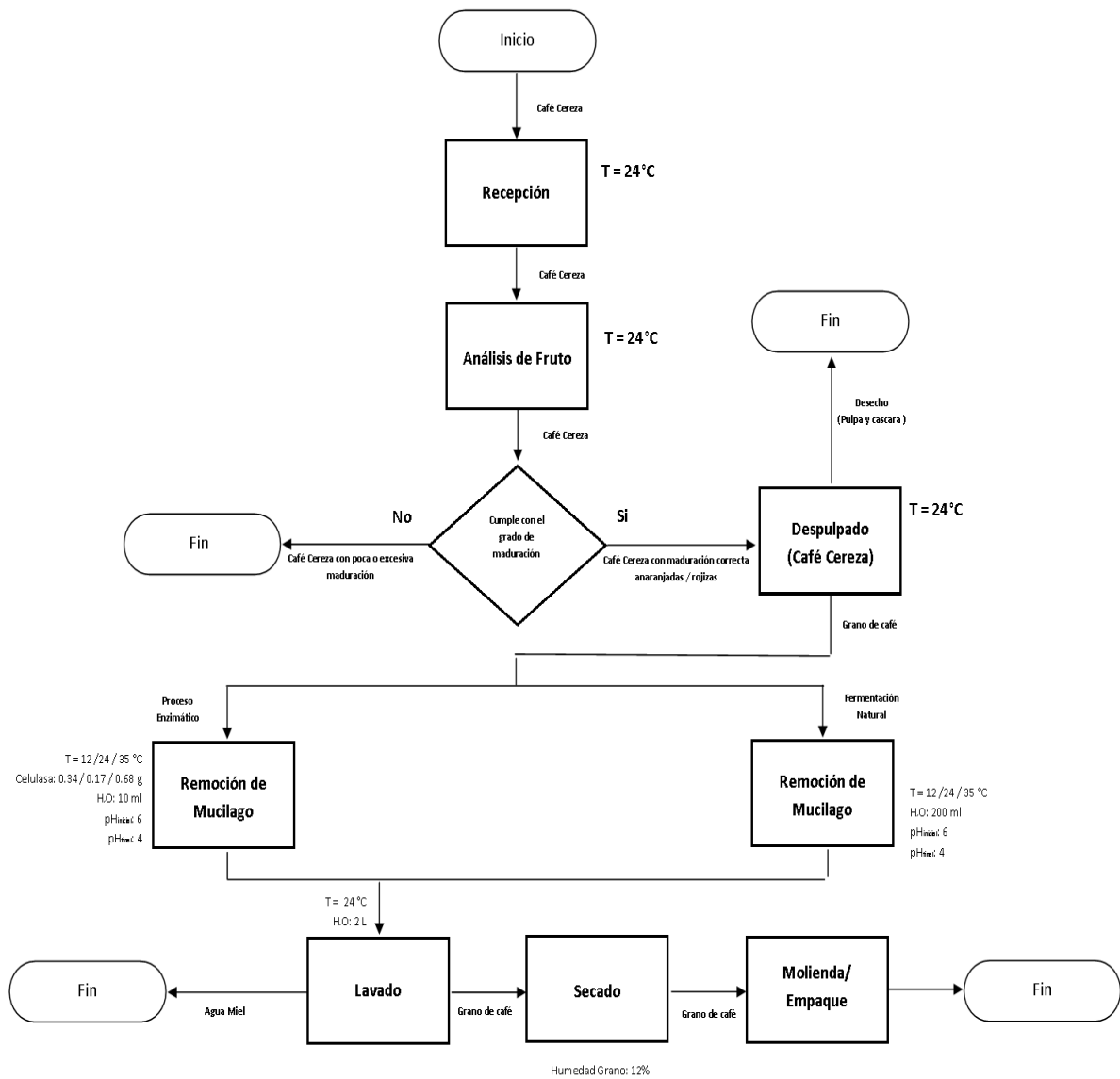
- Flaschka, H. A; Bernard, A. J y Sturrock, P. E. (1982). **“Química analítica cuantitativa, Volumen II”**. (1ª Ed.). México. Editorial Continental, S.A. de C.V (CECSA). (1ra Edición).
- FoodAnalysis. **“Determinación de Carbohidratos”**. (En Red) Disponible en:<http://www.exp.uji.es/asignatura/obtener.php?letra=I&codigo=A39&fichero=1131453513IA39>
- Funes Solares, Estuardo (2008). **“Estudio de Pre-Factibilidad para el montaje de una planta de procesamiento de café que entregue en sus diferentes etapas”**. Guatemala de la Asunción. Universidad Rafael Landívar.
- Guías Empresariales, Secretaría de Economía. **“Flujo del proceso productivo y escalas de producción”**. (En red) Disponible en: <http://www.contactopyme.gob.mx/guiasempresariales/guias.asp?s=14&guia=3&giro=1&ins=143>
- Hernandez Paz, Mario (1988). **“Manual de Caficultura Guatemala”**. Guatemala. Asociación Nacional del Café (Anacafè). (1ra. Edición).
- Hipertextos del Área de Biología. **“Células Vegetal”**. (En Red) Disponible en:http://www.biologia.edu.ar/plantas/cell_vegetal.htm
- Horton, H. Robert, Coaut (2008). **“Principios de Bioquímica”**. Mexico, D.F. Editorial Pearson Edicaciòn. (4ta Edición).
- Jairo Restrepo R. **“caracterización física y química de los frutos del café”**. (En red) Disponible en: <http://www.cedeco.or.cr/documentos/Caracterizacion%20del%20cafe.pdf>
- McAuliffe, Joseph C; Aehle, Wolfgang; Whited, Gregory M; Ward, Donald E. **“Industrial Enzymes and Biocatalysis”**
- McGilvery, Robert W (1977). **“Conceptos Bioquímicos”**. (1ª Ed.). Barcelona, España. Editorial revertè S.A.
- Milton, S. (2003). **“Probabilidad y Estadística con aplicaciones para ingeniería y ciencias computacionales”**. (4ª ed.). México. Editorial Mc Graw- Hill.
- Ponce Noyola, Teresa y Pérez Avalos, Odilia (2002). **“Celulasas y xilanasas en la industria”**. Avances y Prespectivas Volumen 21. (En Red) Disponible en: <http://www.cinvestav.mx/Portals/0/Publicaciones%20y%20Noticias/Revistas/Avance%20y%20perspectiva/sepoct02/4%20CELULASAS.pdf>

- Rios, Alejandra (2009). **“Obtención de etanol a partir de la fermentación del mucílago del café”**. Guatemala de la Asunción. Universidad Rafael Landívar.
- Sánchez Castillo, Lic. Julio César (1998). **“Caficultura Moderna”. (5ª Ed.)**. Guatemala. Impresos Industriales S.A.
- The Free Dictionary, By Farlex; **“Cascajo”** (En red) Disponible en: <http://es.thefreedictionary.com/cascajo>
- Tippens, Paul E (1999). **“Física, Conceptos y aplicaciones”. (5ª Ed.)**. México. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V.
- Triola, Mario F (20014). **“Estadística”. (9ª Ed.)**. México, Pearson Education México, S.A. de CV.
- Umaña Martínez, Fernando (1997). **“Planificación del Laboratorio de Química Orgánica II. Guía de Prácticas de Identificación y Reacciones de: Fenoles, Carbohidratos, Aminoácidos, Péptidos, Proteínas y Polímeros”**. Guatemala. Universidad Rafael Landívar.
- Ulrike, Krauss y Andr, George (2002). **“Un sistema de mini beneficiado humedo para pequeños productores de café, en Perú”**. Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. (En Red) Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2030E/A2030E.PDF>
- Veale Thorpe, William; Geoffrey Bray, H y James, Sybil P (1976). **“Bioquímica”. (1ª Ed.)**. México. Editorial Continental, S.A, México.

Anexos

Anexo No. 1

Diagrama de Flujo Proceso de producción del café



Hoja Técnica

CELLULASE PLUS #407



DYADIC INTERNATIONAL, INC.
140 INTRACOASTAL POINT DRIVE, SUITE 404
JUPITER, FLORIDA 33477
(561) 743-8333
(561) 743-8343 fax
<http://www.dyadic.com>

Dyadic® Cellulase PLUS

PRODUCT #407

(For Consideration in Food, Brewing and Animal Feed Applications)

I. INTRODUCTION:

Dyadic Cellulase PLUS is a concentrated liquid acid cellulase (E.C. 3.2.1.4) enzyme produced by the fermentation of non-GMO *Trichoderma longibrachiatum* (formerly *Trichoderma reesei*). This is a non-GMO, non-hazardous, food grade, and Kosher certified product. Products of this origin are used world-wide as processing aids in food processing, baking, starch-gluten separation, alcohol fermentation and animal feed. Its high level of cellulase and beta-1,3-1,4-glucanase allows it to break down non-starch polysaccharides (NSP) including cellulose and beta-glucans in coffee beans, fruit cell walls, distiller's grains, grasses, silage and certain cereals such as wheat, barley and rye. It should be noted that without such enzyme process aids it is difficult to process materials containing complex plant carbohydrates.

II. PHYSICAL PROPERTIES:

Appearance: Medium to dark amber liquid (Color does not affect or reflect activity)
Odor: Slight fermentation odor
pH: 4.5 ± 0.5
Density: 1.15 – 1.25

Guaranteed Activity:	Cellulase	30,000 to 36,000 Units/g
Side Activity (typical):	Beta-Glucanase	7,500 to 10,000 Units/g
Additional Side Activities:	xylanase, pectinase, mannanase, xyloglucanase, laminarase, β-glucosidase, β-xylosidase, α-L-arabinofuranosidase, amylase, protease	

III. PRODUCT CAPABILITIES:

When run as directed in this bulletin, **Dyadic Cellulase PLUS** can be utilized to accomplish the following:

1. Decrease the viscosity of plant cell wall substances such as cellulose and β-glucans within fruit cell walls, coffee beans, distiller's grains, grasses and silage and other small complex grains such as wheat, barley, and rye.
2. Break down complex carbohydrates within plant cell walls to increase utilization of highly fibrous cellulosic based materials.
3. Improve extraction of high-value products such as juice, sugars and starch.
4. Include higher rates of lower quality, lower cost distiller's grains, grasses, silage, and grains to reduce total costs.

