

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**“EXTRACCIÓN DE MUCILAGO, AZÚCARES, Y TANINOS
DE LA PULPA DEL CAFÉ Y PRODUCCIÓN DE ÁCIDO ACÉTICO
COMERCIAL A PARTIR DE LAS MIELES DEL CAFÉ”**

Seminario de Investigación

Presentado por

Ana Lucía Samayoa Toledo
Brizna Larisa Borrayo Herrera
Alejandra Guadalupe Pérez Solares
María de los Ángeles Morataya Sazo
Luis Fernando Montenegro Álvarez

Para optar al título de
Químicos Farmacéuticos
Guatemala, Julio del 2014

INDICE

	Pág.
1. <i>Ámbito de la Investigación</i>	1
2. <i>Resumen</i>	2
3. <i>Antecedentes</i>	
3.1 Estructura institucional del sector cafetalero en Guatemala	3
3.2 Geografía y condiciones de producción del café en Guatemala	4
3.3 Cadena de Producción cafetalera en Guatemala	5
3.4 Caracterización del grano de café	19
3.5 Composición química de los subproductos del café	20
3.6 Riesgo ambiental del mal manejo de los subproductos del café	25
3.7 Usos comerciales de componentes químicos purificados a partir de subproductos del café	26
4. <i>Justificación</i>	28
5. <i>Objetivos</i>	
5.1 Objetivo General	29
5.2 Objetivos Específicos	29
6. <i>Materiales y Métodos</i>	
6.1 Universo de Trabajo	30
6.2 Muestra	30
6.3 Materiales	30
6.4 Métodos	33
6.5 Determinación de costos	40
6.6 Análisis Estadístico	40
7. <i>Resultados</i>	41
8. <i>Discusión de Resultados</i>	44
9. <i>Conclusiones</i>	48
10. <i>Recomendaciones</i>	49
11. <i>Referencias Bibliográficas</i>	50

12. Anexos

Anexo 1: Extracción, identificación, purificación y cuantificación de azúcares	54
Anexo 2: Extracción, identificación, purificación y cuantificación de taninos	59
Anexo 3: Extracción, identificación, purificación y cuantificación de mucilagos	61
Anexo 4: Extracción, identificación, purificación y cuantificación de ácido acético	63
Anexo 5: Costos	65
Anexo 6: Recuento de levaduras en Cámara de Neubauer y Cálculo de volumen de inóculo	67
Anexo 7: Fotografías de los procesos y muestras	68
Anexo 8: Regiones cafetaleras de Guatemala	74

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El café de Guatemala se conoce tanto localmente como de manera internacional por su calidad, pero de él solamente se ha podido explotar de forma comercial la semilla como tal. Es sabido que dentro del desecho del café, en el beneficiado, se obtienen grandes cantidades de material el cual, comúnmente es desechado debido a que no tiene ningún uso dentro de la industria cafetalera, y es utilizado ocasionalmente como abono que brinda elementos nutritivos a la planta de manera paulatina y no inmediata, así como la utilización en estado fresco, puede incurrir en afecciones al sistema reticular de la planta.

El proceso de beneficiado del café, tiende a producir desechos con potencial de materia contaminante y esta investigación pretendió darle un uso a todo el desecho del café y así disminuir la capacidad de contaminación del mismo, además de darle un valor agregado al material obtenido como subproducto del proceso de beneficiado del café para su uso a nivel industrial.

El principal objetivo fue la obtención de ácido acético a partir de la fermentación de las mieles del café, la obtención de azúcares y taninos a partir de la pulpa fresca y la purificación del mucilago obtenido por procesos mecánicos de remoción.

Dichos subproductos fueron cualificados y cuantificados asegurando que se cumplan las especificaciones establecidas en cuanto a calidad para que sean utilizados como materia prima en la industria.

Esta investigación tuvo lugar en los laboratorios del departamento de Farmacia Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, el Laboratorio de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Universidad de San Carlos de Guatemala y en el Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (ANALAB) de la Asociación Nacional del Café (ANALAB).

2. RESUMEN

Guatemala, siendo un país productor de café, tiende a generar grandes cantidades de desecho sólido que se forman a partir del beneficiado del mismo, produciendo gran contaminación para nuestro ambiente. Por tal motivo, en la presente investigación se extrajeron cuatro tipos de compuestos de los subproductos del proceso de beneficiado del café (azúcares, mucílago, taninos y ácido acético) para poder utilizarlos, posiblemente a nivel industrial, y así disminuir la contaminación ambiental que la pulpa y el “agua miel” representan.

La extracción de los componentes se realizó a partir de muestras recolectadas de fincas representativas de dos regiones generalizadas como tierra fría y caliente. Lo anterior con el fin de evaluar diferencias en el contenido de dichos metabolitos. Las muestras de tierra fría fueron procesadas en la Finca La Alameda, Unión Cantinil, Huehuetenango y en la Finca La Primavera, San Pedro Necta, Huehuetenango; y las muestras de tierra caliente fueron procesadas en la Cooperativa Nuevo Sendero, Nueva Santa Rosa, Santa Rosa y en la Finca La Ilusión y el Obraje, Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa.

Los azúcares, taninos y mucílago se extrajeron exitosamente de la pulpa del café aunque la cantidad de algunos productos extraídos fue menor al esperado y descrito en la literatura.

En cuanto a las muestras, los porcentajes de azúcares de tierra fría varían en un rango de 10.9 a 12.7% mientras que en tierra caliente se obtuvieron porcentajes en un rango de 10.5 a 15.4%. Todas las muestras de mucílago oscilan en un 21%, y los taninos obtenidos en tierra fría no superan el 0.2% en comparación con los de tierra caliente, que se muestran superiores al 1.5%. La cuantificación de la extracción de ácido acético a partir del “agua miel”, fue menor al 2%, por lo que a esta concentración dicho compuesto no se puede utilizar a nivel industrial.

El costo total de la investigación fue de Q 3,319.20 en cuanto a gastos de reactivos y materiales, siendo el proceso de extracción, identificación, cuantificación de impurezas y de azúcares, el más costoso.

Por lo tanto, tres subproductos del café (azúcares, taninos y mucílagos), cumplen con los parámetros de extractos vegetales para poder ser utilizados en futuras formulaciones farmacéuticas y/o cosméticas, tras realizar pruebas específicas de funcionalidad y estabilidad del producto final

3. ANTECEDENTES

En Guatemala, el café desempeña un papel crucial en la economía agrícola y en la dinámica del empleo en amplias regiones de la nación. El cultivo del café en Guatemala se desarrolló desde el siglo pasado y, desde entonces, se ha constituido en el principal cultivo del país, tanto por el valor de la producción como por la cantidad de divisas y empleo que genera. Por otra parte, Guatemala actualmente posee la más alta producción de café en el istmo centroamericano, posición que alcanzó desde 1985, cuando la producción salvadoreña inició su declive como resultado de la crisis sociopolítica que, desde 1979 hasta 1991, sufrió ese país (Roux & Camacho, 1992, p. 1).

El cultivo del café es fundamental en la historia del desarrollo de la economía guatemalteca, no solamente por el crecimiento económico al que se encuentra asociado, sino además por los efectos que tuvo sobre la población rural del país. La importancia de la dinámica económica introducida por el café en las áreas rurales guatemaltecas desde el siglo pasado, al igual que en el resto de Centroamérica, significó el surgimiento de la propiedad privada moderna y el abandono de formas de propiedad más tradicionales; así mismo, implicó una demanda extraordinaria de mano de obra que afectó la dinámica de la población en términos de migraciones y estructuración demográfica del espacio (Roux & Camacho, 1992, p. 1).

Actualmente el café representa, por sí solo, el 30-35% del valor total de las exportaciones de Guatemala y el 12% del PIB del país. En el 2008, Guatemala logró exportaciones de café oro y pergamino por USD 628.5 millones, presentando una tasa de crecimiento promedio de 15.1% anual y posicionándose como el quinto exportador a nivel mundial. Lo anterior, demuestra que el país tiene ventajas comparativas importantes y una calidad de grano capaz de competir fuertemente en los mercados internacionales (Ministerio de Economía[MINECO], 2009, p. 11).

3.1 Estructura institucional del sector cafetalero en Guatemala:

La importancia del sector cafetalero en Guatemala se expresa en la promulgación de la Ley del Café (*Decreto No. 19-69 del Congreso de la República de Guatemala*). Dicha ley reglamenta el funcionamiento de la Asociación Nacional del Café como ente de derecho público y carácter no lucrativo, cuya finalidad consiste en brindar apoyo al Estado en la protección de la economía nacional en lo que se refiere a la producción y comercialización del café, así como, promover la investigación y desarrollo de programas de diversificación agrícola.

La Asociación es dirigida por una Junta Directiva, en la que están representados integrantes de diferentes asociaciones y cooperativas de caficultores de todo el país, cuyo fin primordial es velar por los intereses del sector mediante la prestación de los servicios efectivos para lograr una caficultura sostenible, competitiva y de calidad (Asociación Nacional del Café [ANACAFÉ], 2012).



Figura No. 1: Edificio ANACAFÉ, zona 14. (ANACAFÉ, 2012)

3.2 Geografía y condiciones de producción del café en Guatemala:

La República de Guatemala tiene una extensión territorial de 108,889 Km². Por su extensión, Guatemala ocupa el puesto número 106 de los 247 países del mundo, el 15° del continente americano y el 3° en América Central, después de Nicaragua y Honduras (Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales [MARN], 2009, p. 39). Su territorio se divide administrativamente en 22 departamentos agrupados en 8 regiones: *Metropolitana* (Guatemala); *Norte* (Alta y Baja Verapaz); *Nororiente* (Zacapa, Chiquimula, Izabal y El Progreso); *Suroriente* (Santa Rosa, Jalapa y Jutiapa); *Central* (Escuintla, Chimaltenango y Sacatepéquez); *Suroccidente* (Sololá, San Marcos, Totonicapán, Quetzaltenango, Suchitepéquez y Retalhuleu); *Noroccidente* (Huehuetenango y Quiché) y *Petén* (El Petén) (Instituto Nacional de Estadística [INE], 2012, p.33).

A pesar de su reducida extensión territorial, Guatemala posee gran diversidad ecológica como resultado de su formación geológica, su posición entre mares y sus abruptos suelos altitudinales. Esa diversidad es el escenario de una geografía productiva en cuya formación y consolidación confluyen factores físicos, históricos, económicos y étnico culturales. La compleja articulación entre ellos, ha determinado extensas áreas de especialización productiva caracterizadas por ser el asiento de distintas estructuras socioeconómicas de organización de la producción y tiene un efecto directo sobre la caficultura (Roux & Camacho, 1992, p. 9).

Las zonas climatológicas en las cuales se encuentra el café son: *tropical seca, tropical húmeda, sub-tropical húmeda, sub-tropical muy húmeda, montano bajo húmeda y montano bajo muy húmeda* (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación [MAGA], 2001). Estas zonas corresponden a precipitaciones pluviales que van desde 1200 a 5000 mm anuales, en alturas adecuadamente productivas sobre el nivel del mar y con temperaturas de 16-28 °C.

La producción cafetalera se encuentra ampliamente distribuida en el país, y se desarrolla en 21 de los 22 departamentos, salvo Totonicapán, siendo las mayores áreas productoras los departamentos de *San Marcos, Santa Rosa, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Guatemala, Huehuetenango y Chimaltenango*. El café se produce en un 51.4% en la región VI (Suroccidente), y en un 17.3% en la región IV (Suroriente). La caficultura cubre un área cultivada de 385,000 hectáreas, con una población de 748 millones de cafetos, lo que ha permitido a Guatemala ser el quinto exportador a nivel mundial (MINECO, 2009, p. 11).

El cultivo también contribuye en la protección del medio ambiente, pues con 36.6 millones de árboles que se utilizan para dar sombra a los cafetos, se ha creado el mayor bosque artificial en el país, capaz de producir 21 millones de libras de oxígeno por día. Además, proporciona 1.7 millones de metros cúbicos de leña a nivel nacional por año, lo que impide que se destruyan más los preciados bosques naturales (ANACAFÉ, s.f.). (Ver Anexo No. 1)



Figura No. 2: Regiones cafetaleras de Guatemala, (ANACAFÉ, s.f.)

3.3 Cadena de producción cafetalera en Guatemala:

La cadena de producción cafetalera en Guatemala se caracteriza por su pluralidad. Es decir que, independientemente de tratarse de un solo cultivo, las formas y contenidos de la cadena son distintos de acuerdo a las condiciones particulares de ellas. En algunas regiones, como el

departamento de Huehuetenango, gran parte de la producción cafetalera está asegurada por pequeños productores, de los cuales un número muy significativo posee pequeños beneficios húmedos. En contraste, en Cobán, hay pocos beneficios húmedos y parte del café debe ser transportado fuera de la región para su tratamiento. En otras regiones, los beneficiadores compran directamente a los productores, mientras en zonas contiguas, son intermediarios minoristas los que proveen a los beneficios de café maduro y pergamino.

Como es bien sabido, los estándares de calidad son establecidos por el mercado y, ahora dentro de la creciente demanda de cafés especiales, Guatemala es reconocido como el principal país proveedor mundial de café de alta y consistente calidad. La calidad del grano se identifica básicamente a través de la *catación*, que permite determinar los atributos o defectos provocados durante el proceso de beneficiado, que necesitan ser identificados y corregidos oportunamente (Leal & Morales, 1991, p. 12).

3.3.1 Cosecha: Recolección manual de los frutos del café

El período total de cosecha del café se sitúa entre los meses de *septiembre y abril*, dependiendo de la altitud. De septiembre a diciembre se cosecha en las zonas bajas (hasta 1000 m.), de noviembre a enero en alturas intermedias (hasta 1400 m.) y de enero a abril se realiza la de mayor altura (más de 1400 m.). Durante la cosecha, los productores realizan al menos cuatro cortes, de los cuales en el primero y el último se concentran los granos con mayores problemas de calidad; en los cortes intermedios se cosecha solo grano maduro (Leal & Morales, 1991, p. 12).

Los productores interesados en producir café de calidad diferenciada deben realizar actividades con el objetivo de asegurar la calidad del café antes y durante la cosecha, planificando las labores de recolecta del café y aplicando buen manejo cultural (Asociación de cafés especiales de Nicaragua [ACEN], *et.al.* 2007, p. 8).

Como primer paso debe asignarse personal con capacidad y experiencia, para que se elabore y ejecute apropiadamente la actividad de cosecha del café fruta. Para realizar la planificación de la cosecha es recomendable tomar en cuenta:

- a. Tamaño de la finca: área y volumen de la producción promedio.

- b. Manejo agronómico de la finca.
- c. Variedad de café cultivada y estadios florales registrados.
- d. Influencia de factores climáticos en las etapas de floración y formación del fruto.
- e. Inspección de campo para valoración del estado general de la cosecha.
- f. Planificación topográfica de las áreas de cosecha.
- g. Cantidad de recolectores disponibles.
- h. Planificación del corte por área y cantidad de cosechadores.

Al igual que en toda actividad de beneficiado, la ejecución de la cosecha debe registrarse y para ello deben anotarse en un cuaderno los eventos y sus fechas. El documento de registro es competencia del personal responsable de la planificación. (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura[IICA], 2010, pp. 12-13)

- ***Proceso de maduración del fruto del café:***

Durante la fase final de la maduración ocurren transformaciones en los granos:

- Degradación de la clorofila,
- Síntesis de pigmentos,
- Reducción de compuestos fenólicos (disminución de astringencia), y
- Aumento de compuestos volátiles (aroma característico).