IV. PROCESSING CONDITIONS: GENERAL

The use of an enzyme concentrate requires special handling and measuring considerations due to its low usage rate compared to the total quantity of substrate treated:

1. Dilution of the concentrate by an enzyme distributor or end user at a rate of 1:5 to 1:10 if needed.
2. Inclusion of the diluted or concentrated enzyme product into the food, brewing, or animal feed process.
3. The recommended dosage of the **Dyadic Cellulase PLUS** is between 25 and 500 grams/metric ton of treated substrate. Please contact your Dyadic representative for additional dosage recommendations.
4. In analytical tests the maximal enzyme activity is displayed at temperature of 40°C to 57°C and pH of 4.2 to 6.5.

V. STORAGE CONDITIONS / ACTIVITY:

Dyadic Cellulase PLUS has less than a 10% activity loss after 4 months when stored at 25°C (77°F) out of direct sunlight and in the original, closed container. **Dyadic Cellulase PLUS** also has less than a 10% activity loss after 1 month when stored at 38°C (100°F).

VI. INACTIVATION:

Dyadic Cellulase PLUS can be inactivated by raising the pH above 8.0 or the temperature above 90°C or a combination of the two.

VII. PACKAGING:

Dyadic Cellulase PLUS is packaged in 25 kg, 240 kg, or 1200 kg containers.

VIII. TECHNICAL SERVICE:

Information covering specific applications for this product is available from your Dyadic International sales/technical representative. We will work with your technical personnel to resolve problems and optimize your process.

IX. SAFETY AND HANDLING:

For detailed information please refer to the **Dyadic Cellulase PLUS** MSDS available upon request.

Nothing disclosed is to be construed as a recommendation to use our products in violation of any patents. The information presented is believed to be accurate. However, said information and products are offered without warranty or guarantee, except as to the composition and purity stated herein since the ultimate conditions of use and variability of the materials treated is beyond our control. We recommend that the prospective user determine the suitability of our materials and suggestions before adopting them on a commercial scale. The goods described herein are sold "as is" and "with all faults". The seller specifically disclaims all warranties in connection with the sale of the goods, both express and implied, including, without limitation, the warranties of merchantability and fitness for any particular purpose, as those terms are defined in the uniform commercial code of Florida. The seller shall not be liable for any incidental or consequential damages whatsoever.

#407/02-09

2 of 2

Anexo No. 3

Tabla No. 16

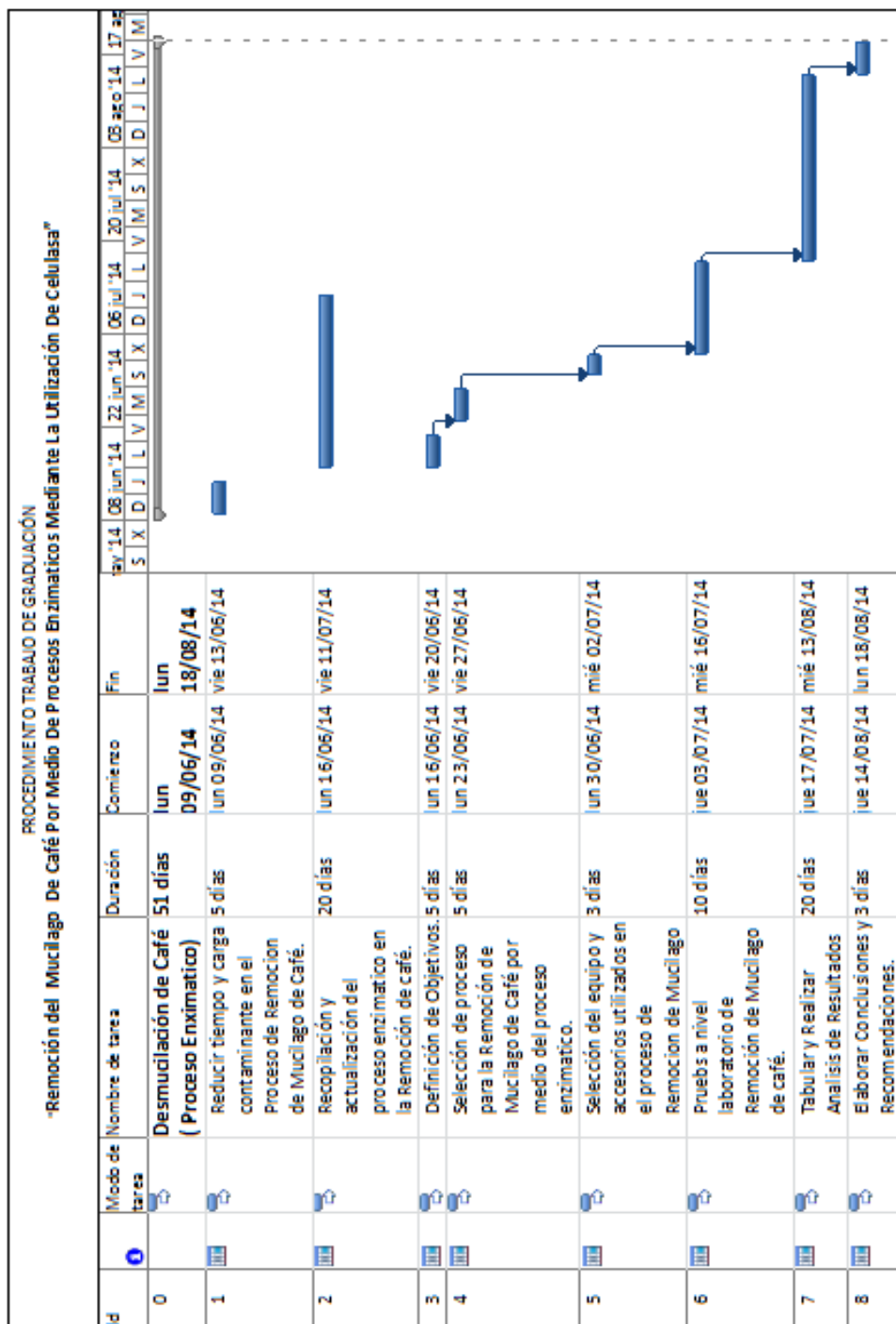
Uso y características contaminantes de los efluentes de agua generados en el proceso de beneficio de café.

Operación	Uso del agua	Características de los Efluentes
Recibo y Clasificación	Como medio de transporte y clasificación de café maduro.	Suciedad de frutos y componentes disueltos de granos maltratados por el transporte.
Despulpado y Clasificación	Como agente de transporte y separación de la pulpa del café maduro, y clasificación de café despulpado.	Más del 50% de la carga contaminante generada en todo el proceso. Descarga mínima de 3 Kg. de DQO por quintal de café oro, depende del proceso.
Lavado y Clasificación	Eliminación del mucilago según tipo de remoción (natural, mecánico o químico).	Aporta aproximadamente 3.4 Kg. de DQO por quintal de café oro en forma de sólidos suspendidos y materia disuelta en agua.
Transporte	Transporte del café a secado.	Minima contaminación de las aguas que se utilizan en esta operación.

Fuente: Centro Guatemalteco de Producción más Limpia (1994)

Anexo No. 4.

Diagrama de Gantt: Procedimiento Trabajo de Graduación "Remoción del Mucílago De Café Por Medio De Procesos Enzimaticos Mediante La Utilización De Celulasa"



Anexo No. 5.

Los pasos en que se realizó que se siguieron para el proceso de desmucilación, por medio de proceso enzimático se muestra a continuación:

1. Análisis inicial del cultivo del café:

Se analizó el grano de café el cual se debe de encontrar en fruto de café cereza con el grado de maduración adecuado (Con el fin de minimizar la fermentación natural del fruto) y así determinar las condiciones iniciales del sustrato y proceso (Fig. No. 6)

Figura No. 6: Café cereza, arábigo.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

2. Despulpado de café:

Luego de seleccionar el fruto de café que se encontrara en condiciones óptimas, se procedió a realizar el despulpado de forma manual. Al momento de realizar este proceso se debió contar con las condiciones de operación listas, con el fin de disminuir la fermentación natural. (Fig No. 7)

Figura No. 7: Despulpado manual del café.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

3. Análisis inicial de la enzima celulasa:

Se analizaron las condiciones iniciales de la enzima (catalizador de la reacción) siguiendo las especificaciones del fabricante. Se verificó que el pH se encontrara en 4.5 ± 0.005 .

Se fabricó una solución con concentración de 500ppm, debido a que cada corrida se realizó con media libra de café, la solución debió de estar conformada por 0.34 gr. de enzima en 10ml de agua. (fig. No. 8).

Figura No. 8: Enzima Celulasa.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

4. Preparación de la muestra:

- a. Se elaboró la solución de enzima Celulasas (Cellulase Plus -407) para media libra de café previamente despulpado (Fig. No. 9)

Temperatura 1 (12°C): prepara solución de 500ppm por tonelada de café. Para media libra de café se realizó una solución de 0.34gr de enzima en 10ml de agua.

Temperatura 2 (24°C): prepara solución de 500ppm por tonelada de café. Para media libra de café se realizó una solución de 0.34gr de enzima en 10ml de agua.

Temperatura 3 (35°C): prepara solución de 500ppm por tonelada de café. Para media libra de café se realizó una solución de 0.34gr de enzima en 10ml de agua.

Figura No. 9: Solución de enzima Celulasa.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

- b. Se mezcló perfectamente la enzima celulasa con el café recién despulpado. 10ml de solución de enzima por media libra de café.

Figura No. 10: Café despulpado con la solución de la enzima.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

5. Verificar condiciones de operación.

Se analizó la eficacia y la velocidad de reacción de remoción del mucílago, por medio de la validación de las condiciones iniciales de operación pH y temperatura (Fig. No. 11).

Temperatura 1 (12°C): pH 6 ± 0.005 .

Temperatura 2 (24°C): pH 6 ± 0.005

Temperatura 3 (35°C): pH 6 ± 0.005

Figura No. 11 : Medición de ph inicial de las muestras.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

Cada 15 min se tomó el pH de la muestra hasta que cambio a un pH final de 4, ya que este indico que el mucílago de café fue eliminado del grano y de la misma manera de determino el tiempo de reacción del proceso enzimático.