Lo anterior significa que sólo los frutos que alcanzan su plena madurez, llegan a su punto óptimo de calidad (Wintgens, 1994)

El fruto crece hasta alcanzar su madurez fisiológica, que es la condición en la que éste llega a su máximo contenido de materia seca. La respiración climatérica se inicia cuando los frutos alcanzan el máximo tamaño, razón por la cual aquellos en estado verde-amarillo tienen respuesta respiratoria (Marín, *et.al.* 2003, p. 209).



Figura No. 3: Granos de café en proceso de maduración, (IICA, 2010, p. 17)

- **Calidad del café según el grado de maduración del fruto:**

La siguiente figura ilustra, de modo general, los aspectos de calificación organoléptica del café oro, que marcan las diferencias entre el café maduro y aquel que no ha alcanzado el estado de maduración completa:

GRADO DE MADURACIÓN QUE DESCRIBE AL FRUTO DE CAFÉ		
<p>FRUTO "VERDE CELE" El grano en oro es revejido y mal formado, manchado o negro. Tiene la película plateada adherida y mayor porcentaje de bellotas que el sazón. El grano tostado es liso, de coloración amarillenta y parcialmente manchado.</p>	<p>FRUTO "VERDE SAZÓN" El grano en oro es regular, difícil de diferenciar del procedente del café maduro. La película plateada esta parcialmente adherida. El grano tostado es liso o rugoso, en proporciones variables. Su coloración es dispereja, parcialmente "Quakery".</p>	<p>FRUTO "MADURO" El grano oro tiene buen aspecto y coloración verde uniforme. La película plateada (espemodemo) se desprende fácilmente. El grano tostado tiene coloración uniforme. Es oscuro y rugoso cuando procede de zonas altas y más claro y liso si es de zonas lluviosas de menor altitud.</p>
ASPECTO Y COLORACIÓN DEL GRANO EN ORO TOSTADO		
<p>La taza es amarga o "Quakery" fácil de detectar en cualquier mezcla.</p>	<p>La taza es amarga, objetable si hay más de 10% mezclado con café de maduración normal</p>	<p>La taza es buena y tiene condiciones de aroma, cuerpo y acidez variables, según la zona de procedencia.</p>

Figura No. 4: Grados de madurez del fruto del café, (Cleves, 1995)

- **Operación de cosecha selectiva:**

Para preparar cafés de buena calidad es indispensable recoger únicamente las cerezas maduras cuyo exocarpio sea de color rojo (en la mayoría de las variedades), definido, puro y vivo (Wilbaux, 1964). El corte selectivo se realiza cortando individualmente los frutos de color rojo brillante, con lustre y que sean firmes al tacto. Los frutos verdes se dejan en el árbol para madurar, y las cerezas sobre-maduras se evitan (IICA, 2010, p. 17).

Se debe iniciar el registro de cada lote de café cosechado, identificando claramente el lugar y la finca de procedencia. Las anotaciones deben realizarse en un cuaderno especial de registro (bitácora de cosecha) que deberá ser utilizado por el personal responsable de la operación.

Se deben efectuar jornadas de capacitación, orientación y concientización dirigidas a los recolectores y personal responsable de la finca o unidad productiva. La cosecha se efectúa manualmente y, por ello, su ejecución depende de la conciencia del personal a

cargo de la misma. Todo se puede hacer si se desarrolla y mantienen una cultura respecto a la corta selectiva, el manejo y depósito temporal del café (IICA, 2010, p. 19).

3.3.2 Transporte del café fruta:

Para la actividad de transporte del café fruta, algunos requisitos importantes son:

- La estructura organizativa encargada del transporte del café, deberá prever la disponibilidad de los medios de transporte adecuados para acarrear el café fruta recién cosechado (medios robustos y dotados de contenedores).
- El personal responsable deberá garantizar que el vehículo para transporte de café fruta esté limpio y libre de olores extraños y sustancias contaminantes.
- El transporte del fruto de café hacia la central de beneficiado, deberá hacerse el mismo día de la recolección, procurando evitar la fermentación de los frutos.

3.3.3 Operación de recibo del fruto maduro en la planta de beneficiado:

Cada lote recibido debe ser identificado con un código que incluya la fecha de ingreso del café al beneficio. Los demás datos del lote formarán parte de la ficha de registro contemplando toda la información concerniente a la finca de procedencia, la fecha de cosecha, el número de sacos, calidad, etc. (ACEN, *et.al.* 2007, p. 14)

El café fruta es transportado hasta las instalaciones del beneficio húmedo en donde es necesario acumular un volumen de materia que permita la operación continua y fluida de la maquinaria (mínimo igual a la mitad del máximo volumen de fruta procesado) antes de iniciar el proceso de beneficiado. Para el procesamiento de café se aplican las normas de seguridad alimentaria reconocidas internacionalmente (IICA, 2010, p. 26).

- ***Remoción de piedras, palos y otros objetos:***

Durante la cosecha y el transporte del fruto del café, es posible que se introduzcan cuerpos extraños en la masa de café. Cuando estos objetos llegan hasta las máquinas despulpadoras, pueden causarles graves daños (desgarramiento de la camisa), por lo que es indispensable utilizar alternativas de equipo y/o estructuras que favorezcan su remoción.

Para ello, comúnmente los frutos del café son transportados por una corriente de agua a través de una canaleta. En el piso de la canaleta, hay una serie de compartimientos. La corriente de agua arrastra el café en fruta, pero las piedras y otros objetos más pesados se hunden en los compartimientos (IICA, 2010, p. 26).

3.3.4 Clasificación de los frutos del café:

La clasificación de los frutos del café debe realizarse antes de efectuar el despulpado. Consiste en la separación de frutos defectuosos (inmaduros, sobre-maduros, secos o infestados) y, de ser posible, se busca lograr la uniformidad de tamaño mediante la separación de frutos pequeños.

- ***Separación por flotación:***

La técnica más tradicional para clasificación es la inmersión de la masa de café fruta en agua para promover la flotación de una parte del café la cual es separada del resto. La inmersión se efectúa en un tanque lleno de agua en el cual los frutos flotantes son separados por arrastre superficial y se conducen para su proceso separado. La mayor parte del café se sumerge y es succionado para conducirse por una tubería de descarga aislada. Si se despulpan los flotes o vanos junto con el café de primera, se arruina el buen grano al dejarlo fermentar con una masa llena de pulpa y de frutos enfermos (Cleves, 1995).

- *Composición del fruto de café flotante en agua:* el café que flota está formado principalmente por dos clases de fruto: El llamado *bellota o fruto seco* (anormal, reseco y negro), que resulta principalmente del ataque de enfermedades o de una cosecha fuera de tiempo; y el *fruto vano* (color y tamaño normal), que es liviano por tener una parte de endospermo que crea una especie de cámara de aire que ocasiona su flotación.

- ***Clasificación por tamaño del fruto de café antes del despulpado:***

Al igual que toda producción agrícola, el café cosechado se compone mayoritariamente de frutos de tamaño similar y de una porción (menor al 20% de la cosecha) de tamaño inferior al de primera calidad. Para favorecer la graduación y ajuste de los pulperos, es

conveniente que el fruto sea uniformado por su tamaño. Pero la uniformidad de tamaño de los granos es aún más importante para lograr el secamiento uniforme del café (IICA, 2010, p. 36).

En el fruto del café plenamente maduro y desarrollado, el mucílago comprende el 40% de su volumen. Los frutos defectuosos (verdes y secos) carecen de mucílago y, por ello, son frutos más pequeños que la gran masa de café de primera calidad. Debido a lo anterior, una clasificación basada en el tamaño del fruto, produce la separación de los frutos inmaduros y secos.

3.3.5 Operación de despulpado de los frutos del café:

El despulpe es el proceso a través del cual al fruto maduro o cereza del café, se le remueve de manera mecánica la pulpa o pericarpio que lo envuelve. Generalmente se emplea una máquina conocida como despulpadora que funciona ejerciendo presión y fricción a la uva de café que es introducida en la misma (ACEN, *et.al.* 2007, p. 18).

La despulpadora consiste, esencialmente, en un cilindro giratorio, recubierto con una chapa (camisa) de cobre, estampada (con ponchaduras sobresalientes), y una pechera que puede ser fabricada de hule o metal. Los frutos de café caen sobre el cilindro en rotación, siendo arrastrados por su movimiento para confrontar la pechera contra la cual son estrujados y sometidos a un esfuerzo cortante (cizalla), de modo que las fuerzas de presión y fricción provocan el desprendimiento de la pulpa. La pulpa es atrapada por las ponchaduras de la camisa, mientras el grano es retenido por un cucharón o cuchilla.

El café en pergamino es aquel grano que está limpio del pericarpio o cáscara natural que lo envuelve. En este proceso los granos no deben sufrir ningún daño ni cambio físico, sino conservarse íntegro con su mucílago. La duración de este proceso en promedio no debe sobrepasar las 4 horas (Wilbaux, 1964).

Después del despulpado, la etapa siguiente en el proceso de beneficiado húmedo es la clasificación y remoción del mucílago (ACEN, *et.al.* 2007, p. 18).



Figura No. 5: Proceso de despulpado del grano de café, (IICA, 2010, p. 38)

3.3.6 Operación de clasificación del café pergamino:

El despulpado no es una operación totalmente eficaz, no todo el café se despulpa ni toda la pulpa es separada (únicamente 75% en rendimiento). Por ello, es preciso efectuar una operación de limpieza y clasificación a fin de obtener el café pergamino limpio, sin frutos, pulpa ni impurezas.

El sistema de clasificación está dispuesto de modo que se colocan al menos dos baterías de despulpadores, entre los cuales se intercala un equipo de clasificación. Este equipo puede ser una criba rotatoria (beneficiado tradicional), una zaranda y/o un canal de separación de materiales (pesados y livianos). El café maduro de mejor tamaño es despulpado en la primera batería y separado por la clasificación. A este segmento de la producción se le denomina “*primer pergamino*” y en él se concentra la mayor parte de la producción del café de mejor calidad (80%).

El café despulpado en la segunda batería (*segundo pergamino*), resulta del despulpe de los materiales separados por la clasificación del primer pergamino. En caso que el café se hubiese clasificado antes del despulpado, el segundo pergamino se compone de café de buena calidad pero de grano de pequeño tamaño (IICA, 2010, p. 53).

3.3.7 Aspectos relativos a la remoción del mucílago:

El mucílago (o mesocarpio) es una capa de tejidos translúcidos y de consistencia viscosa, que se halla firmemente adherido al grano de café. Queda al descubierto cuando el grano es despulpado y es indispensable su remoción para facilitar el proceso de deshidratación, secado y conservación de las características de calidad del café pergamino (IICA, 2010, p. 58).

En las condiciones actuales y considerando los avances tecnológicos, en el beneficiado húmedo se reconoce que el mucílago puede ser removido por dos métodos:

- ***Remoción mecánica del mucílago:***

Las investigaciones de desmucilaginado se iniciaron en CENICAFÉ en 1983 partiendo de las experiencias en Centroamérica con un proceso que combina la acción mecánica (agitación) con la actividad enzimática. En estudios posteriores se construyeron prototipos inicialmente operados por baches o tandas.

Con la tecnología DESLIM desarrollada en CENICAFÉ (DESmucilaginador, Lavador, LIMpiador), se logró dar origen al proceso de BECOLSUB (BeneficioECOLógico del Café y los SUBproductos) con el cual se enmarca el desmucilaginado mecánico, con sus propias ventajas técnicas en un contexto ecológico. El CENICAFÉ luego de desarrollar la tecnología del desmucilaginador, entregó gratuitamente la patente de las máquinas a seis particulares con experiencia en la construcción de este tipo de equipos (Oliveros & Roa, 1995, pp. 1-3).

- *Operación de las máquinas modernas para desmucilaginado mecánico:*

La remoción mecánica del mucílago procede mediante el friccionamiento del grano contra la superficie de un rotor y una lámina cóncava fija, dotada de perforaciones oblongas. El mucílago es forzado a pasar a través de las perforaciones de la lámina fija. El grano es forzado en flujo ascendente, ingresando por la base de la máquina.

El rotor cilíndrico tiene una primera sección con canales helicoidales para forzar el avance del café. Adelante tiene estrías circulares en relieve, con otras transversales que van formando espacios rectangulares. El eje del cilindro es hueco y conduce agua a presión que es inyectada a la masa de café a través de pequeñas perforaciones cuyo número aumenta en la sección final del cilindro para hacer más eficiente el lavado hacia la boca de salida del grano. El forro circular o camisa de lámina con perforaciones oblongas deja pasar el agua y el mucílago, pero no el café.

La eficacia del proceso de desmucilaginado mecánico es afectada principalmente por las siguientes variables:

- a. El diámetro y tipo de rotor
- b. La velocidad de rotación
- c. La viscosidad de la suspensión
- d. La cantidad de agua utilizada por unidad de producto
- e. La calidad del café en baba que entra en el equipo (IICA, 2010, pp. 58-59)



Figura No. 6: Proceso de desmucilaginado mecánico, (IICA, 2010, p. 59)

- ***Remoción del mucílago por medio de la fermentación natural:***

El café una vez despulpado es depositado en tanques de fermentación para obtener la fluidificación del mucílago mediante la acción de enzimas propias del grano y de microorganismos (fermentación natural del mucílago). Desde el punto de vista bioquímico, la fermentación del mucílago procede a través de una degradación de pectina y otras sustancias pécticas a ácido galacturónico; los azúcares se transforman primeramente a alcoholes y, si se prolonga en un medio aeróbico, a ácidos orgánicos (IICA, 2010, p. 67).

Cuando la capa mucilaginosa se ha degradado lo suficiente para que sus restos se desprendan fácilmente, se procede a un lavado con agua de los granos. Para completar esta operación hay que esperar el tiempo necesario que se requiera para terminar este proceso. El no completar correctamente esta etapa puede provocar problemas durante el proceso de secado.

- ***Determinación del punto de fermentación:***

El punteo es una técnica para determinar el momento de finalización de la fermentación del grano de café. Indica que el mucílago se ha desprendido completamente del grano y ha dejado libre al café pergamino. En Centroamérica existen dos formas para verificar el punto de fermento:

- ✓ *Método con la estaca:* Consiste en introducir verticalmente y hasta el fondo de la pila, una pieza de madera de sección cuadrangular o redonda dentro de la masa de café y retirarla en el mismo sentido; si las paredes del agujero formado no se desploman, es la indicación de que el café ya se puede lavar. Este muestreo se debe realizar en varios puntos de la pila (ACEN, *et.al.* 2007, p. 24).
- ✓ *Método manual:* Consiste en tomar con las manos un puñado de café, el cual deberá apretarse fuertemente. Si la muestra examinada es áspera y rechina con un sonido a *cascajo*, entonces la masa está lista para ser lavada con agua; de lo contrario, el proceso de fermentación aún no ha concluido.

Tanto para el método con la estaca como el método manual, es recomendable lavar una muestra representativa de la partida fermentada en una cubeta pequeña con agua. Lo anterior permite verificar que el lote está listo para la siguiente etapa: *el lavado*(ACEN, *et.al.* 2007, p. 24).



Figura No. 7: Piletas para fermentación natural del café, (IICA, 2010, p. 73)

3.3.8 *Operación de lavado del café fermentado:*

El lavado es una etapa del beneficiado húmedo donde se eliminan los restos de mucílago o miel degradada, así como los materiales disueltos durante la fermentación, para obtener un grano de café pergamino limpio (ACEN, *et.al.* 2007, p. 28).

Los beneficios que no dispongan de las instalaciones para realizar esta operación por separado, pueden realizarlo en las pilas o tanques de fermento. El agua se cambia dos, tres o más veces, dependiendo de la cantidad de mieles liberadas y se utilizan paletas de madera para mover el café y clasificarlo (ACEN, *et.al.* 2007, p. 28).

En los beneficios húmedos, donde se usa el *canal de clasificación de flujo continuo*, éstos normalmente tienen un ancho que oscila entre los 0.35 y los 0.38 metros. Su largo es variable, según la capacidad requerida, con un mínimo de 12 metros y un máximo de 30 metros. La altura de los canales oscila entre los 0.50 y 0.60 metros, con una pendiente de inclinación de 0.75-1%.

Estos *canales de correteo* son una excelente forma de clasificar los granos de café. Generalmente primero salen las natas, seguido de las pulpas, tercero sale el café de segunda y por último, el de primera, que son los granos más pesados que quedan en la parte trasera del canal.



Figura No. 8: Proceso de lavado del café fermentado, (IICA, 2010, p. 79)

3.3.9 Proceso de secado de café pergamino:

El secado es el proceso por el cual el grano de café pierde humedad. Es uno de los procesos más complicados que existen pues, después de eliminar el agua superficial del grano, hay que desaparecer la humedad interior del mismo. El contenido de humedad del café en pergamino deberá reducirse gradualmente respecto al tiempo y condiciones de almacenamiento(IICA, 2010, p. 81).

Normalmente después de la clasificación de los granos en el canal de correteo, el producto tiene una humedad de 55%. Sin embargo para fines de almacenamiento, trillado y comercialización, es necesario bajar su humedad y mantenerla en un rango comprendido entre 10% y 12%, esto evitará el ataque de hongos y hará que se conserven los atributos de calidad (IICA, 2010, p. 81).

El café puede secarse mediante los dos siguientes métodos:

- ***Natural o al sol:***

En este tipo de secado se utilizan patios de ladrillo o cemento, los cuales deberán mantenerse en buen estado, limpios y libres de tierra. Es preferible extender el café en los patios durante las primeras horas de la mañana, debido a que, si el patio está muy caliente, se corre el riesgo que los granos se pelen. Es recomendable que las capas de los granos extendidos no sobrepasen los 5 centímetros (2.5 pulgadas) de alto y se debe mover constantemente para tener un punto de secado parejo.

- ***En secadoras:***

Otro tipo de secado para bajar la humedad del grano es a través de secadoras mecánicas, las cuales mantienen en movimiento el producto y extraen la humedad. Estas máquinas con una corriente de aire forzado, aumentan la temperatura del grano bajando la humedad con intercambiadores de calor, que utilizan como fuente de energía la combustión de diesel o materiales de residuo vegetal, como la misma cascarilla de café, leña u otro material.

El secado también puede hacerse en cajas parihuela, de cedazo, toldo, zarán o en cama africana. En todos los casos es importante mover constantemente los granos de café para obtener un secado uniforme y así, disminuir el riesgo de presentar diferentes grados de humedad (ACEN, *et. al.* 2007, p. 32).



Figura No. 9: Procedimientos de secado de café pergamino, (IICA, 2010, p. 105)

El método más preciso para determinar la humedad del grano es con el “*Determinador de humedad*”. Este aparato mide la humedad del grano de forma rápida y exacta. No obstante existen otros métodos empíricos para determinar la humedad del café (ACEN, *et.al.* 2007, p. 34):

- **A la vista:** Consiste en tomar una muestra de café, se le quita el pergamino que lo protege y se analiza con la vista el color del grano. Si es verde azulado indica que está en el punto óptimo. Si el grano no presenta esta tonalidad y más bien es oscuro, quiere decir que se encuentra todavía muy húmedo y necesita más sol o calor
- **Con el diente:** se toma una muestra representativa de granos de café en pergamino, se pela para dejarlo en oro y se prensa con los dientes. Si se observa la marca del diente, significa que el café está en el punto; si el diente se hunde, el grano está muy húmedo; si en el grano no queda la marca del diente está reseco. El mismo principio aplica al método con martillo, en el cual la humedad del grano es determinada mediante golpes directos y su respuesta de marca, hundimiento o carácter quebradizo, respectivamente.
- **Con navaja o cuchillo:** los granos representativos de las diferentes partidas procesadas se colocan con la cara plana hacia abajo y se les realiza un corte al centro. Si al partir el grano de café los dos pedazos saltan hacia los lados, significa que tiene la humedad correcta; si los dos pedazos no brincan, el café está muy húmedo; si, por el contrario, el grano no se deja partir, es señal que está reseco.

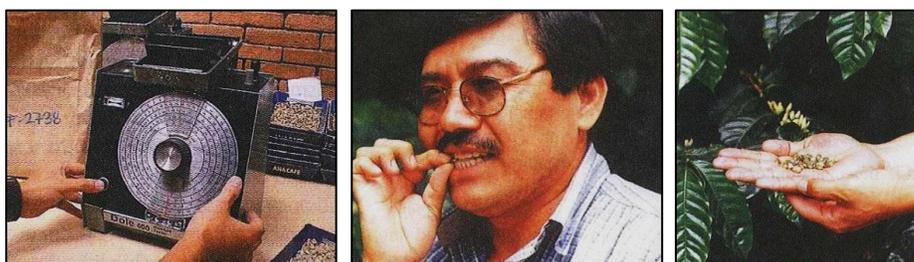


Figura No. 10: Métodos para determinación de la humedad del grano, (ANACAFÉ, s.f.)

3.3.10 Almacenamiento del grano seco:

La práctica de almacenamiento de granos de café pergamino constituye una de las labores más importantes para conservar el grano en buen estado. Esta práctica debe realizarse tomando en consideración las condiciones climáticas de las diferentes zonas cafetaleras de Centroamérica:

- La temperatura del ambiente
- La humedad relativa del ambiente

- La ventilación del local de almacenamiento (ya sea en silo, caja o saco).

Por ello, es necesario tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Para almacenar el grano, el punto ideal de humedad deberá oscilar entre 10-12%
- Garantizar que los sacos de café nunca estén en contacto directo con el piso de cemento, ni con las paredes de la bodega.
- Almacenar el café en sacos de yute o, en el peor de los casos, en sacos de polietileno bien limpios, de preferencia nuevos y en buen estado.
- Usar tarimas o tendidos de plástico, para mantener el café libre de humedad.
- Almacenar el café seco en un lugar ventilado y libre de olores que lo contaminen.
- Monitorear temperatura y humedad durante el almacenamiento.

(ACEN, *et.al.* 2007, p. 34).



Figura No. 11: Sistema de almacenamiento de café pergamino, (IICA, 2010, p. 131)

3.4 Caracterización del grano de café:

El grano de café es una semilla procedente del árbol de cafeto, perteneciente a la familia de las *Rubiáceas* y al género *Coffea*. Los cafetos cultivados en el mundo, a nivel industrial, son de las especies *Coffea arábica* y *Coffea canephora* (Clarke, 1985, p. 10)

- ***Coffea arábica*:** Especie cultivada en todo el mundo desde la antigüedad. Representa el 75% de la producción mundial de café y es el preferido entre los consumidores debido a su particular fineza y aroma. El cultivo del *arábica* es muy delicado y poco productivo; necesita de climas frescos, por lo que está reservado a tierras altas montañosas entre 900 y 2000 msnm. Originario de Etiopía, hoy en día se produce en países como Brasil, Colombia, Guatemala, Cuba, México, Venezuela, Puerto Rico, Jamaica, entre otros.

- ***Coffea canephora***: Especie cultivada en zonas llanas de baja altitud. Soporta altas temperaturas, fuertes lluvias y ataque de enfermedades, debido a que es un arbusto de follaje resistente, con frutos redondos pequeños productores de una bebida poco aromática, ácida y rica en cafeína. Originario de la República Democrática del Congo, hoy en día se cultiva no sólo en África, sino también en India, Indonesia, Filipinas, Brasil y Colombia.

El café se desarrolla en el curso de 32 semanas siguientes a la aparición de la flor del cafeto; cambia desde verde claro a rojo oscuro o amarillo según la variedad, color en el cual se puede considerar maduro para luego ser recolectado.

La cereza del café, se forma en racimos unidos a las ramas por tallos muy cortos. Está formada por una *piel exterior (exocarpio)*, cuyo cambio en color indica su evolución. El exocarpio recubre la *pulpa (mesocarpio)* de naturaleza mucilaginoso, que encierra, normalmente, dos semillas pegadas por su parte plana y recubiertas por dos capas: una *capa densa de pectina*, y otra de coloración amarilla conocida como *pergamino*. Finalmente, el grano está recubierto por una delgada membrana de tonalidad plateada llamada *tegumento* (Prieto, 2002, p.3).

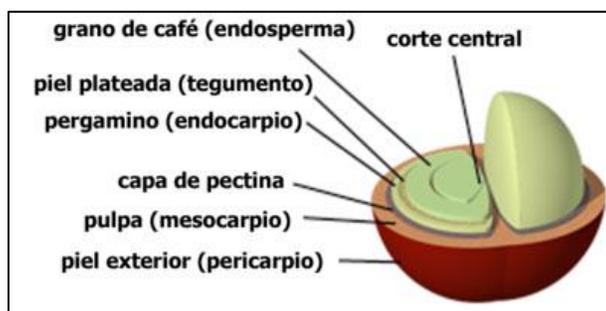


Figura No. 12: Partes del grano de café (Prieto, 2002, p. 3)

3.5 Composición química de los subproductos del café:

Como fue descrito previamente, la actividad cafetalera es de vital importancia para la economía del país, generando significativas divisas y empleo, además de valiosos servicios ambientales como la recarga hídrica, protección de cuencas y suelos, zonas de biodiversidad y fijación de carbono. Sin embargo, debido al proceso de beneficiado húmedo, se generan grandes cantidades de subproductos y aguas residuales, que tienen un impacto ambiental adverso, planteando un compromiso del sector cafetalero para mitigarlo (Anzueto, 2006, p. 7).

Existen varios parámetros de medición para expresar la cantidad de carga orgánica en un cuerpo receptor. Los principales parámetros asociados a los procesos de beneficiado del café son (ANACAFÉ, s.f.):

- **Potencial de hidrógeno (pH):** Se refiere al grado de acidez o alcalinidad de una sustancia. La escala de pH tiene un rango que está de 0 a 14. Un valor que se encuentre por debajo de pH 7 se considera ácido y uno por encima de pH 7 se considera alcalino o básico. El agua en su estado natural tiene un pH alrededor de 7.
- **Sólidos sedimentables:** La cantidad de sólidos en suspensión que se encuentran en el flujo de las aguas residuales, puede ser expresados por las siguientes dimensionales: Kilogramos de sólidos sedimentables por metro cúbico (Kg. SS/m³), miligramos de sólidos sedimentables por litro (mg SS/l) o bien en partes por millón (ppm).
- **Demanda química de oxígeno (DQO):** Es la medida indirecta del contenido de materia orgánica e inorgánica oxidable en aguas residuales. se mide por la cantidad de oxígeno utilizado en la descomposición (oxidación) de la materia orgánica e inorgánica, es decir, la cantidad de oxígeno requerida para la oxidación completa de la materia orgánica.
- **Demanda biológica de oxígeno (DBO):** Medida indirecta del contenido de la materia orgánica en aguas residuales, que se determina por la cantidad de oxígeno utilizado en la bioquímica de la materia orgánica biodegradable, durante un período de cinco días y a una temperatura de 20 grados centígrados.

Tanto la DBO como la DQO, están basadas en la determinación de la cantidad de oxígeno necesaria para que las aguas resulten inofensivas para la vida acuática, animal y vegetal. Generalmente el poder contaminante de un efluente se mide en DQO y/o DBO.

Tabla No. 1: Comparación de DQO del efluente de la agroindustria con otros

Tipo de efluente	DQO mg/lt
Aguas negras domésticas tratadas	20 a 60
Aguas negras domésticas no tratadas	300 a 400
Efluentes del beneficio húmedo de café con tratamiento	3,000 a 7,000
Pasta de estiércol bovino	10,000 a 20,000
Pasta de estiércol porcino	20,000 a 30,000
Efluentes del esilaje	30,000 a 80,000

Fuente: ANACAFÉ, s.f.

Los residuos orgánicos, tanto sólidos como líquidos, son de muy difícil disposición final por su carácter de contaminantes ambientales. Sin embargo, el mejor tratamiento para cualquiera de estos elementos, es su conversión en productos que puedan volverse a incorporar a la naturaleza en forma reciclada o la extracción de algunos de sus componentes químicos que pudiesen ser utilizados para otros fines en su forma purificada. A grandes rasgos, los subproductos que se generan en el proceso del beneficiado húmedo son(ANACAFÉ, s.f.):

3.5.1 La pulpa:

Dentro de los subproductos sólidos, la pulpa es la más voluminosa: representa el 56% del volumen del fruto y el 40% del peso. La composición química de este residuo al sufrir un proceso de fermentación, puede provocar que se formen grandes cantidades de cargas orgánicas como desecho sólido no reutilizado. Se tiene la ventaja de que, un gran porcentaje de caficultores, la utilizan como abono orgánico o en forma de compostaje. Las aguas del despulpado pueden generar, en términos de DQO, hasta 52,277 mg. Oz/litro, equivalente siempre en términos de DQO de 7.18 Kg. OZ/quintal oro.

Algunos de los compuestos encontrados en la pulpa son los azúcares reductores y no reductores; los azúcares son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza, cuya estructura está formada por moléculas de carbono, hidrógeno y oxígeno, estos son producidos por plantas verdes y algunos tipos de bacterias con capacidad de realizar fotosíntesis; en este proceso es utilizado el dióxido de carbono en el aire y la energía solar para producir glúcidos, necesarios para el crecimiento de los organismos.

De los glúcidos (monosacáridos) más sencillos, el más importante es la glucosa. En los organismos vivos los hidratos de carbono confieren funciones estructurales y de almacenamiento de energía. Glúcidos más complejos son formados por la unión de dos (disacáridos) o más monosacáridos (polisacáridos), existiendo dos formas por las cuales estos se polimerizan: enlaces alfa y enlaces beta. (González, 2005)

Los carbohidratos tienen la capacidad de formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua gracias a que poseen grupos hidroxilo y enlaces carbono-hidrógeno que los convierten en moleculares polares, factor que favorece la solubilidad en solventes como el etanol utilizado para la separación de azúcares más complejos como glucopéptidos que forman el mucilago del fruto de café.

Tabla No. 2: Composición química de la pulpa de café

Determinación	Valor
* pH	4.40
* Humedad (%)	74.83
Compuesto	% Base seca
* Taninos	1.80-8.56
* Sustancias pécticas totales	6.50
* Azúcares reductores	12.40
* Azúcares no reductores	2.00
* Cafeína	1.30
* Ácido clorogénico	2.60
* Ácido caféico total	1.60
* Contenido celular	63.20
* Fibra detergente neutral	36.80
* Fibra detergente ácida	34.50
* Hemicelulosa	2.30
* Celulosa	17.70
* Lignina	17.50
* Proteína lignificada	3.00
* Proteína cruda	10.10
* Cenizas insolubles	0.40

Fuente: Elías, 1978

3.5.2 El mucílago:

El grano de café recién despulpado está cubierto de una capa mucilaginosa (mesocarpio), que representa del 15 al 22% del peso del fruto maduro con relación al contenido de humedad. El mucílago es un producto orgánico de origen vegetal, rico en azúcares y pectina, que se forma en el interior de las plantas durante su crecimiento. Cubre el endospermo de la semilla, midiendo aproximadamente 0.4 milímetros de espesor, y se cree que facilita la dispersión y germinación del grano, además de actuar como reserva de agua y nutrientes alimentarios (ANACAFÉ, s.f.).