6. Lavado de Muestra:

Se realizó el lavado de la muestra con 2 L de agua al finalizar el tiempo de reacción de acuerdo con cada experimento, se efectuó con el fin de remover los residuos de mucílago de café ya hidrolizado.

Se conservaron 20ml de agua miel (agua de lavado) con el que se realizó el análisis de azúcares reductores por medio de titulación, y se descartó el resto del agua de lavado.

7. Análisis de la muestra mediante titulación:

La muestra tomada del lavado se analizó por medio de titulación, utilizando reactivo de Fehling, obteniendo la concentración de azúcares reductores disponibles en la muestra, siguiendo los pasos que se muestran a continuación:

7.1. Preparación de reactivo de Fehling.

El reactivo de Fehling es utilizado para determinar los azúcares reductores presentes en una muestra determinada. El reactivo de Fehling es compuesto de una mezcla de dos soluciones (solución cúprica A y sódica B), la forma en que se realizaron se muestra a continuación:

7.1.1. Preparación solución cúprica (A).

La solución estaba compuesta de 17.5g de Sulfato de cobre cristalizado diluido en 500ml de agua destilada. En la figura No. 12, se muestra la solución cúprica (A), así como también el sulfato de cobre cristalizado utilizado.

Figura No. 12: Solución Cúprica de Licor de Fehling, y los reactivos que la forman.



Sulfato de cobre cristalizado

Solución Cúprica de Licor de Fehling.

Fuente: Elaboración Propia (2015)

7.1.2. Preparación solución sódica (B).

La solución estaba compuesta de 75g de Sal de Seignette (Tartrato mixto de Potasio y Sodio), 1.5ml de solución de Hidroxido de Sodio 40%, los cuales se diluyeron en 500ml de agua destilada. En la figura No. 13, se muestra solución sódica (B) formada, así como también los reactivos utilizados para formarla.

Figura No. 13: Solución Sódica de Licor de Fehling, y los reactivos que la forman.



Hidroxido de Sodio al 40% (NaOH) y Sal de Seignette (Tartrato mixto de Potasio y Sodio)

Solución Sódica de Licor de Fehling

Fuente: Elaboración Propia (2015)

7.1.3. Formación de Licor de Fehling.

Ya que las dos soluciones A y B se tuvieron listas, se realizó el licor de Fehling, con 5ml de solución cúprica (A), 5ml de solución sódica (B) y 50 ml de agua destilada. En la figura 14, se muestra el licor de Fehling, así como también las soluciones A y B.

Figura No. 14: Licor de Fehling, y las soluciones A y B.



Solución Cúprica (A) y Sódica (B)

Licor de Fehling

Fuente: Elaboración Propia (2015)

7.2. Determinación del Título del Licor de Fehling.

Para determinar el título del Licor de Fehling, se realizó una solución de glucosa (2gr de glucosa en 500ml de agua). Luego esta solución se colocó en una bureta de 50ml, para llevar a cabo la titulación.

Se calentó a ebullición (en una estufa cerámica) el Licor de Fehling, agitando constantemente con ayuda de magnetos. Se dejó caer la solución azucarada de glucosa gota a gota manteniendo el licor de Fehling en ebullición y agitación, para así evitar la formación de un precipitado coloidal amarillo de óxido cuproso.

El proceso de titulación llegó a su final, al momento en que el licor de Fehling sea completamente incoloro. Para facilitar la determinación del punto final de la titulación, se agregó una gota de Azul de Metileno como reactivo indicador. El indicador es reducido y decolorado por los azúcares reductores cuando todo el cobre es precipitado. En este momento se determinaron los gastos de Glucosa (G). La determinación del Título y fórmula utilizada, se muestra en el Anexo No. 8 (pág.93).

7.3. Determinación del azúcar reductores de la muestra de agua miel.

Ya que se obtuvo el Título se procedió a la determinación sobre el agua miel (agua del lavado del proceso). Debido a que el color del agua miel obtenida es amarillo intenso, se realizaron dos diluciones de 100ml cada una (100ml de agua destilada por 20ml de agua miel). En la Figura No. 14, se muestra la dilución formada de agua miel para la titulación.

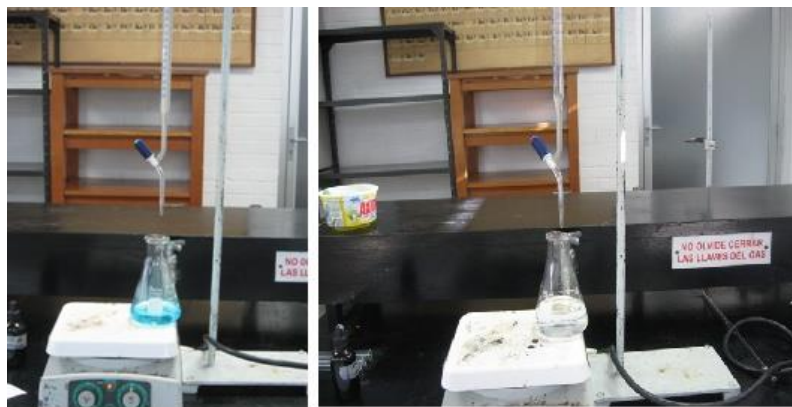
Figura No. 15: Dilución de agua miel.



Fuente: Elaboración Propia (2015)

Ya que el color de solución de agua miel fue decolorada por dilución, se procedió de igual forma que la determinación del título con la variante que en la bureta ahora es la solución de agua miel. En la Figura No. 15 se muestra la determinación del título de agua miel.

Figura No. 16: Determinación del título de agua miel obtenida en el proceso de desmucilación.



Inicio de la titulación de Agua miel del proceso de desmucilación.

Punto final de la titulación de Agua miel del proceso de desmucilación.

Fuente: Elaboración Propia (2015)

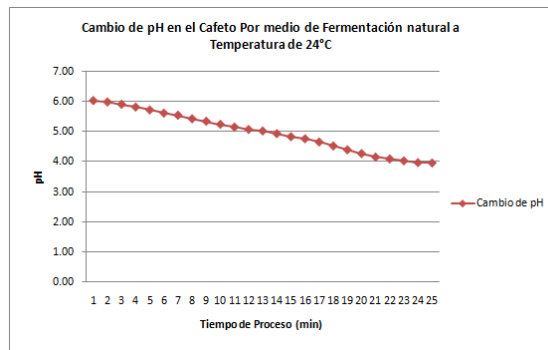
Anexo 6: Tablas de resultado de procesos

- **Proceso de desmucilación de café por fermentación natural.**

En la Tabla No. 16 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 3) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 4). En la tabla No. 17 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 24°C, por medio de fermentación natural.

Gráfica No. 3

Cambio de pH del proceso por medio de fermentación natural a temperatura de 24°C.



Gráfica No. 4

Tiempo total de operación por medio de fermentación natural a temperatura de 24°C.

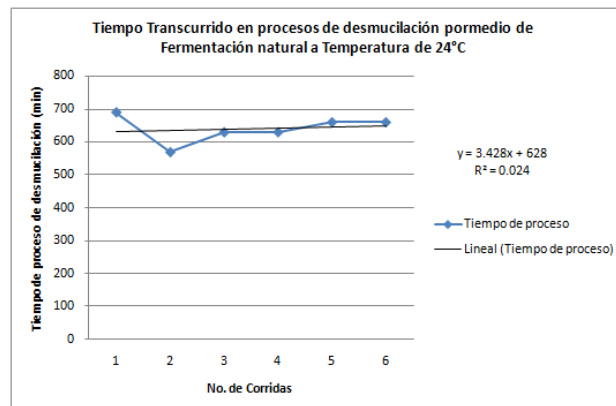


Tabla No. 17

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 24°C

No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	pH en el transcurso del fermentación natural																				Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación					
						TIEMPO DE OPERACIÓN DE FERMENTACIÓN NATURAL (min) ±0.005																											
						30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420	450	480	510	540	570	600				630	660	690	720	
1	24 °C	0	200	0.50	6.65	6.51	6.48	6.38	6.24	6.12	6.04	5.91	5.73	5.44	5.36	5.24	5.22	5.09	5.00	4.93	4.81	4.65	4.49	4.41	4.32	4.24	4.18	4.05	3.97	690 ±0.005	640 ±0.005	40.99 ±0.005	
2	24 °C	0	200	0.50	5.50	5.48	5.31	5.30	5.24	5.16	5.11	5.09	5.06	5.01	4.97	4.89	4.81	4.68	4.53	4.51	4.37	4.16	4.08	4.01	3.98	570 ±0.005							
3	24 °C	0	200	0.50	6.07	6.05	6.01	5.88	5.76	5.61	5.57	5.40	5.33	5.28	5.12	5.06	5.01	4.90	4.86	4.81	4.72	4.58	4.44	4.26	4.12	4.03	3.99	630 ±0.005					
4	24 °C	0	200	0.50	6.07	6.05	6.03	5.86	5.73	5.59	5.52	5.36	5.33	5.27	5.10	5.01	4.92	4.89	4.78	4.71	4.63	4.51	4.39	4.21	4.09	3.98	630 ±0.005						
5	24 °C	0	200	0.50	5.98	5.96	5.84	5.76	5.70	5.64	5.56	5.40	5.36	5.28	5.21	5.16	5.12	5.07	4.95	4.84	4.75	4.69	4.53	4.36	4.19	4.10	4.02	3.91	660 ±0.005				
6	24 °C	0	200	0.50	5.93	5.88	5.80	5.74	5.68	5.59	5.50	5.43	5.29	5.21	5.18	5.11	5.09	5.01	4.91	4.82	4.70	4.61	4.50	4.44	4.29	4.16	3.97	660 ±0.005					
					pH Promedio	6.03	5.99	5.91	5.82	5.73	5.62	5.55	5.43	5.35	5.25	5.16	5.08	5.03	4.94	4.84	4.77	4.66	4.53	4.41	4.28	4.17	4.10	4.04	3.98	3.97			
					Desviación Estándar	0.36903	0.33	0.38	0.35	0.32	0.30	0.30	0.27	0.22	0.14	0.13	0.12	0.15	0.15	0.17	0.15	0.16	0.19	0.17	0.16	0.13	0.10	0.10	0.10				

Tabla No. 18:

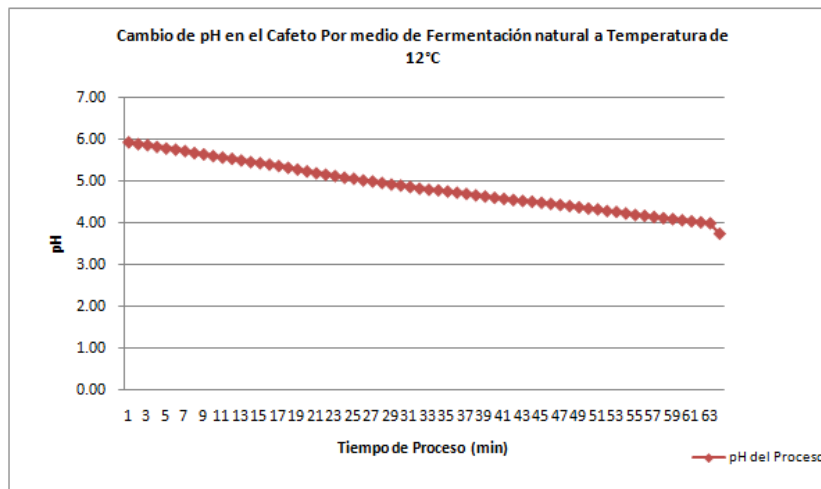
Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 24°C.