El mucílago es un hidrogel (sistema coloidal líquido liofílico) que posee una carga orgánica expresada en DQO de 26,535 mg. OZ/Litro, equivalente a 3.64 Kg. Oz/quintal oro producido. Representa entre el 20 - 22% del peso del fruto y conforma una importante proporción de la carga orgánica potencial, por su alto contenido de azúcares, pectinas y ácidos orgánicos.

Tabla No. 3: Composición química del mucílago del fruto del café

<i>Compuesto</i>	<i>% Base seca</i>
* Sustancias pécticas totales	35.8
* Pectina	5.70
* Carbohidratos totales	50.00
* Azúcares reductores	30.00
* Azúcares no reductores	20.00
* Nitrógeno	0.95
* Proteína	5.95
* Acidez	4.56
* Ceniza	4.10

Fuente: Carbonell y Vilanova, 1974

3.5.3 Las aguas miel:

El agua utilizada para despulpar y lavar se convierte en residual (agua miel). Su naturaleza química está relacionada con la composición físico-química de la pulpa y el mucílago, debido a que estos dos elementos proporcionan partículas y componentes durante el contacto turbulento e intenso con el agua limpia. Así, se origina su aporte como carga orgánica, con alrededor, en términos de DQO, de 43,615 mg. OZ/litro, equivalente a 6 Kg. de DQO/quintal oro (ANACAFÉ, s.f.).

Esta agua miel cuando es sometida al procesamiento en los sistemas de plantas de tratamiento de aguas residuales, se logra separar: por un lado el agua clarificada, y por otro los lodos orgánicos. Estos últimos son un buen aporte de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio etc. y se pueden mezclar con la pulpa para hacer un compost (ANACAFÉ, s.f.).

En cuanto al residuo líquido, las aguas del despulpado y de lavado, que son las que arrastran la principal proporción de mucílago suelto o fermentado, requieren más atención para realizarles el proceso en las Plantas de Tratamientos de Aguas Residuales (PTAR) y así, poder aprovechar también las aguas clarificadas y neutralizadas (ANACAFÉ, s.f.).

Tabla No. 4: Composición química de la miel del café

<i>Componente</i>	<i>Valor</i>
* Grados Brix	76.6
* pH	4.9
* Azúcares reductores	38.22 %
* Azúcares totales	54.27 %
* Acidez	1.05 %
* Cenizas	3.64 %
* Extracto etéreo	0.25 %
* Cafeína	0.32 %
* Nitrógeno total	0.68 %
* Humedad	21.06 %
* Sólidos totales	78.94 %
* Taninos	0.0 %

Fuente: Calle, 1977.

3.5.4 La cascarilla o cascabillo:

El pergamino suelto es un subproducto que representa alrededor del 4.5 - 5% del peso del fruto del café; no representa riesgo contaminante en el beneficio húmedo y es un valioso material que puede utilizarse como combustible sólido en el secamiento mecánico del café. Genera aproximadamente 4,000 kilocalorías por kilogramo (ANACAFÉ, s.f.).

3.6 Riesgo ambiental del manejo inadecuado de los subproductos del café:

Las aguas, en su estado natural, siempre poseen cierto grado de contaminación pero, al ser vertidas las aguas mieles juntamente con la pulpa a un cuerpo receptor, suministran grandes cantidades de materia orgánica que las bacterias metabolizan o descomponen. Esas bacterias para poder degradarla, consumen grandes cantidades de oxígeno disuelto (ANACAFÉ, s.f.).

El efecto perjudicial para el cuerpo receptor se produce cuando los requerimientos de oxígeno de las bacterias son mayores que la cantidad natural de disolución de oxígeno nuevo en el agua. Cuando este gas se agota, las futuras necesidades de oxígeno son satisfechas por el oxígeno contenido en los nitratos (NO_3^-) y los sulfatos (SO_4^{2-}) presentes, dando como resultado, en las últimas etapas de transformación química, la formación de compuestos, como el bisulfuro de hidrógeno (SHQ); el cual es el responsable del mal olor que producen estas aguas.

Al descargar tanto la pulpa como las aguas mieles sobre cuerpos receptores de aguas superficiales, se corre el riesgo de deteriorar este recurso, ya que los elementos aportados pueden afectar el agua de la siguiente forma:

1. Modifica drásticamente la acidez natural del agua a pH 2.5, a causa del aporte de los ácidos orgánicos (acético, butírico, propiónico, etc.) que se producen durante la degradación de la materia orgánica en su etapa anaeróbica, específicamente.
2. Se agota el oxígeno disuelto (OD) en el agua, a causa de la necesidad de abastecimiento por parte de los microorganismos encargados de la degradación de materia orgánica.
3. Incremento de la turbidez del agua (coloración oscura), como consecuencia de los polifenoles presentes y de la gran cantidad de sólidos suspendidos (ANACAFÉ, s.f.).

Aunque existen varios métodos para el manejo de los subproductos del café orientados a la conversión de éstos en productos que puedan reincorporarse a la naturaleza en forma reciclada, hoy en día los esfuerzos en la búsqueda de otras alternativas, están enfocados en la extracción y purificación de algunos de los componentes químicos de los subproductos obtenidos, que pudiesen ser utilizados para otros fines, disminuyendo los riesgos de contaminación asociados.

3.7 Usos comerciales de componentes químicos purificados a partir de subproductos del café:

En los países productores de café, los residuos y subproductos del mismo constituyen una fuente grave de contaminación y problemas ambientales. Por ese motivo, desde mediados del siglo pasado, se ha tratado de inventar métodos para utilizarlos como materia prima en la producción de abono, biogás, vinagre, y diversos compuestos químicos purificados y empleados como excipientes de formulaciones finales. El uso de la pulpa y mucílago del café, frescos o procesados, ha sido tema de muchos estudios, de los cuales *todos* han concluido que los subproductos del café pueden emplearse de varias maneras, destacando para fines de este estudio, las siguientes aplicaciones:

La extracción y purificación del porcentaje significativo de *azúcares reductores* de la pulpa del café (12.40%), puede dar origen a un jarabe de café útil en confitería y en repostería como aromatizante y/o saborizante de alimentos. Además podría comercializarse como una novedad para los conocedores de café más refinado (Rathinavelu, 2005, p.3).

Por su parte, la purificación de los *taninos* presentes en este mismo subproducto, puede ser útil en la elaboración de tintes (industria textil) y alimentos con propiedades astringentes (vinos, té, café o cacao); así como, en el curtido de pieles y fabricación de medicamentos o cosméticos con acción astringente, hemostática, antiséptica y tonificante (Asociación española para la cultura, el arte y la educación [ASOACAE], s.f).

El *mucílago*, extraído y desecado por medios químicos o mecánicos, puede ser empleado en la industria cosmética y/o farmacéutica por su propiedad de formar soluciones viscosas de consistencia espesa (*espesante*). Es considerado un *agente demulcente*, por lo que puede emplearse en formulaciones específicas con el objetivo de proteger la mucosa intestinal, gástrica y/o bronquial (Sistema de servicios de información y bibliotecas [SISIB], s.f).



Figura No. 13: Posibles aplicaciones de los compuestos químicos purificados a partir de los subproductos del café (Rathinavelu, 2005, p. 4)

Por último, y no menos importante, el volumen de *ácido acético* obtenido a partir del proceso de fermentación de las aguas miel, puede utilizarse en la industria alimenticia como agente acidulante y para la preparación de ésteres frutales (Ruiz, s.f.).

Sea cual fuere el uso previsto, es evidente que el proceso de purificación de algunos de los componentes de los subproductos del café, puede representar una solución factible al grave problema de contaminación asociada a los procesos de beneficiado (Rathinavelu, 2005, p.1)

4. JUSTIFICACIÓN

El café de Guatemala, por su singularidad y calidad, se ha posicionado en los comercios internacionales del café. Dicha labor que no ha sido nada fácil para los productores del mismo, pues día a día las exigencias son más estrictas. En la actualidad, ya se manejan temas relacionados al impacto ambiental, lo que indica que deben tomarse medidas precisas para tratar los subproductos del café. Por tal razón, existe la “Coordinación de Medio Ambiente de ANACAFÉ” que se encarga de desarrollar proyectos que permiten fortalecer la producción de café de una forma sostenible, minimizando los impactos en las riquezas naturales que poseen las plantaciones de café.

Cuando se cultiva ésta planta solo se aprovecha 5%, aproximadamente, del peso del fruto fresco en la preparación de bebida, el resto, es decir un 95%, son residuos. Dentro de los principales subproductos se encuentra: la pulpa, el mucílago, el cisco, las pasillas, la borra y los tallos de café; de los cuales se trabajó la pulpa (40%) y el mucílago (20-22%). Dentro de los usos actuales y más comunes de estos desechos están: transformación en abono orgánico, biomasa para alimentación animal y producción de hongos comestibles.(ANACAFÉ, s.f.)

A pesar de los avances que se han tenido en este campo, queda mucho por trabajar, labor que se quiso asumir al extraer mucílago, azúcares y taninos de la pulpa de café y producir ácido acético comercial a partir de las mieles del café. De esta manera, se pretendió colaborar al avance y tecnificación de este cultivo, cumpliendo los objetivos de la investigación y dando un valor agregado al material obtenido como subproducto del proceso de beneficiado del café. Claro está que se buscó que los productos obtenidos cumplieran con las especificaciones establecidas por farmacopeas u otras bibliografías consultadas.

Otro de los fines por los que se pretendió realizar la investigación, fue disminuir la capacidad de contaminación asociada a los subproductos de este cultivo. De esta manera, se considera que el trabajo realizado tiene un enfoque integral, pues abarca diferentes puntos clave como lo son: la transformación, la innovación y la disminución de la contaminación asociada.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Extraer mucílagos, taninos y azúcares de la pulpa del café, tomando dos regiones de referencia representativas de tierra fría y tierra caliente, y asimismo, producir ácido acético comercial mediante la fermentación de las mieles del café.

5.2 Objetivos Específicos

- 5.2.1 Cualificar los mucílagos, taninos y azúcares obtenidos de la pulpa de café.
- 5.2.2 Cualificar el ácido acético extraído de la destilación del subproducto fermentado.
- 5.2.3 Evaluar las concentraciones de mucílagos, azúcares y taninos presentes en el café de las dos regiones a estudiar, una proveniente de Huehuetenango (representativa de tierra fría) y otra perteneciente a Santa Rosa (representativa de tierra caliente).
- 5.2.4 Cuantificar el resultado de la destilación de las mieles del café.
- 5.2.5 Valorar los costos de producción de los extractos obtenidos de la pulpa del café y del ácido acético obtenido de la destilación del agua miel.
- 5.2.6 Clasificar los usos de cada una de las materias primas obtenidas a partir de los subproductos del proceso de beneficiado del café.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Universo de Trabajo

- Pulpa de café y agua miel obtenida del beneficiado del café de Guatemala, en el periodo diciembre-febrero del año 2012-2013.

6.2 Muestra

- Una muestra de pulpa de café proveniente de la Finca La Alameda, una muestra de pulpa de café proveniente de la Finca La Primavera y una muestra de agua miel proveniente de la Finca La Alameda, todas ubicadas en el Departamento de Huehuetenango, a 1902 m. sobre el nivel del mar.
- Una muestra de pulpa de café proveniente de la Cooperativa Nuevo Sendero, una muestra de pulpa de café proveniente de la Finca La Ilusión y el Obraje y una muestra de agua miel proveniente de la Cooperativa Nuevo Sendero, todas ubicadas en el Departamento de Santa Rosa, a 893 m. sobre el nivel del mar.

6.3 Materiales

6.3.1 Reactivos

- Etanol al 90% y al 50%
- Agua destilada
- Reactivo de Molisch
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido nítrico concentrado
- Nitrato de plata SR
- HCl 0.020 N
- HCl 3N
- Cloruro de Bario SR
- Ácido sulfúrico 0.20 N
- Fenol al 10%

- Sacarosa
- Cloruro de sodio al 10%
- Gelatina al 1%
- Gelatina-sal
- Cloruro férrico al 10%
- Sílica gel modificada C7
- Ácido tánico
- Tungstato dihidratado de sodio
- Ácido fosfomolibdico
- Ácido fosfórico al 85%
- Carbonato de sodio al 20%
- Acetato de plomo al 10%
- Acetato básico de plomo al 10%
- Acetona
- $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ al 0.1%
- Extracto de levadura al 0.5%
- Caseína hidrolizada al 0.05%,
- MgSO_4 al 0.1%
- Glucosa al 0.5%.
- Cristal violeta
- NaOH 0.1M
- Fenolftaleína

6.3.2 Cristalería

- Erlenmeyer de 125 y 250 ml
- Beacker 250 ml y 1000 ml
- Bureta
- Embudo
- Capilares
- Varilla de agitación
- Balones aforados de 25, 50 y 100 ml
- Punta de pipeta automática de 0.5 – 5 mL

- Pipeta volumétrica de 2 y 10 ml
- Tubos de ensayo
- Embudo de Buchner
- Matraz quitazatos

6.3.3 Equipo

- Estufa eléctrica
- Espectrofotómetro UV-Visible
- Licuadora
- Cámara cromatográfica
- Horno de convección natural
- Balanza analítica
- Refrigeradora
- Centrifugadora
- Incubadora
- Desmucilaginadora
- Estufa al vacío
- Autoclave
- Microscopio
- Espectrómetro de Emisión con Fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo
- Pipeta automática Transferpette BRAND de 0.5 – 5 mL
- Fotómetro Spectroquant NOVA60

6.3.4 Otros materiales

- Papel filtro Whattman No. 2 y manta
- Baño de maría
- Hielo
- Levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- Cromatoplaca de aluminio, sílica gel 60 F254
- Caolín en polvo
- Manguera

- Tamiz malla No. 40
- Cámara de Neubauer
- Cáscara de piña
- Soporte universal
- Picnómetro
- Termómetro

6.4 Métodos

6.4.1 Tratamiento del material vegetal

Secar la muestra de pulpa en horno a 35°C hasta que tenga un porcentaje de humedad menor al 10%. Triturar la muestra seca y si es necesario tamizar la muestra para separar pulpa que no esté lo suficientemente seca o material que no es de interés. Guardar en una bolsa Ziploc®.

6.4.2 Métodos de Extracción, Identificación, Cuantificación de impurezas y Azúcares

- **Extracción de azúcares**

Pesar 5 gramos del material y agregar 20mL de etanol al 90%. Agitar vigorosamente (agitador magnético) por 3 minutos y filtrar. Repetir el procedimiento 2 veces más colectando el filtrado en un recipiente. Evaporar el etanol llevándolo a ebullición. Añadir 50mL de agua destilada. (Rodríguez, 2006, p. 20)

- **Cualificación de Azúcares**

- Reacción de Molisch: En un tubo de ensayo depositar 10 ml de una disolución al 5% de la muestra extraída anteriormente. Añadir unas gotas de reactivo de Molisch (α -naftol al 5% en etanol) y mezclar el contenido. Inclinar los tubos y dejar resbalar cuidadosamente 1 ml de ácido sulfúrico concentrado a lo largo de la pared del tubo de manera que se forme una capa bajo la fase acuosa. A continuación, calentar el tubo en un baño de agua unos minutos. La reacción es positiva si se forma un anillo rojo violáceo en la interface. (Murillo, 2007)

- **Cuantificación de Impurezas**

- Prueba de Cloruros: Disolver la cantidad especificada de sacarosa en 30-40ml. de agua o, si la sustancia ya está en solución agregar agua para obtener un volumen total de 30-40ml y, si fuera necesario, neutralizar la solución al tornasol con ácido nítrico. Agregar 1ml de ácido nítrico y 1ml de nitrato de plata SR y agua suficiente para obtener 50ml. Mezclar y dejar en reposo durante 5 minutos protegido de la luz solar directa. Comparar la turbidez, si la hubiera, con la producida en una solución que contenga el volumen de HCl 0.020N. Una porción de 2.0 g no presenta más cloruro que el correspondiente a 0.10 ml de HCl 0.020N (0.0035%) (United States Pharmacopeia, 2007).
- Prueba de Sulfatos:
 - * **Cuantificación por espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES):** Medir 45 ml. de muestra y 5 ml. de HNO₃ concentrado y aforar en balón de 50 ml. Traspasar la muestra a recipientes plásticos de 15 ml. Por otro lado, preparar la curva de azufre (S). Leer la muestra para verificar el rango de detección en ICP-OES. Hacer curva de 3 puntos (por ser únicamente una muestra, analizar de 3 a 5 repeticiones). Hacer una solución intermedia a partir de la solución madre de 1000 ppm. Obtener blanco, estándar 1, 2 y 3 + HNO₃ +H₂O. Hacer una curva de 0.01, 0.05 y 0.10 ppm. Leer curva y muestras en equipo ICP-OES. La concentración de sulfatos en la muestra debe ser menor a 5 ppm. (Taylor, 2001)
 - * **Cuantificación con Kit de cubetas Merck:** Medir el pH de la muestra, el cual debe encontrarse en el intervalo de 2 – 10, si es necesario, ajustar con hidróxido de sodio o con ácido clorhídrico. Pipetear 5 ml de la muestra en la cubeta de reacción y mezclar. Añadir 1 micro cucharada del reactivo SO₄-1K del kit y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Reposar por 2 minutos exactamente. Medir la concentración de sulfato en el fotómetro Spectroquant NOVA60. La concentración debe ser menor a 5 ppm.

- Prueba de Metales pesados:

- * **Cuantificación por espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES):** Medir 45 ml. de muestra y 5 ml. de HNO₃ concentrado y aforar en balón de 50 ml. Traspasar la muestra a recipientes plásticos de 15 ml. Por otro lado, preparar la curva de mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), y níquel (Ni). Leer la muestra para verificar el rango de detección en ICP-OES. Hacer curva de 3 puntos (por ser únicamente una muestra, analizar de 3 a 5 repeticiones). Hacer una solución intermedia a partir de la solución madre de 1000 ppm. Obtener blanco, estándar 1, 2 y 3 + HNO₃ + H₂O. Hacer una curva de 0.01, 0.05 y 0.10 ppm. Leer curva y muestras en equipo ICP-OES. Límite: 5 ppm. (Taylor, 2001)

- **Cuantificación de Azúcares**

- Cuantificación por Espectrofotometría: Mezclar una muestra de 0.01-0.25 mmol de sacarosa en 0.3 mL de muestra con 0.01mL de fenol 10%. Agregar 1.0 ml. de ácido sulfúrico concentrado de grado analítico a la mezcla sacarosa-fenol. Después de mezclar, reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y medir la absorbancia a una longitud de 490nm. Construir la curva de calibración y por interpolación calcular se conoce la concentración de la muestra. (Jiménez, 2004)

6.4.3 Métodos de Extracción, Identificación, Purificación y Cuantificación de Taninos

- **Extracción de Taninos**

Pesar 5 g de la pulpa del café con 25 ml de alcohol etílico al 95% y dejar reposar por 6 días. Agregar de 3 a 4 gotas de solución de cloruro de sodio al 10%, con objeto de precipitar cualquier compuesto no tanínico, y evitar obtener un resultado falso-positivo. Por último filtrar (Medinilla, 2011, p.18).

- **Cualificación de Taninos**

Tomar 3ml del filtrado obtenido en la extracción y agregarlo a 4 tubos de ensayo:

- * Tubo No. 1: testigo
- * Tubo No. 2: agregar 4 a 5 gotas de gelatina al 1%
- * Tubo No. 3: agregar 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1% de gelatina + NaCl al 10%)
- * Tubo No. 4: agregar 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10%

Observar la formación de precipitado y/o cambio de coloración.

- **Purificación de Taninos**

- Cromatografía Líquido-Líquido: Empacar la columna de vidrio con una disolución de 7g de sílica gel modificada C7 en 150 ml de agua, mantener en constante agitación y verter dicha solución en la columna, y dejar reposar por 5 minutos. Verter el extracto de taninos en la columna y esperar a que eluya toda la solución para luego dejar correr agua y alcohol en una proporción 1:3, con el fin de eluir algún compuesto tanínico que no se eluyó en un inicio de la cromatografía. Colectar las soluciones en distintos recipientes.

- **Cuantificación de Taninos**

El método de cuantificación de taninos se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folling-Denis, el cual produce un complejo de color azul, cuya extinción es medida a 700 nm, determinando el contenido total de fenoles.

- Preparación de reactivos
 - * **Solución Madre de Referencia de Taninos:** 25g de ácido tánico en 100ml de agua destilada.
 - * **Solución de referencia del ácido tánico:** En balón aforado de 100ml, agregar 20 ml de la solución Madre de Referencia de Taninos y llevar a volumen con agua destilada.
 - * **Reactivo de Taninos:** En balón aforado de 100ml agregar 10.0g de tugsato dihidratado de sodio, 0.2g de Ácido fosfomolibdico, 5ml de Ácido fosfórico al 85% y 75ml de agua destilada. Poner en reflujo durante 2 horas y llevar a volumen con agua destilada.

- Preparación de Solución Madre de la muestra: Pesar 10g de materia vegetal, agregar 500 ml de etanol al 50%, agitar la muestra durante 6 horas y luego dejarla reposar por 8 horas. Pasado este tiempo se vuelve a agitar la muestra por 30 minutos y filtrar. En un balón de aforo de 50ml colocar 3 ml de la solución obtenida anteriormente y llevar a aforo con agua destilada. A partir de esta solución preparar en balones de 25ml el Blanco, solución patrón y muestra.
- * **Solución Patrón:** Tomar 1.5ml de solución de referencia de ácido tánico, agregar 1 ml de agua y 1 ml de reactivo para taninos.
- * **Blanco:** Tomar 2.5 ml de agua destilada y agregar 1ml de reactivo para taninos.
- * **Muestras:** Tomar 0.5 ml de solución madre de la muestra, agregar 2ml de agua destilada y 1ml de reactivo para taninos.

Agitar todos los balones, dejar reposar durante 5 minutos y luego agregar a cada balón aforado 0.5ml de solución de carbonato de sodio al 20%. Aforar con agua destilada, mezclar y leer a 700nm. (Bressani, R. et.al. 1972)

- Cálculos para % de taninos obtenidos:

$$x = \frac{A_m \times P \times 1000 \times 100}{A_p \times PM \times (100 - p)} =$$

- ✓ x = Contenido de taninos en la droga vegetal
- ✓ P = peso de solución de referencia (g)
- ✓ Am = absorbancia de Muestra
- ✓ AP = absorbancia de solución de referencia
- ✓ PM = masa de la droga vegetal pesada (g)
- ✓ p = % de humedad de droga vegetal

6.4.4 Método de extracción, identificación, purificación y cuantificación de mucílagos

- **Extracción de mucílagos**

- Método Mecánico (Desmucilagadora continua de flujo ascendente): La extracción de mucílagos se realizará mediante la desmucilagadora. Esta

máquina agita los granos de café, desprendiendo un alto porcentaje de mucílago en los primeros segundos; el café fluye en dirección vertical ascendente. Las mieles desprendidas son expulsadas a través de las aberturas colocadas en dirección tangencial (ANACAFE, 2012).

A 10 gramos del producto extraído por la desmucilagadora añadir 90 ml de agua y calentar a 60°C durante dos horas en un baño de maría. Filtrar al vacío a través de un embudo de Buchner y coleccionar el filtrado (Medinilla, 2011, p.18).

- **Cualificación de mucílagos**

Ensayar la solución anteriormente preparada con igual volumen de los siguientes reactivos: Alcohol etílico, Cloruro férrico al 20%, Acetato de plomo al 10% y Acetato básico de plomo al 10%.

Comparar todos los anteriores con un tubo control. La presencia de mucílagos es confirmatorio si se forman coloides o geles en todos los tubos de ensayos.

- **Purificación de mucílagos**

Hidratar la muestra de mucílago en baño de María a 35 grados centígrados y agitar por 2 horas. Separar el mucílago de los contaminantes por filtración al vacío a través de tela de algodón o papel filtro, luego precipitar el mucílago con etanol y separarlo por medio de tamiz malla 100. Lavar con acetona y secar en estufa de vacío a 40 °C.

- **Cuantificación de mucílagos**

- Cálculo de porcentaje de rendimiento (% de rendimiento):

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{m_p}{m_e} \times 100$$

Dónde:

* m_p = gramos de mucílago purificado

* m_e = gramos de mucílago extraído

6.4.5 Método de extracción, identificación y cuantificación de ácido acético

- **Extracción de ácido acético**

Medir en una probeta un volumen de 250 ml de agua miel filtrada. Colocar el agua miel en un Erlenmeyer de 500ml con tapón de algodón y esterilizar por 15 minutos a 15 libras de presión a 121°C. Enfriar e inocular asépticamente 10^3 a 10^5 levadura/ml de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae*. Para inocular se debe realizar un recuento de levaduras por medio de una cámara de Neubauer y calcular el volumen de inóculo a agregar al jugo (Anexo No. 2). Incubar el jugo a temperatura ambiente por una semana.

A la semana siguiente, agregar las soluciones de enriquecimiento a la muestra: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ al 0.1%, extracto de levadura al 0.5%, caseína hidrolizada al 0.05%, Sulfato de magnesio al 0.1% y Glucosa al 0.5%. Agregar trozos de cáscara de piña de 1cm (Cultivo de *Acetobacter sp.*) Inocular 1/3 del jugo fermentado con el cultivo madre de *Acetobacter sp.* Incubar una semana a 30°C y 800 rpm. Filtrar y destilar (Bran, 2013). Destilar el ácido acético por medio de un rotavapora 45 rpm hasta obtener aproximadamente 50 ml de destilado.

- **Cualificación de ácido acético**

- Pruebas físico-químicas

- * Características: líquido claro, incoloro, olor pungente y característico.
- * Punto de ebullición: 118°C a 760 mm de mercurio. (Brown, 2004, p. 104)

- Prueba de solubilidad: A 20 ml agregar 5 mg de cristal violeta: el color de la solución resultante es púrpura. (Farmacopea Argentina, 2004)

- **Cuantificación de ácido acético**

- Cuantificación por Titulación: Pesar 5.00 ml de la solución destilada de ácido acético transferida a un matraz erlenmeyer de 125 ml. Añadir 30 ml de agua destilada. Montar el equipo de titulación con bureta y llenar la misma con agente titulante (Hidróxido de sodio, 1N). Añadir 2 gotas de indicador fenolftaleína a la solución diluida y empezar a valorar hasta un cambio de color rosa. Calcular el %

de ácido acético encontrado en la muestra por estequiometría, sabiendo que 1 ml de Hidróxido de sodio 1N es equivalente a 60.05 meq de ácido acético. (Valderrama, 1997). La cuantificación de ácido acético debe encontrarse entre un 3% y 5% (Villanueva, 1996).

6.5 Determinación de costos

La determinación de costos del presente trabajo de investigación se realizó en base a reactivos, materiales que se utilizaron para la extracción de la materia prima.

6.6 Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se recolectó muestras al azar, de la siguiente manera:

- Una muestra de pulpa de café proveniente de la Finca La Alameda, una muestra de pulpa de café proveniente de la Finca la Primavera y una muestra de agua miel proveniente de la Finca La Alameda, todas ubicadas en el Departamento de Huehuetenango, representativas de tierra fría (4 puntos de muestreo por cada muestra).
- Una muestra de pulpa de café proveniente de la Cooperativa Nuevo Sendero, una muestra de pulpa de café proveniente de la Finca La Ilusión y el Obraje y una muestra de agua miel proveniente de la Cooperativa Nuevo Sendero, todas ubicadas el Departamento de Santa Rosa, (4 puntos de muestreo por cada muestra).

Se calculó la media, mediana, desviación estándar y rango de los análisis realizados por triplicado de cada muestra y cada resultado fue evaluado según cumplimiento en el requerimiento normado.

7. RESULTADOS

Tabla No.1: Pruebas de cualificación de azúcares, taninos, mucílago y ácido acético extraídos a partir de las muestras recolectadas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango), Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Extracto	Prueba	Especificación	Dictamen
Azúcares	Molisch	Formación de anillo violeta en interfase	+
Taninos	Gelatina al 1%	Formación de precipitado blanco	+
	Gelatina / sal		
	Cloruro férrico al 10%	Coloración verde/azulado, formación de precipitado	+
Mucílagos	Alcohol etílico	Formación de gel o coloide	+
	Cloruro férrico 20%		+
	Acetato de Plomo 10%		+
	Acetato básico de Plomo al 10%		+
Ácido acético	Punto de ebullición	118°	-
	Prueba de solubilidad	Coloración púrpura / violeta	+

Tabla No. 2: Cuantificación de azúcares, taninos, mucílago y ácido acético extraídos a partir de las muestras recolectadas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango).

Muestra	Extracto	Media (%)	± DT	Mediana	Rango
1	Azúcares	12.710	0.122	12.664	0.230
	Taninos	0.140	0.026	0.130	0.040
	Mucílago	21.371	0.455	21.174	0.843
	Ácido acético	0.756	0.051	0.770	0.099
2	Azúcares	10.907	0.046	10.903	0.092
	Taninos	0.182	0.040	0.173	0.026
	Mucílago	21.013	0.566	21.327	0.994
	Ácido acético	0.585	0.126	0.568	0.250

*DT= Desviación típica o estándar

Tabla No.3: Cuantificación de azúcares, taninos, mucílago y ácido acético extraídos a partir de las muestras recolectadas en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca la Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	Extracto	Media (%)	± DT	Mediana	Rango
1	Azúcares	10.532	0.070	10.565	0.128
	Taninos	1.767	0.055	1.745	0.103
	Mucílago	20.799	0.656	21.007	0.320
	Ácido acético	0.448	0.127	0.461	0.254
2	Azúcares	15.400	0.023	15.395	0.045
	Taninos	1.483	0.071	1.470	0.103
	Mucílago	21.081	0.500	20.960	0.977
	Ácido acético	0.505	0.147	0.443	0.273

*DT= Desviación típica o estándar

Tabla No. 4: Costos finales de los procesos de extracción, identificación, purificación y cuantificación de azúcares, taninos, mucílago y ácido acético extraído a partir de muestras de los subproductos del café.