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR FERMENTACIÓN NATURAL												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G´) ±0.005	Título promedio (T)	gr azucares reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	24°C	0.50	246	0.06 ±0.01	2.42 ±0.01	0.50 ±0.01	4.85 ±0.01	9.07	1.81	3.03 ±0.01	4.75 ±0.01	0.11 ±0.01
2	24°C	0.50	257	0.06 ±0.01	2.32 ±0.01	0.50 ±0.01	4.64 ±0.01	9.07	1.81	2.82 ±0.01		
3	24°C	0.50	244	0.06 ±0.01	2.44 ±0.01	0.50 ±0.01	4.89 ±0.01	9.07	1.81	3.07 ±0.01		
4	24°C	0.50	246	0.06 ±0.01	2.42 ±0.01	0.50 ±0.01	4.85 ±0.01	9.07	1.81	3.03 ±0.01		
5	24°C	0.50	252	0.06 ±0.01	2.37 ±0.01	0.50 ±0.01	4.73 ±0.01	9.07	1.81	2.92 ±0.01		
6	24°C	0.50	260	0.06 ±0.01	2.29 ±0.01	0.50 ±0.01	4.58 ±0.01	9.07	1.81	2.77 ±0.01		

En la Tabla No. 19 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural a condiciones de operación de temperatura de 12°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 5) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 6). En la tabla No. 20 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 12°C, por medio de fermentación natural.

Gráfica No. 5

Cambio de pH del proceso por medio de fermentación natural a temperatura de 12°C.



Gráfica No. 6

Tiempo total de operación por medio de fermentación natural a temperatura de 12°C.

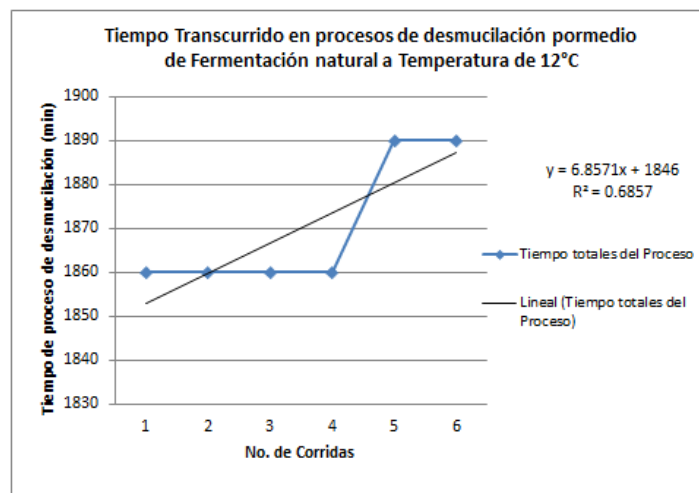


Tabla No. 19

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 12°C

		pH en el trascurso del fermentación natural																		
		TIEMPO DE OPERACIÓN DEL FERMENTACIÓN NATURAL (min) ±0.005																		
No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentra-ción de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420	450
1	12°C	0	200	0.50	5.98	5.93	5.91	5.87	5.82	5.80	5.76	5.73	5.70	5.68	5.65	5.63	5.60	5.57	5.50	5.46
2	12°C	0	200	0.50	5.92	5.89	5.86	5.82	5.79	5.74	5.73	5.70	5.67	5.62	5.57	5.52	5.49	5.43	5.39	5.36
3	12°C	0	200	0.50	5.97	5.92	5.88	5.84	5.81	5.79	5.74	5.70	5.68	5.62	5.61	5.59	5.52	5.50	5.47	5.43
4	12°C	0	200	0.50	5.93	5.91	5.90	5.84	5.81	5.78	5.75	5.66	5.61	5.58	5.55	5.52	5.49	5.45	5.42	5.41
5	12°C	0	200	0.50	5.98	5.92	5.89	5.85	5.79	5.79	5.76	5.71	5.69	5.64	5.62	5.58	5.55	5.52	5.51	5.48
6	12°C	0	200	0.50	5.93	5.88	5.86	5.83	5.80	5.76	5.72	5.67	5.63	5.59	5.52	5.50	5.45	5.40	5.42	5.37
Ph Promedio					5.95	5.91	5.88	5.84	5.80	5.78	5.74	5.70	5.66	5.62	5.59	5.56	5.52	5.48	5.45	5.42
Desviación Estandar					0.028	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05

Tabla No. 19 (1)

		pH en el trascurso del fermentación natural																									
		TIEMPO DE OPERACIÓN DEL FERMENTACIÓN NATURAL (min) ±0.005																									
No	480	510	540	570	600	630	660	690	720	750	780	810	840	870	900	930	960	990	1020	1050	1080	1110	1140	1170	1200	1230	
1	5.41	5.37	5.31	5.26	5.21	5.20	5.16	5.09	5.06	5.04	5.03	5.00	4.97	4.96	4.91	4.87	4.85	4.83	4.81	4.79	4.75	4.71	4.68	4.65	4.63	4.60	
2	5.34	5.29	5.27	5.23	5.16	5.13	5.10	5.08	5.07	5.04	5.01	4.99	4.95	4.93	4.90	4.87	4.82	4.81	4.80	4.76	4.73	4.71	4.66	4.61	4.59	4.54	
3	5.40	5.38	5.37	5.34	5.31	5.24	5.21	5.16	5.10	5.03	5.01	4.98	4.90	4.86	4.83	4.78	4.75	4.72	4.70	4.67	4.64	4.62	4.60	4.58	4.53	4.52	
4	5.36	5.31	5.26	5.19	5.16	5.13	5.09	5.05	5.02	4.98	4.97	4.93	4.90	4.86	4.82	4.80	4.79	4.80	4.75	4.72	4.69	4.67	4.64	4.61	4.59	4.56	
5	5.45	5.39	5.33	5.29	5.24	5.21	5.19	5.17	5.16	5.11	5.07	5.03	5.02	5.01	4.98	4.90	4.86	4.84	4.81	4.79	4.77	4.71	4.69	4.66	4.64	4.63	
6	5.34	5.31	5.26	5.22	5.18	5.15	5.11	5.08	5.07	5.03	4.99	4.94	4.91	4.88	4.85	4.83	4.82	4.81	4.77	4.74	4.71	4.66	4.65	4.62	4.60	4.57	
Ph Promedio		5.38	5.34	5.30	5.26	5.21	5.18	5.14	5.11	5.08	5.04	5.01	4.98	4.94	4.92	4.88	4.84	4.82	4.80	4.77	4.75	4.72	4.68	4.65	4.62	4.60	4.57
Desviación Estandar		0.04	0.04	0.04	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.03	0.04	0.05	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.04	0.03	0.03	0.04	0.04

Tabla No. 19 (2)

pH en el trascurso del fermentación natural																						Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estandar de tiempo de operación	
TEMPO DE OPERACIÓN DEL FERMENTACIÓN NATURAL (min) ±0.005																									
No	1260	1290	1320	1350	1380	1410	1440	1470	1500	1530	1560	1590	1620	1650	1680	1710	1740	1770	1800	1830	1860	1890			
1	4.59	4.57	4.54	4.52	4.49	4.47	4.43	4.40	4.39	4.34	4.31	4.29	4.24	4.21	4.18	4.15	4.12	4.09	4.06	4.04	4.01	3.97	1860 ±0.005	1870 ±0.005	15.49 ±0.005
2	4.52	4.50	4.48	4.45	4.41	4.37	4.34	4.31	4.29	4.26	4.25	4.23	4.21	4.19	4.16	4.15	4.11	4.09	4.04	4.03	4.00	1860 ±0.005			
3	4.50	4.47	4.44	4.42	4.40	4.37	4.35	4.32	4.31	4.26	4.25	4.23	4.21	4.20	4.19	4.14	4.11	4.05	4.07	4.03	4.02	3.10	1860 ±0.005		
4	4.54	4.52	4.50	4.47	4.44	4.42	4.39	4.38	4.35	4.30	4.27	4.22	4.19	4.17	4.15	4.11	4.10	4.08	4.05	4.02	3.99	1860 ±0.005			
5	4.60	4.59	4.55	4.52	4.51	4.48	4.46	4.42	4.40	4.36	4.33	4.27	4.21	4.19	4.14	4.13	4.11	4.10	4.07	4.05	4.03	4.00	1890 ±0.005		
6	4.53	4.52	4.51	4.48	4.45	4.43	4.40	4.36	4.33	4.31	4.29	4.24	4.20	4.18	4.15	4.13	4.12	4.09	4.06	4.04	4.01	3.98	1890 ±0.005		
Ph Promedio	4.55	4.53	4.50	4.48	4.45	4.42	4.40	4.37	4.35	4.31	4.28	4.25	4.21	4.19	4.16	4.14	4.11	4.08	4.06	4.04	4.01	3.76			
Desviación Estandar	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.44			

Tabla No. 19 (3)

Tabla No. 20

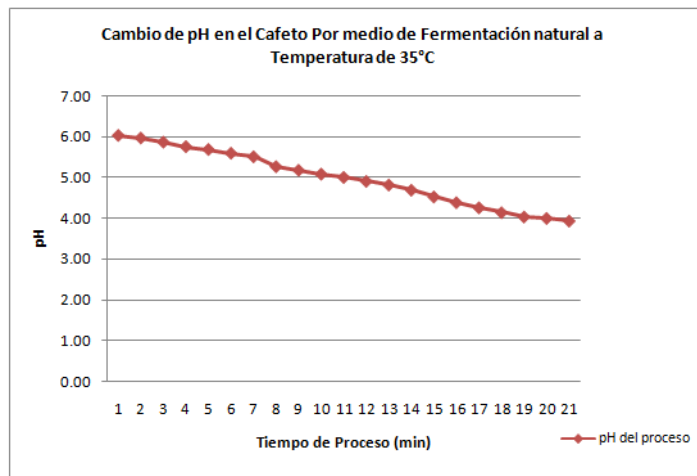
Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 12°C.

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR FERMENTACIÓN NATURAL												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G´) ±0.005	Titulo promedio (T)	gr azucares reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	12°C	0.50	250	0.060 ±0.01	2.384 ±0.01	0.50 ±0.01	4.768 ±0.01	9.07	1.81	2.954 ±0.01	4.355 ±0.01	0.302 ±0.01
2	12°C	0.50	295	0.060 ±0.01	2.020 ±0.01	0.50 ±0.01	4.041 ±0.01	9.07	1.81	2.226 ±0.01		
3	12°C	0.50	274	0.060 ±0.01	2.175 ±0.01	0.50 ±0.01	4.350 ±0.01	9.07	1.81	2.536 ±0.01		
4	12°C	0.50	278	0.060 ±0.01	2.144 ±0.01	0.50 ±0.01	4.288 ±0.01	9.07	1.81	2.473 ±0.01		
5	12°C	0.50	275	0.060 ±0.01	2.167 ±0.01	0.50 ±0.01	4.335 ±0.01	9.07	1.81	2.520 ±0.01		
6	12°C	0.50	274	0.060 ±0.01	2.175 ±0.01	0.50 ±0.01	4.350 ±0.01	9.07	1.81	2.536 ±0.01		

En la Tabla No. 21 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de fermentación natural a condiciones de operación de temperatura de 35°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 7) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 8). En la tabla No. 22 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 21°C, por medio de fermentación natural.

Gráfica No. 7

Cambio de pH del proceso por medio de fermentación natural a temperatura de 35°C.



Gráfica No. 8

Tiempo total de operación por medio de fermentación natural a temperatura de 35°C.

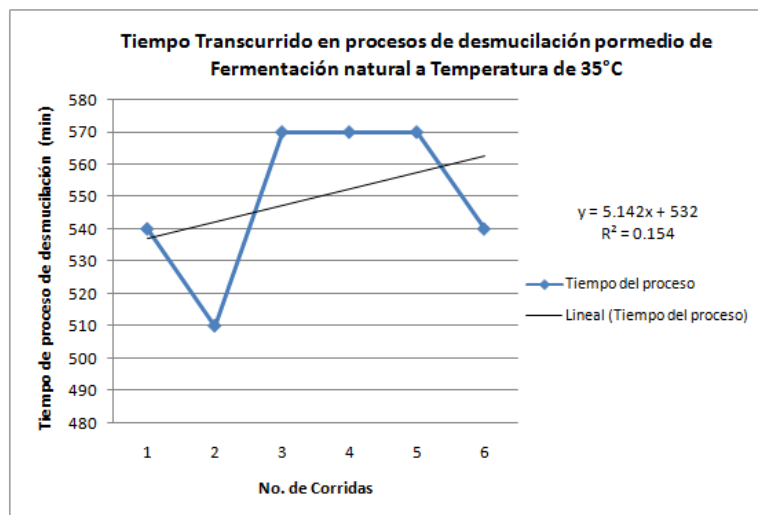


Tabla No. 21

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 35°C.

No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	pH en el transcurso del fermentación natural																				Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estandar de tiempo de operación	
						TIEMPO DE OPERACIÓN DE FERMENTACIÓN NATURAL (min) ±0.005																							
						30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	390	420	450	480	510	540	570	600				
1	35 °C	0	200	0.50	6.65	6.59	6.41	6.29	6.18	6.09	5.91	5.52	5.45	5.29	5.16	5.03	4.92	4.79	4.55	4.38	4.26	4.15	4.04	3.96	540 ±0.005	550 ±0.005	24.49 ±0.005		
2	35 °C	0	200	0.50	5.50	5.41	5.29	5.22	5.18	5.12	5.07	5.00	4.91	4.86	4.77	4.61	4.57	4.42	4.30	4.24	4.12	4.03	3.87	510 ±0.005					
3	35 °C	0	200	0.50	6.07	6.01	5.89	5.74	5.69	5.59	5.51	5.21	5.16	5.04	5.00	4.92	4.88	4.74	4.61	4.47	4.39	4.21	4.09	4.00	570 ±0.005				
4	35 °C	0	200	0.50	6.07	5.99	5.88	5.81	5.72	5.58	5.52	5.29	5.14	5.10	5.04	4.96	4.89	4.78	4.59	4.41	4.28	4.16	4.11	4.03	3.95			570 ±0.005	
5	35 °C	0	200	0.50	5.98	5.92	5.86	5.76	5.67	5.61	5.54	5.37	5.22	5.12	5.03	4.97	4.82	4.71	4.57	4.41	4.27	4.19	4.07	4.02	3.91			570 ±0.005	
6	35 °C	0	200	0.50	5.93	5.90	5.88	5.73	5.69	5.59	5.50	5.21	5.19	5.09	5.01	4.94	4.82	4.69	4.52	4.39	4.22	4.09	4.01	3.97	540 ±0.005				
Ph					Promedio	6.03	5.97	5.87	5.76	5.69	5.60	5.51	5.27	5.18	5.08	5.00	4.91	4.82	4.69	4.52	4.38	4.26	4.14	4.03	4.00	3.93			
Desviación Estandar						0.369	0.38	0.35	0.34	0.32	0.31	0.27	0.17	0.17	0.14	0.13	0.15	0.13	0.14	0.11	0.08	0.09	0.07	0.09	0.03	0.03			

Tabla No. 22

Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 35°C.

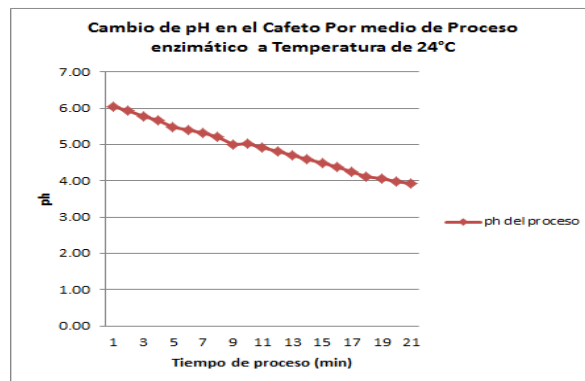
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR FERMENTACIÓN NATURAL												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G´) ±0.005	Título promedio (T)	gr azucares reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	35°C	0.50	261	0.06 ±0.01	2.28 ±0.01	0.50 ±0.01	4.57 ±0.01	9.07	1.81	2.75 ±0.01	4.37 ±0.01	0.14 ±0.01
2	35°C	0.50	274	0.06 ±0.01	2.18 ±0.01	0.50 ±0.01	4.35 ±0.01	9.07	1.81	2.54 ±0.01		
3	35°C	0.50	263	0.06 ±0.01	2.27 ±0.01	0.50 ±0.01	4.53 ±0.01	9.07	1.81	2.72 ±0.01		
4	35°C	0.50	278	0.06 ±0.01	2.14 ±0.01	0.50 ±0.01	4.29 ±0.01	9.07	1.81	2.47 ±0.01		
5	35°C	0.50	274	0.06 ±0.01	2.18 ±0.01	0.50 ±0.01	4.35 ±0.01	9.07	1.81	2.54 ±0.01		
6	35°C	0.50	287	0.06 ±0.01	2.08 ±0.01	0.50 ±0.01	4.15 ±0.01	9.07	1.81	2.34 ±0.01		

- **Proceso de desmucilación de café por procesos enzimáticos, por medio de la enzima Celulasa.**

En la Tabla No. 23 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, mediante la enzima Celulasa, a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 9) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 10). En la tabla No. 24 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 24°C, por medio de procesos enzimáticos.

Gráfica No. 9

Cambio de pH del proceso por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 24°C.



Gráfica No. 10

Tiempo total de operación por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 24°C.

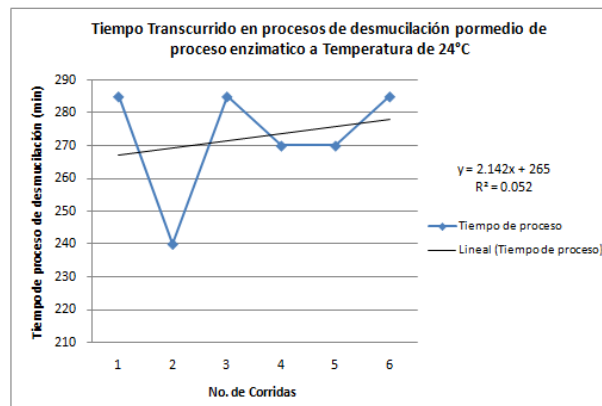


Tabla No. 23

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 24°C.

		pH en el transcurso del proceso enzimático																															
		TIEMPO DE OPERACIÓN DEL PROCESO ENZIMÁTICO (min) ±0.005																															
No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240	255	270	285	300	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación					
1	24 °C	0.34	10	0.50	6.65	6.50	6.43	6.32	6.23	6.12	6.05	6.01	5.97	5.75	5.54	5.36	5.11	5.01	4.87	4.66	4.43	4.25	4.09	4.02	3.99	285 ±0.005	273 ±0.005	17.54 ±0.005					
2	24 °C	0.34	10	0.50	5.50	5.46	5.33	5.27	5.19	5.11	5.03	4.96	4.81	4.75	4.66	4.51	4.38	4.22	4.16	4.07	4.02	3.91			240 ±0.005								
3	24 °C	0.34	10	0.50	6.07	5.95	5.80	5.70	5.54	5.44	5.29	5.12	5.09	4.99	4.84	4.71	4.65	4.59	4.48	4.36	4.24	4.14	4.09	4.01	3.89	285 ±0.005							
4	24 °C	0.34	10	0.50	6.07	5.92	5.72	5.70	5.55	5.46	5.32	5.23	5.11	5.02	4.92	4.83	4.78	4.56	4.42	4.38	4.21	4.11	4.03	3.98		270 ±0.005							
5	24 °C	0.34	10	0.50	5.98	5.84	5.70	5.46	5.24	5.19	5.11	4.99	5.01	4.82	4.74	4.70	4.68	4.57	4.46	4.37	4.20	4.12	4.03	3.89		270 ±0.005							
6	24 °C	0.34	10	0.50	5.93	5.92	5.74	5.51	5.22	5.18	5.10	5.04	4.00	4.91	4.84	4.79	4.71	4.65	4.51	4.41	4.34	4.19	4.09	4.02	3.91	285 ±0.005							
pH Promedio					6.03	5.93	5.79	5.66	5.50	5.42	5.32	5.23	5.00	5.04	4.92	4.82	4.72	4.60	4.48	4.38	4.24	4.12	4.07	3.98	3.93								
Desviación Estándar					0.369	0.33	0.36	0.36	0.39	0.37	0.38	0.40	0.63	0.36	0.32	0.29	0.24	0.25	0.23	0.19	0.14	0.12	0.03	0.06	0.05								

Tabla No. 24

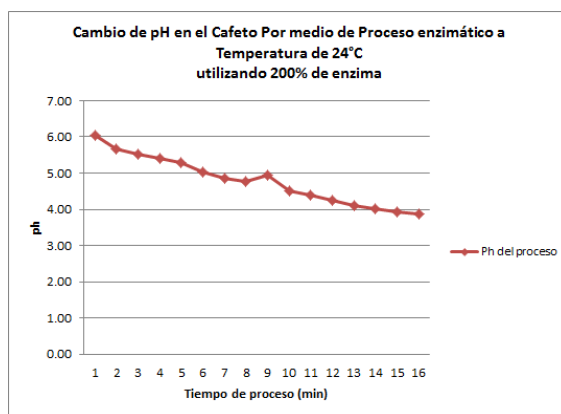
Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 24°C.

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR PROCESO ENZIMÁTICO												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G´) ±0.005	Titulo promedio (T)	gr azucares reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	24°C	0.50	185	0.06 ±0.01	3.22 ±0.01	0.50 ±0.01	6.44 ±0.01	9.07	1.81	4.63 ±0.01	6.564 ±0.01	0.142 ±0.01
2	24°C	0.50	176	0.06 ±0.01	3.39 ±0.01	0.50 ±0.01	6.77 ±0.01	9.07	1.81	4.96 ±0.01		
3	24°C	0.50	179	0.06 ±0.01	3.33 ±0.01	0.50 ±0.01	6.66 ±0.01	9.07	1.81	4.84 ±0.01		
4	24°C	0.50	182	0.06 ±0.01	3.27 ±0.01	0.50 ±0.01	6.55 ±0.01	9.07	1.81	4.74 ±0.01		
5	24°C	0.50	186	0.06 ±0.01	3.20 ±0.01	0.50 ±0.01	6.41 ±0.01	9.07	1.81	4.59 ±0.01		
6	24°C	0.50	182	0.06 ±0.01	3.27 ±0.01	0.50 ±0.01	6.55 ±0.01	9.07	1.81	4.74 ±0.01		

En la Tabla No. 25 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, mediante la enzima Celulasa, utilizando el doble de concentración de enzima (200%), a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 11) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 12). En la tabla No. 26 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 24°C, por medio de procesos enzimáticos.

Gráfica No. 11

Cambio de pH del proceso por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 24°C. (200% de enzima)



Gráfica No. 12

Tiempo total de operación por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 24°C (200%).

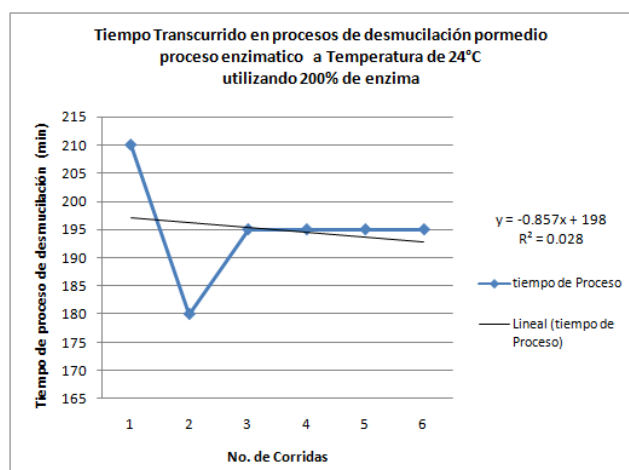


Tabla No. 25

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 24°C (200% enzima).

pH en el trascurso del proceso enzimático																							
TIEMPO DE OPERACIÓN DEL PROCESO ENZIMÁTICO (min) ±0.005																							
No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estandar de tiempo de operación
1	24 °C	0.68	20	0.50	6.65	6.38	6.12	5.99	5.90	5.69	5.00	4.91	4.82	4.69	4.50	4.38	4.17	4.06	4.01	3.88	210 ±0.005	195 ±0.005	9.49 ±0.005
2	24 °C	0.68	20	0.50	5.50	5.42	5.22	5.09	5.03	4.88	4.71	4.65	4.41	4.32	4.20	4.07	4.00				180 ±0.005		
3	24 °C	0.68	20	0.50	6.07	5.86	5.66	5.52	5.41	4.99	4.89	4.77	6.45	4.53	4.48	4.29	4.16	4.06	3.91		195 ±0.005		
4	24 °C	0.68	20	0.50	6.07	5.74	5.65	5.49	5.39	5.02	4.92	4.76	4.63	4.51	4.44	4.31	4.20	4.01	3.86		195 ±0.005		
5	24 °C	0.68	20	0.50	5.98	5.39	5.32	5.26	5.00	4.77	4.71	4.66	4.61	4.57	4.35	4.22	4.09	4.03	3.97		195 ±0.005		
6	24 °C	0.68	20	0.50	5.93	5.24	5.11	5.06	4.99	4.88	4.90	4.86	4.68	4.48	4.34	4.18	4.04	3.99			195 ±0.005		
Ph Promedio					6.03	5.67	5.51	5.40	5.29	5.04	4.86	4.77	4.93	4.52	4.39	4.24	4.11	4.03	3.94	3.88			
Desviación Estandar					0.369	0.417	0.373	0.347	0.357	0.332	0.119	0.104	0.755	0.121	0.112	0.109	0.079	0.031	0.066				

Tabla No. 26

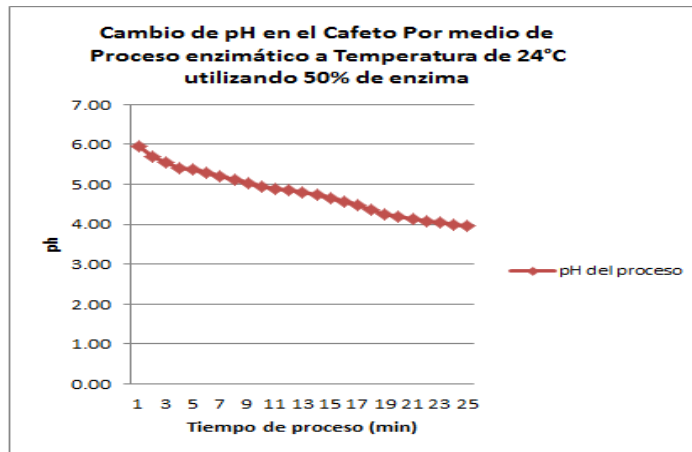
Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 24°C (200% enzima)

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR PROCESO ENZIMÁTICO (200% de enzima)												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G´) ±0.005	Titulo promedio (T)	gr azuceres reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	24°C	0.50	167	0.06 ±0.01	3.57 ±0.01	0.50 ±0.01	7.14 ±0.01	9.07	1.81	5.32 ±0.01	7.18 ±0.01	0.12 ±0.01
2	24°C	0.50	163	0.06 ±0.01	3.66 ±0.01	0.50 ±0.01	7.31 ±0.01	9.07	1.81	5.50 ±0.01		
3	24°C	0.50	166	0.06 ±0.01	3.59 ±0.01	0.50 ±0.01	7.18 ±0.01	9.07	1.81	5.37 ±0.01		
4	24°C	0.50	170	0.06 ±0.01	3.51 ±0.01	0.50 ±0.01	7.01 ±0.01	9.07	1.81	5.20 ±0.01		
5	24°C	0.50	166	0.06 ±0.01	3.59 ±0.01	0.50 ±0.01	7.18 ±0.01	9.07	1.81	5.37 ±0.01		
6	24°C	0.50	164	0.06 ±0.01	3.63 ±0.01	0.50 ±0.01	7.27 ±0.01	9.07	1.81	5.45 ±0.01		

En la Tabla No. 27 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, mediante la enzima Celulasa, utilizando la mitad de concentración de enzima (50%), a condiciones de operación de temperatura ambiente de 24°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 13) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 14). En la tabla No. 28 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 24°C, por medio de procesos enzimáticos.

Gráfica No. 13

Cambio de pH del proceso por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 24°C. (50% de enzima)



Gráfica No. 14

Tiempo total de operación por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 24°C (50%).

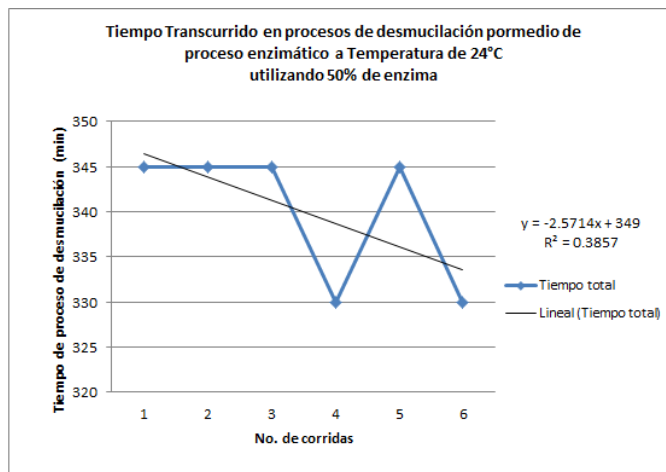


Tabla No. 27

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 24°C (50% enzima).

No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	pH en el transcurso del proceso enzimático																														Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estándar de tiempo de operación
						TIEMPO DE OPERACIÓN DEL PROCESO ENZIMÁTICO (min) ±0.005																																
						15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240	255	270	285	300	315	330	345	360									
1	24 °C	0.17	10	0.50	5.98	5.64	5.56	5.43	5.41	5.32	5.29	5.12	5.01	5.01	4.92	4.91	4.87	4.81	4.74	4.66	4.54	4.47	4.31	4.26	4.14	4.09	4.05	4.02	3.97	345 ±0.005	340 ±0.005	7.75 ±0.005						
2	24 °C	0.17	10	0.50	5.92	5.71	5.58	5.39	5.31	5.24	5.10	5.10	5.01	4.89	4.86	4.81	4.76	4.71	4.64	4.56	4.48	4.42	4.31	4.24	4.11	4.09	4.01	4.00	345 ±0.005									
3	24 °C	0.17	10	0.50	5.97	5.73	5.53	5.46	5.39	5.32	5.24	5.15	5.04	4.96	4.92	4.87	4.81	4.74	4.69	4.55	4.48	4.30	4.21	4.16	4.11	4.07	4.03	3.99	345 ±0.005									
4	24 °C	0.17	10	0.50	5.93	5.82	5.55	5.37	5.36	5.30	5.20	5.11	5.03	4.90	4.84	4.81	4.77	4.63	4.52	4.48	4.41	4.35	4.21	4.12	4.10	4.05	4.01	3.96	330 ±0.005									
5	24 °C	0.17	10	0.50	5.98	5.60	5.51	5.46	5.40	5.31	5.28	5.14	5.05	4.97	4.94	4.91	4.87	4.80	4.70	4.66	4.53	4.31	4.24	4.17	4.14	4.10	4.07	4.01	3.93	345 ±0.005								
6	24 °C	0.17	10	0.50	5.93	5.64	5.58	5.39	5.36	5.29	5.17	5.11	5.05	4.89	4.86	4.81	4.76	4.69	4.56	4.48	4.44	4.36	4.22	4.14	4.13	4.08	4.03	3.97	330 ±0.005									
					ph Promedio	5.95	5.69	5.55	5.42	5.37	5.30	5.21	5.12	5.03	4.94	4.89	4.85	4.81	4.73	4.64	4.57	4.48	4.37	4.25	4.18	4.12	4.08	4.03	3.99	3.95								
					Desviación Estándar	0.028	0.08	0.03	0.04	0.04	0.03	0.07	0.02	0.02	0.05	0.04	0.05	0.05	0.07	0.09	0.08	0.05	0.07	0.05	0.06	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03								

Tabla No. 28

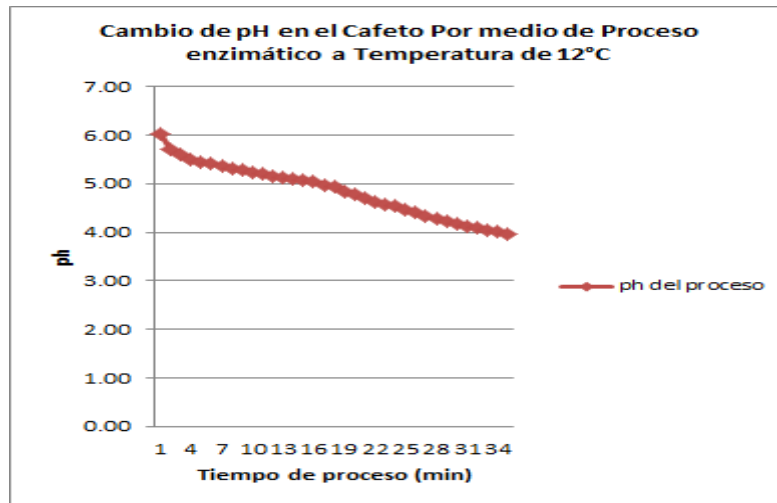
Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 24°C (50% enzima).

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR PROCESO ENZIMÁTICO (50% de enzima)												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G') ±0.005	Titulo promedio (T)	gr azuceres reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	24°C	0.50	209	0.06 ±0.01	2.85 ±0.01	0.50 ±0.01	5.70 ±0.01	9.07	1.81	3.89 ±0.01	5.69 ±0.01	0.22 ±0.01
2	24°C	0.50	198	0.06 ±0.01	3.01 ±0.01	0.50 ±0.01	6.02 ±0.01	9.07	1.81	4.21 ±0.01		
3	24°C	0.50	216	0.06 ±0.01	2.76 ±0.01	0.50 ±0.01	5.52 ±0.01	9.07	1.81	3.70 ±0.01		
4	24°C	0.50	213	0.06 ±0.01	2.80 ±0.01	0.50 ±0.01	5.60 ±0.01	9.07	1.81	3.78 ±0.01		
5	24°C	0.50	212	0.06 ±0.01	2.81 ±0.01	0.50 ±0.01	5.62 ±0.01	9.07	1.81	3.81 ±0.01		
6	24°C	0.50	210	0.06 ±0.01	2.84 ±0.01	0.50 ±0.01	5.68 ±0.01	9.07	1.81	3.86 ±0.01		

En la Tabla No. 29 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, mediante la enzima Celulasa, a condiciones de operación de temperatura de 12°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 15) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 16). En la tabla No. 30 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 12°C, por medio de procesos enzimáticos.

Gráfica No. 15

Cambio de pH del proceso por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 12°C.



Gráfica No. 16

Tiempo total de operación por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 12°C.

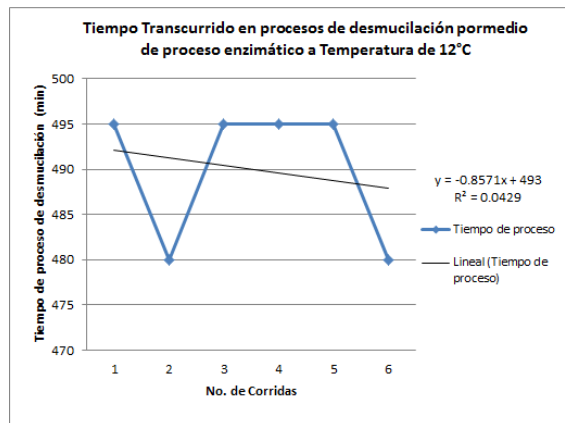


Tabla No. 29

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 12°C.

						pH en el trascurso del proceso enzimático																
						TIEMPO DE OPERACIÓN DEL PROCESO ENZIMÁTICO (min) ±0.005																
No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240	255
1	12°C	0.34	10	0.50	6.63	5.85	5.74	5.67	5.67	5.62	5.53	5.48	5.41	5.38	5.35	5.28	5.26	5.21	5.18	5.11	5.04	5.02
2	12°C	0.34	10	0.50	5.50	5.50	5.49	5.40	5.36	5.29	5.26	5.19	5.19	5.11	5.10	5.07	5.02	4.99	4.96	4.94	4.90	4.82
3	12°C	0.34	10	0.50	6.07	5.76	5.51	5.34	5.32	5.30	5.28	5.25	5.23	5.18	5.16	5.15	5.11	5.09	5.07	5.05	5.01	4.92
4	12°C	0.34	10	0.50	6.07	5.85	5.74	5.68	5.67	5.60	5.52	5.46	5.40	5.36	5.35	5.28	5.26	5.25	5.23	5.19	5.04	5.01
5	12°C	0.34	10	0.50	5.98	5.65	5.50	5.49	5.41	5.38	5.32	5.27	5.23	5.19	5.11	5.11	5.09	5.05	5.03	4.96	4.94	4.92
6	12°C	0.34	10	0.50	5.93	5.64	5.58	5.34	5.29	5.31	5.29	5.26	5.21	5.16	5.14	5.10	5.07	5.01	5.00	4.98	4.90	4.93
Ph Promedio					6.03	5.71	5.59	5.49	5.45	5.42	5.37	5.32	5.28	5.23	5.20	5.17	5.14	5.10	5.08	5.04	4.97	4.94
Desviación Estandar					0.362	0.14	0.12	0.16	0.17	0.15	0.12	0.12	0.10	0.11	0.12	0.09	0.10	0.11	0.11	0.10	0.07	0.07

Tabla No, 29 (1)

pH en el trascurso del proceso enzimático																																			
TIEMPO DE OPERACIÓN DEL PROCESO ENZIMÁTICO (min) ±0.005																																			
No.	270	285	300	315	330	345	360	375	390	405	420	435	450	465	480	495	510	Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estandar de tiempo de operación															
1	4.95	4.90	4.83	4.70	4.66	4.60	4.50	4.44	4.38	4.31	4.26	4.19	4.17	4.11	4.07	4.01	3.95	495 ±0.005	490 ±0.005	7.75 ±0.005															
2	4.69	4.66	4.61	4.55	4.51	4.49	4.40	4.34	4.27	4.17	4.11	4.06	4.01	4.01	3.99			480 ±0.005																	
3	4.83	4.73	4.68	4.62	4.57	4.52	4.46	4.38	4.32	4.29	4.21	4.18	4.13	4.09	4.04	4.01	3.96	495 ±0.005																	
4	4.92	4.88	4.81	4.72	4.69	4.60	4.55	4.50	4.47	4.40	4.33	4.28	4.21	4.17	4.10	4.02	3.99	495 ±0.005																	
5	4.86	4.71	4.66	4.60	4.54	4.51	4.48	4.42	4.31	4.28	4.17	4.15	4.11	4.08	4.02	4.00		495 ±0.005																	
6	4.83	4.74	4.66	4.61	4.53	4.52	4.43	4.37	4.30	4.26	4.22	4.19	4.10	4.07	4.03	3.99		480 ±0.005																	
Ph Promedio																	4.85	4.77	4.71	4.63	4.58	4.54	4.47	4.41	4.34	4.29	4.22	4.18	4.12	4.09	4.04	4.01	3.97		
Desviación Estandar																	0.09	0.10	0.09	0.06	0.07	0.05	0.05	0.06	0.07	0.07	0.08	0.07	0.07	0.05	0.04	0.01	0.02		

Tabla No, 29 (2)

Tabla No. 30

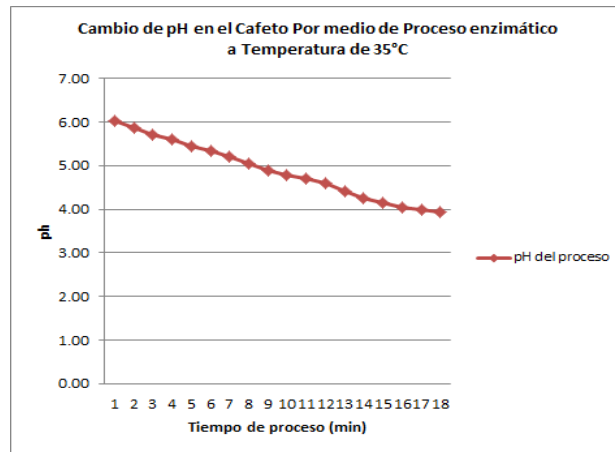
Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 12°C.

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR PROCESO ENZIMÁTICO												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G°) ±0.005	Titulo promedio (T)	gr azuceres reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	12°C	0.50	176	0.06 ±0.01	3.39 ±0.01	0.50 ±0.01	6.77 ±0.01	9.07	1.81	4.96 ±0.01	6.51 ±0.01	0.17 ±0.01
2	12°C	0.50	181	0.06 ±0.01	3.29 ±0.01	0.50 ±0.01	6.59 ±0.01	9.07	1.81	4.77 ±0.01		
3	12°C	0.50	184	0.06 ±0.01	3.24 ±0.01	0.50 ±0.01	6.48 ±0.01	9.07	1.81	4.66 ±0.01		
4	12°C	0.50	187	0.06 ±0.01	3.19 ±0.01	0.50 ±0.01	6.37 ±0.01	9.07	1.81	4.56 ±0.01		
5	12°C	0.50	186	0.06 ±0.01	3.20 ±0.01	0.50 ±0.01	6.41 ±0.01	9.07	1.81	4.59 ±0.01		
6	12°C	0.50	185	0.06 ±0.01	3.22 ±0.01	0.50 ±0.01	6.44 ±0.01	9.07	1.81	4.63 ±0.01		

En la Tabla No. 31 se presenta los resultados obtenidos el cambio de pH y el tiempo total de operación del proceso de desmucilación de café por medio de proceso enzimático, mediante la enzima Celulasa, a condiciones de operación de temperatura de 35°C; así como también se presentan las gráficas de cambio de pH (Gráfica No. 17) y la gráfica de tiempos de operación obtenidos como la línea de regresión lineal correspondiente (Gráfica No. 18). En la tabla No. 32 se presenta los resultados obtenidos de azúcares reductores presentes en el agua de lavado después del proceso de desmucilación a condiciones de operación de 35°C, por medio de procesos enzimáticos.

Gráfica No. 17

Cambio de pH del proceso por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 35°C.



Gráfica No. 18

Tiempo total de operación por medio de procesos enzimáticos, mediante la enzima Celulasa, a temperatura de 35°C.

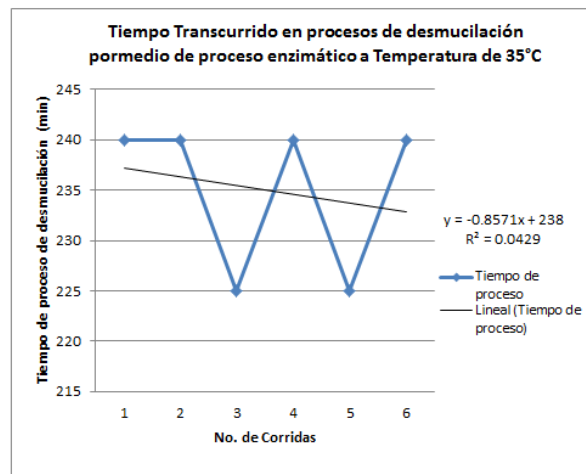


Tabla No. 31

Cambio de pH durante el proceso de desmucilación, así como el tiempo total del proceso a temperatura de 35°C.

No.	T de operación (°C) ±0.005	Concentración de Enzima (gr) ±0.005	Cantidad de agua para la fermentación natural (ml) ±0.005	peso de café húmedo (lb) ±0.005	pH inicial de la muestra ±0.005	pH en el trascurso del proceso enzimático															Tiempo total de operación (min)	Tiempo promedio de operación (min)	Desviación estandar de tiempo de operación		
						TIEMPO DE OPERACIÓN DEL PROCESO ENZIMÁTICO (min) ±0.005																			
						15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225				240	255
1	35 °C	0.34	10	0.50	6.65	6.36	6.27	6.06	5.97	5.84	5.71	5.31	5.03	4.95	4.88	4.73	4.46	4.28	4.16	4.09	4.03	3.97	240 ±0.005	235 ±0.005	7.75 ±0.005
2	35 °C	0.34	10	0.50	5.50	5.77	5.59	5.49	5.29	5.15	5.09	5.00	4.85	4.72	4.60	4.48	4.32	4.26	4.10	4.06	4.01		240 ±0.005		
3	35 °C	0.34	10	0.50	6.07	5.78	5.63	5.55	5.42	5.33	5.15	5.01	4.87	4.70	4.63	4.55	4.39	4.23	4.12	4.04	3.93		225 ±0.005		
4	35 °C	0.34	10	0.50	6.07	5.66	5.62	5.49	5.41	5.35	5.12	5.07	4.98	4.87	4.74	4.66	4.44	4.31	4.23	4.09	4.02	3.87	240 ±0.005		
5	35 °C	0.34	10	0.50	5.98	5.74	5.51	5.39	5.29	5.26	5.10	4.93	4.81	4.73	4.63	4.51	4.40	4.22	4.09	4.01	3.98		225 ±0.005		
6	35 °C	0.34	10	0.50	5.93	5.81	5.64	5.56	5.24	5.11	5.00	4.94	4.81	4.77	4.68	4.64	4.51	4.28	4.12	4.03	4.01	3.96	240 ±0.005		
					Ph Promedio	6.03	5.85	5.71	5.59	5.44	5.34	5.20	5.04	4.89	4.79	4.69	4.60	4.42	4.26	4.14	4.05	4.00	3.93		
					Desviación Estandar	0.369	0.253	0.278	0.238	0.271	0.263	0.257	0.140	0.092	0.099	0.104	0.097	0.065	0.034	0.052	0.033	0.037	0.055		

Tabla No. 32

Determinación de los azúcares reductores presentes en agua de lavado del proceso de desmucilación a temperatura de 35°C.

DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES POR PROCESO ENZIMÁTICO												
No.	Temperatura de operación (±0.005)	peso de café humedo (lb) ±0.005	Gotas de agua miel (G´) ±0.005	Titulo promedio (T)	gr azucares reductores / L de agua miel	Litros de agua miel obtenidos (ml)	gr azucar reductores	gr de mucilago inicial en el muestra ±0.005	gr de azucar inicial en el muestra ±0.005	aumento de azucar reductor en la muestra	gr azucar reductores promedios	Desviacion estandar gr azucar reductores
1	35°C	0.50	172	0.06 ±0.01	3.47 ±0.01	0.50 ±0.01	6.93 ±0.01	9.07	1.81	5.12 ±0.01	6.97 ±0.01	0.17 ±0.01
2	35°C	0.50	170	0.06 ±0.01	3.51 ±0.01	0.50 ±0.01	7.01 ±0.01	9.07	1.81	5.20 ±0.01		
3	35°C	0.50	178	0.06 ±0.01	3.35 ±0.01	0.50 ±0.01	6.70 ±0.01	9.07	1.81	4.88 ±0.01		
4	35°C	0.50	168	0.06 ±0.01	3.55 ±0.01	0.50 ±0.01	7.10 ±0.01	9.07	1.81	5.28 ±0.01		
5	35°C	0.50	169	0.06 ±0.01	3.53 ±0.01	0.50 ±0.01	7.05 ±0.01	9.07	1.81	5.24 ±0.01		
6	35°C	0.50	170	0.06 ±0.01	3.51 ±0.01	0.50 ±0.01	7.01 ±0.01	9.07	1.81	5.20 ±0.01		

Anexo 7: determinación de Titulo (Solución de Glucosa)

Tabla No. 33:

Tabla No. 33:
Determinación de Titulo
(Solución de Glucosa)

DETERMINACIÓN DE TITULO				
No. De Corridas	No. De gotas de glucosa (G) ±0.02	Determinación de título (t)	Título promedio (T)	Desviación estandar del título
1	30	0.06 ±0.01	0.06 ±0.01	0.01 ±0.01
2	31	0.06 ±0.01		
3	25	0.05 ±0.01		
4	29	0.06 ±0.01		
5	34	0.07 ±0.01		
6	30	0.06 ±0.01		

Ecuación No. 2: Determinación de Titulo

$$T (g) = \frac{2 g (glucosa) * ml Reactivo de Fehling gastados}{500 ml (Solución Glucosa)}$$

Fuente: Cátedra de Química Orgánica (En red)

Ecuación No. 3: Determinación de gr de Azúcares Reductores por Reactivo de Fehling

$$Azúcares Reductores (g) = \frac{T (g) * 100 ml (Solución de Glucosa)}{Reactivo de Fehling (ml)}$$

Fuente: Cátedra de Química Orgánica (En red)

Anexo No. 8

En la figura No. 17 se muestra el cambio físico que sufre el grano de café en el proceso de desmucilación.

Figura No. 17: Cambio físico del grano de café en el proceso de desmucilación



Fuente: Elaboración Propia (2015)