Proceso	Costos por Repetición	Costos totales
Extracción, purificación y cuantificación de azúcares	Q172.40	Q2,068.80
Extracción, purificación y cuantificación de taninos	Q88.70	Q1,064.40
Extracción, purificación y cuantificación de mucílagos	Q8.25	Q99.00
Extracción, purificación y cuantificación de ácido acético	Q14.50	Q87.00
Costo total de investigación		Q3,319.20

* Para la revisión detallada de los resultados hacer referencia al apartado de *Anexos (No. 1 al 4)*

Tabla No. 5: Propuesta de clasificación de uso de los azúcares, taninos, mucílago y ácido acético extraídos a partir de la pulpa y de las mieles del café.

Extracto	Clasificación de Uso
Azúcares	Jarabe de café o caramelo en confitería
	Saborizante en repostería
	Aromatizante de alimentos
Taninos	Cosméticos: tonificante, antisépticos, hemostático y astringente
	Elaboración de tintes
	Industria textil y tratado de pieles
	Bebidas astringentes
Mucílago	Espesante en formulaciones cosméticas
	Agente demulcente en formulaciones farmacéuticas
Ácido acético	Agente acidulante en la industria alimenticia
	Preparaciones de ésteres frutales

Fuente: Rathinavelu, 2005; ASOACAE, s.f.; SISIB, s.f.; Ruiz, s.f.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la cualificación de los subproductos obtenidos de la pulpa del café y la fermentación de las mieles de este cultivo, se obtuvieron datos interesantes:

Durante el proceso de extracción de azúcares, se evidenció cómo la conminución inicial de la pulpa rompió todas las estructuras celulares que forman la pared de la misma y el agua utilizada en el proceso, solvató los carbohidratos presentes llevándolos al exterior para poderlos utilizar. Así, para el ensayo de identificación de estos metabolitos, se observó que el anillo violeta formado en la interface de todas las muestras (prueba positiva), fue producto de la deshidratación con ácido sulfúrico de los carbohidratos presentes en el extracto y la posterior condensación del compuesto furfural así formado, por reacción con la solución etanólica de α -naftol (reactivo de Molisch), formó el compuesto púrpura observado.

Para los ensayos de cualificación de taninos, se concluyó que la coloración y el precipitado observado en todas las repeticiones, fue proporcional a la concentración de taninos presentes en cada muestra, y su formación fue producto de la reacción de la parte fenólica de estos metabolitos, con la sal férrica y las soluciones de gelatina añadidas a cada tubo de ensayo. Si bien la literatura señala la reacción anterior como prueba cualitativa para la identificación de estos compuestos, el riesgo de precipitación de analitos falso-positivo hizo necesario considerar el método de cuantificación posteriormente descrito (Folling-Denis), como prueba confirmatoria de la presencia de taninos en los extractos obtenidos y purificados.

Debido a que el mucílago fresco obtenido en forma mecánica representa una fuente natural para la obtención de pectinas de buena calidad, se seleccionó este método como fuente de extracción principal. Así, durante el proceso de purificación del producto final extraído, se observó la capacidad de los solventes utilizados (etanol al 70% y acetona de grado industrial) de aglomerar y precipitar los contaminantes por diferencia de polaridad. Por su parte, los ensayos de identificación aplicados evidenciaron, cualitativamente, la presencia de mucílago en todos los tubos de ensayo. Como fue descrito, la precipitación producida con la adición de etanol al 70% fue producto de la alteración de la interacción entre el agua y las moléculas de polisacárido presentes en el mucílago, mientras que, el cloruro férrico al 20% y metales pesados como el plomo, tienen la propiedad común de precipitar las sustancias pécticas en forma de hidróxidos como geles o coloides de color claro fácilmente identificables.

El agua miel recolectada se utilizó como sustrato para extraer ácido acético, considerando el 54.57% de azúcares reportado en la bibliografía (ver página 28). Evidentemente, los azúcares fueron el punto clave en la producción de este compuesto, y su importancia radica en la necesidad de su presencia para la fermentación etanólica por levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* y posterior oxidación a ácido acético por bacterias del género *Acetobacter*. Durante los ensayos de cualificación de las muestras, ninguna de ellas cumplió con el punto de ebullición esperado debido a la formación de una mezcla azeotrópica entre el ácido acético y el agua simultáneamente destilada. Por su parte, la prueba de solubilidad positiva con cristal violeta, únicamente hizo referencia a la presencia de compuestos ácidos en solución, no específicos ni diferenciados.

En cuanto a la cuantificación y evaluación de la concentración de los metabolitos extraídos y del ácido acético producido, los resultados reflejaron valores importantes:

La cuantificación espectrofotométrica de azúcares, basada en la formación de compuestos coloreados de furfural, permitió observar la nula influencia de la región cultivada en la concentración final obtenida. Así, la Cooperativa Nuevo Sendero (15.4%) y la Finca la Ilusión y el Obraje (10.5%), ambas ubicadas en el departamento de Santa Rosa (tierra caliente), presentaron los porcentajes máximos y mínimos, respectivamente, muy próximos al valor esperado de 15% de materia seca, reportado en la literatura (Elías, 1978).

A diferencia de lo anterior, la concentración final obtenida de taninos, sí se vio influenciada por la región muestreada. Mientras que la evaluación espectrofotométrica de los taninos extraídos de la muestra recolectada en la Cooperativa Nuevo Sendero en Santa Rosa (tierra caliente) resultó en un 1.8% (valor mínimo esperado), el porcentaje de 0.14% registrado para la Finca La Alameda en Huehuetenango (tierra fría), evidenció la escasa concentración de taninos en la muestra recolectada en los cultivos de esta última región. Lo anterior permitió comprobar que “...*el café de tierra caliente posee la característica de presentar mayor aspereza y amargor que el café cultivado en tierra fría. Dichas propiedades son proporcionadas por un incremento en la concentración de taninos en el fruto, debido al aumento de temperatura en el cultivo...*” (ANACAFÉ, s.f.).

Pese a que existen varios métodos para cuantificar mucílago como fibra dietética soluble, los mismos eran poco factibles para los fines prácticos de la investigación considerando la procedencia de la muestra, tratamiento previo y recursos disponibles para su aplicación. Por lo anterior, el cálculo del porcentaje de rendimiento fue aplicado como método de cuantificación, para todas las

muestras, habiéndose obtenido porcentajes alrededor de $21\% \pm 1\%$. Según varias publicaciones del Centro de Investigaciones del Café -CEDICAFÉ-, el mucílago representa del 15.5% - 22% del peso de fruto seco, cumpliendo así con el rango esperado.

Respecto a la cuantificación de ácido acético, no se logró la producción de porcentajes representativos a partir de ninguna de las muestras. Si bien, para considerar un proceso realmente efectivo la cuantificación del vinagre debe estar entre 3% - 5% de ácido acético, el mayor porcentaje obtenido fue de apenas 0.756% para la muestra recolectada en La Finca La Alameda de Huehuetenango (tierra fría). Por lo anterior, se considera que el agua miel no puede ser utilizada como fuente factible para la producción industrial de ácido acético comercial.

En cuanto a la estadística descriptiva aplicada a los valores obtenidos, todas las muestras registraron una desviación estándar y un rango menor a 1. Los resultados presentaron poca variabilidad y dispersión entre sí, pues se trabajó con subproductos obtenidos de una sola especie de café (*Coffea arabica*) con la única variación del clima de cultivo.

El costo total de la investigación fue de Q3, 329.20, siendo la extracción y análisis de azúcares el de mayor gasto con un monto por repetición de Q.172.40 y un total de Q.2,068.80. Si bien el análisis de los azúcares representó la mayor inversión, es necesario considerar el uso no indispensable de un equipo sofisticado (ICP-OES) para la cuantificación de impurezas de los extractos. El mismo, puede ser sustituido por un método colorimétrico de análisis sencillo, que permita la valoración de los compuestos a un menor costo.

A diferencia de lo anterior, el procesamiento y análisis de mucílago presentó la mayor viabilidad en cuanto a costos. Con un valor de Q8.25 por repetición y un monto total de Q99.00, la extracción, análisis y porcentaje de rendimiento obtenido de este metabolito, puede considerarse el más favorable en cuanto a costos y producción final.

La valoración de los costos de extracción y análisis de los mucílagos, azúcares y taninos, a excepción del ácido acético, corroboró la factibilidad de producción a nivel industrial y la consideración de incorporar los mismos en formulaciones alimenticias, farmacéuticas y/o cosméticas de base natural. Por ello, como punto final de la investigación se presentó una propuesta de clasificación de usos de cada uno de los metabolitos extraídos y purificados. Si bien, los azúcares pueden ser considerados en la industria alimenticia y los taninos y mucílagos en la industria

cosmética y/o farmacéutica, la incorporación de cualquiera de ellos en una formulación final, requiere estudios de investigación y desarrollo y una serie de ensayos preliminares de funcionalidad y estabilidad, que pudiesen ser considerados como principio de una investigación posterior.

9. CONCLUSIONES

- 9.1 Los azúcares, taninos y mucílagos, a excepción del ácido acético, cumplieron con todos los ensayos de identificación realizados.
- 9.2 La pulpa de tierra caliente (Media, 1.625%; \pm DT, 0.165) posee mayor concentración de taninos que la pulpa de tierra fría (Media, 0.161%; \pm DT, 0.038).
- 9.3 La concentración final obtenida de azúcares para las fincas de Huehuetenango (Media, 11.809%; \pm DT, 0.991) y para las fincas de Santa Rosa (Media, 12.966%; \pm DT, 2.667) permitió observar la nula influencia de la región cultivada.
- 9.4 Las concentraciones obtenidas de mucílago para las fincas de Huehuetenango (Media, 21.192%; \pm DT, 0.499) y para las fincas de Santa Rosa (Media, 20.940%; \pm DT, 0.544) están entre el rango reportado en la literatura (20-22%).
- 9.5 Ninguna de las cuatro muestras de “agua miel” analizadas cumple con el rango establecido de concentración de ácido acético, ya que se obtuvo 0.756% y para considerarse como vinagre de uso comercial debe contener entre 3% - 5%.
- 9.6 La valoración de los costos de extracción y análisis de los azúcares, mucílagos y taninos, a excepción del ácido acético, corroboró la factibilidad de producción a nivel industrial y la consideración de incorporar los mismos en formulaciones alimenticias, farmacéuticas y/o cosméticas de base natural.
- 9.7 Los azúcares extraídos de la pulpa del café pueden ser potencialmente útiles en la industria alimenticia, y los taninos y mucílagos en la industria cosmética y/o farmacéutica.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1 Evaluar el uso de la solución de azúcares extraídos de la pulpa de café, como sustituto de edulcorantes en formulaciones alimenticias y cosméticas.
- 10.2 Proponer y evaluar formulaciones alimenticias, farmacéuticas y/o cosméticas, que incorporen el extracto de mucílago, taninos y azúcares.
- 10.3 Considerar otro método de extracción y purificación de ácido acético a partir de las mieles del café, que genere porcentajes mayores del compuesto y favorezca su evaluación y utilización como vinagre comercial.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anzueto, F. (2006). *Las implicaciones del reglamento de aguas residuales para el sector cafetalero*. Revista El Cafetal, 10 (1), 5-7.
- Asociación de cafés especiales de Nicaragua, et.al. (2007). *Proyecto café para Centroamérica: Manual de buenas prácticas para cosecha y beneficio húmedo de café de calidad*. Managua, Nicaragua: Banco Interamericano de Desarrollo (BID) y TechnoServe. Inc.
- Asociación Nacional del Café -ANACAFÉ-. (s.f.). *Hidrogenación y caficultura*. Recuperado de: http://www.anacafe.org.gt/glifos/index.php?title=Hidrogenacion_y_caficultura
- Asociación española para la cultura, el arte y la educación. (s.f.). *Plantas medicinales: Taninos*. Recuperado de: http://www.natureduca.com/med_sustanc_taninos.php
- Asociación Nacional del Café -ANACAFÉ-. (s.f.). *Subproductos del café*. Recuperado de: http://anacafe.org/glifos/index.php?title=BeneficioHumedo_Subproductos
- Asociación Nacional del Café -ANACAFÉ-. (2012). *Beneficiado húmedo: mucílago*. Guatemala: Centro de Investigaciones del café -CEDICAFE-. Recuperado de: http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=BeneficiadoHumedo_Mucilago
- Asociación Nacional del Café -ANACAFÉ-. (2012). *Misión y visión*. Guatemala: Autor. Recuperado de: http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=10CON:Anacafe_mision
- Bran, C. (2013). *Manual de Prácticas de Microbiología Industrial*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bressani, R. et.al. (1972). *Pulpa y pergamino de café: Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa*. Turrialba, Costa Rica: IICA.
- Brown, T., LeMay, E. y Bursten, B. (2004). *Química: La ciencia central* (9ª ed.). México: Pearson.
- Calle, V. (1977). *Subproductos del café*. Boletín técnico No. 6. Chinchiná, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones del Café -CENICAFÉ-.

Carbonell, A. y Vilanova, M. (1974). *Beneficiado rápido y eficiente del café mediante el uso de soda cáustica*. San José, Costa Rica: Depto. de Estudios Técnicos y Diversificación.

Clarke, R. (1985). *Coffee chemistry*. Vol. 1. Gran Bretaña: Autor.

Cleves, S. (1995). *Tecnología en beneficiado de café*. San José, Costa Rica.

Elías, L. (1978). *Composición química de la pulpa de café y otros subproductos*. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá INCAP.

González, A.M.; Raisman, J. (2005). *Azúcares o Glúcidos*. Argentina. Universidad Nacional del Nordeste. Recuperado de: www.biologia.edu.ar/macromoleculas/azucar.htm

Hans, B. Wolfgang W. (1987). *Manual de química orgánica*. Reverte Pp. 4-10

Ingraham J. et al. (2001). *Introducción a la microbiología*, Volumen 2. España: Editorial Reverte. Pp. 737-739

Instituto de Salud Pública de Chile, Sub-Departamento de Laboratorios del Ambiente. (s.f.). *Procedimiento para determinar fibra dietética total*. Chile: Autor. Recuperado de: http://www.ispch.cl/lab_amb/met_analitico/doc/ambiente%20pdf/fibradietaria.pdf

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura -IICA-. (2010). *Guía técnica para el beneficiado de café protegido bajo una indicación geográfica o denominación de origen*. Guatemala: Autor. Recuperado de: <http://iica.int/Esp/regiones/central/guatemala/Documents/Guia%20Tecnica%20de%20Beneficiado.pdf>

Instituto Nacional de Estadística -INE-. (2012). *Índice de Precios al Consumidor: Informe mensual*. Guatemala: Autor. Recuperado de: <http://www.ine.gob.gt/np/IPC/INFORME%20EJECUTIVO%20%20IPC%20MAYO%202012.pdf>

Jiménez, M. (2004). *Análisis de sacarosa*. [EN LINEA] Recuperado de: <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EpZyVuVyFyIgawgivu.php>

- Leal, G. y Morales, C. (1991). *Caracterización del proceso de comercialización del café en Guatemala*. Guatemala: Asociación Nacional del Café -ANACAFÉ-.
- Marín, S. et.al. (2003). *Cambios físicos y químicos durante la maduración del fruto del café (Coffea arabica L. var. Colombia)*. Revista CENICAFÉ, 54 (3), 208-225.
- Medinilla, B.E. y Velásquez, S.C (2011) Manual de laboratorio de fotoquímica. Guatemala.
- Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación -MAGA-. (2001). *Zonas de vida de Holdridge*. Recuperado de: <http://www.conap.gob.gt/quienes-somos/mapas/mapas-tematicos-1/Zonas%20de%20Vida.jpg/view>
- Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales -MARN-. (2009). *Informe ambiental del Estado de Guatemala*. Guatemala: Autor.
- Ministerio de Economía -MINECO-. (2009). *Café Oro y Pergamino*. Guatemala: Autor. Recuperado de: <http://uim.mineco.gob.gt/documents/10438/17026/F2.pdf>
- Ministerio de Salud de la Nación. (2004). *Farmacopea Argentina, Vol. IV. (8ª ed.)*.
- Murillo, L. (2007). *Manual de Bioquímica*. Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil. Recuperado de <http://es.scribd.com/doc/23351531/Reacciones-de-Identificacion-Para-LosCarbohidratos>
- Oliveros, A. y Roa, J. (1995). *Desmucilaginado mecánico del café: Avances técnicos*. Revista CENICAFÉ, 216 (1), 1-3.
- Prieto, Y. (2002). *Caracterización física del café semitostado*. Bogotá, Colombia: Facultad de Ingeniería Química, Fundación Universidad de América.
- Rathinavelu, R. (2005). *Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café*. Italia: Departamento de Biología de la Universidad de Trieste. Recuperado de: <http://infocafes.com/descargas/biblioteca/112.pdf>

- Rodríguez N. (2006) Producción de biocombustibles a partir de los subproductos del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Colombia: Cenicafé.
- Roux, G. y Camacho, C. (1992). *Caracterización de la cadena del café de Guatemala*. Santiago de Chile: Grupo Chorlavi. Recuperado de: www.grupochorlavi.org/cafe/docs/guatemala.pdf
- Ruiz, M. (s.f.). *Usos industriales del ácido acético*. Argentina: ATANOR. Recuperado de: http://www.atanor.com.ar/esp/negocios_exportacion/quimicos/productos/acido_acetico.php
- Sistema de Servicios de Información y Bibliotecas -SISIB-. (S.F.). *Polisacáridos heterogéneos*. Santiago de Chile: Universidad de Chile. Recuperado de: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/apbot-farm2c/montesm02/06.html
- Taylor, H. E. (2001) *Inductively Coupled Plasma - mass Spectrometry: Practices and Techniques*. San Diego, CA : AcademicPress
- United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 30-NF 25).Vol. 2. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention; 2007.
- Valderrama, J. (1997). *Información Tecnológica*. Vol. 8. Chile: Centro de Información Tecnológica.
- Villanueva J. (1996). *Microbiología*. Editorial Reverte. Pp.50.
- Wilbaux, R. (1964). *El Beneficio Húmedo del café*. Roma, Italia: Estudios agropecuarios de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Wintgens, J. (1994). *Influencia del beneficiado sobre la calidad del café*. USA: Nestlé S.A.

12. ANEXOS

ANEXO No. 1: Extracción, identificación, purificación y cuantificación de azúcares

- **Cualificación de azúcares:**

Tabla No. 1: Resultados obtenidos de la cualificación de azúcares extraídos a partir de las muestras recolectadas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango), Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Repetición No.	TF M1	TF M2	TC M1	TC M2
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
Especificación		Formación de anillo violeta en la interfase		

TF M1 = tierra fría, muestra 1

TF M2 = tierra fría, muestra 2

TC M1 = tierra caliente, muestra 1

TC M2 = tierra caliente, muestra 2

+ = cumple con la especificación

- = no cumple con la especificación

- **Métodos de cuantificación de impurezas en azúcares:**

1. Cuantificación de cloruros:

Tabla No. 2: Resultados obtenidos de la cuantificación de cloruros como prueba de impurezas en azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	Repetición No.	R1	R2	Promedio	ppm	%
		Vol. AgNO ₃	Vol. AgNO ₃			
1	1	0.201	0.203	0.202	0.018	1.843E-06
	2	0.197	0.195	0.196	0.017	1.737E-06
	3	0.193	0.193	0.193	0.017	1.684E-06
2	1	0.183	0.185	0.184	0.015	1.524E-06
	2	0.187	0.187	0.187	0.016	1.578E-06
	3	0.190	0.191	0.191	0.016	1.640E-06
Media		0.192	0.192	0.192	0.017	1.668E-06
Desviación		0.007	0.006	0.006	0.001	1.144E-07

Tabla No. 3: Resultados obtenidos de la cuantificación de cloruros como prueba de impurezas en azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	Repetición No.	R1	R2	Promedio	ppm	%
		Vol. AgNO ₃	Vol. AgNO ₃			
1	1	0.193	0.194	0.1935	0.017	1.693E-06
	2	0.195	0.194	0.1945	0.017	1.710E-06
	3	0.195	0.195	0.195	0.017	1.719E-06
2	1	0.198	0.197	0.1975	0.018	1.764E-06
	2	0.195	0.196	0.1955	0.017	1.728E-06
	3	0.196	0.196	0.196	0.017	1.737E-06
Media		0.195	0.195	0.195	0.017	1.725E-06
Desviación		0.002	0.001	0.001	0.000	2.422E-08

Cloruros (especificación USP) = 0.0035%
 ml. gastados para titular el blanco: 0.098 ml.
 Vol. AgNO₃ = volumen de nitrato de plata
 % = porcentaje final de Cl⁻ cuantificados

Volumen de muestra: 10 ml.
 R = No. de repetición
 ppm = partes por millón de Cl⁻

2. Cuantificación de sulfatos:

Tabla No. 4: Resultados obtenidos de la cuantificación de sulfatos como prueba de impurezas en azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	Repetición No.	Lectura directa			Cálculo a partir de azufre elemental		
		Lectura	ppm	%	Azufre (ppm)	Azufre (%)	Sulfatos (%)
1	1	6.000	6.000	6.000E-04	0.812	8.120E-05	2.436E-04
	2	6.000	6.000	6.000E-04	0.801	8.010E-05	2.403E-04
	3	6.000	6.000	6.000E-04	0.845	8.450E-05	2.535E-04
2	1	7.000	7.000	7.000E-04	0.721	7.210E-05	2.163E-04
	2	7.000	7.000	7.000E-04	0.711	7.110E-05	2.133E-04
	3	6.000	6.000	6.000E-04	0.732	7.320E-05	2.196E-04
Media		6.333	6.333	0.001	0.770	7.703E-05	2.311E-04
Desviación		0.516	0.516	0.000	0.056	5.599E-06	1.680E-05

Sulfatos (especificación USP) = 0.0060 %
 ppm = partes por millón

R = No. de repetición
 % = porcentaje final de sulfatos cuantificados

Tabla No. 5: Resultados obtenidos de la cuantificación de sulfatos como prueba de impurezas en azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	Repetición No.	Lectura directa			Cálculo a partir de azufre elemental		
		Lectura	ppm	%	Azufre (ppm)	Azufre (%)	Sulfatos (%)
1	1	3.000	3.000	3.000E-04	0.412	4.120E-05	1.236E-04
	2	3.000	3.000	3.000E-04	0.416	4.160E-05	1.248E-04
	3	3.000	3.000	3.000E-04	0.420	4.200E-05	1.260E-04
2	1	4.000	4.000	4.000E-04	0.503	5.030E-05	1.509E-04
	2	3.000	3.000	3.000E-04	0.508	5.080E-05	1.524E-04
	3	4.000	4.000	4.000E-04	0.510	5.100E-05	1.530E-04
Media		3.333	3.333	0.000	0.462	4.615E-05	1.385E-04
Desviación		0.516	0.516	0.000	0.050	4.996E-06	1.499E-05

Sulfatos (especificación USP) = 0.0060 %
ppm = partes por millón

R = No. de repetición
% = porcentaje final de sulfatos cuantificados

3. Cuantificación de metales pesados:

Tabla No. 6: Resultados obtenidos de la cuantificación de metales pesados como prueba de impurezas en azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	Repetición No.	As	Cd	Hg	Pb	Ni	Cr
		ppm					
1	1	0.030	0.000	0.040	0.060	0.030	0.060
	2	0.020	0.000	0.050	0.050	0.031	0.050
	3	0.010	0.000	0.040	0.040	0.030	0.050
2	1	0.020	0.000	0.050	0.050	0.020	0.050
	2	0.010	0.000	0.040	0.050	0.030	0.050
	3	0.020	0.000	0.050	0.050	0.030	0.040
Media		0.018	0.000	0.045	0.050	2.850E-02	5.000E-02
Desviación		0.008	0.000	0.005	0.006	4.183E-03	6.325E-03

Metales pesados (especificación USP) = < 5 ppm

R = No. de repetición

As = Arsénico Cd = Cadmio Hg = Mercurio

Pb = Plomo Ni = Níquel Cr = Cromo

ppm = partes por millón

Tabla No. 7: Resultados obtenidos de la cuantificación de metales pesados como prueba de impurezas en azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	Repetición No.	As	Cd	Hg	Pb	Ni	Cr
		ppm					
1	1	0.000	0.002	0.004	0.006	0.001	0.003
	2	0.000	0.003	0.006	0.008	0.002	0.002
	3	0.001	0.004	0.002	0.006	0.002	0.003
2	1	0.000	0.003	0.002	0.005	0.002	0.003
	2	0.001	0.002	0.004	0.004	0.001	0.002
	3	0.001	0.002	0.005	0.007	0.002	0.004
Media		0.001	0.003	0.004	0.006	1.667E-03	2.833E-03
Desviación		0.001	0.001	0.002	0.001	5.164E-04	7.528E-04

Metales pesados (especificación USP) = < 5 ppm

R = No. de repetición

As = Arsénico

Cd = Cadmio

Hg = Mercurio

Pb = Plomo

Ni = Níquel

Cr = Cromo

ppm = partes por millón

- **Cuantificación de azúcares:**

Tabla No. 8: Resultados obtenidos de la cuantificación de azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	Repetición No.	Factor de dilución	Absorbancia	Concentración (% sobre peso seco)
1	1	1.000	0.667	12.848
	2	2.000	0.657	12.664
	3	1.000	0.655	12.618
2	1	1.000	0.498	10.864
	2	1.000	0.499	10.903
	3	1.000	0.501	10.956
Media		1.167	0.580	11.809
Mediana		1.000	0.578	11.787
Desviación		0.408	0.088	0.991
Rango		1.000	0.169	1.984

% = porcentaje final de azúcares obtenidos

Tabla No. 9: Resultados obtenidos de la cuantificación de azúcares extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	Repetición No.	Factor de dilución	Absorbancia	Concentración (% sobre peso seco)
1	1	1.000	0.548	10.565
	2	1.000	0.549	10.579
	3	1.000	0.543	10.451
2	1	3.000	0.713	15.395
	2	3.000	0.713	15.380
	3	3.000	0.715	15.425
Media		2.000	0.630	12.966
Mediana		2.000	0.631	12.980
Desviación		1.095	0.092	2.667
Rango		2.000	0.172	10.451

% = porcentaje final de azúcares obtenidos

ANEXO No. 2

Extracción, identificación, purificación y cuantificación de taninos

- **Prueba de identificación de taninos:**

Tabla No. 1: Resultados obtenidos de la prueba de identificación de taninos extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango), Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

R	Prueba	Especificación	TF M1	TF M2	TC M1	TC M2
1	Sol. Gelatina al 1%	Formación de precipitado	+	+	+	+
2	Sol. Gelatina / Sal	Formación de precipitado	+	+	+	+
3	Cloruro férrico 10%	Coloración verde/azulada	+	+	+	+

TF M1 = tierra fría, muestra 1

TC M1 = tierra caliente, muestra 1

+ = cumple con la especificación

TF M2 = tierra fría, muestra 2

TC M2 = tierra caliente, muestra 2

- = no cumple con la especificación

- **Cuantificación de taninos:**

Tabla No. 2: Resultados obtenidos de la cuantificación de taninos extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	R	Abs. Mx	Abs. Sol. Ref	Peso (g)	Humedad (%)	Concentración (%p/v)
1	1	0.006	0.094	10.000	8.790	0.170
	2	0.059	0.094	10.000	8.790	0.130
	3	0.000	0.094	10.000	8.790	0.120
2	1	0.001	0.021	10.000	9.200	0.147
	2	0.002	0.021	10.000	9.200	0.226
	3	0.001	0.021	10.000	9.200	0.173
Media		0.012	0.057	10.000	8.995	1.610E-01
Mediana		0.002	0.057	10.000	8.995	1.59E-01
Desviación		0.023	0.040	0.000	0.225	3.818E-02
Rango		0.058	0.073	0.000	0.410	0.106

R = No. de repetición

Abs. Sol. Ref = absorbancia de la Sol. de referencia

% = porcentaje de humedad

Abs. Mx = absorbancia de la muestra

g = gramos

% p/v = porcentaje peso volumen

Tabla No. 3: Resultados obtenidos de la cuantificación de taninos extraídos de las muestras de pulpa de café obtenidas en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	R	Abs. Mx	Abs. Sol. Ref	Peso (g)	Humedad (%)	Concentración (%p/v)
1	1	0.004	0.094	10.000	8.790	1.829
	2	0.089	0.094	10.000	8.790	1.726
	3	0.002	0.094	10.000	8.790	1.745
2	1	0.003	0.021	10.000	9.200	1.420
	2	0.010	0.021	10.000	9.200	1.470
	3	0.018	0.021	10.000	9.200	1.560
Media		0.021	0.057	10.000	8.995	1.625
Mediana		0.007	0.057	10.000	8.995	1.643
Desviación		0.034	0.040	0.000	0.225	0.165
Rango		0.088	0.073	0.000	0.410	0.409

R = No. de repetición

Abs. Sol. Ref = absorbancia de la Sol. de referencia

% = porcentaje de humedad

Abs. Mx = absorbancia de la muestra

g = gramos

% p/v = porcentaje peso volumen

ANEXO No. 3

Extracción, identificación, purificación y cuantificación de mucílago

- **Prueba de identificación de mucílagos:**

Tabla No. 1: Resultados obtenidos de la prueba de identificación de mucílago extraído en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango), Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

R	Prueba	TF M1	TF M2	TC M1	TC M2
1	Etanol al 70%	+	+	+	+
2	Cloruro férrico 20%	+	+	+	+
3	Acetato de plomo	+	+	+	+
Especificación			Formación de gel o colide		

TF M1 = tierra fría, muestra 1

TF M2 = tierra fría, muestra 2

TC M1 = tierra caliente, muestra 1

TC M2 = tierra caliente, muestra 2

+ = cumple con la especificación

- = no cumple con la especificación

- **Cuantificación de mucílago:**

Tabla No. 2: Resultados obtenidos de la cuantificación de mucílago extraído en las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	R	Tara (g)	Tara + mx inicial (g)	Papel (g)	Papel + mx final (g)	Peso de mx inicial (g)	Peso de mx final (g)	% Rendimiento
1	1	17.870	27.230	1.700	3.670	9.360	1.970	21.047
	2	17.795	27.212	1.670	3.664	9.417	1.994	21.174
	3	17.871	27.277	1.730	3.789	9.406	2.059	21.890
2	1	17.760	27.560	1.840	3.930	9.800	2.090	21.327
	2	17.725	27.541	1.880	3.976	9.816	2.096	21.353
	3	17.775	27.530	1.907	3.893	9.755	1.986	20.359
Media		17.799	27.392	1.788	3.820	9.592	2.033	21.192
Mediana		17.785	27.404	1.785	3.841	9.586	2.027	21.251
Desviación		0.060	0.168	0.100	0.134	0.219	0.056	0.499
Rango		0.146	0.348	0.237	0.312	0.456	0.126	1.531

R = No. de repetición

mx = muestra

% = porcentaje de rendimiento

Tabla No. 3: Resultados obtenidos de la cuantificación de mucílago extraído en la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	R	Tara (g)	Tara + mx inicial (g)	Papel (g)	Papel + mx final (g)	Peso de mx inicial (g)	Peso de mx final (g)	% Rendimiento
1	1	17.550	27.350	1.860	3.950	9.800	2.090	21.327
	2	17.570	27.473	1.856	3.843	9.903	1.987	20.065
	3	17.630	27.422	1.905	3.962	9.792	2.057	21.007
2	1	17.640	27.210	2.110	4.180	9.570	2.070	21.630
	2	17.628	27.302	2.103	4.101	9.674	1.998	20.653
	3	17.549	27.196	2.130	4.152	9.647	2.022	20.960
Media		17.595	27.326	1.994	4.031	9.731	2.037	20.940
Mediana		17.599	27.326	2.004	4.032	9.733	2.040	20.983
Desviación		0.043	0.112	0.133	0.133	0.122	0.041	0.544
Rango		0.091	0.277	0.274	0.337	0.333	0.103	1.565

R = No. de repetición

mx = muestra

% = porcentaje de rendimiento

ANEXO No. 4

Extracción, identificación, purificación y cuantificación de ácido acético

- **Prueba de identificación de ácido acético:**

Tabla No. 1: Resultados obtenidos de la prueba de identificación de ácido acético extraído a partir de la muestra de agua miel de las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango), Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

R	Prueba	Especificación	TF M1	TF M2	TC M1	TC M2
1	Organoléptico	Líquido incoloro de olor purgente	+	+	+	+
2	Punto de ebullición	118 °C	-	-	-	-
3	Solubilidad	Coloración violeta	+	+	+	+

TF M1 = tierra fría, muestra 1

TC M1 = tierra caliente, muestra 1

+ = cumple con la especificación

TF M2 = tierra fría, muestra 2

TC M2 = tierra caliente, muestra 2

- = no cumple con la especificación

- **Cuantificación de ácido acético:**

Tabla No. 2: Resultados obtenidos de la cuantificación de ácido acético extraído a partir de la muestra de agua miel de las Fincas La Alameda y La Primavera (Huehuetenango)

Muestra	R	Peso (g)	Volumen NaOH (ml)	% p/v
1	1	24.177	3.140	0.770
	2	24.766	2.890	0.700
	3	24.795	3.000	0.799
2	1	24.896	2.980	0.719
	2	24.961	1.950	0.469
	3	24.863	2.350	0.568
Media		24.743	2.718	0.671
Mediana		24.829	2.935	0.710
Desviación		0.286	0.465	0.127
Rango		0.784	1.190	0.330

R = No. de repetición

g = gramos

NaOH (ml) = mililitros de hidróxido de sodio

% p/v = porcentaje peso volumen

Tabla No. 3: Resultados obtenidos de la cuantificación de ácido acético extraído a partir de la muestra de agua miel de la Cooperativa Nuevo Sendero y Finca La Ilusión y el Obraje (Santa Rosa)

Muestra	R	Peso (g)	Volumen NaOH (ml)	% p/v
1	1	24.629	1.730	0.461
	2	25.004	1.314	0.315
	3	24.896	2.360	0.569
2	1	24.568	2.750	0.672
	2	24.796	1.830	0.443
	3	24.852	1.650	0.399
Media		24.791	1.939	0.477
Mediana		24.824	1.780	0.452
Desviación		0.165	0.522	0.127
Rango		0.436	1.436	0.357

R = No. de repetición

g = gramos

NaOH (ml) = mililitros de hidróxido de sodio

% p/v = porcentaje peso volumen

ANEXO No. 5: Costos

Tabla No. 1: Costos finales de los procesos de extracción, identificación, purificación y cuantificación de azúcares

Extracción		Identificación		Purificación		Cuantificación	
Reactivo	Costo	Reactivo	Costo	Reactivo	Costo	Reactivo	Costo
Alcohol etílico	Q1.00	α-naftol al 5%	Q1.00	Ácido nítrico	Q1.50	Estándar de Sacarosa	Q1.00
				Nitrato de plata	Q1.00		
Agua destilada	Q0.20	Alcohol etílico	Q0.20	Ácido clorhídrico	Q3.00	Fenol	Q0.50
		Ácido sulfúrico	Q2.00	Cubeta de reacción	Q65.00		
				Estándares varios	Q96.00		
Total / muestra	Q1.20	Total / muestra	Q3.20	Total / muestra	Q166.50	Total / muestra	Q1.50

Tabla No. 2: Costos finales de los procesos de extracción, identificación, purificación y cuantificación de taninos

Extracción		Identificación		Purificación		Cuantificación	
Reactivo	Costo	Reactivo	Costo	Reactivo	Costo	Reactivo	Costo
Alcohol etílico al 95%	Q1.00	Cloruro de sodio al 10%	0.1	Sílica gel modificada C7	Q75.00	Ácido tánico	Q1.00
		Gelatina al 1%	Q0.25			Tugstato dihidratado de sodio	Q1.00
Cloruro de sodio	Q0.10	Cloruro férrico	Q0.75	Agua destilada	Q2.00	Ácido fosfomolibdico	Q1.00
				Ácido fosfórico	Q1.00		
Cloruro férrico	Q0.75	Papel filtro	Q1.00	Alcohol etílico	Q0.75	Alcohol etílico	Q0.50
				Carbonato de sodio	Q0.50		
						Agua destilada	Q3.00
Total / muestra	Q1.85	Total / muestra	Q1.10	Total / muestra	Q77.75	Total / muestra	Q8.00

Fuente: Proveedores consultados, agosto 2013

Tabla No. 3: Costos finales de los procesos de extracción, identificación y purificación de mucílago

<i>Extracción</i>		<i>Identificación</i>		<i>Purificación</i>	
<i>Reactivo</i>	<i>Costo</i>	<i>Reactivo</i>	<i>Costo</i>	<i>Reactivo</i>	<i>Costo</i>
Agua destilada	Q0.50	Alcohol etílico	Q0.50	Agua destilada	Q3.00
		Cloruro férrico	Q0.75	Alcohol etílico	Q2.00
Papel filtro	Q0.50	Acetato de plomo al 10%	Q0.50	Acetona	Q0.50
		Acetato básico de plomo al 10%	Q0.50	Papel filtro	Q0.50
Total / muestra	Q1.00	Total / muestra	Q2.25	Total / muestra	Q6.00

Fuente: Proveedores consultados, agosto 2013

Tabla No. 4: Costos finales de los procesos de extracción, identificación y cuantificación de ácido acético

<i>Extracción</i>		<i>Identificación</i>		<i>Cuantificación</i>	
<i>Reactivo</i>	<i>Costo</i>	<i>Reactivo</i>	<i>Costo</i>	<i>Reactivo</i>	<i>Costo</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Q2.00			Agua destilada	Q0.50
(NH ₄) ₂ SO ₄ al 0.1%	Q1.50				
Caseína	Q0.50	Cristal violeta	Q0.50	Hidróxido de sodio	Q0.25
Sulfato de magnesio	Q0.50				
Glucosa	Q0.50			Fenolftaleína	Q0.25
Piña	Q8.00				
Total / muestra	Q13.00	Total / muestra	Q0.50	Total / muestra	Q1.00

Fuente: Proveedores consultados, agosto 2013

ANEXO No.6:

Recuento de levaduras en Cámara de Neubauer y
Cálculo de volumen de inóculo a agregar en muestra

Recuento de levaduras en Cámara de Neubauer:

$\text{Lev/mm}^3 = \text{Numero de levaduras contadas} * 1/\text{vol de cámara} * \text{dilución}$

$\text{Lev/mm}^3 = \text{Numero de levaduras contadas} * 1/0,4 \text{ mm}^3 * 20$

$\text{Lev/ml} = \frac{\text{Levaduras}}{\text{Mm}} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{ml}}$

Calculo del volumen de inóculo a agregar a la muestra:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

Donde:

C_1 = Concentración de levaduras que se calculó del inóculo (lev/ml)

V_1 = Volumen del inóculo que debe agregarse al jugo

C_2 = Concentración inicial de levaduras que debe tener el jugo (10^3 a 10^5)

V_2 = Volumen del jugo (250ml)

Fuente: Ingraham, 2001

ANEXO No. 7*Fotografías de los procesos y muestras*

- ***Extracción, identificación, purificación y cuantificación de azúcares***

- Extracción de azúcares:



Imagen No. 1: Extracto acuoso y etanólico de azúcares



Imagen No. 2: Extractos etanólicos de azúcares

- Identificación de azúcares:



Imagen No. 3: Prueba de Identificación de azúcares



Imagen No. 4: Identificación de azúcares

- Purificación de azúcares:



Imagen No. 5: Cuantificación de sulfatos con kit



Imagen No. 6: Cuantificación de cloruros

- Cuantificación de azúcares:



Imagen No. 7: Curva de Calibración azúcares



Imagen No. 8: Cuantificación de azúcares

- ***Extracción, identificación, purificación y cuantificación de taninos***

- Identificación de taninos:



Imagen No. 9: Identificación de taninos

- ***Extracción, identificación, purificación y cuantificación de mucilago***

- Extracción de mucilago:



Imagen No. 10: Extracción con desmucilagadora



Imagen No. 11: Separación por solubilidad

- Identificación de mucilago:



Imagen No. 12: Pruebas cualitativas de identificación

- Purificación de mucilago:



Imagen No. 13: Separación manual de mucilago



Imagen No. 14: Mucilago filtrado

- Cuantificación de mucilago:



Imagen No. 15: Procesado de mucilago seco



Imagen No. 16: Post pesaje de mucilago

- ***Extracción, identificación y cuantificación de ácido acético***

- Extracción de ácido acético:



Imagen No. 17: Aguas miel de beneficiado



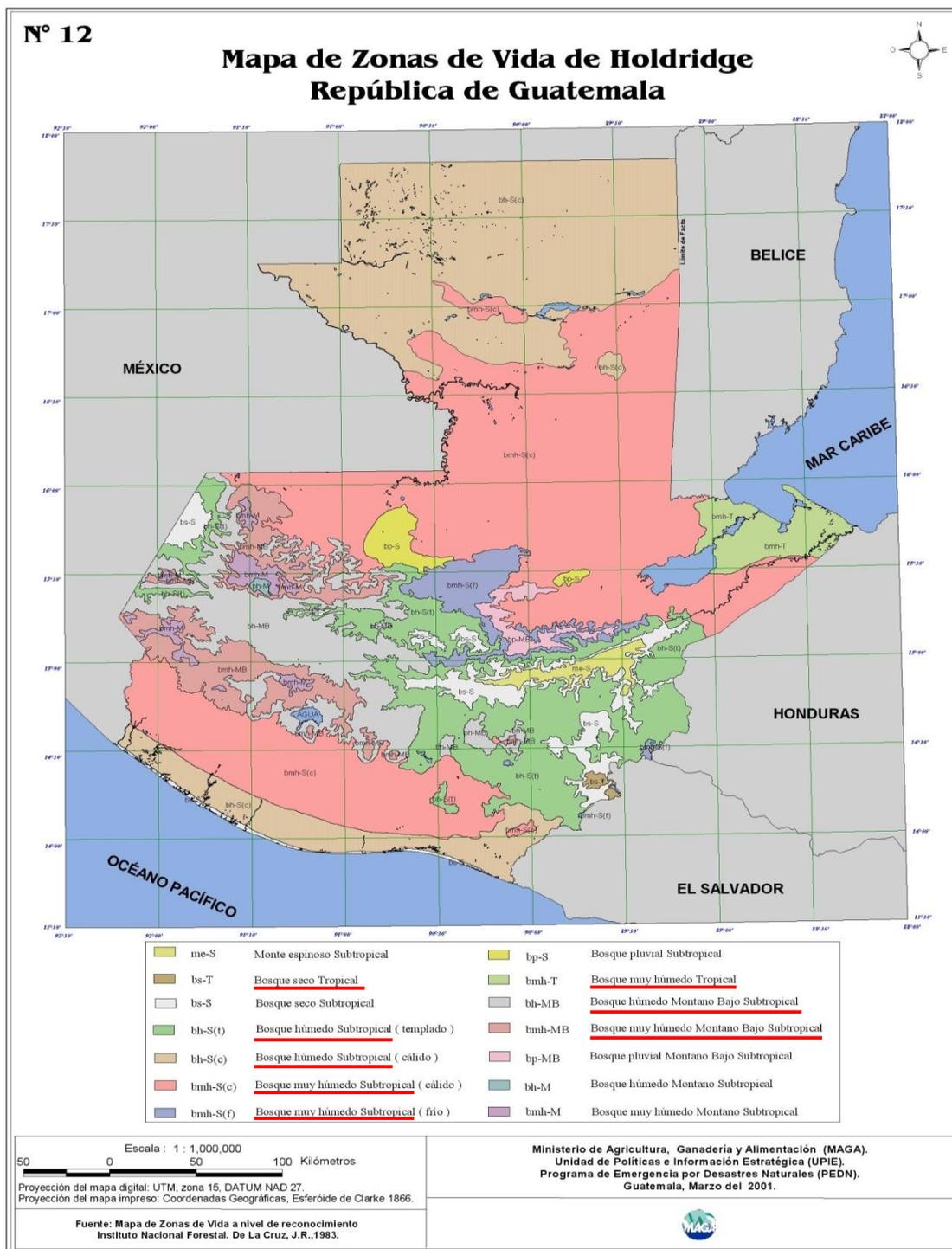
Imagen No. 18: Extractos filtrados

- Identificación de ácido acético:



Imagen No. 19: Identificación por punto de ebullición Imagen No. 20: destilación de ácido acético

ANEXO No. 8: Regiones cafetaleras de Guatemala

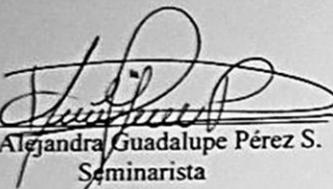


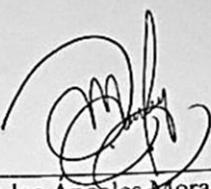
Fuente: MAGA, 2001

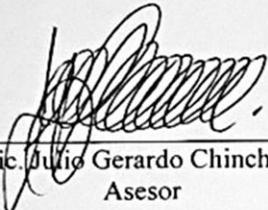

 Ana Lucía Samayoa T.
 Seminarista

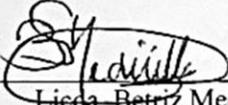

 Brizna Larisa Borraro H.
 Seminarista

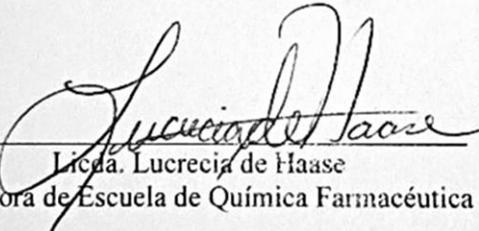

 Luis Fernando Montenegro A.
 Seminarista

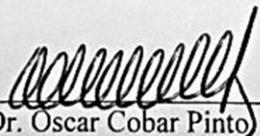

 Alejandra Guadalupe Pérez S.
 Seminarista


 María de los Angeles Morataya S.
 Seminarista


 Lic. Julio Gerardo Chinchilla
 Asesor


 Licda. Betriz Medinilla
 Revisora


 Licda. Lucrecia de Haase
 Directora de Escuela de Química Farmacéutica


 Dr. Oscar Cobar Pinto
 Decano Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia