



**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA -CONCYT-
SECRETARIA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA -SENACYT-
FONDO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA -FONACYT-
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA-UVG**

INFORME FINAL

Re-ingeniería del proceso húmedo del café para aumentar su productividad

PROYECTO FODECYT No. 029-2013

**M.Sc. Carlos Rolz Asturias
Investigador Principal**

GUATEMALA, JULIO DEL 2016



AGRADECIMIENTO

La realización de este trabajo ha sido posible gracias al apoyo financiero dentro del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología –FONACYT- del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología –CONCYT-administrado por la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología –SENACYT-

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN:

M.Sc. Carlos E. Rolz Asturias
Investigador Principal

M.Sc. Luis Roberto De León Fajardo
Investigador Asociado

Lic. Ana Luisa Mendizábal de Montenegro
Investigador Asociado

Sr. Carlos Humberto Arias Méndez
Técnico de Laboratorio

Resumen

El beneficio húmedo de café, en forma breve, consiste en: recepción del fruto maduro, o café cereza, en tanques de agua, en donde se separan los granos que flotan del resto. Luego se efectúa la separación de la pulpa o cáscara en molinos o pulperos diseñados para el efecto, los cuales, en su mayoría, funcionan con la adición de agua. Continúa la fermentación natural del mucílago que rodea al grano, la cual se lleva a cabo en tanques abiertos en donde al café despulpado se amontona. Transcurridos varios días se realiza el lavado del grano fermentado en canales con agua circulando. El café es secado al sol en patios, en secadoras con aire caliente, o empleando consecutivamente ambas técnicas, dependiendo de las condiciones del clima. Luego se traslada el café seco en pergamino a los beneficios denominados secos, en donde se elimina el pergamino en molinos diseñados para tal fin. El café verde resultante, o en oro, se comercializa en sacos tanto en el exterior como en el interior del país. Empresas centralizadas lo adquieren, lo tuestan, lo muelen y lo empacan para la venta y el consumo.

El uso intenso de agua en el beneficiado de café y la carga orgánica elevada de las aguas de descarga de los beneficios representan un problema ambiental por la contaminación de aguas de superficie, tanto de ríos como de lagos y embalses. Se estima que se descargan por la operación de los aproximadamente 36,000 beneficios húmedos, en las aguas de beneficio por cosecha, entre 25,000 a 35,000 toneladas de materia orgánica. Invertir en procesos aeróbicos clásicos de tratamiento de aguas, o también llamados sistemas de lodos activados, es oneroso para la mayoría de los beneficios en el país, especialmente en esta época de precios bajos y demanda mundial sobre ofertada. Es necesario un enfoque global de procesamiento limpio para introducir cambios que, por un lado, no afecten la calidad del grano del café producido, pero por el otro conviertan el beneficio en una operación más productiva.

En este proyecto se llevaron a cabo pruebas con cinco muestras de café de diferentes orígenes con el objetivo de ensayar dos estrategias para fermentar el grano con la producción simultánea de etanol. Se caracterizaron los efectos de la adición de dos levaduras diferentes en la fermentación en relación con el proceso natural. Las pruebas se realizaron en planta piloto y los cafés en pergamino resultantes fueron evaluados de dos formas, la calidad de la taza en forma organoléptica por expertos y por medio del perfil de los compuestos orgánicos volátiles que conforman el aroma. Los productos de degradación del mucílago durante la fermentación se emplearon como materia prima en un digestor anaerobio cuya operación fue caracterizada.

La primera estrategia fue la fermentación del grano más la pulpa separada en seco, ambos suspendidos en agua y con la adición de levaduras. La fermentación fue normal y la levadura CBS 459 produjo 1.88 g de etanol por 100 mL de medio consumiendo los azúcares y eliminando el mucílago. Sin embargo la evaluación de la bebida resultante detectó sabores extraños. La segunda estrategia fue la fermentación del grano suspendido en agua con la adición de levaduras, pero sin la pulpa. Se observó una reducción de etanol producido aproximadamente en 10 veces con respecto a las pruebas en donde la pulpa estuvo presente. Lo anterior sugiere que la mayoría del mucílago con los azúcares quedó en la pulpa durante el despulpado en seco. La evaluación de la bebida fue superior a la obtenida en la primera estrategia, sin embargo, todavía se apreciaron algunos sabores extraños. Se procedió entonces a eliminar el agua pero siempre con la adición de levaduras. Se procesaron cinco

muestras de café de diferente origen en planta piloto. La operación del pulpero en seco procedió normalmente obteniendo en promedio un rendimiento de grano despulpado de 59.1 %. Los sólidos solubles y la proporción de fructosa residual en el líquido de lavado del grano fermentado fueron las únicas variables que fueron diferentes en las cinco muestras de café y en el tipo de fermentación empleada. Por el contrario, el pH, los sólidos totales y el etanol producido fueron similares. El etanol se produjo no solo en las pruebas con adición de levaduras sino que también en la fermentación natural. Esto indica que existen levaduras nativas en las cerezas del café en el país, similar a lo reportado en otras regiones productoras.

En el aroma de las muestras de café: a) predominaron los furanos y las pirazinas, b) los pirroles y los compuestos varios fueron iguales en las cinco muestras de café y en los tres tipos de fermentaciones, c) los furanos, las pirazinas, los aldehídos y las cetonas, y las piridinas fueron diferentes en las cinco muestras de café, y d) las pirazinas fueron diferentes entre los tres tipos de fermentación ensayados. El análisis de variables múltiples de agrupamiento empleando la composición relativa de las pirazinas mostró que las muestras de San Vicente Pacaya y Cooperativa Nueva Era eran, no solo diferentes a las otras tres, sino que también diferentes entre sí. Las muestras procesadas de la Cooperativa Acatenango con adición de levaduras fueron catalogadas como *sanas* en cuanto a la apreciación organoléptica de la *taza*. Igual calificación obtuvo la muestra de Villa Canales con adición de la levadura CBS459 y la muestra de la Cooperativa Nueva Era en fermentación natural. Las muestras de Acatenango fueron las que tuvieron mayor cantidad de fragancias claves en su aroma por lo que se vislumbra una correlación cualitativa entre la mayor cantidad de fragancias clave y la evaluación organoléptica de una *taza sana*.

El procesamiento anaerobio del líquido ácido del lavado de café, o aguas mieles, fue exitoso y en el mismo se redujo un 75 % de la DQO inicial con la producción simultánea de biogás conteniendo aproximadamente 50 % de metano. Se estimó que un beneficio que procesara alrededor de 10,000 sacos de 50 kg de café cereza diarios podría generar como máximo alrededor de 2,000,000 MJ de energía térmica si quema el biogás, o si se convierte a energía eléctrica aproximadamente 57,000 Kwh.

Palabras Clave: Café, beneficio húmedo, fermentación, levaduras, calidad, aroma, digestión anaerobia, biogas.

Abstract

Wet coffee processing consists in the following steps: cherry classification by flotation, mechanical pulp separation with water addition, solid fermentation in open tanks in order to degrade the mucilage, coffee washing in open channels employing circulating water and solar drying of the washed coffee. The resulting coffee grain is called parchment coffee. This is transported to dry beneficios where the parchment is mechanically removed. The final coffee grain is baled in sacks either for export or local consumption. Specific industries roast, mill and pack the product for final consumption.

The intensive use of water during wet coffee processing and the high organic load of the used water which are dumped into rivers or lakes present an environmental problem. We estimate that between 25,000 to 35,000 tons of organic matter is discharged into rivers and

lakes every coffee harvest. The coffee industry is in crisis due to low prices and an inventory surplus, hence, investing in high cost, aerobic water treatment plants, is out of the question. An overall assessment is needed in order to identify changes and consolidation of the wet process in order to reduce waste maintaining quality.

In this project five coffee samples from different origin were processed in the pilot plant with the objective of testing two different fermentation strategies with simultaneous ethanol production. The addition of two yeast strains was compared with the natural fermentation. The resulting parchment samples were evaluated first, by cup quality organoleptic tests done by experts, and second, by aroma analysis. The fermentation degradation products were used as raw material in an anaerobic reactor.

The first strategy consisted of the fermentation of coffee grains mixed with coffee pulp, previously separated, in a water suspension. Fermentation proceeded normally and the CBS 459 yeast produced 1.88 g of ethanol per 100 mL with mucilage degradation. However, quality cup tests detected strong off flavors. In the second strategy, depulped coffee grains in a water suspension were fermented. There was a 10 fold decrease in ethanol production, suggesting that most of the original sugars were associated with the previously separated pulp. Cup quality improved however there some off flavors were still detected. It was decided then, to eliminate water, fermentation taking place as is done commercially, but with yeast additions. Five coffee samples were then processed at the pilot plant. Dry pulping was employed without problems and the grain coffee yield was 59.1 %. Soluble solids and the amount of fructose left in the washing liquid after fermentation were the only significant variables as a function of the coffee sample and the type of fermentation employed. On the other hand, final pH, total solids and ethanol produced were not significant. Ethanol was produced also during natural fermentation which implied that there is an important yeast microflora associated with coffee cherries.

Characterization of the aroma profiles showed that: a) furans and pirazines were the major compounds, b) pirrol derivatives and various other compounds were similar in all coffee samples and fermentations, c) furans, pirazines, aldehydes, ketones and piridines were different in the five coffee samples, and d) pirazines were different in the five coffee samples and the three types of fermentations. Multiple variable cluster analysis employing the pirazines profiles showed that San Vicente Pacaya and Cooperativa Nueva Era samples were, not only different from the other coffee samples, but also among them. Excellent cup quality was detected for the Cooperativa Acatenango samples fermented with yeast additions. These samples had the highest key fragrance compounds indicating that there might be a correlation between cup quality and key fragrance. Excellent cup quality was also found for the Villa Canales sample with the CBS 459 addition and for the Cooperativa Nueva Era sample with natural fermentation.

Anaerobic processing of the acid wash water proceeded as expected, with a 75 % of COD decrease and biogas with about 50 % of methane content. In a beneficio with a daily capacity of 10,000 50Kg bags could generate, in one of the alternatives, a maximum thermal energy of 2,000,000 MJ or, in a second alternative about 57,000 Kwh of electric energy.

Keywords: Coffee, wet processing, fermentation, yeast, quality, aroma, anaerobic digestion, biogas

ÍNDICE

No. Pág.

PARTE I

I.1	INTRODUCCIÓN	03
I.2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	06
	1.2.1 Antecedentes en Guatemala	06
	1.2.2 Justificación del trabajo de investigación	07
I.3	OBJETIVOS E HIPOTESIS	07
	I.3.1 Objetivos	07
	I.3.1.1 General	07
	I.3.1.2 Específicos	07
	I.3.2 Hipótesis	08
I.4	METODOLOGIA	08
	1.4.1 Muestras de café procesadas.....	08
	1.4.2 Pruebas iniciales para alternativas de fermentación	08
	1.4.3 Protocolo de las pruebas de beneficiado a mayor escala	11
	1.4.4 Evaluación organoléptica de las muestras	15
	1.4.5 Análisis de los componentes volátiles del aroma del café	15
	1.4.6 Caracterización del líquido de lavado del café.....	16
	1.4.7 Generación de metano de las aguas de lavado	17

PARTE II

II.1	MARCO TEÓRICO	20
	II.1.1. El proceso tradicional de beneficio del café.....	20
	II.1.2. ¿Cuál es el objetivo del procesamiento?	20
	II.1.3. La fermentación del grano	20
	II.1.4. ¿Es posible producir etanol de los subproductos?	21
	II.1.5. Producción de metano de los efluentes del beneficio	21

PARTE III

III.	RESULTADOS	23
	III.1. Resultados experimentales	23
	III.1.1. Pruebas iniciales para alternativas de fermentación	23
	III.1.2 Ensayos del procesamiento de las muestras de café	24
	III.1.2.1. Selección del grano y despulpado	24
	III.1.2.2.Fermentación del grano despulpado y secado del grano.....	25
	III.1.2.3.Componentes volátiles del aroma del café tostado y molido	30
	III.1.2.4. Evaluación organoléptica de la bebida	35
	III.1.2.5. Caracterización del líquido de lavado del café ...	36
	III.1.2.6. Digestión anaerobia del líquido de lavado del café	37

III.2 Discusión de resultados	39
III.2.1 Pruebas iniciales para alternativas de fermentación	39
III.2.2 Ensayos del procesamiento de las muestras de café	40
III.2.2.1. Selección del grano y despulpado	40
III.2.2.2 Fermentación del grano despulpado	41
III.2.2.3. Componentes volátiles del aroma del café tostado y molido	48
III.2.2.4. Evaluación organoléptica de la bebida	56
III.2.2.5. Caracterización del líquido de lavado del café ..	56
III.2.2.6. Digestión anaerobia del líquido de lavado del café	58

PARTE IV

IV.1 CONCLUSIONES	63
IV.1.1 Conclusiones sobre el objetivo específico “a” <i>diseñar y evaluar por lo menos dos estrategias para fermentar el grano con la producción simultanea de etanol y ensayarlas a escala piloto</i>	63
IV.1.2 Conclusiones sobre el objetivo específico “b” <i>diseñar y evaluar estrategias para co-generar electricidad en el beneficio por medio de la producción de metano y cuantificarla experimentalmente</i>	63
IV.1.3 Conclusiones sobre el objetivo específico “c” <i>Evaluar la calidad del café tostado por medio del perfil de los compuestos orgánicos volátiles que conforman el aroma y por un análisis sensorial de la bebida, para cada caso desarrollado de procesamiento</i>	63
IV.1.4 Conclusiones sobre el objetivo específico “d” <i>divulgar a las autoridades, actores sociales e instituciones en el campo de su competencia la información obtenida de la investigación</i>	64
IV.2 RECOMENDACIONES	64
IV.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
V.4 ANEXOS	69
ANEXO 1. Generación de las pirazinas	69

PARTE V

V.1 INFORME FINANCIERO	70
-------------------------------------	-----------

PARTE I

1.1 INTRODUCCIÓN

El café producido en el país se prepara en beneficios que operan empleando el llamado proceso húmedo. Este proceso es empleado desde México hasta Venezuela zona que constituye al grupo de productores de los cafés suaves lavados.

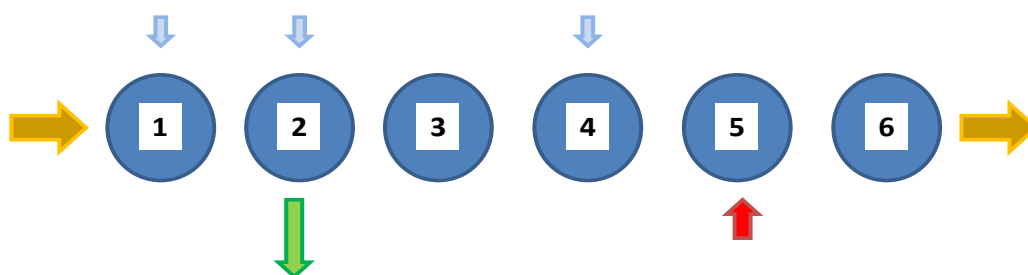
El beneficio húmedo de café, en forma breve, consiste en: recepción del fruto maduro, o café cereza, en tanques de agua, en donde se separan los granos que flotan del resto. Luego se efectúa la separación de la pulpa o cáscara en molinos o pulperos diseñados para el efecto, los cuales, en su mayoría, funcionan con la adición de agua. Continúa la fermentación natural del mucílago que rodea al grano, la cual se lleva a cabo en tanques abiertos en donde al café despulpado se amontona. Transcurridos varios días se realiza el lavado del grano fermentado en canales con agua circulando. El café es secado al sol en patios, en secadoras con aire caliente, o empleando consecutivamente ambas técnicas, dependiendo de las condiciones del clima. Luego se traslada el café seco en pergamino a los beneficios denominados secos, en donde se elimina el pergamino en molinos diseñados para tal fin. El café verde resultante, o en oro, se comercializa en sacos tanto en el exterior como en el interior del país. Empresas centralizadas lo adquieren, lo tuestan, lo muelen y lo empaican para la venta y el consumo.

Los beneficios tienen la experiencia adquirida por los años de operación para evitar sabores desagradables de la bebida por poca o un exceso de fermentación, mal lavado, alta temperaturas en el secado, un almacenamiento en condiciones inapropiadas y excesos de tiempo y temperatura en el tostado. El café producido en Guatemala tiene una alta estima de calidad en ese sentido.

Sin embargo, el proceso requiere una proporción substancial de agua, la cual generalmente se descarga a las aguas superficiales, tanto de corriente como los ríos o a las estancadas, como lagos. Dicha agua conlleva una carga orgánica significativa. Aunque existen instancias de un mejor manejo y reciclaje de la pulpa separada del fruto, la pulpa acumulada en los beneficios es también objeto de contaminación.

A la fecha no se han introducido cambios substanciales en el proceso del beneficio húmedo ni se ha propuesto una re-ingeniería que permita visualizar un aprovechamiento de los subproductos con el objetivo de aumentar la rentabilidad de la operación. La Gráfica 1 muestra la secuencia de operaciones.

Gráfica 1. Secuencia de operaciones en el beneficio



Fuente: FODECYT 029-2013

- 1: Separación de granos imperfectos por flotación
 - 2: Eliminación de la pulpa en pulperos
 3. Fermentación del grano
 - 4: Lavado del grano
 5. Secado
 6. Empaque
- Flechas en celeste: adición de agua
Flecha roja: energía para el secado
Flecha verde: pulpa residual

La siguiente serie de fotografías ilustra en forma gráfica ejemplos del equipo empleado en el beneficio húmedo del café.

Gráfica 2. Eliminación de la pulpa (pulpero)



Fuente: http://www.ANACAFE.org/glifos/index.php/Caficultura_BeneficiadoHumedo

Gráfica 3. Clasificador de grano despulpado



Fuente: http://www.ANACAFE.org/glifos/index.php/Caficultura_BeneficiadoHumedo

Gráfica 4. Fermentación (eliminación del mucílago)



Fuente: http://www.ANACAFE.org/glifos/index.php/Caficultura_BeneficiadoHumedo

Gráfica 5. Lavado del grano fermentado en canales con agua circulando



Fuente: http://www.ANACAFE.org/glifos/index.php/Caficultura_BeneficiadoHumedo

Gráfica 6. Patio de secado del grano



Fuente: http://www.ANACAFE.org/glifos/index.php/Caficultura_BeneficiadoHumedo

Con el objeto de minimizar el uso de agua en el proceso y la concentración de compuestos orgánicos en la descarga final se llevaron a cabo una serie de experimentos en los cuales se exploraron estrategias de proceso diferentes al actual esquema empleado en los beneficios húmedos de café. Se intentó modificar la fermentación del grano adicionando levaduras con el objeto de cuantificar la producción de etanol. Se modificó la operación de lavado con el objeto de recuperar los subproductos de la eliminación del mucílago y se hicieron pruebas para su conversión a metano. El café procesado se secó al sol y se cuantificó el perfil de compuestos aromáticos en la bebida o taza de café y la calidad de la bebida se realizó por expertos evaluadores.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 Antecedentes en Guatemala

Los beneficios tienen la experiencia adquirida por los años de operación para evitar sabores desagradables de la bebida por poca o un exceso de fermentación, mal lavado, altas temperaturas en el secado, un almacenamiento en condiciones inapropiadas y excesos de tiempo y temperatura en el tostado. El café producido en Guatemala tiene una alta estima de calidad en ese sentido.

La Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ) tiene un programa para sus asociados que persigue el eficiente uso del agua en el beneficio húmedo¹. En dicha referencia se estima que el gasto de agua por quintal de café pergamino seco producido es de aproximadamente 1,900 litros; cifra que puede disminuir a 850 litros, si se efectúa un reciclaje parcial del agua durante las operaciones. Suponiendo una producción promedio sostenida de 5 millones de quintales de café pergamino seco por cosecha, la industria cafetalera emplea entre 4,250 a 9,500 millones de litros de agua.

Las aguas del despulpado pueden llegar a contener de 7 a 16 g/L de sólidos totales. Las aguas del lavado del café fermentado o aguas mieles, de 5 a 13 g/L². Estos sólidos se originan como resultado de la remoción y degradación del mucílago que envuelve al grano de café cereza y que contiene alrededor de 7% de carbohidratos solubles³.

A la fecha no se han introducido cambios substanciales en el proceso del beneficio húmedo ni se ha propuesto una re-ingeniería que permita visualizar un aprovechamiento de los subproductos con el objetivo de aumentar la rentabilidad de la operación. Debe recalarse que cualquier modificación introducida en el proceso no debe incidir en la calidad de la bebida final. Si así lo hiciera dicha modificación no podría ponerse en práctica.

¹ Santos Salazar, Daniel (2005) *Uso eficiente del agua en el beneficio húmedo del café* Revista Anacafé

http://anacafe.org/glifos/index.php/Uso_eficiente_agua_BeneficioHumedo

² Espinosa, R., de Cabrera, S. et al (1976) *Protein from waste. Growing fungi on coffee waste* Chem Tech 6(10) 636-642 (1976)

³ Menchú, J.F., Rolz, C. (1973) *Coffee fermentation technology* Café, Cacao, The 17(1) 53-61 (1973)

1.2.2 Justificación del trabajo de investigación

El uso intenso de agua en el beneficiado de café y la carga orgánica elevada de las aguas de descarga de los beneficios representan un problema ambiental por la contaminación de aguas de superficie, tanto de ríos como de lagos y embalses. De las cifras anteriores se estima que se descargan por la operación de los aproximadamente 36,000 beneficios húmedos, en las aguas de beneficio por cosecha, entre 25,000 a 35,000 toneladas de materia orgánica. Invertir en procesos aeróbicos clásicos de tratamiento de aguas, o también llamados sistemas de lodos activados, es oneroso para la mayoría de los beneficios en el país, especialmente en esta época de precios bajos y demanda mundial sobre ofertada. Es necesario un enfoque global de procesamiento limpio para introducir cambios que, por un lado, no afecten la calidad del grano del café producido, pero por el otro conviertan el beneficio en una operación más productiva. Debe recordarse que cada vez con más frecuencia compradores de café, principalmente en Europa, exigen en su demanda, que se cumplan con las disposiciones globales de sostenibilidad.

La inestabilidad del precio mundial del café y el aumento en los costos de producción del mismo, principalmente debido a un reciente recrudecimiento de las enfermedades del cafetal, posiblemente causadas por los efectos del cambio climático observado a escala global, origina un panorama pesimista para la agricultura nacional, el cual conllevaría un sinnúmero de conflictos sociales.

Iniciar investigaciones sobre el proceso y la calidad de la bebida es, entonces, necesario.

I.3 OBJETIVOS E HIPOTESIS

I.3.1 Objetivos

I.3.1.1 General

Realizar un re-diseño del proceso de beneficio húmedo con el objeto de aprovechar los subproductos del mismo para generar energía, reducir el consumo de agua en el proceso y aumentar la productividad del cultivo.

I.3.1.2 Específicos

- a) Diseñar y evaluar por lo menos dos estrategias para fermentar el grano con la producción simultánea de etanol y ensayarlas a escala piloto.
- b) Diseñar y evaluar estrategias para co-generar electricidad en el beneficio por medio de la producción de metano y cuantificarla experimentalmente.
- c) Evaluar la calidad del café tostado por medio del perfil de los compuestos orgánicos volátiles que conforman el aroma y por un análisis sensorial de la bebida, para cada caso desarrollado de procesamiento.

d) Divulgar a las autoridades, actores sociales e instituciones en el campo de su competencia la información obtenida de la investigación.

I.3.2 Hipótesis

Es factible producir etanol, energía y reducir el consumo de agua en el procesamiento húmedo del grano de café sin alterar su calidad.

I.4 METODOLOGIA

1.4.1 Muestras de café procesadas

Se procesaron cinco muestras de café de cuatro departamentos y dos diferentes regiones (la meseta de Fraijanes y el valle de Acatenango) durante la cosecha 2014-2015. Tres de ellas se obtuvieron como una colaboración de la Federación de Cooperativas Agrícolas de Productores de Café de Guatemala R.L. (Fedecocagua). Una muestra se obtuvo por la colaboración de la empresa Servicios de Exportación (Servex) y la otra directamente de la finca. Las muestras fueron entregadas en sacos de fibra vegetal y no habían sido sometidas a una separación de grano verde y/o de grano defectuoso. Fueron procesadas al día siguiente de su recepción. Las muestras en orden de su procesamiento se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Identificación de las muestras procesadas

Lugar de origen	Obtención de la muestra
San Vicente Pacaya, Escuintla	Directamente de finca
Cooperativa La Nueva Era, Jumaytepeque, Nueva Santa Rosa, Santa Rosa	Por medio de Fedecocagua
Cooperativa Nuevo Sendero, Chapas, Nueva Santa Rosa, Santa Rosa	Por medio de Fedecocagua
Villa Canales, Guatemala	A través de Servex
Cooperativa Acatenango, Chimaltenango	Por medio de Fedecocagua

Fuente: FODECYT 029-2013

1.4.2 Pruebas iniciales para alternativas de fermentación

Las estrategias iniciales fueron: a) separar la pulpa del grano y fermentar juntos el grano más la pulpa separada, y b) sacar el grano de la pulpa pero fermentar el grano. Se utilizó café cereza de San Vicente Pacaya.

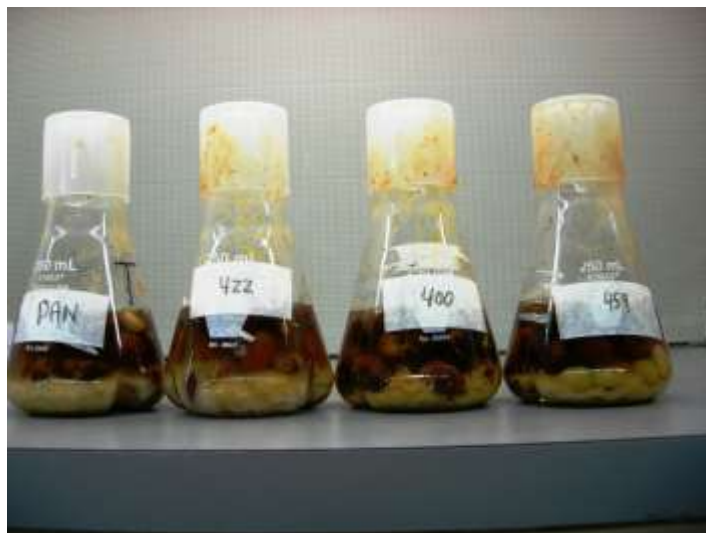
Para la primera estrategia se prepararon cuatro frascos de 250 mL con 60 g de grano de café despulpado a mano más la pulpa separada. Los frascos se inocularon con un cultivo de levadura y se dejaron estáticos por 48 h a 30 °C. Ver Gráficas 7 y 8.

Gráfica 7. Separación manual de la pulpa del grano



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 8. Frascos en fermentación del grano más la pulpa separada manualmente



Fuente: FODECYT 029-2013

Las levaduras empleadas fueron *Saccharomyces cerevisiae* CBS 400, 422 y 459 (Centraalbureau voor Schimmrlcultures, Utrecht, The Netherlands. Además se empleó una levadura usada por la industria productora de etanol en Guatemala, a la cual se le denominó Local. Una muestra pura de cada levadura se creció en un medio de caldo Sabouraud

(Merck, 2 % glucosa, 0.5 % de peptona animal y 0.5 % de peptona de caseína) más 1 % de sacarosa a una concentración de 30 g/L. En un frasco de 250 mL se agregaron 125 mL del caldo, se esterilizó a 121 °C por 20 min., se enfrió y se inoculó. El frasco se agitó a 250 rpm a 30 °C por 48 h (*Incubator Shaker Lab Companion Model SI-600*). La suspensión se centrifugó a 4,000 rpm y 10 °C (*Eppendorf Table-top Refrigerated Centrifuge Model 5804R*). El sólido separado se suspendió en agua deionizada estéril y se midió la densidad óptica (*UV-VIS Spectrophotometer Shimadzu mini 1240*). A cada frasco con café se agregaron 50 mL de la suspensión de levadura de manera que los granos de café quedaron suspendidos.

Al terminar la fermentación se eliminó el agua residual y se lavaron con agua fresca hasta sentir que la superficie de los granos estaba áspera. Se secaron al sol hasta una humedad de 12 % y se eliminó manualmente el pergamino. La muestra fue enviada a la empresa Servex para evaluación de la bebida.

En la segunda estrategia se pesaron 29 g granos de café despulpado a mano en un frasco de 250 ml. Se agregó 50 mL de suspensión de levadura. Se dejaron estáticos a 30 °C por 96 h. En estas pruebas se ensayaron también las levaduras CBS 381 y *Pichia stipitis* CBS5773. Ver Gráfica 9.

Gráfica 9. Frascos en fermentación del grano más la pulpa separada manualmente



Fuente: FODECYT 029-2013

Para determinar etanol en los líquidos residuales de ambas fermentaciones se empleó un cromatógrafo de gases Agilent 6890N con una columna HP-Plot/Q de 30 m de largo, y 32 mm de diámetro interno. Los azúcares se determinaron en un cromatógrafo líquido de alta presión Agilent 1100, un detector de índice de refracción Agilent 1200, una columna Zorbax NH2, de 25 cm de largo, 4.6 mm de diámetro interno, utilizando como solvente una mezcla de acetonitrilo en agua (70-30).

1.4.3 Protocolo de las pruebas de beneficiado a mayor escala

Las muestras de café recibidas en un saco de fibra vegetal no eran homogéneas respecto al grado de madurez, evaluado por el color de la cereza. Contenían grano verde y grano semi-maduro. Las muestras se limpiaron de granos defectuosos y de granos verdes mediante una flotación en agua. Las dos fracciones separadas de grano, el grano maduro aceptable y el rechazo, se pesaron. Sin embargo, todavía quedó grano semi-maduro en la fracción aceptada. Lo anterior puede observarse en las Gráficas 10 y 11 a continuación.

Gráfica 10. Grano en cereza maduro aceptable



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 11. Heterogeneidad del grano cereza maduro



Fuente: FODECYT 029-2013

El grano cereza fue despulpado manualmente empleando el pulpero piloto mostrado en la Gráfica 12. El grano despulpado y la pulpa separada se pesaron. En el grano quedó pulpa, como se observa en la Gráfica 13, la cual se removió manualmente.

Gráfica 12. Pulpero piloto operado manualmente



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 13. Grano de café despulpado



Fuente: FODECYT 029-2013

Aproximadamente 2 kg de café despulpado se colocaron en frascos de plástico como se ilustra en la Gráfica 14. En dos frascos el café fermentó en forma natural. En los otros dos frascos el café fue previamente asperjado en una bandeja por medio de un dispersor operado con aire comprimido (*Truper*) ver Gráfica 15, con una suspensión de levadura. Los frascos se colocaron en una cámara con control de temperatura y humedad relativa (*Forma Environmental Chamber, Thermo Electron Corporation*). Las condiciones fueron de 25 °C y 60 % de humedad relativa. El tiempo de fermentación fueron 72 h.

Gráfica 14. Café en fermentación en la cámara de control



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 15. Dispersor



Fuente: FODECYT 029-2013

Al finalizar la fermentación, ver Gráfica 16, a cada frasco de plástico se le agregaron 500 mL de agua (Muestra de San Vicente Pacaya) u 800 mL de agua (resto de muestras) y se agitó por 15 min en un agitador piloto, ver Gráfica 17. Se separó en una malla el líquido residual de color café el cual se almacenó a -10 °C. El grano se lavó dos veces más en el agitador piloto agregando 500 mL de agua en cada ocasión. Luego se escurrió el agua superficial en una malla y se colocaron en bandejas para secarse al sol, ver Gráfica 18.

Gráfica 16. Café fermentado.



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 17. Mezclador piloto empleado para lavar el café fermentado.



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 18. Secado solar del grano lavado



Fuente: FODECYT 029-2013

1.4.4 Evaluación organoléptica de las muestras

El café en pergamino se envió al Laboratorio de Calidad de Fedecocagua en donde los catadores removieron el pergamino, tostaron y molieron el café en oro y evaluaron la calidad de la bebida.

1.4.5 Análisis de los componentes volátiles del aroma del café

Las muestras de café tostado se recuperaron del Laboratorio de Calidad de Fedecocagua y se procesaron de la manera siguiente. La jeringa con fibra de micro-extracción se colocó expuesta por 15 minutos, con la fase gaseosa existente en un vial de 20 ml con tapadera con membrana de PTFE/Silicón, el cual contenía 0.5 g de muestra de café tostado y molido, y previamente equilibrado por un espacio de 15 minutos a temperatura de a 50 °C en un calentador, ver Gráfica 19. Esta fibra luego se llevó al cromatógrafo de gases donde se expuso en el inyector para desorción por 3 min.

El aroma se caracterizó en un cromatógrafo de gases con acoplamiento a espectrometría de masas. Las condiciones de operación utilizadas consistieron en una temperatura de horno inicial de 40 °C por 1.5 min seguida de una rampa de temperatura de 2

°C/min hasta 100°C. Un flujo constante de 1 mil/min de gas acarreador, la temperatura del inyector e interface de 270 °C.

Los datos analíticos se procesaron empleando los software, *Stata 9*, *Systat 11* y *MVSP 3.1*.

Gráfica 19. Sistema de adsorción de los compuestos volátiles aromáticos del café



Fuente: FODECYT 029-2013

1.4.6 Caracterización del líquido de lavado del café

Las demandas biológica de oxígeno (DBO) y química de oxígeno (DQO) fueron estimadas empleando aparatos Hach. La primera con la probeta LBOD10101 y el componente HQd 40 y la segunda con el sistema DR900. Las Gráficas 20 y 21 muestran el equipo usado.

Gráfica 20. Sistema de medición del DBO



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 21. Sistema de medición del DQO

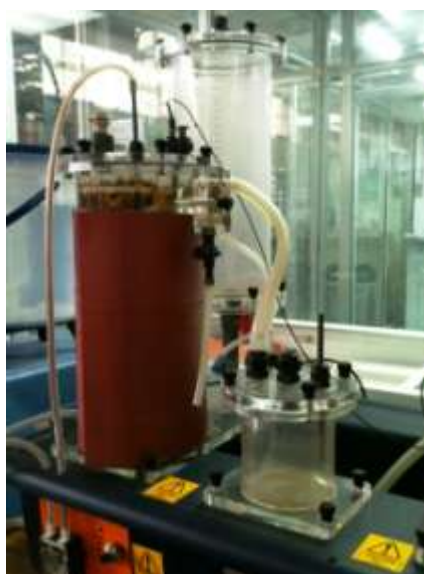


Fuente: FODECYT 029-2013

1.4.7 Generación de metano de las aguas de lavado

El procesamiento en forma anaerobia de las aguas de lavado se llevó a cabo en un reactor de columna, de 4.3 litros de capacidad, de MMA rígido, empacado con cilindros de PVC perforados, provisto de una chaqueta calentadora, control de temperatura y operado en forma discontinua de alimentar y sacar. El gas producido se midió por desplazamiento de agua contenida en una columna de MMA transparente y calibrada. La composición del gas producido se cuantificó por cromatografía de gases. El equipo se muestra en las Gráficas 22 y 23.

Gráfica 22. Reactor de columna anaerobio



Fuente: FODECYT 029-2013

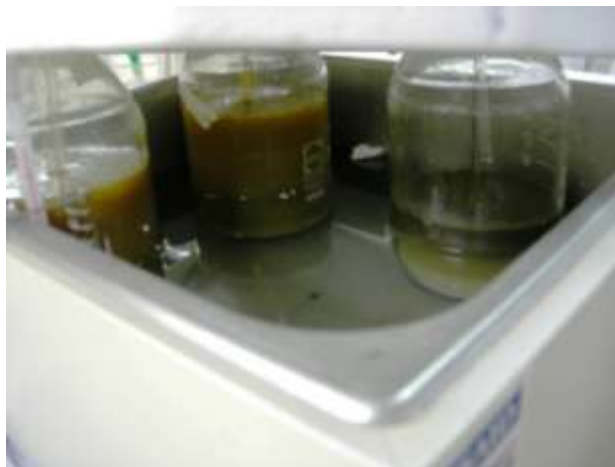
Gráfica 23. Vista del empaque del reactor anaerobio



Fuente: FODECYT 029-2013

El inóculo del reactor se preparó en botellas de vidrio mantenidas en un baño de agua a 30 °C a las que se les agregó una muestra de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales. El gas producido se cuantificó por medio de una probeta invertida. El sistema se mantuvo operando con cargas y descargas frecuentes de soluciones diluidas de sacarosa por espacio de 10 meses. El equipo se muestra en las Gráficas 24 y 25.

Gráfica 24. Vista del empaque del reactor anaerobio



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 25. Probeta invertida para verificar la producción de gas



Fuente: FODECYT 029-2013

PARTE II

II.1 MARCO TEÓRICO

II.1.1. El proceso tradicional de beneficio del café

Se emplean dos tipos de proceso o de beneficio, el húmedo, practicado en América en forma exclusiva desde México hasta Colombia, y el seco, usado en Asia. En países como Brasil e India y en algunos países del África se emplean los dos procesos. El grano de café obtenido de los dos procesos es diferente en la apreciación de los consumidores.

II.1.2. ¿Cuál es el objetivo del procesamiento?

El objetivo es el de convertir el fruto obtenido del cafetal en un grano estable y que por lo tanto pueda almacenarse. La Gráfica 26 ilustra que para obtener el grano estable o grano en oro como se le conoce en el comercio, es necesario remover la pulpa, eliminar el mucílago adherido, secarlo y remover el pergamino que lo envuelve.

Gráfica 26. Estructura morfológica del café en cereza

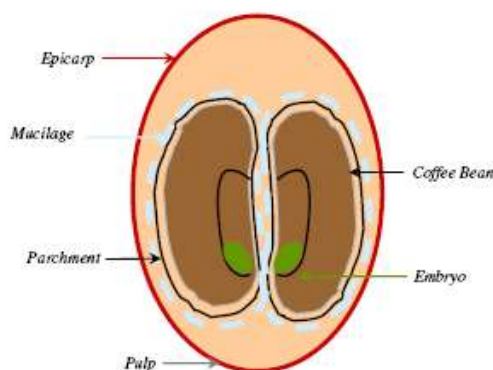


Fig. 5. Diagram of the coffee Cherry.

Fuente: Adams & Ghaly, 2007

En el proceso húmedo se emplea agua para eliminar la pulpa y para lavar el café fermentado. En ambos procesos se lleva a cabo una fermentación natural, en el húmedo la del café despulpado; en el seco, de la cereza entera. Tres artículos recientes describen el proceso y los subproductos generados, dos relativos al proceso húmedo (Jackels & Jackels 2005; Adams & Ghaly, 2007), el otro de ambos procesos tal como se llevan a cabo en India (Murthy & Naidu, 2012).

II.1.3. La fermentación del grano

La fermentación del grano tiene como objetivo fundamental eliminar el mucílago adherido al grano. El mucílago está formado por pectina y otros polisacáridos, la pectina caracterizada por su bajo peso molecular y alta metilación (Avallone et al 2000), aunque un informe anterior indicaba una pectina de baja metilación (García et al 1991). Lo anterior podría

indicar que esta propiedad variaría según la variedad de café y las prácticas en el cultivo; y es de importancia, ya que, si fuese de alta metilación, tendría que actuar la enzima pectin-metil-estearasa (PME) para eliminar el grupo metilo, de manera que la enzima que rompe el polímero, la poligalacturonasa (PG) actuase a continuación, resultando la eliminación del mucílago adherido al grano.

A la fecha no se han detectado microorganismos en los tanques de fermentación de café que posean una alta capacidad productora de PME, sin embargo son frecuentes los que tienen actividad (PG) (Avallone et al 2001a, 2002). Se creía que las levaduras jugaban un papel fundamental en la degradación del mucílago, en coordinación con bacterias lácticas productoras de ácidos orgánicos que acidificaban el medio de fermentación. Sin embargo, investigaciones recientes restan importancia a las levaduras y se cree que las bacterias lácticas son claves ya que la acidez generada elimina el metilo de la pectina para que la PG pueda romperlo. El tema sin embargo es controversial y continua en discusión (Masoud et al 2004; 2006).

Se han efectuado estudios detallados de la micro biota involucrada en la fermentación del café y se conocen las levaduras y bacterias lácticas más frecuentes (Silva et al 2008; Avallone et al 2001a; Vilela et al 2010). Recientemente se ha sugerido preparar mezclas de levaduras y bacterias lácticas aisladas y reproducidas en el laboratorio como posibles inoculantes para acelerar la fermentación (Massawe & Lifa 2010).

II.1.4. ¿Es posible producir etanol de los subproductos?

En la reciente literatura se han descrito algunas experiencias en producir etanol a partir de los subproductos del café. Navia et al (2011) en Colombia separaron la pulpa y el mucílago mecánicamente, sometieron la suspensión a una hidrólisis ácida y luego produjeron etanol con los azúcares generados. Shenoy et al (2011) separaron la pulpa, la sometieron a una hidrólisis ácida a alta temperatura y presión y luego produjeron etanol con los azúcares generados. Gouvea et al (2009) en Brasil, en el proceso de beneficio seco, produjeron etanol de una suspensión de la pulpa deshidratada.

II.1.5. Producción de metano de los efluentes del beneficio

El sistema anaerobio ha sido el tratamiento más experimentado con las aguas de café. En Guatemala se llevó a cabo un proyecto en donde se procesó el líquido obtenido del prensado de la pulpa en reactores empacados con esponja de poliuretano tanto de laboratorio como a escala piloto (Rolz et al 1980; Calzada et al 1981; Rolz et al 1982; Calzada et al 1984a; 1984b; 1988).

Recientemente varios artículos han sido publicados con resultados del tratamiento anaeróbico de las aguas de lavado o aguas miel en diversos países. Bello-Mendoza & Castillo-Rivera (1998) emplearon un reactor híbrido (UASB/Filtro); Houbron et al (2003) usaron dos reactores de mezcla en serie, para separar la acidificación de la producción de metano, con una mezcla de aguas del despulpado y del lavado y con el hidrolizado de la pulpa de café; Bruno y Oliveira (2008) también diseñaron y operaron dos reactores en serie pero de diseño de flujo ascendente con lecho de lodos (UASB) ver Gráfica 27; Fia et al (2012) investigaron varios tipos de empaque en reactores tubulares, encontrando que el

empaquete de poliuretano retenía la mayor cantidad de biomasa microbiana y producía mayor cantidad de metano.

Gráfica 27. Reactores UASB operados en serie



Fuente: Bruno y Oliveira (2008)

PARTE III

III. RESULTADOS

III.1 Resultados experimentales

III.1.1 Pruebas iniciales para alternativas de fermentación

El Cuadro 2 muestra los resultados de la fermentación con varias levaduras de la mezcla de grano y pulpa. En todos los casos se observó una eliminación completa del mucílago. La levadura CBS 459 fue superior a las demás en producción de etanol llegando a producir 1.88 % en peso.

Cuadro 2. Datos de las fermentaciones iniciales de una mezcla de grano y pulpa

Levadura	Peso mezcla g	Densidad óptica	Etanol g/100 mL
CBS 459	59.2	1.853	1.879
CBS 400	59.9	1.761	0.869
CBS 422	59.9	1.872	0.318
Local	58.9	1.864	0.220

Fuente: FODECYT 029-2013

La evaluación de la bebida, sin embargo, fue decepcionante. Los catadores encontraron serios defectos y sabores extraños lo cual afectó la aceptación de la misma.

Los datos experimentales de las pruebas con varias levaduras y el grano sin pulpa se encuentran en el Cuadro 3. Puede observarse que los resultados del etanol producido y los azúcares residuales son prácticamente similares para todas las levaduras. La cantidad de etanol obtenida fue baja en comparación con los obtenidos al fermentar grano y pulpa mezclados.

Cuadro 3. Datos de las fermentaciones iniciales del grano sin pulpa

Levaduras	Densidad óptica	Etanol g/100 mL	Etanol g/100g grano	Azúcar g /100 g grano
Local-1	1.913	0.190	0.33	0.64
Local-2		0.192	0.33	0.65
CBS 5773-1	2.087	0.187	0.32	0.63
CBS 5773-2		0.188	0.32	0.64
CBS 381-1	1.905	0.193	0.33	0.65
CBS 381-2		0.188	0.32	0.64
CBS 400-1	1.880	0.209	0.36	0.71
CBS 400-2		0.180	0.31	0.61
CBS 422-1	2.062	0.188	0.32	0.64
CBS 422-2		0.189	0.33	0.64
CBS 459-1	2.100	0.186	0.32	0.63
CBS 459-2		0.188	0.32	0.64

Fuente: FODECYT 029-2013

La evaluación de la bebida en estos casos fue aceptable, sin embargo, todavía se detectó levemente un sabor inusual.

III.1.2 Ensayos del procesamiento de las muestras de café

III.1.2.1 Selección del grano y despulpado

La proporción de grano aceptado osciló entre el 54 y 60 %, cifras que ilustran la heterogeneidad de las muestras de café cereza recibidas.

Los rendimientos de la operación de despulpado se presentan en el Cuadro 4. La cantidad de pulpa húmeda separada en el pulpero osciló entre el 36 al 46 % de la muestra de café cereza maduro y aceptado.

Cuadro 4. Rendimientos del pulpero

Origen del café cereza	Café despulpado Kg	Café despulpado %	Pulpa Kg	Pulpa %
San Vicente Pacaya	8.85	61.90	5.45	38.10
Cooperativa La Nueva Era	11.35	54.35	9.53	45.65
Cooperativa Nuevo Sendero	12.71	59.57	8.63	40.43
Villa Canales,	10.44	63.90	5.90	36.10
Cooperativa Acatenango,	10.76	55.80	8.54	44.20

Fuente: FODECYT 029-2013

III.1.2.2 Fermentación del grano despulpado y secado del grano

En los Cuadros 5-9 se presenta para cada muestra procesada la pérdida de peso ocasionada por a) la remoción del mucílago durante la fermentación y b) la eliminación de humedad del grano durante el secado.

Cuadro 5. Muestra: San Vicente Pacaya

Frasco	Notas	Peso de café despulpado, Kg	Peso de café seco con 5.75 % de humedad, Kg	Pérdida de peso, Kg	% pérdida
Natural		1.880	0.715	1.165	61.97
Natural		1.879	0.732	1.147	61.04
CBS 381	Adición de 45 mL conteniendo 0.66 g de levadura	1.878	0.735	1.143	61.45
CBS 459	Adición de 45 mL conteniendo 1.13 g de levadura	1.637	0.631	1.006	60.86

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 6. Muestra: Cooperativa La Nueva Era

Frasco	Notas	Peso de café despulpado, Kg	Peso de café seco con 5.54 % de humedad, Kg	Pérdida de peso, Kg	% pérdida
Natural		2.005	0.822	1.183	59.00
CBS 381	Adición de 45 mL conteniendo 1.06 g de levadura	1.900	0.781	1.119	58.89
CBS 459	Adición de 45 mL conteniendo 1.15 g de levadura	1.885	0.766	1.119	59.36

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 7. Muestra: Cooperativa Nuevo Sendero

Frasco	Notas	Peso de café despulpado, Kg	Peso de café seco con 4.31 % de humedad, Kg	Pérdida de peso, Kg	% pérdida
Natural		1.845	0.771	1.074	58.21
CBS 381	Adición de 45 mL conteniendo 0.86 g de levadura	1.860	0.753	1.107	59.52
CBS 459	Adición de 45 mL conteniendo 0.86 g de levadura	1.892	0.780	1.112	58.77

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 8. Muestra: Villa Canales

Frasco	Notas	Peso de café despulpado, Kg	Peso de café seco con 4.85 % de humedad, Kg	Pérdida de peso, Kg	% pérdida
Natural		2.000	0.733	1.267	63.35
CBS 381	Adición de 45 mL conteniendo 1.25 g de levadura	2.000	0.750	1.250	61.95
CBS 459	Adición de 45 mL conteniendo 1.25 g de levadura	2.000	0.761	1.239	63.35

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 9. Muestra: Cooperativa Acatenango

Frasco	Notas	Peso de café despulpado, Kg	Peso de café seco con 4.61 % de humedad, Kg	Pérdida de peso, Kg	% pérdida
Natural		2.065	0.764	1.301	62.98
CBS 381	Adición de 45 mL conteniendo 1.18 g de levadura	2.057	0.753	1.304	63.37
CBS 459	Adición de 45 mL conteniendo 1.14 g de levadura	2.054	0.751	1.303	63.42

Fuente: FODECYT 029-2013

En los Cuadros 10-14 se presenta para cada muestra procesada el pH, los grados Brix (o sólidos solubles) y los sólidos totales del líquido obtenido del lavado del café fermentado. En dos de las muestras se indica también la temperatura en °C medida en el centro del recipiente a las 24 h de fermentación.

Cuadro 10. Muestra: San Vicente Pacaya

Frasco	pH	° Brix	Sólidos totales g/100 mL
Natural	3.14	2.6	4.44
Natural	3.14	2.5	4.76
CBS 381	3.88	1.6	3.27
CBS 459	3.89	1.7	3.70

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 11. Muestra: Cooperativa La Nueva Era

Frasco	pH	° Brix	Sólidos totales g/100 mL	Temperatura a 24 h °C
Natural	4.03	0.8	2.77	29.9
CBS 381	3.98	2.1	6.47	28.0
CBS 459	3.87	2.9	6.72	28.0

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 12. Muestra: Cooperativa Nuevo Sendero

Frasco	pH	° Brix	Sólidos totales g/100 mL
Natural	3.78	2.4	3.93
CBS 381	4.01	3.4	4.92
CBS 459	3.23	4.2	4.73

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 13. Muestra: Villa Canales

Frasco	pH	° Brix	Sólidos totales g/100 mL
Natural	3.96	3.0	3.37
CBS 381	4.05	2.7	3.48
CBS 459	4.00	2.4	3.37

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 14. Muestra: Cooperativa Acatenango

Frasco	pH	° Brix	Sólidos totales g/100 mL	Temperatura a 24 h °C
Natural	3.50	2.9	4.44	30.0
CBS 381	3.69	2.2	3.87	29.5
CBS 459	3.58	2.6	3.54	29.0

Fuente: FODECYT 029-2013

En los Cuadros 15-19 se presenta para cada muestra procesada los contenidos de etanol, sacarosa, glucosa y fructosa del líquido obtenido del lavado del café fermentado.

Cuadro 15. Muestra: San Vicente Pacaya

Frasco	Etanol g/ 100 mL	Sacarosa g/ 100 mL	Glucosa g/100 mL	Fructosa g/100 mL
Natural	0.44	0.000	0.000	0.677
Natural	0.34	0.000	0.000	0.701
CBS 381	0.34	0.000	0.033	0.309
CBS 459	0.43	0.000	0.096	0.365

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 16. Muestra: Cooperativa La Nueva Era

Frasco	Etanol g/ 100 mL	Sacarosa g/ 100 mL	Glucosa g/100 mL	Fructosa g/100 mL
Natural	0.15	0.113	0.000	0.656
CBS 381	0.47	0.000	0.000	0.279
CBS 459	0.30	0.000	0.000	0.297

Nota: se tomó muestra de café sin fermentar y se extrajeron con agua los azúcares solubles empleando la misma proporción de sólidos agua. Los resultados fueron (en g/100 mL) los siguientes: sacarosa: 0.145; glucosa: 0.232 y fructosa: 0.296.

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 17.. Muestra: Cooperativa Nuevo Sendero

Frasco	Etanol g/ 100 mL	Sacarosa g/ 100 mL	Glucosa g/100 mL	Fructosa g/100 mL
Natural	0.00	0.000	0.000	0.656
CBS 381	0.40	0.000	0.000	0.238
CBS 459	0.11	0.000	0.000	0.284

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 18. Muestra: Villa Canales

Frasco	Etanol g/ 100 mL	Sacarosa g/ 100 mL	Glucosa g/100 mL	Fructosa g/100 mL
Natural	0.51	0.000	0.000	0.253
CBS 381	0.31	0.000	0.257	0.310
CBS 459	0.17	0.000	0.248	0.170

Nota: se tomó muestra de café sin fermentar y se extrajeron con agua los azúcares solubles empleando la misma proporción de sólidos agua. Los resultados fueron (en g/100 mL) los siguientes: sacarosa: 0.325; glucosa: 0.216 y fructosa: 0.368.

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 19. Muestra: Cooperativa Acatenango

Frasco	Etanol g/ 100 mL	Sacarosa g/ 100 mL	Glucosa g/100 mL	Fructosa g/100 mL
Natural	0.61	0.000	0.000	0.396
CBS 381	0.40	0.000	0.000	0.194
CBS 459	0.59	0.000	0.000	0.308

Nota: se tomó muestra de café sin fermentar y se extrajeron con agua los azúcares solubles empleando la misma proporción de sólidos agua. Los resultados fueron (en g/100 mL) los siguientes: sacarosa: 0.856; glucosa: 0.411 y fructosa: 0.504.

Fuente: FODECYT 029-2013

III.1.2.3 Componentes volátiles del aroma del café tostado y molido

En los Cuadros 20-24 se presenta para cada muestra procesada los contenidos de los componentes volátiles que conforman el aroma de la bebida.

Cuadro 20. Muestra: San Vicente Pacaya

Tiempo retención min	Compuesto	Natural % del área	CBS 381 % del área	CBS 459 % del área
6.14	Etanol	1.41	1.34	1.00
12.61	Piridina	2.80	2.35	2.21
15.49	Dehidro-2-metil-3(2H)-furanona	1.44		1.11
15.66	Metil pirazina	3.96	2.65	3.58
16.90	1-Hidroxi-2-propanona	3.22	1.99	2.82
17.94	2,5-Dimetil pirazina	1.89	1.47	1.65
18.19	2,6-Dimetil pirazina	2.04	1.81	1.79
22.73	Acido acetico	17.38	18.15	15.95
23.35	1,2 etanediol diacetato	2.83	2.56	2.26
23.43	Furfural	13.48	6.97	14.28
25.19	1-(2-furanyl)-etanona	2.66	1.73	2.35
25.97	2 Metil-3-pentanona	1.17		
26.35	2-Furan-metanol acetato	5.27	5.98	4.40
27.91	5-Metil-2-furancarboxaldehido	9.36	6.52	9.90
30.19	Butirolactona	2.12	2.05	2.10
31.22	2-Furan-metanol	23.27	16.43	23.12
31.52	3-Metil-acido butanoico	2.48	1.95	2.01
42.33	Maltol		1.34	2.29
42.48	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona		2.35	1.16
44.25	1H-Pyrrole-2-carboxaldehido			1.15
49.59	2-Metoxo-4-vinilfenol		2.65	2.34

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 21. Muestra: Cooperativa La Nueva Era

Tiempo retención min	Compuesto	Natural % del área	CBS 381 % del área	CBS 459 % del área
5.61	Metanol	0.57	0.84	0.66
6.09	Etanol	1.04	1.64	1.72
12.55	Piridina	0.64	0.72	0.82
15.45	Dehidro-2-metil-3(2H)-furanona			0.29
15.61	Metil pirazina	1.31	1.62	1.84
16.84	1-Hidroxi-2-propanona	0.94	1.28	0.97
17.90	2,5-Dimetil pirazina	1.01	1.35	1.47
18.14	2,6-Dimetil pirazina	1.04	1.42	1.57
18.35	Etil pirazina		0.63	0.75
18.88	2,3-Dimetil pirazina	0.27	0.42	0.47
20.47	2-Ethyl-6-metil pirazina	1.06	1.31	1.57
20.74	2-Ethyl-5-metil pirazina	0.72	0.91	1.05
21.28	Trimetil pirazina			1.79
22.76	Acido acetico	20.44	24.39	18.32
22.92	3-Etil-2,5-dimetil pirazina	1.37	1.44	1.60
23.31	1-(Acetiloxi)-2-propanona		0.87	
23.32	1,2-Etanediol diacetato	0.82		
23.38	Furfural	2.36	3.02	3.92
24.74	Acido formico	2.67	2.18	2.49
25.15	1-(2-Furanyl)-etanona	0.61	0.89	0.96
26.12	1-(Acetiloxi)-2-butanona	0.42	0.45	0.49
26.31	2-Furanmetanol acetato	2.26	3.36	3.36
26.56	2,3-Butanediol [R-(R*,R*)]-			
27.87	5-Metil-2-furancarboxaldehido	3.99	5.40	5.39
29.85	1-Metil-1H-pirrol-2-carboxaldehido	0.66	0.77	0.81
30.14	Butirolactona	1.69	1.75	1.79
31.19	2-Furan-metanol	13.21	14.94	13.16
31.54	3-Metil-acido butanoico	1.83	1.84	1.60
32.65	1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	0.73		0.71
34.75	Metoxi-fenil oxima	1.24		0.31
37.47	1-(2-Furanilmetil)-1H-Pirrol	0.72	0.58	0.68
37.57	2-Hidroxi-3-metil-2-Ciclopenten-1-ona	0.77		0.66
42.32	Maltol	1.56	0.60	1.22
42.45	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	1.55	0.84	1.27
44.24	1H-Pirrol-2-carboxaldehido	1.26	0.91	1.13
49.60	2-Metoxi-4-vinilfenol	3.13	1.08	2.29

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 22. Muestra: Cooperativa Nuevo Sendero

Tiempo retención min	Compuesto	Natural % del área	CBS 381 % del área	CBS 459 % del área
5.54	Acetato de etilo	1.02		0.31
5.60	Metanol		0.76	1.33
5.92	3-Etoxi-1-propene	.		0.98
5.92	2-metil butanal	0.59		0.98
5.96	3-metil butanal	0.46		0.78
6.09	Etanol	4.27	3.51	1.87
8.47	2,3 Pentanediona	0.49		0.62
12.55	Piridina	2.82	3.84	1.41
13.20	3-Methyl-1-butanol	0.50		
15.45	Dehidro-2-metil-3(2H)-furanona	1.08		1.20
15.61	Metil pirazina	4.50	4.15	5.13
16.84	1-Hidroxi-2-propanona	2.19	2.31	1.64
17.90	2,5-Dimetil pirazina	2.85	2.63	3.48
18.14	2,6-Dimetil pirazina	3.11	2.94	3.61
18.35	Etil pirazina	1.32	1.14	1.67
18.88	2,3-Dimetil pirazina	0.69	0.65	0.85
20.00	1-Hidroxi-2-butanona	0.46		
20.47	2-Etil-6-metil Pirazina	2.02	1.96	2.31
20.74	2-Etil-5-metil Pirazina	1.32	1.11	1.59
21.28	Trimetil pirazina	2.31		2.61
22.76	Acido acetico	7.94	8.06	7.63
22.92	3-Etil-2,5-dimetil pirazina	2.01	1.87	2.11
23.31	1-(Acetiloxi)-2-propanona	3.00	3.21	2.15
23.38	Furfural	5.74	4.63	6.90
25.15	1-(2-Furanyl)-etanona	1.90	1.74	2.04
26.12	1-(Acetiloxi)-2-butanona	0.89	0.89	0.84
26.31	2-Furanmetanol acetato	4.91	3.74	4.71
26.56	2,3-Butanediol [R-(R*,R*)]-	0.48	0.58	
27.87	5-Metil-2-furancarboxaldehido	8.07	6.62	8.84
29.85	1-Metil-1H-pirrol-2-carboxaldehido	0.78	0.72	0.90
30.14	Butirolactona	2.39	3.00	1.97
31.19	2-Furan-metanol	16.56	19.17	14.73
31.54	3-Metil-ácido butanoico	1.23	1.12	0.91
32.65	1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	0.57	0.69	0.61
33.37	Pirazinamida	0.42		
34.75	Metoxi-fenil oxima	0.08	0.46	
37.47	1-(2-Furanilmetil)-1H-Pirrol	0.44		0.19
37.57	2-Hidroxi-3-metil-2-Ciclopenten-1-ona	0.74	1.02	
42.32	Maltol	0.69	1.51	0.78
42.45	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	0.69	0.96	0.81
44.24	1H-Pirrol-2-carboxaldehido	0.67	0.97	0.79
49.60	2-Metoxi-4-vinilfenol	0.68	1.08	0.92

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 23. Muestra: Villa Canales

Tiempo retención min	Compuesto	Natural % del área	CBS 381 % del área	CBS 459 % del área
5.62	Formato de etilo	0.71	0.61	
5.92	2-Metil butanal			0.23
6.13	Etanol	1.69	1.24	1.40
8.48	2,3 Pentanediona			0.38
12.57	Piridina	1.01	1.07	0.85
15.45	Dehidro-2-metil-3(2H)-furanona	0.93	0.92	1.11
16.62	Metil pirazina	3.77	4.09	4.77
16.85	1-Hidroxi-2-propanona	0.80	0.85	0.97
17.90	2,5-Dimetil pirazina	2.61	2.95	3.32
18.15	2,6-Dimetil pirazina	2.78	3.16	3.49
18.36	Etil pirazina	1.44	1.68	1.81
18.88	2,3-Dimetil pirazina	0.76	0.84	0.95
20.55	2-Etil-6-metil Pirazina	2.33	2.47	2.38
20.75	2-Etil-5-metil Pirazina	1.67	1.78	1.74
21.28	2,6 Dimetil-4-piridinamina	2.53	2.61	2.55
22.76	Ácido acético	10.07	9.18	9.18
22.93	3-Etil-2,5-dimetil pirazina	2.07		1.62
23.31	1,2-Etanediol diacetato	1.35	1.67	1.62
23.38	Furfural	4.06	4.70	5.46
24.66	Furfuril formato		0.73	
24.79	Ácido fórmico	0.68	0.51	
25.09	1-(H-Pirazol-4-yl)-etanona		1.87	2.14
25.15	1-(2-Furanyl)-etanona	1.50		
25.93	2 Metil-3-pentanona	0.85		1.18
26.13	1(Acetiloxi)-2-butanona		0.79	0.96
26.31	2 Furanmetanol acetato	4.43	5.28	5.57
27.87	5-Metil-2-furancarboxaldehido	6.83	8.22	8.55
29.85	1-Metil-1H-pirrol-2-carboxaldehido	1.14	1.32	1.14
30.14	Butirolactona	2.63	2.78	2.73
31.18	2 Furan metanol	15.38	18.34	18.46
31.55	3-Metil-ácido butanoico	1.56	2.11	2.23
32.65	1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	1.04		0.87
33.30	N-Acetil-4(H)-piridina,			0.65
34.70	Metoxi-fenil oxima	1.11		
37.47	1-(2-Furanilmetil)-1H-Pirrol	0.53	0.54	0.40
42.32	Maltol	0.94		
42.46	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	1.44	0.93	0.81
44.24	1H-Pirrol-2-carboxaldehido	1.13	0.94	0.75
49.51	2-Metoxi-4-vinilfenol	3.91	2.14	1.42

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 24. Muestra: Cooperativa Acatenango

Tiempo retención min	Compuesto	Natural % del área	CBS 381 % del área	CBS 459 % del área
4.93	2-Metil propanal		0.30	0.23
5.55	Acetato de etilo	1.69	1.78	1.08
5.64	Metanol		0.89	
5.92	2-Metil-butanal	0.66	0.59	0.39
5.97	3- Metil-butanal	0.33	0.59	0.30
6.13	Etanol	2.49	2.33	2.26
8.48	2,3 Pentanediona	0.95	0.68	0.67
12.57	Piridina	4.14	4.45	3.94
15.45	Dehidro-2-metil-3(2H)-furanona	1.33	1.11	1.24
16.62	Metil pirazina	4.39	4.17	4.60
16.85	1-Hidroxi-2-propanona	2.29	2.05	1.83
17.90	2,5-Dimetil pirazina	2.36	2.77	2.89
18.15	2,6-Dimetil pirazina	2.67	2.94	3.17
18.36	Etil pirazina	1.25	1.31	1.45
18.88	2,3, Dimetil-pirazina	0.68	0.78	0.84
19.84	1-Hidroxi-2-butanona	0.49		
20.55	2-Etil-6-metil Pirazina	1.65	2.05	2.17
20.75	2-Etil-5-metil Pirazina	1.01	1.29	1.30
21.28	2,6-Dimetil-4-piridinamina	2.04	2.51	2.44
22.76	Ácido acético	8.82	6.81	5.23
22.93	3-Etil-2,5-dimetil pirazina	1.56	2.00	1.50
23.31	1,2-Etanediol diacetato	2.46	2.69	3.00
23.38	Furfural	5.57	4.90	5.42
24.66	Furfuril formato	0.47		0.60
25.15	1-(2-Furanyl)-etanona	1.73	1.84	2.12
25.93	2 Metil-3-pentanona	0.87		1.15
26.13	1(Acetiloxi)-2-butanona	0.67	0.71	0.94
26.31	2 Furanmetanol acetato	3.66	3.97	4.44
26.55	2,3 Butanediol		0.46	
27.87	5-Metil-2-furancarboxaldehido	6.34	6.81	7.71
27.99	6,7-Benzotiazoleidiona-7-oxima			0.74
29.85	1-Metil-1H-Pirrol-2-carboxaldehido	0.68	0.73	0.85
30.14	Butyrolactona	2.30	2.80	2.82
31.18	2-Furan metanol	13.57	15.85	15.85
31.55	3-Metil-ácido butanoico	1.08	1.15	1.33
32.65	1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	0.52	0.64	0.65
33.36	1,3 Diazina	0.41	0.48	0.57
37.47	1H-Pirrol-1-(2-furanilmetil)	0.45	0.46	0.56
37.53	2-Hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	0.81	0.88	0.98
42.32	Maltol	0.86	0.87	0.94
42.46	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	0.78	0.90	0.86
44.24	1H-Pirrol-2-carboxaldehido	0.67	0.77	0.80
44.51	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona	0.75	0.65	0.83
49.60	2-Metoxi-4-vinilfenol	1.53	1.31	1.29

Fuente: FODECYT 029-2013

III.1.2.4 Evaluación organoléptica de la bebida

En los Cuadros 25-29 se presenta para cada muestra procesada los resultados de la evaluación organoléptica de la bebida en términos del catador de Fedecocagua.

Cuadro 25. Muestra: San Vicente Pacaya

Muestra	Grano en oro	Humedad Grano en oro	Taza	Acidez	Cuerpo	Tipo	Tueste
Natural	Película rojiza	10.5	Vinoso	Media	Fuerte	Estrictamente duro	Parejo
Natural	Película rojiza	10.7	Fuerte vinoso	Fuerte	Fuerte	Estrictamente duro	Parejo
CBS 381	Película rojiza	10.8	Vinoso	Media	Fuerte	Estrictamente duro	Parejo
CBS 459	Película rojiza	10.4	Fuerte vinoso	Media	Fuerte	Estrictamente duro	Parejo

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 26. Muestra: Cooperativa La Nueva Era

Muestra	Grano en oro	Humedad Grano en oro	Taza	Acidez	Cuerpo	Tipo	Tueste
Natural	Blanqueado Granos rojos	10.2	Sana	Media	Medio	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 381	Blanqueado	10.5	Fuerte vinoso	Fuerte	Medio	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 459	Blanqueado	10.6	Fuerte vinoso	Fuerte	Medio	Estrictamente duro	Disparejo

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 27. Muestra: Cooperativa Nuevo Sendero

Muestra	Grano en oro	Humedad Grano en oro	Taza	Acidez	Cuerpo	Tipo	Tueste
Natural	Totalmente grano rojo	10.7	Vinoso	Media	Medio	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 381	Parejo	11.2	Fuerte vinoso	Media	Medio	Estrictamente duro	Parejo
CBS 459	Parejo	10.8	Fuerte vinoso	Media	Medio	Estrictamente duro	Disparejo

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 28. Muestra: Villa Canales

Muestra	Grano en oro	Humedad Grano en oro	Taza	Acidez	Cuerpo	Tipo	Tueste
Natural	Granos rojos	10.3	Áspero/Astringente	Bajo	Medio	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 381	Granos rojos	10.6	Vinoso/Áspero	Media	Medio	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 459	Granos rojos	11.2	Sana	Bajo	Bajo	Estrictamente duro	Disparejo

Fuente: FODECYT 029-2013

Cuadro 29. Muestra: Cooperativa Acatenango

Muestra	Grano en oro	Humedad Grano en oro	Taza	Acidez	Cuerpo	Tipo	Tueste
Natural	Blanqueado Granos rojos	11.0	Poco agrio	Media	Medio	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 381	Poco blanqueado	10.6	Sana	Fuerte	Bueno	Estrictamente duro	Disparejo
CBS 459	Poco blanqueado	10.5	Sana	Media	Medio	Estrictamente duro	Disparejo

Fuente: FODECYT 029-2013

III.1.2.5. Caracterización del líquido de lavado del café

En el Cuadro 30 se presenta la composición del líquido de lavado de café. Es un efluente ácido con una carga alta de compuestos orgánicos.

Cuadro 30. Composición del líquido de lavado de café en mg/L

Componente	Este trabajo
Demanda química de oxígeno, DQO	16,500-28,500
Demanda biológica de oxígeno, DBO	19,041-26,757
DBO/DQO	1.02
Sólidos totales	23,100-32,670
Cenizas	3,900-5070
Sólidos volátiles	18,000-31,770
pH	3.95-4.00

Fuente: FODECYT 029-2013

III.1.2.6. Digestión anaerobia del líquido de lavado del café

El digester anaerobio se operó en forma intermitente de carga y descarga diaria. La alimentación consistió en el líquido de lavado de café diluido tres veces con agua. En los tres primeros días se mantuvo el pH ácido de 3.95 original del líquido de lavado. Debido al exceso de acidez el pH en el digester empezó a disminuir por lo que en los siguientes días se empleó el líquido de lavado neutralizado con NaOH a un pH de 6.95.

En el Cuadro 31 se describe los parámetros de operación seguidos durante el período de aclimatación.

Cuadro 31. Datos de la alimentación, el cambio de pH y la temperatura en el digester.

Días	Alimentación mL/día	Alimentación gDQO/L.día	pH de la alimentación	pH del efluente del digester	Temperatura del digester °C
0	300	1.15	3.95	7.95	31.0
1	300	1.15	3.95	6.82	30.0
2	200	0.77	3.95	5.73	31.7
3	200	0.77	6.95	5.43	31.4
4	200	0.77	6.95	5.30	31.6
5	200	0.77	6.95	5.23	30.0
6	200	0.77	6.95	5.28	30.8
7	50	0.19	6.95	5.39	31.1
8	50	0.19	6.95	5.45	30.5
9	75	0.29	6.95	5.63	31.8
10	100	0.38	6.95	5.74	30.0
11	100	0.38	6.95	5.88	30.2
12	100	0.38	6.95	5.98	29.8
13	100	0.38	6.95	6.49	30.6
14	100	0.38	6.95	6.51	30.8

Fuente: FODECYT 029-2013

Durante este período se produjo biogás conteniendo principalmente CO₂ debido al pH ácido dentro del digester. La producción de gas se puede observar en la Gráfica 28.

Gráfica 28. Observación de las burbujas de gas producido en el digestor en la columna medidora con agua



Fuente: FODECYT 029-2013

Luego del período de aclimatación, el digestor se operó siempre con carga y descarga diarias. Sin embargo se invirtió el orden. Primero se realizó una medición de gas producido, tomando una muestra del gas directamente del digestor empleando una jeringa especial con sello. Luego se descargó líquido midiendo el pH y en algunos días la demanda química de oxígeno (DQO). Luego de aproximadamente tres horas, se cargó el digestor. El volumen del digestor se mantuvo constante.

El Cuadro 32 lista los resultados experimentales.

Cuadro 32. Datos de la operación del digestor

Días	Alimentación gDQO/L.día (gSV/L.día)	pH del efluente del digestor	Temperatura del digestor °C	CO ₂ en gas %	CH ₄ en gas %	Reducción de DQO %
1	0.38 (0.57)	6.70	30.2			
2	0.38 (0.57)	6.60	30.1	85.25	9.51	
3	0.38 (0.57)	6.73	30.1			
6	0.38 (0.57)	6.95	31.2	33.49	55.11	
8	0.38 (0.57)	7.19	30.0	46.77	46.45	75.27

Fuente: FODECYT 029-2013

III.2 Discusión de resultados

III.2.1 Pruebas iniciales para alternativas de fermentación

En las fermentaciones llevadas a cabo con una mezcla de grano de café despulpado en seco y la pulpa separada en el pulpero, ambos suspendidos en agua, se obtuvieron dos resultados contradictorios. El primer resultado fue positivo ya que las levaduras produjeron etanol. La levadura CBS 459 fue superior a las demás en producción de etanol llegando a producir 1.88 % en peso. En cambio, con la levadura Local, se redujo la producción de etanol aproximadamente ocho y media veces. Lo anterior indica que las levaduras empleadas mostraron diferentes capacidades para asimilar los carbohidratos presentes en el mucilago del grano, o que algunas fueron inhibidas por la presencia de ácidos clorogénicos presentes en la pulpa, o ambos casos. El segundo resultado fue negativo, debido a que el grano de café, luego de lavarse, secarse y tostarse, tuvo una mala calificación, tanto en apariencia, como en la evaluación organoléptica de la bebida. Para propósitos del presente proyecto en donde cualquier alternativa introducida en el procesamiento del grano no debería causar efecto alguno sobre la calidad de la bebida, el segundo resultado negativo de esta prueba fue suficiente para descartarla en las subsiguientes investigaciones.

Las pruebas iniciales de fermentación del grano de café suspendido en agua fueron desde el punto de vista de la calidad de la bebida superior a las anteriormente descritas en donde se había incluido la pulpa. Sin embargo, todavía se detectó en la bebida un sabor inusual.

No hubo diferencias notorias en la producción de etanol por las diferentes levaduras empleadas. El promedio fue de 0.190 ± 0.007 g de etanol/ 100 mL. Se observó una reducción de etanol producido aproximadamente en 10 veces con respecto a las pruebas en donde la pulpa estuvo presente. Lo anterior sugiere que la mayoría del mucilago con los azúcares quedó en la pulpa durante el despulpado en seco. Los rendimientos del etanol respecto a la cantidad de azúcares iniciales para cada levadura se listan en el Cuadro 33. El rendimiento promedio fue de 0.506 ± 0.006 . El valor teórico de conversión es de 0.51, por lo que se sospecha que no todos los azúcares fueron consumidos por la levadura. Los rendimientos reales, es decir relacionando la producción de etanol con los azúcares consumidos, se deduce que son aún mayores a los listados en el cuadro. Esto significa que se produjo etanol de otros carbohidratos que no fueron detectados en el análisis de cromatografía.

Cuadro 33. Rendimiento del etanol respecto a los azúcares iniciales en las pruebas de fermentación del grano de café despulpado suspendido en agua.

Levaduras	Rendimiento Y
Local-1	0.52
Local-2	0.51
CBS 5773-1	0.51
CBS 5773-2	0.50
CBS 381-1	0.51
CBS 381-2	0.50

CBS 400-1	0.51
CBS 400-2	0.51
CBS 422-1	0.50
CBS 422-2	0.52
CBS 459-1	0.51
CBS 459-2	0.50

Fuente: FODECYT 029-2013

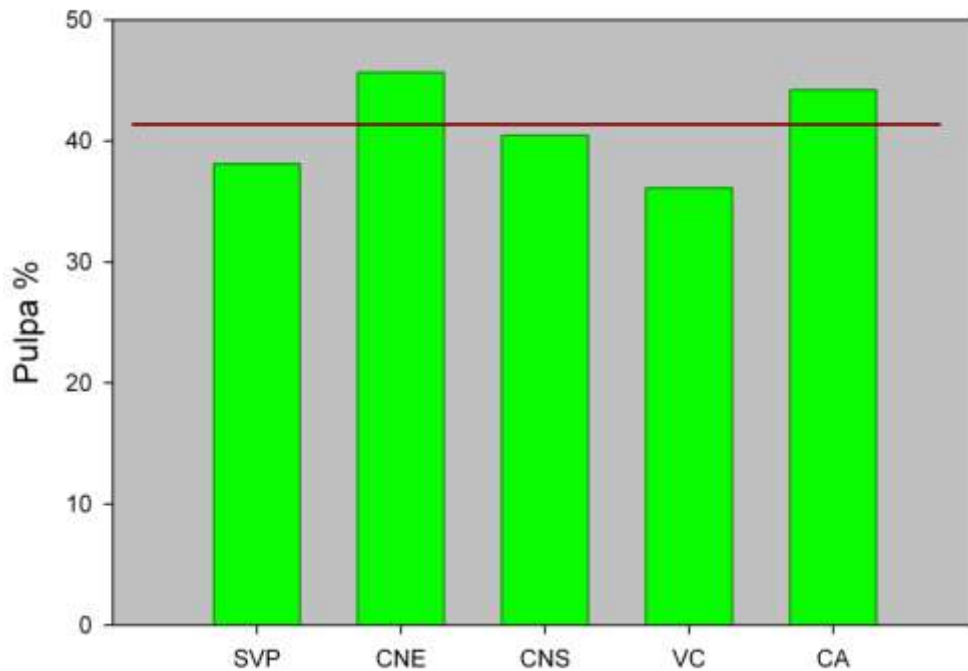
Debido a estos resultados se decidió eliminar la adición de agua en la fermentación y realizar los ensayos al estado sólido, es decir, tal cual se llevan a cabo en el beneficio.

III.2.2 Ensayos del procesamiento de las muestras de café

III.2.2.1. Selección del grano y despulpado

La variación del porcentaje de pulpa en las cinco muestras de café procesadas se ilustra en la Gráfica 29. La barra horizontal muestra el promedio de las cinco muestras, el cual fue de 40.90 % \pm 4.02. Dicho valor es semejante al obtenido en la práctica comercial en el país. Como una comparación, en una reciente publicación en Colombia, en donde el café se despulpó en seco igual que en este trabajo, el porcentaje de pulpa obtenido fue 41.25 % (Navia et al, 2011).

Gráfica 29. Variación del rendimiento de pulpa de las muestras de café procesadas



Fuente: FODECYT 029-2013

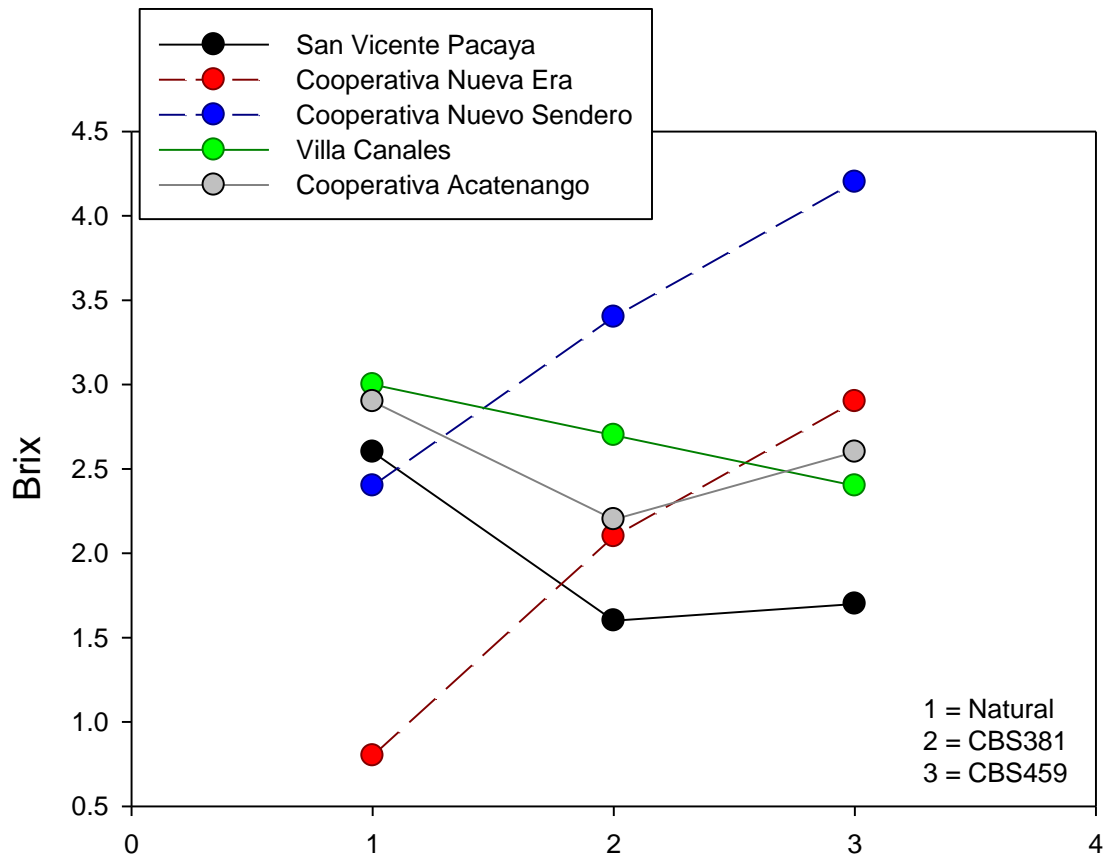
III.2.2.2 Fermentación del grano despulpado

Las variables medidas en el líquido de lavado al finalizar las fermentaciones fueron: a) la pérdida de peso, incluyendo el secado (%), b) el pH, c) el Brix, d) los sólidos totales (g/100 mL), e) el etanol (g/100 mL) y la f) fructosa residual (g/100 mL).

El análisis de variancia mostró lo siguiente: a) el Brix del líquido de lavado dependió de la muestra procesada (p : 0.0513), del tipo de fermentación (p : 0.0952), y de la interacción entre ambas (p : 0.0711); b) la fructosa residual dependió de la muestra procesada (p : 0.0681), del tipo de fermentación (p : 0.0292), y de la interacción entre ambas (p : 0.0987); el resto de las variables medidas no dependieron ni de la muestra procesada, ni del tipo de fermentación.

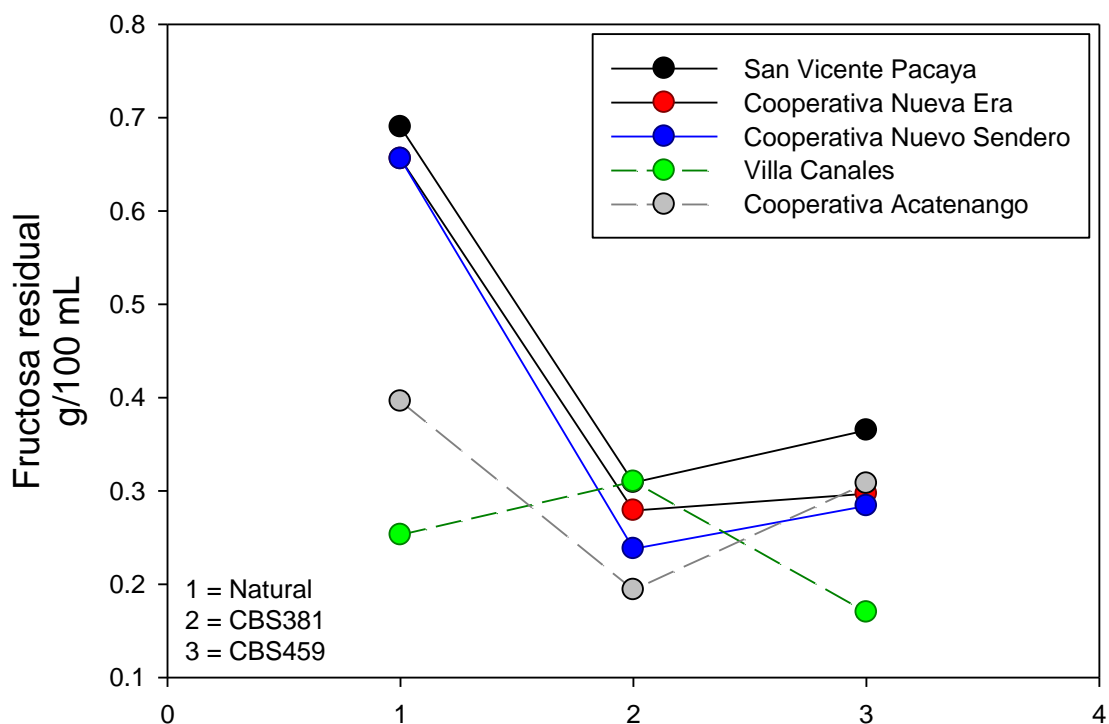
En las Gráficas 30 y 31 se observa la dependencia del Brix y de la fructosa residual en función de la muestra de café procesada y del tipo de fermentación empleado.

Gráfica 30. Variación del Brix del líquido de lavado



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 31. Variación del contenido de fructosa residual del líquido de lavado



Fuente: FODECYT 029-2013

En tres muestras de café el Brix disminuyó cuando se agregaron levaduras al inicio de la fermentación. Pero en dos de ellas (Cooperativas Nueva Era y Nuevo Sendero) la tendencia de variación fue contraria, el Brix aumentó cuando se agregaron levaduras.

En cuatro muestras de café la fructosa residual disminuyó cuando se agregaron levaduras. En la muestra de Villa Canales la disminución anterior no fue notoria.

La producción de etanol promedio de acuerdo con el tipo de fermentación fue de 1.33, 1.75 y 1.36 g/kg de café para el tipo de fermentación natural, con adición de CBS 381, y con adición de CBS459, respectivamente. Valores de producción de etanol de 0.64 a 1.19 g/L han sido reportados por Silva et al. (2013), valores bajos comparados con los de este trabajo que van desde 1.1 a 6.1 g/L.

El pH final promedio de acuerdo con el tipo de fermentación fue de 3.68, 3.92 y 3.71 para el tipo de fermentación natural, con adición de CBS 381, y con adición de CBS459, respectivamente.

La fermentación de café ha sido recientemente estudiada por varios investigadores en diferentes países enfocando las mismas en los aspectos siguientes: a) caracterización de la diversidad microbiana presente en el proceso, b) definición de la participación de los microorganismos en la degradación y eliminación del mucílago, y c) efectos de la adición de microorganismos a los tanques de fermentación sobre la fermentación y la calidad de la bebida resultante.

Como se explicó con anterioridad el mucílago es una de las envolturas del grano de café que deben eliminarse en el beneficio húmedo, tal cual se ilustra en la Gráfica 32 (Esquivel & Jiménez, 2012).

Gráfica 32. Envolturas del grano de café en la cereza o fruto

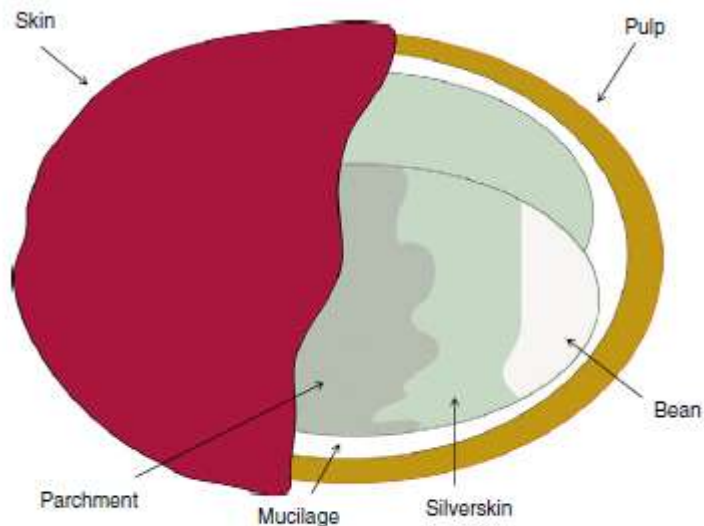


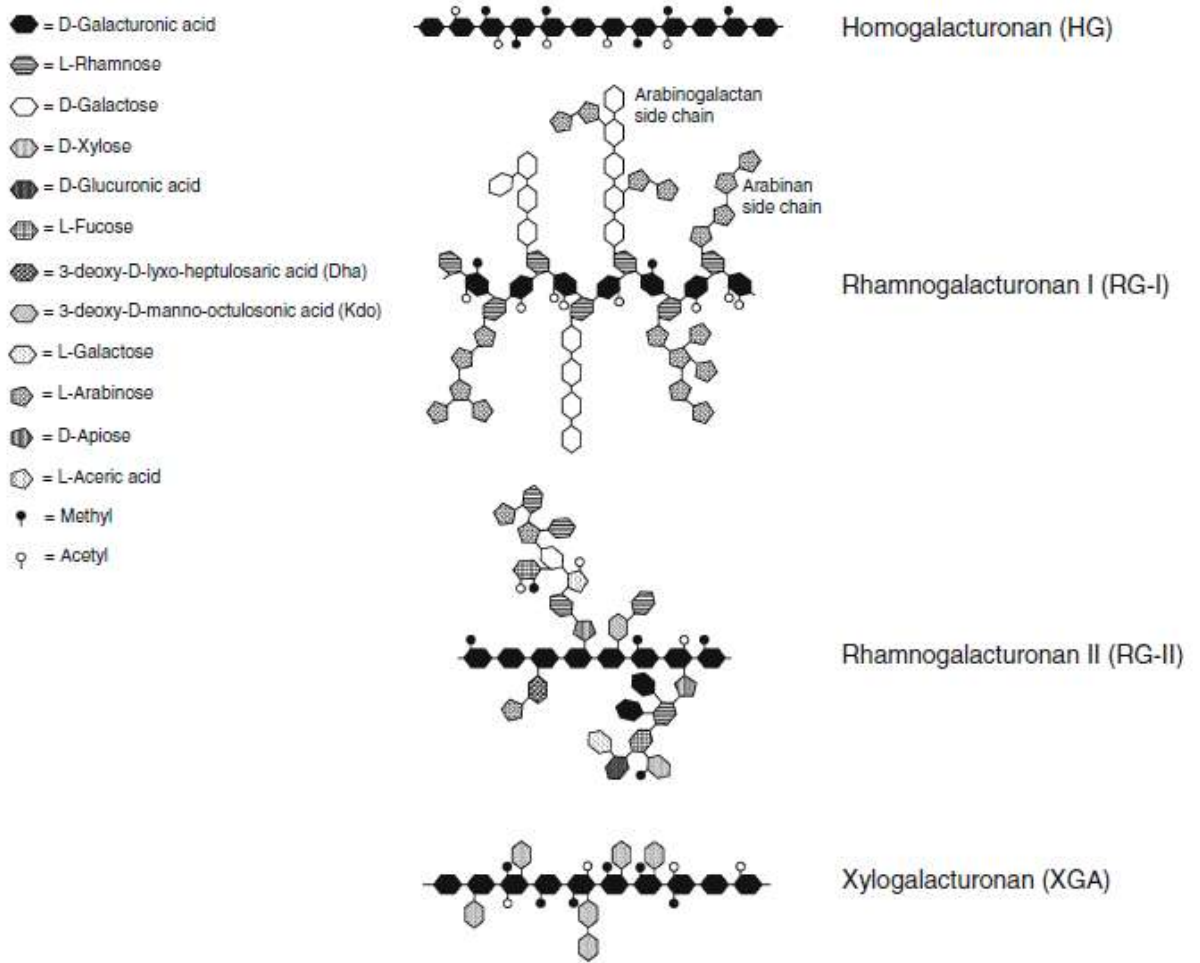
Fig. 1. Layers in a coffee fruit.

Fuente: Esquivel & Jiménez, 2012

La distribución y caracterización de los polímeros del mucílago, o sustancias insolubles en etanol, ha sido llevada a cabo (Avallone et al, 2000) y se encontró un 30 % de pectina, un 8 % de celulosa y un 18 % de polisacáridos neutros no celulósicos. La pectina tenía un peso molecular bajo, de 12 a 29 kDa, alta metilación, 62 %, moderada acetilación, 5 %, y no gelificó en presencia de sacarosa o en un medio ácido. La pectina es un polímero del ácido galacturónico que tiene una diversidad de estructuras y grupos químicos adicionales de acuerdo con su origen (Richard & Hilditch, 2009) tal como se muestra en la Gráfica 33. La degradación enzimática de la pectina se debe a un conjunto de enzimas que actúa sobre el polímero, como se ilustra en la Gráfica 34, hasta obtener el monómero que es el ácido galacturónico (Bonnin et al, 2014).

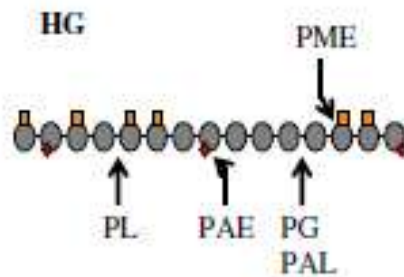
Por lo tanto, los microorganismos presentes en los tanques de fermentación de café deben de tener la información genética para producir las enzimas necesarias anteriormente citadas y emplear el ácido galacturónico como fuente de carbono. Tanto bacterias como levaduras y hongos pueden crecer empleando el ácido galacturónico como fuente de carbono (Richard & Hilditch, 2009).

Gráfica 33. Diversas estructuras químicas de la pectina



Fuente: Richard & Hilditch, 2009

Gráfica 34. Enzimas que degradan la pectina: pectin metil esterasa (PME), pectin acetilesterasa (PAE), poligalacturonasa, endo y exo (PG), pectin liasa (PL), pectate liase (PAL)



Fuente: Bonnin et al, 2014

La diversidad de microorganismos en la fermentación ha sido estudiada en los tres procesos comerciales y diferentes del beneficio: a) el húmedo (separación de pulpa, fermentación y secado del grano), b) el seco (fermentación de la cereza entera y secado) y c) el semi-seco (separación de pulpa y fermentación y secado del grano despulpado). Las investigaciones sobre la diversidad de microorganismos se han llevado a cabo en pruebas a escala de laboratorio. En el beneficio húmedo, Agate y Bhat (1996) en India reportaron la presencia de las levaduras de los géneros *Saccharomyces* y *Schizosaccharomyces* sp. Avallone et al (2001a) con muestras de Xalapa, Veracruz reportaron que la diversidad variaba conforme transcurría la fermentación, identificando bacterias del género *Klebsiella* y *Erwinia*, bacterias lácticas del género *Leuconostoc* y *Lactobacillus* y levaduras del género *Kloeckera*, *Candida*, y *Cryptococcus*. Pereira et al (2014) encontraron los siguientes géneros de levadura predominantes, *Pichia*, *Candida*, y *Hanseniaspora*. Silva et al (2000, 2008) en Brasil estudiaron la diversidad microbiana en el proceso seco, la cual consistió en una gran cantidad de bacterias, levaduras y hongos filamentosos. Entre las bacterias que predominaron en la parte inicial de la fermentación estaban los géneros *Bacillus*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Acetivibrio*. Entre las levaduras, que representaron un 22 % de los aislados, se encontraron los géneros, *Debaromyces*, *Pichia* y *Candida*, las cuales predominaron al final del proceso. Vilela et al (2010) en Brasil, por su parte, estudiaron la diversidad en el proceso semi-seco. De nuevo encontraron una gran cantidad de bacterias, levaduras y hongos filamentosos; entre las bacterias, *Bacillus*, *Klebsiella*, y *Enterobacter*; y entre las levaduras *Pichia*, *Torulospira*, y *Rhodotorula*. De lo anterior se deduce que no existe un género de bacterias o levaduras que predomine durante la fermentación del grano. La población microbiana es una mezcla heterogénea que dependerá del lugar de origen y del proceso de fermentación empleado.

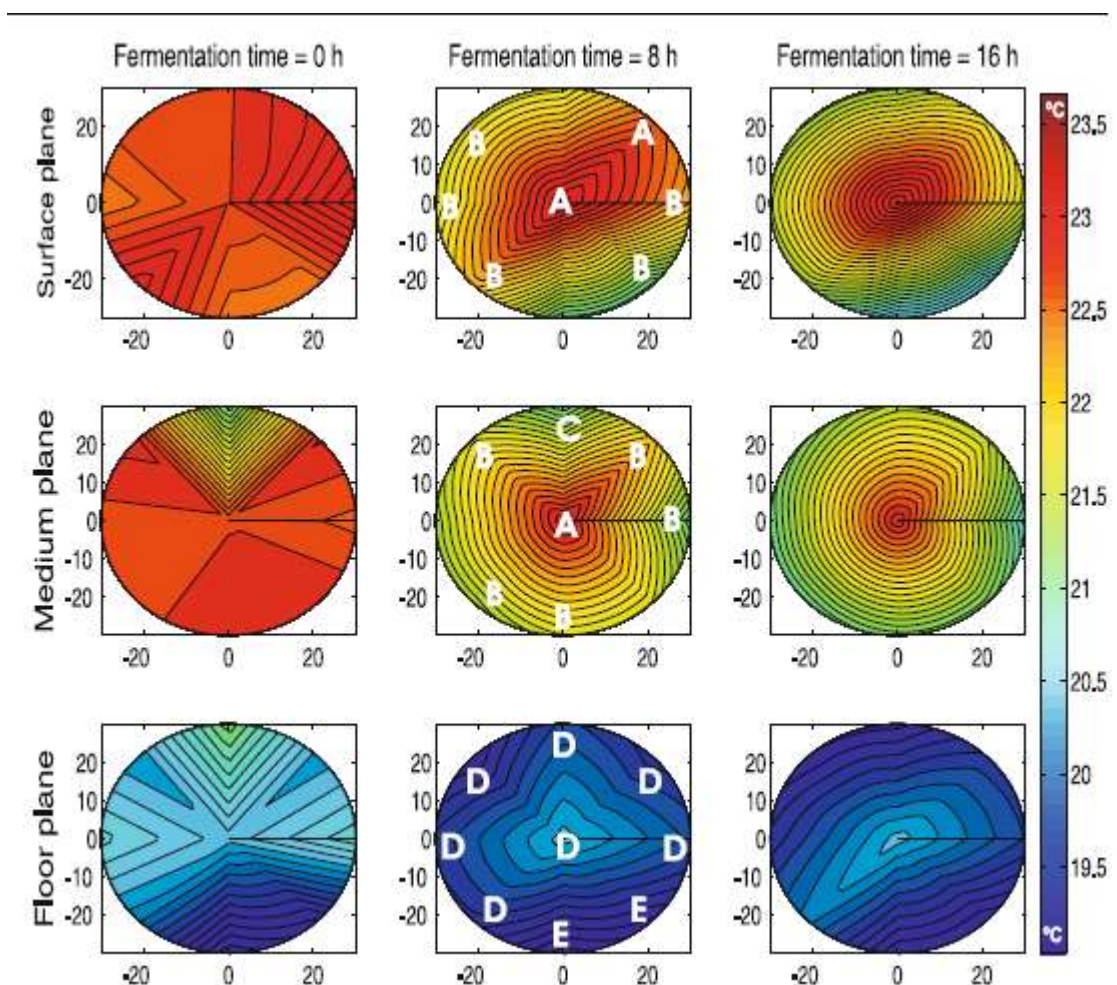
Como antes se explicó el papel que juega la gran diversidad de microorganismos en la eliminación del mucílago continua siendo controversial y en discusión. Por un lado Avallone et al (2001b; 2002) proponen la tesis de que el rol microbiano es mínimo y que la acidez desarrollada en el proceso hincha el mucílago de manera que es posible removerlo en el lavado. Parten de dos opiniones, la primera es que existen bacterias que producen ácidos y que de un pH alrededor de 5.3 al inicio, disminuye hasta valores de 3.5 al final. La segunda se basa en que encontraron en el líquido de lavado pectina no degradada y pectina soluble la cual presentaba una ligera reducción de viscosidad, peso molecular y una parcial demetilación. Por otro lado (Avallone et al. 2001a) mostraron la utilización microbiana de los azúcares originalmente presentes en el mucílago para crecer y producir etanol y ácidos orgánicos. La glucosa era mejor consumida que la fructosa. La cantidad producida de etanol, fue menor que 2 % con respecto a la masa seca de mucílago original, la cantidad de ácido acético, alrededor de 7 %, y ácido láctico, alrededor de 5 % en la misma base anterior. En lo que respecta al menor consumo de la fructosa, coincide con lo que nosotros observamos. Así mismo el pH promedio reportado en este informe se encontró entre 3.5 y 4.0.

Sin embargo informes recientes también apuestan por un rol importante de los microorganismos en la degradación del mucílago. Se ha resumido la información experimental que confirma la producción de enzimas pectinolíticas por levaduras, las cuales poseen un pH óptimo entre 3.5 y 5.5 (Blanco et al. 1999). Lo anterior coincide con el pH ácido en los tanques de fermentación de café. Más recientemente se han identificado en la fermentación del café, por un lado, bacterias que producen la enzima pectato liasa (Sakayima et al. 2001) y ácidos orgánicos (De Bruyne et al. 2007) y por el otro, cepas de levaduras con actividad de poligalacturonasa en medios ácidos desde 3.0 hasta 5.5 y con un

óptimo de temperatura de alrededor de los 40-55 °C (Serrat et al, 2001; Masoud & Jespersen, 2006). Finalmente se encontraron bacterias y levaduras productoras de poligalacturonasa y pectato liasa (Silva et al. 2013) entre las cuales estaban *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Candida parapsilosis*, *Pichia caribbica*, *Pichia guilliermondii* y *Saccharomyces cerevisiae*. Las levaduras mostraron mayor actividad pectinolítica que las bacterias.

En este trabajo se midieron temperaturas a las 24 h en los tres tipos de fermentación empleados con valores entre 28 y 30 °C. Estas estuvieron en el mismo rango a las reportadas por Correa et al (2014) en recipientes de plástico conteniendo aproximadamente 10 veces más café que el empleado en este trabajo. Sin embargo hicieron ver que la temperatura no solo descendía con respecto al tiempo de fermentación, sino que era menor en el fondo del tanque, como se aprecia en la Gráfica 35.

Gráfica 35. Variación de la temperatura en la fermentación de café respecto al tiempo y a la profundidad del tanque



Fuente: Correa et al, 2014

III.2.2.3. Componentes volátiles del aroma del café tostado y molido

Se han identificado alrededor de 900 compuestos orgánicos volátiles en los extractos de café tostado (Bufo & Cardelli-Freire 2004; Yeretzyan, Pollien et al 2004). Estos compuestos presentan una amplia diversidad de estructuras químicas en la mezcla y están presentes en pequeñas concentraciones. Sin embargo, únicamente una minoría de compuestos orgánicos volátiles son los principales responsables de impartirle al café el aroma único que lo acompaña. A estos compuestos se les denominó *fragancias clave* “key odorants” (Semmelroch, et al 1995; Semmelroch & Grosch 1996). Los 22 compuestos identificados inicialmente se listan en el Cuadro 34 en donde se ilustra también el aroma individual de los compuestos.

Cuadro 34. Fragancias clave

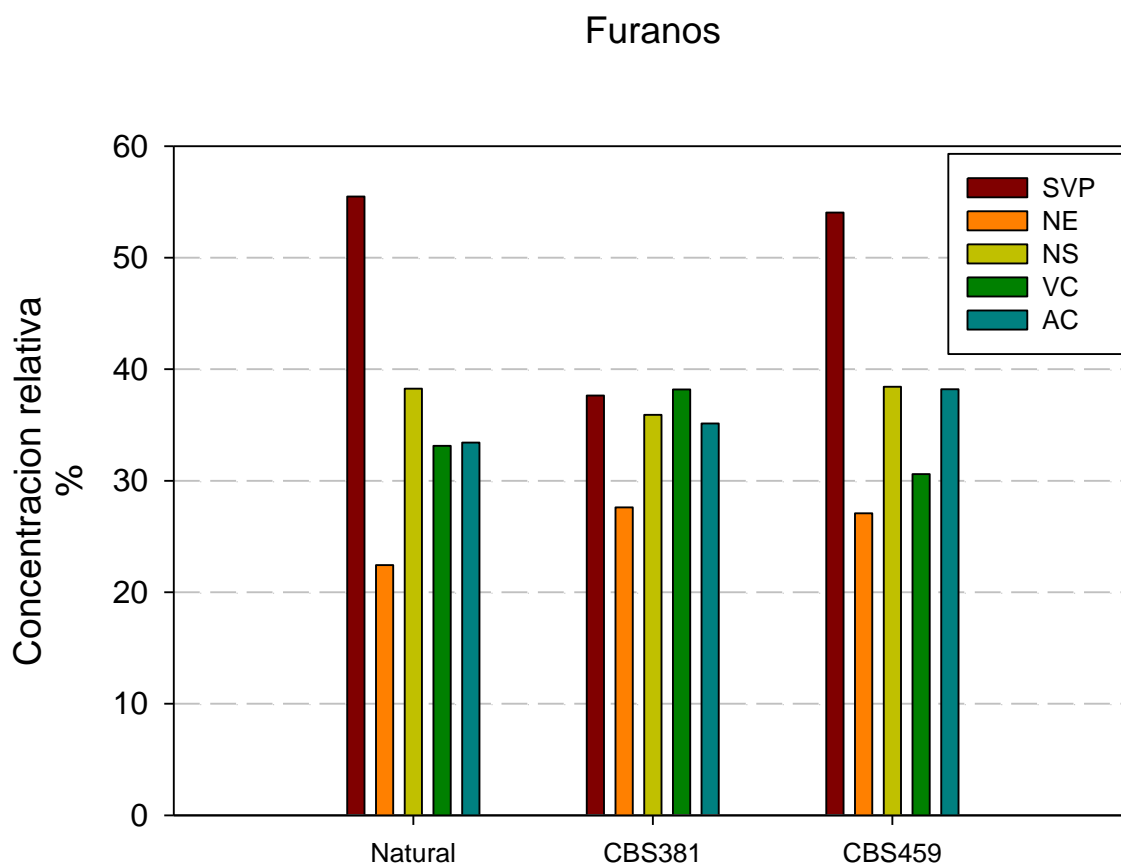
Familias de compuestos orgánicos	Fragancias clave (Semmelroch & Grosch 1996)	Calidad del olor
Aldehídos	Metilpropanal	Dulce, papa cocida ^a , salsa soya ^f
	3-(Metiltio)propanal (metional)	
	2-Metilbutanal	
Cetonas	3-Metilbutanal	Dulce ^d
	2,3-Butanodiona	Mantequilla, caramelo, frutal ^d
	2,3-Pentanodiona	Mantequilla, caramelo ^d
Esteres	□-Damascenona	Frutal, floral, dulce ^{b,d,f}
	3-Mercapto-3-metilbutilformate	Tostado ^c
Fenólicos	2-Metoxifenol (guaiacol)	Especies
	4-vinil-2-metoxifenol	Especies
	4-etil-2-metoxifenol	Especies
	3-metoxi-4-hidroxibenzaldehido (vainillina)	Vainilla
Furanonas	5-Etil-3-hidroxi-4-metil-2(5H)-furanona (Abhexon)	Especies
	5-Etil-4-hidroxi-2-metil-3(5H)-furanona	Caramelo ^{c,f}
	2-5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona	
	4-5-Dimetil-3-hidroxi-2(5H)-furanona	
	Pirazinas	2-Etil-3-5-dimetilpirazina
2,3-Dietil-5-metilpirazina		Tostado, terroso, papa cocida ^d
2-isobutil-3-metoxipirazina		Tostado ^d
Tioles	2-Furfuril-tiol	Tostado ^a
	Metano-tiol	Agrio, pútrido ^c
	3-metil-2-buten-1-tiol	Tostado ^f

- ^a Sanz, Czerny et al (2002)
- ^b Schenker & Heinemann et al (2002)
- ^c Kumazawa & Masuda (2003)
- ^d López-Galilea et al (2006)
- ^e Gonzáles-Ríos et al (2007)
- ^f Akiyama & Murakami (2008)

Fuente: FODECYT 029-2013

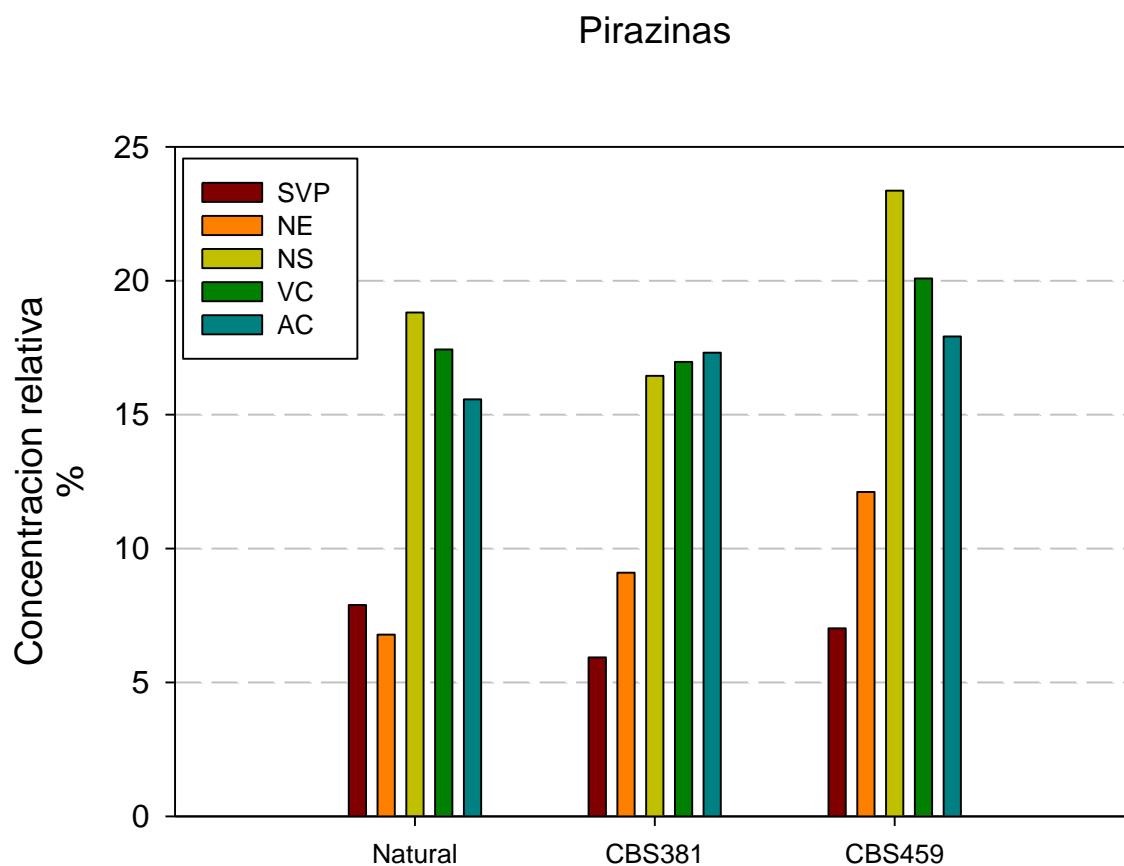
Los datos experimentales mostrados en las Gráficas 36-41 las cuales muestran los compuestos volátiles aromáticos identificados en las cinco muestras de café procesadas y los tres tipos de fermentación llevados a cabo, fueron agrupados de acuerdo a su estructura química así: pirazinas, furanos, pirroles, piridinas, aldehidos y cetonas (incluyendo dos furanonas) y varios. Se sumaron las concentraciones de todos los compuestos en cada grupo para obtener un valor representativo. En las gráficas siguientes se presentan en orden descendente de su concentración relativa los resultados de dicha agrupacion. Así mismo se indica el resultado de un análisis de variancia efectuado para cada grupo de compuestos.

Gráfica 36. Variación del grupo aromático de furanos. La variable muestra fue significativa ($p: 0.0097$). Lo cual significa que la concentración de furanos fue diferente entre las cinco muestras de café procesadas.



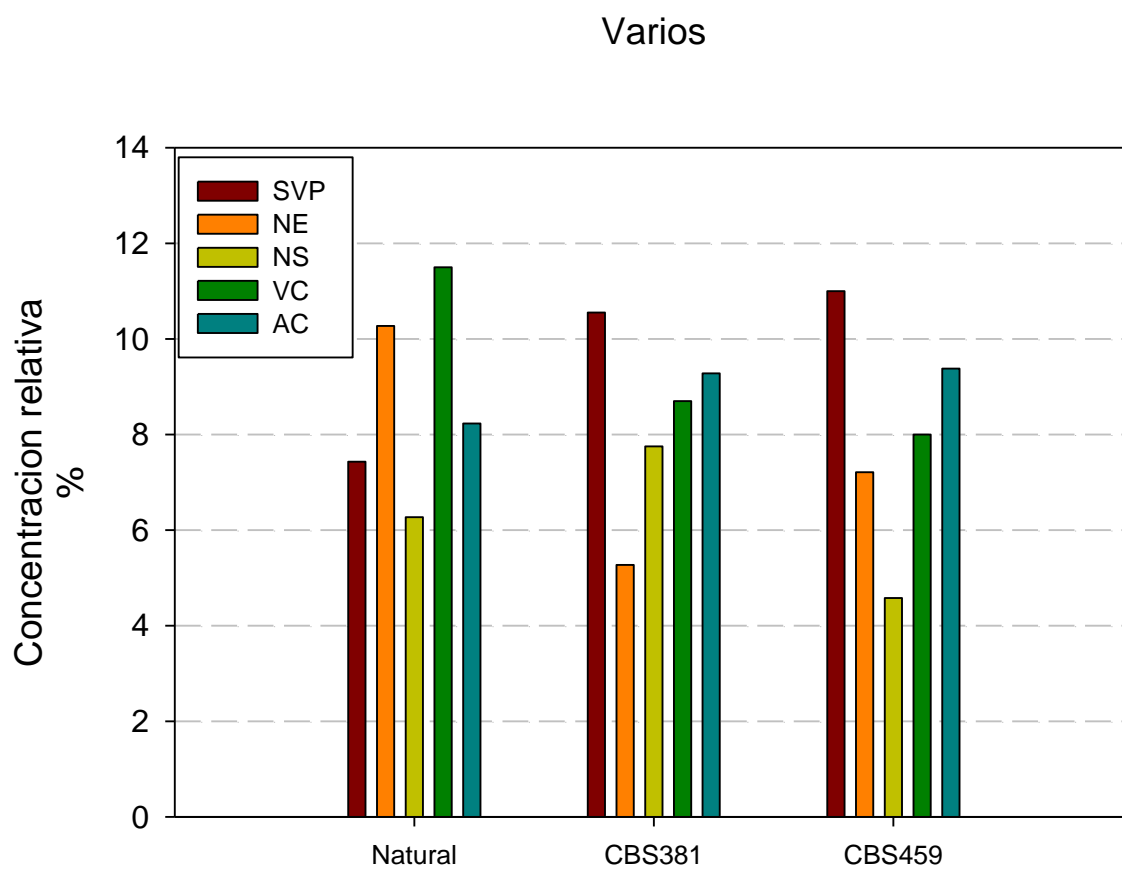
Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 37. Variación del grupo aromático de pirazinas. La variable muestra y el tipo de fermentación fueron significativas ($p: 0.0000$) y ($p: 0.0384$) respectivamente. Lo anterior significa que este grupo de compuesto fue diferente no solo entre las cinco variedades de café procesadas, sino que también de acuerdo al tipo de fermentación llevado a cabo.



Fuente: FODECYT 029-2013

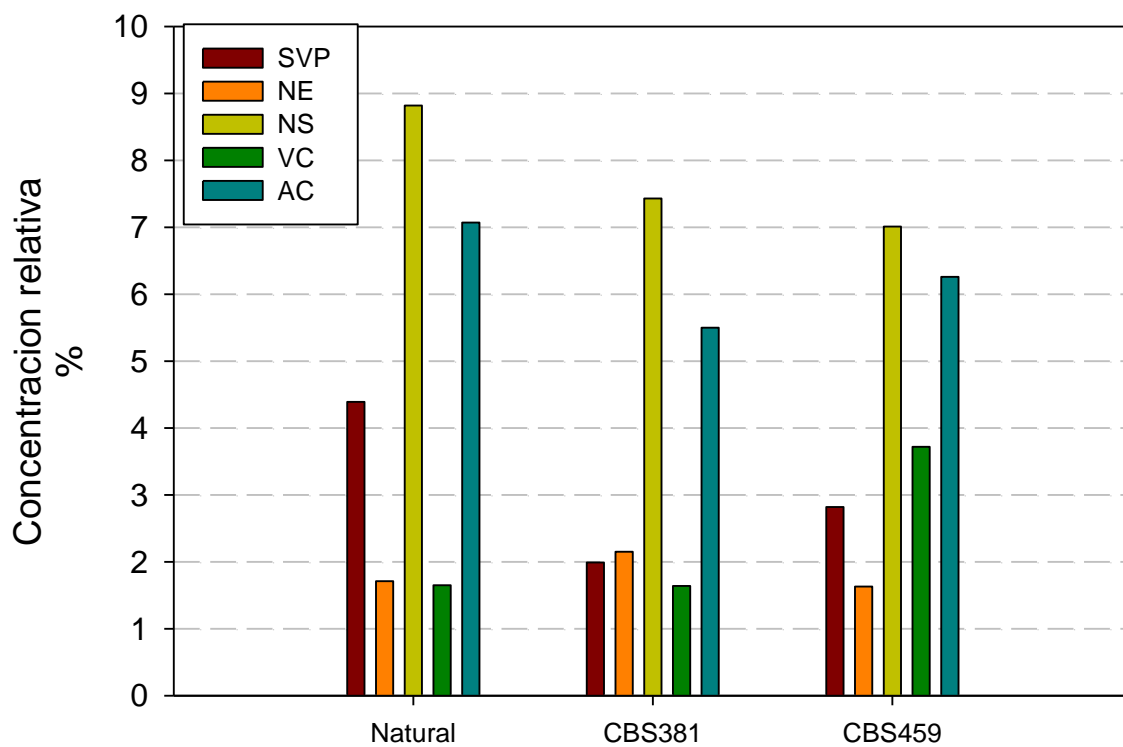
Gráfica 38. Variación del grupo aromático varios. Las variables muestra y tipo de fermentación no fueron significativas.



Fuente: FODECYT 029-2013

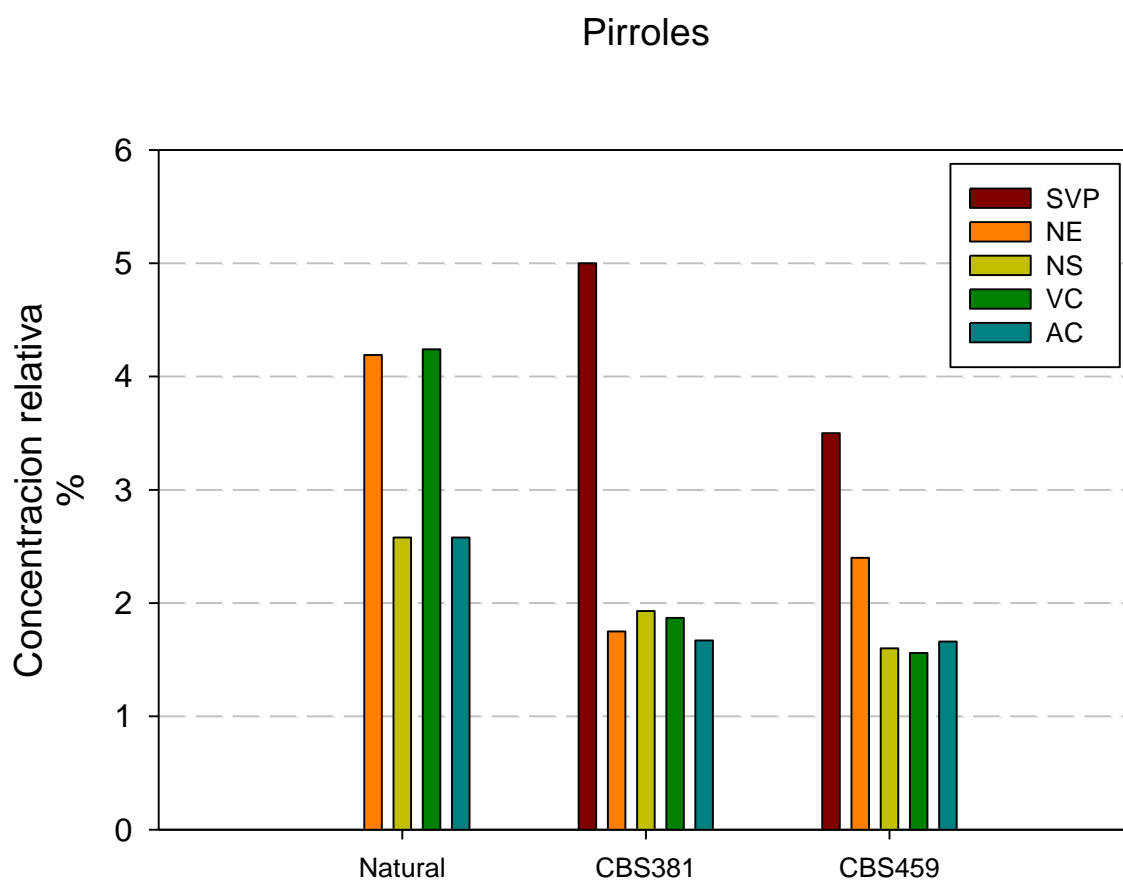
Gráfica 39. Variación del grupo aromático de aldehídos y cetonas. La variable muestra fue significativa (p: 0.0001). Lo cual significa que la concentración de aldehídos y cetonas fue diferente entre las cinco muestras de café procesadas.

Aldehidos y Cetonas



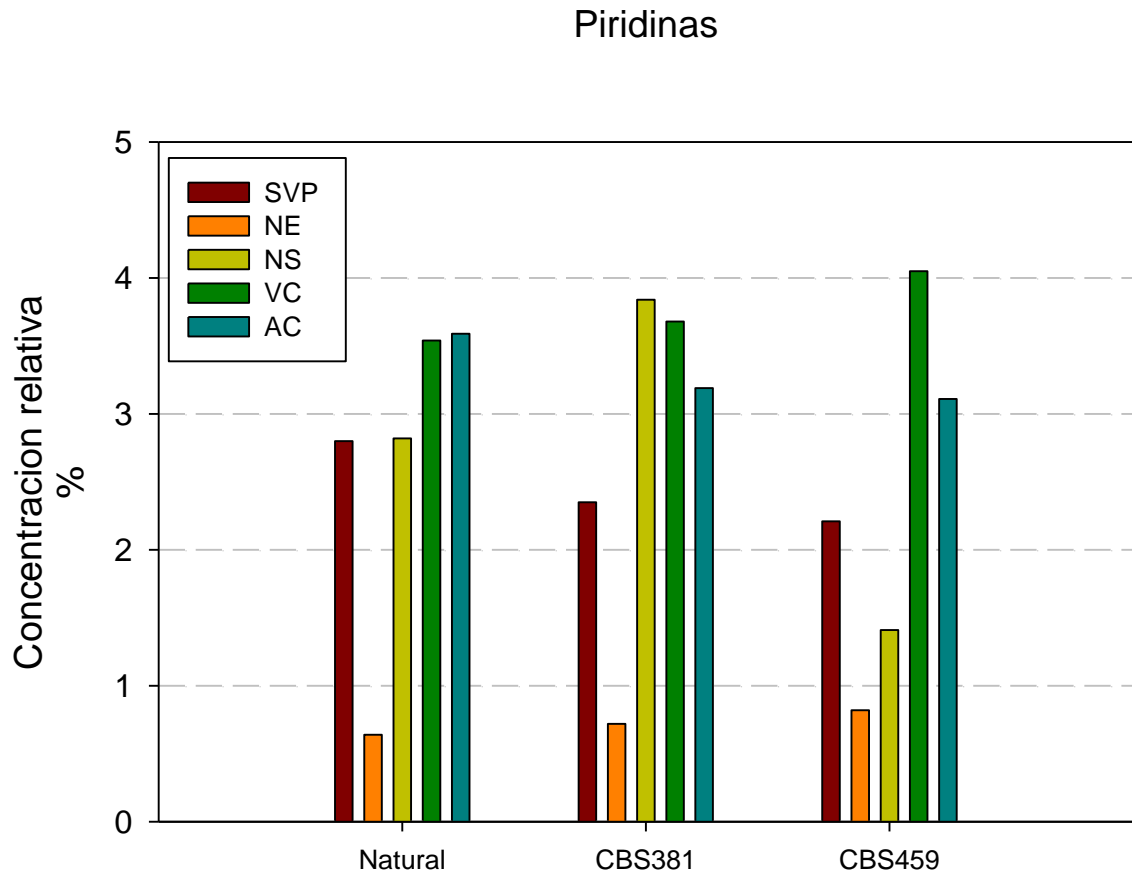
Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 40. Variación del grupo aromático de pirroles. Las variables muestra y tipo de fermentación no fueron significativas.



Fuente: FODECYT 029-2013

Gráfica 41. Variación del grupo aromático de piridinas. La variable muestra fue significativa (p: 0.0240). Lo cual significa que la concentración de piridinas fue diferente entre las cinco muestras de café procesadas.



Fuente: FODECYT 029-2013

En las gráficas se observa lo siguiente: a) predominaron en el aroma los furanos y las pirazinas, b) Los pirroles y los compuestos varios fueron iguales en las cinco muestras de café y en los tres tipos de fermentaciones, c) los furanos, las pirazinas, los aldehídos y las cetonas, y las piridinas fueron diferentes en las cinco muestras de café, y d) las pirazinas fueron diferentes entre los tres tipos de fermentación ensayados.

Como se observa en el Cuadro 35 la muestra de café proveniente de Acatenango contenía en su aroma la mayor cantidad de fragancias clave.

Cuadro 35. Fragancias clave en el aroma de los cafés procesados

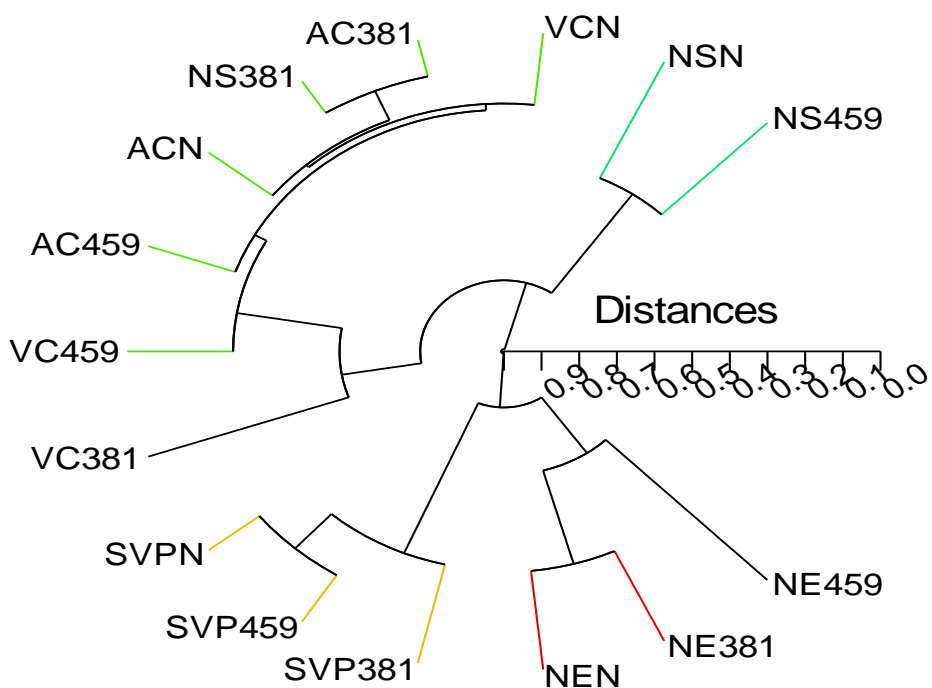
Compuesto	Nueva Era	Nuevo Sendero	Villa Canales	Acatenango
2-Metil propanal				
2-Metil-butanal				
3- Metil-butanal				
2,3 Pentanediona				
3-Etil-2,5-dimetil pirazina				
2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona				

Fuente: FODECYT 029-2013

Empleando el análisis de variables múltiples de agrupamiento (*cluster analysis*) se utilizaron los datos individuales de las pirazinas en el aroma para cada muestra de café procesada con el objetivo de construir un dendrograma. El resultado puede verse en la Gráfica 42.

Gráfica 42. Dendrograma en coordenadas polares empleando la composición relativa de nueve pirazinas en el aroma de café.

Cluster Tree



Fuente: FODECYT 029-2013

Empezando del centro del dendrograma se observa una primera separación de las muestras en dos grupos. El de abajo que contiene las seis muestras de San Vicente Pacaya y de Cooperativa Nueva Era. El brazo superior las restantes. Estos dos grupos son totalmente diferentes en la composición de pirazinas en su aroma.

El grupo inferior se subdivide en dos a su vez, Las muestras de San Vicente Pacaya en un ramal y las muestras de Cooperativa Nueva Era en el otro. Por lo tanto puede decirse que son diferentes pero con un menor grado de certeza. El brazo superior no logra una separación significativa entre lugar de origen de la muestra o el tipo de fermentación empleado.

No fue evidente, entonces, determinar algún efecto sobre la composición del aroma de la bebida atribuible al hecho de haber fermentado con adición de levaduras.

III.2.2.4. Evaluación organoléptica de la bebida

Las muestras procesadas de la Cooperativa Acatenango con adición de levaduras fueron catalogadas como *sanas* en cuanto a la apreciación organoléptica de la *taza*. Igual calificación obtuvo la muestra de Villa Canales con adición de la levadura CBS459 y la muestra de la Cooperativa Nueva Era en fermentación natural.

Las muestras de Acatenango fueron las que tuvieron mayor cantidad de fragancias claves en su aroma por lo que se vislumbra una correlación cualitativa entre la mayor cantidad de fragancias clave y la evaluación organoléptica de una taza sana.

Es pertinente aclarar que las fragancias del café se originan durante el tostado del grano verde y se generan de los macro constituyentes del grano. Entonces al haber diferencias en la composición química del grano verde es de esperar que haya cambios en las fragancias generadas. En el Anexo 1 se ejemplifica en forma simple el origen químico de las pirazinas en el aroma (Yeretian, et al 2002; Ribeiro et al 2009).

Pereira et al (2014) encontraron que al adicionar levaduras aisladas por ellos durante la fermentación del grano podían detectarse en la bebida mayores acentos en ciertas propiedades como por ejemplo un sabor dulce similar a frutas que correspondía a una mayor concentración en el aroma de aldehídos y esterés. Los autores sugerían que de esta manera era posible producir tipos de café a la medida. Por lo tanto es una posibilidad comercialmente atractiva, pero la ciencia y la tecnología detrás de la misma apenas se está iniciando.

III.2.2.5. Caracterización del líquido de lavado del café

En el Cuadro 36 se comparan los resultados del análisis obtenido en este trabajo con algunos datos informados en la literatura. Debe aclararse que la comparación es cualitativa ya que en este trabajo el agua de lavado del café fermentado se obtuvo de una manera totalmente diferente a la empleada en la práctica comercial. En los datos de la literatura se observa claramente una variación grande entre los mismos ya que en la mayoría de trabajos informados se tomaron las muestras directamente de un beneficio comercial en donde la

proporción de café y agua empleada seguramente fueron distintas. En algunas de las referencias no indican claramente si son aguas de lavado solas o aguas de lavado más aguas de despulpado. Aun con esa incertidumbre es pertinente indicar que los valores de DQO y DBO son relativamente altos y por lo tanto la descarga de este efluente a ríos o lagos contribuye a la contaminación del ambiente.

Cuadro 36. Comparación de efluentes del procesamiento de café, mg/L

Componente	Este trabajo	A	B	C	D	E
Demanda química de oxígeno, DQO	16,500-28,500	2,480	3,500		22,000	7,450
Demanda biológica de oxígeno, DBO	19,041-26,757	1,443		20,143	12,000	4,290
DBO/DQO	1.02	0.58			0.54	0.57
Sólidos totales	23,100-32,670				2,050	3,810
Cenizas	3,900-5070					
Sólidos volátiles	18,000-31,770		1,700			
pH	3.95-4.00	5.4			4.5	4.0

Fuente: FODECYT 029-2013

La Anacafé ha publicado algunos datos al respecto de beneficios operando en el país⁴. Los datos se presentan en los Cuadros 37 y 38. Se observan valores relativamente altos del DQO y DBO, principalmente en el agua del despulpado. Sin embargo en esta información faltan datos importantes como la cantidad de sólidos totales y volátiles presentes.

Cuadro 37. Características de los efluentes del beneficio húmedo, DQO en mg/L

	DQO	pH
Despulpe café maduro	52,277	3.7
Primer lavado	26,535	3.8
Segundo lavado	17,080	3.9

Fuente: Anacafé

⁴ Anacafé Tratamiento de aguas residuales del beneficiado húmedo del café https://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Tratamiento_aguas_residuales_Beneficio

Cuadro 38. Características de los efluentes del beneficio húmedo, DQO y DBO en mg/L

	DQO	DBO	DBO/DQO	pH
Agua despulpada	27,600	16,000	0.58	3.8
Primer lavado	10,140	2,000	0.20	4.5
Segundo lavado	426	110	0.26	6.7

Fuente: Anacafé

III.2.2.6. Digestión anaerobia del líquido de lavado del café

El líquido de lavado fue diluido dos veces con agua con el objeto de bajar la carga al digester anaerobio. La composición se muestra en el Cuadro 39.

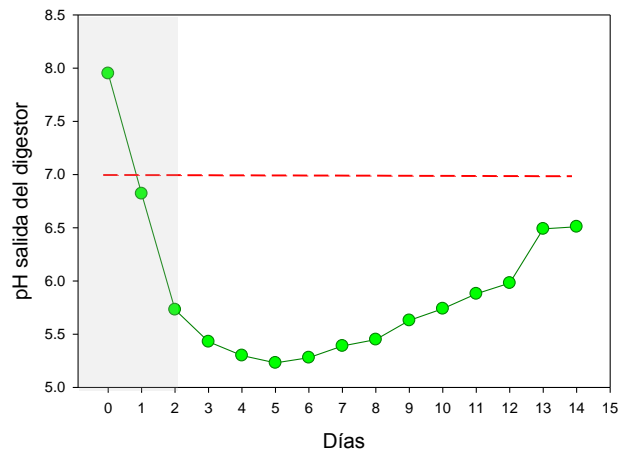
Cuadro 38. Características del líquido de lavado diluido, mg/L

Componente	Este trabajo
Demanda química de oxígeno, DQO	5,500-9,500
Demanda biológica de oxígeno, DBO	6,347-8,919
DBO/DQO	1.02
Sólidos totales	7,700-10,890
Cenizas	1,300-1,690
Sólidos volátiles	6,000-10,590
pH	3.95-4.00

Fuente: FODECYT 029-2013

El pH dentro del digester es un factor clave para la producción de metano. El mismo debe estar cercano a 7.0, o sea neutro. Es el valor apropiado para el metabolismo de las bacterias metanogénicas atrapadas en el soporte interno del reactor. El líquido de aguas de lavado tenía un pH marcadamente ácido, 3.95-4.0: En los primeros días del período de climatización, zona gris en la Gráfica 43, se adicionaron 300 mL diarios del mismo. Esto causó un descenso marcado del pH dentro del digester como se aprecia en la gráfica. Se redujo el volumen adicionado y previamente se neutralizó el líquido de aguas de lavado. Paulatinamente el pH empezó a aumentar y llegar a zonas adecuadas.

Gráfica 43. Cambio de pH en el digestor anaerobio durante el período de climatización



Fuente: FODECYT 029-2013

La operación del digestor fue exitosa comprobando que la materia orgánica en el líquido de lavado café previamente neutralizado servía de sustrato para la transformación bacteriana a metano y dióxido de carbono. La necesidad de neutralizar los líquidos de lavado previa alimentación al digestor también ha sido reportada como necesaria por Bello-Mendoza y Castillo-Rivera (1998) y por Fia et al. (2012).

El pH del efluente fue subiendo paulatinamente con los días de operación, desde 6.70 hasta 7.19. Este rango se considera óptimo para la producción de metano. Fia et al (2012) reportaron valores entre 6.5 y 8.2. Bruno y Oliveira (2008) procesando líquido del desulpado en dos reactores en series reportaron valores de 7.7 y 8.0.

La carga diaria de materia orgánica al digestor es un parámetro importante en la operación del mismo. Los valores empelados en este trabajo estuvieron entre 0.38 y 0.57 gDQO/L.día o gSV/L.día y se comparan con valores empleados por otros investigadores. Bello-Mendoza y Castillo-Rivera (1998) experimentaron con cargas entre 0.21 a 2.59; Houbron et al (2003) usó 1.0; Bruno y Oliveira (2008) entre 0.4 y 0.5 y Fia et al. (2012) entre 0.81 y 4.41. Debe notarse que es posible aumentar la carga orgánica hasta valores entre 3 y 4 gDQO/L.día. Lo anterior se traduce en ventajas, una mayor productividad de gas con un volumen menor de digestor.

La composición del gas producido fue satisfactoria, el contenido de metano de alrededor de 50 % puede considerarse como aceptable. Houbron et al (2003) reportaron una concentración de 80 % de metano en el gas producido y Selvamurugan et al (2010) una concentración de 61 %. Dichos valores es posible lograrlos al operar el digestor por un período más largo de tiempo lo que permitiría encontrar la región óptima de funcionamiento.

La reducción obtenida del 75 % del DQO alimentado al digestor puede considerarse como aceptable. Valores similares fueron reportados por Bello-Mendoza y Castillo-Rivera (1998) de 77 % y por Selvamurugan et al (2010), entre 70 y 71 %. Valores más altos de reducción fueron obtenidos por Fia et al. (2012) 80 %; Houbron et al (2003) 90% y Bruno y Oliveira (2008) entre 93 y 97 %. De nuevo, es pertinente mencionar que es posible lograr una mayor reducción al operar por más tiempo en condiciones óptimas de funcionamiento.

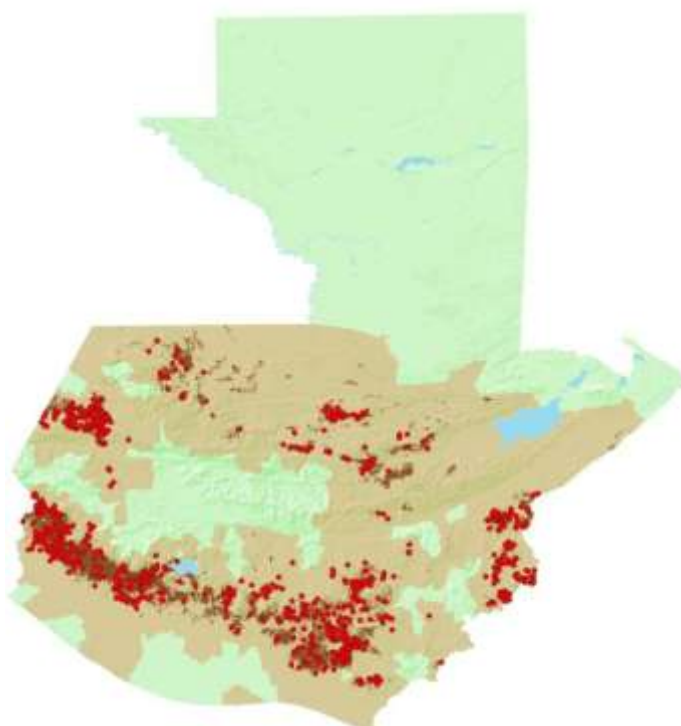
En concreto puede decirse entonces, que la DQO inicial del líquido de lavado café previamente neutralizado puede reducirse en un 75 % en un reactor anaerobio operando con una carga diaria continua y con la producción simultanea de biogás conteniendo aproximadamente 50 % de metano.

¿Cómo puede emplearse el metano en el biogás generado en un beneficio de café? Es necesario hacer dos consideraciones previas antes de buscar respuestas a la pregunta anterior. La primera, se refiere a la capacidad de proceso del beneficio. La segunda, a la necesidad de pretratamiento del biogás de acuerdo al uso final del mismo.

La magnitud de la cosecha de café en Guatemala varía con los años dependiendo de varios factores, entre ellos, el aspecto económico relacionado con el precio internacional del grano, la severidad de infecciones como por ejemplo la roya del café, y los impredecibles efectos ambientales, acentuados por los efectos del cambio climático.

La magnitud de la cosecha promedio está alrededor de 1,312,000,000 kg de café cereza procesada en aproximadamente 3,600 beneficios con una amplia gama de capacidad de proceso, distribuidos en ocho regiones, como se muestra en la Gráfica 44. El beneficio de alta capacidad procesa alrededor de 10,000 sacos de 50 kg de café cereza diarios. Al operar, por ejemplo, 90 días, procesa 45,000,000 de café cereza, o sea 3.4 % de la cosecha total del país. La cifra anterior es equivalente a 27,000,000 de café despulpado de acuerdo con el rendimiento de un 60 %.

Gráfica 44. Regiones productoras de café



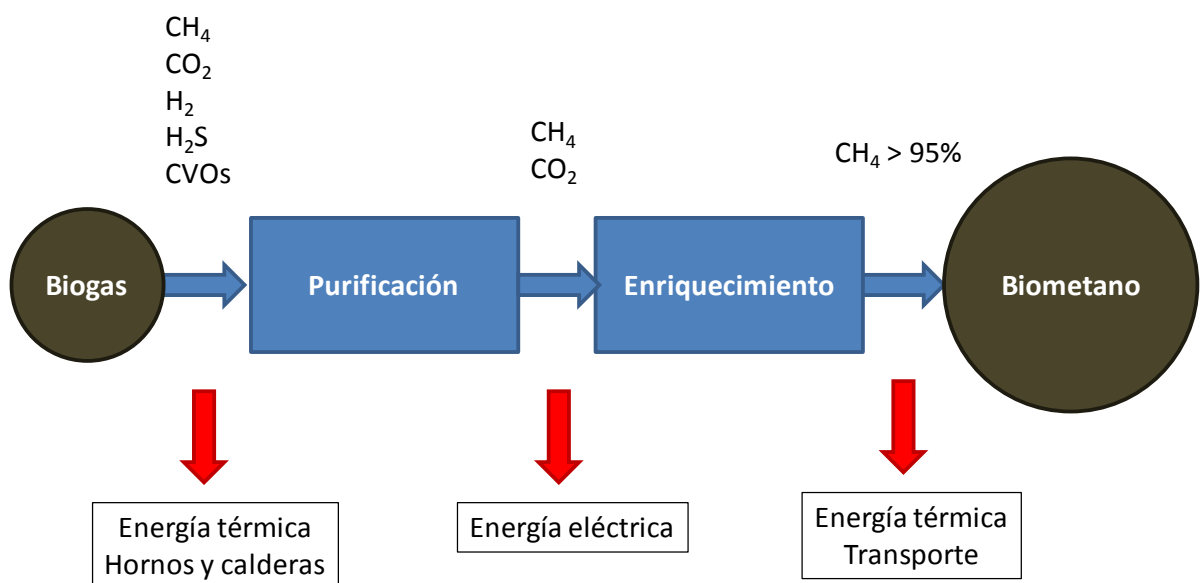
Fuente: Anacafé

Suponiendo que el beneficio despulpa sin agua y realiza la fermentación en seco con o sin la adición de microorganismos, se obtendrían aguas de lavado ácidas, pH 4.0, con una carga orgánica de 303,750 kg, de acuerdo a un rendimiento del 1.125 %, cifra obtenida en este trabajo. Suponiendo de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo que la digestión anaerobia es solamente un 75 % eficiente, se tendrían 227,812 kg convertidos a biogás.

De acuerdo con Houbron et al (2003), Bruno y Oliveira (2008) y Selvamurugan et al (2010) el rendimiento de biogás en litros por kg de DQO removido oscila entre 340 y 700. Tomando un promedio de 520 litros y una concentración de metano de 50 % en el biogás, el beneficio produciría por cosecha 118,462,240 y 59,231,120 litros de biogás o de metano respectivamente. O sean, 118,462.24 m³ de biogás conteniendo 50 % de metano, que equivalen a 59,231.12 m³ de metano puro.

Según el uso que se le de al biogás producido así será el pretratamiento requerido. La Gráfica 45 ilustra las alternativas. El biogás producido además de CH₄ y CO₂ contiene otros componentes gaseosos en menor proporción, los cuales varían de acuerdo con la materia prima utilizada para producir el biogás (Muñoz et al, 2015). Es posible quemar el biogás tal cual en hornos o calderas para generar vapor de agua o calentar aire, sin embargo es pertinente eliminar antes el H₂S debido a su posible oxidación a productos altamente corrosivos. En la generación de energía eléctrica es imperativo purificar el gas reduciendo al mínimo aceptable los componentes que se encuentran en menor proporción. El enriquecimiento final del gas consistiría en la reducción del dióxido de carbono con el objeto de producir biometano que puede emplearse en las diferentes unidades de transporte con motores de combustión de gas. Es pertinente indicar que las operaciones de purificación y enriquecimiento tienen un costo asociado y por lo tanto es necesario llevar a cabo estudios de factibilidad técnico económica en cada caso que se considere (Pellegrini et al, 2015).

Gráfica 45. Esquema de la purificación y enriquecimiento del biogás



Fuente: Czyrnek-Delêtre et al (2016)

Regresando a las estimaciones anteriores del beneficio, se tendrían generados 118,462.24 m³ de biogas conteniendo 50 % de metano, que equivalen a 59,231.12 m³ de metano puro. La densidad del metano a condiciones normales es de 0.656 kg/m³ y el alto poder calorífico es de 55.5 MJ/kg. La combustión del metano generaría 2,156,491 MJ de energía. En la práctica dicha cantidad sería menor por la presencia de un 50 % de CO₂ en el gas. Dicha energía podría emplearse para calentar el aire empleado en las secadoras de café del beneficio.

De acuerdo con las experiencias de Ciotola et al (2011) es posible generar 0.454 Kwh de energía eléctrica de 1 m³ de biogas. Por lo tanto el beneficio podría generar 53,764 Kwh durante la cosecha.

PARTE IV.

IV.1 CONCLUSIONES

IV.1.1 Conclusiones sobre el objetivo específico “a” *diseñar y evaluar por lo menos dos estrategias para fermentar el grano con la producción simultánea de etanol y ensayarlas a escala piloto.*

La primera estrategia fue la fermentación del grano más la pulpa separada en seco, ambos suspendidos en agua y con la adición de levaduras. La fermentación fue normal y la levadura CBS 459 produjo 1.88 g de etanol por 100 mL de medio consumiendo los azúcares y eliminando el mucílago. Sin embargo la evaluación de la bebida resultante detectó sabores extraños.

La segunda estrategia fue la fermentación del grano suspendido en agua con la adición de levaduras, pero sin la pulpa. Se observó una reducción de etanol producido aproximadamente en 10 veces con respecto a las pruebas en donde la pulpa estuvo presente. Lo anterior sugiere que la mayoría del mucílago con los azúcares quedó en la pulpa durante el despulpado en seco. La evaluación de la bebida fue superior a la obtenida en la primera estrategia, sin embargo, todavía se apreciaron algunos sabores extraños.

Se procedió entonces a eliminar el agua pero siempre con la adición de levaduras. Se procesaron cinco muestras de café de diferente origen en planta piloto. La operación del pulpero en seco procedió normalmente obteniendo en promedio un rendimiento de grano despulpado de 59.1 %. Los sólidos solubles y la proporción de fructosa residual en el líquido de lavado del grano fermentado fueron las únicas variables que fueron diferentes en las cinco muestras de café y en el tipo de fermentación empleada. Por el contrario, el pH, los sólidos totales y el etanol producido fueron similares.

El etanol se produjo no solo en las pruebas con adición de levaduras sino que también en la fermentación natural. Esto indica que existen levaduras nativas en las cerezas del café en el país, similar a lo reportado en otras regiones productoras.

No hubo problema alguno en el secado solar del grano fermentado.

IV.1.2 Conclusiones sobre el objetivo específico “b” *diseñar y evaluar estrategias para co-generar electricidad en el beneficio por medio de la producción de metano y cuantificarla experimentalmente.*

El procesamiento anaerobio del líquido ácido del lavado de café, o aguas mieles, fue exitoso y en el mismo se redujo un 75 % de la DQO inicial con la producción simultánea de biogás conteniendo aproximadamente 50 % de metano. Se estimó que un beneficio que procesara alrededor de 10,000 sacos de 50 kg de café cereza diarios podría generar como máximo alrededor de 2,000,000 MJ de energía térmica si quema el biogás, o si se convierte a energía eléctrica aproximadamente 57,000 Kwh.

IV.1.3 Conclusiones sobre el objetivo específico “c” *evaluar la calidad del café tostado por medio del perfil de los compuestos orgánicos volátiles que conforman el aroma y por un análisis sensorial de la bebida, para cada caso desarrollado de procesamiento.*

En el aroma de las muestras: a) predominaron los furanos y las pirazinas, b) los pirroles y los compuestos varios fueron iguales en las cinco muestras de café y en los tres tipos de fermentaciones, c) los furanos, las pirazinas, los aldehídos y las cetonas, y las piridinas fueron diferentes en las cinco muestras de café, y d) las pirazinas fueron diferentes entre los tres tipos de fermentación ensayados. El análisis de variables múltiples de agrupamiento empleando la composición relativa de las pirazinas mostró que las muestras de San Vicente Pacaya y Cooperativa Nueva Era eran, no solo diferentes a las otras tres, sino que también diferentes entre sí. Las muestras procesadas de la Cooperativa Acatenango con adición de levaduras fueron catalogadas como *sanas* en cuanto a la apreciación organoléptica de la *taza*. Igual calificación obtuvo la muestra de Villa Canales con adición de la levadura CBS459 y la muestra de la Cooperativa Nueva Era en fermentación natural. Las muestras de Acatenango fueron las que tuvieron mayor cantidad de fragancias claves en su aroma por lo que se vislumbra una correlación cualitativa entre la mayor cantidad de fragancias clave y la evaluación organoléptica de una *taza sana*.

IV.1.4 Conclusiones sobre el objetivo específico “d” *divulgar a las autoridades, actores sociales e instituciones en el campo de su competencia la información obtenida de la investigación.*

La información generada en este proyecto se ha discutido con personeros de la Fedecocagua y algunos miembros de la actual Junta Directiva de ANACAFÉ en forma no oficial. La información es de interés para la caficultura, especialmente para el desarrollo de tecnologías apropiadas para el tratamiento de los efluentes líquidos. También, a un largo plazo, para corroborar los efectos sobre el aroma de la bebida, es decir su calidad, causada por posibles cambios en la etapa de fermentación del beneficio. Los resultados obtenidos son interesantes y alentadores pero son preliminares. Es decir, ofrecen indicios y una posible ruta a seguir en futuros experimentos. El desarrollo en ese sentido tendría que llevarse a cabo en conjunto con las entidades antes mencionadas.

IV.2 RECOMENDACIONES

No debería descartarse la posibilidad de fermentar el café con la pulpa separada con la adición de levaduras buscando la generación de aromas especiales en la bebida, siguiendo en cierta medida, los resultados experimentales publicados por investigadores del Brazil.

IV.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams M, Ghaly AE *Maximizing sustainability of the Costa Rican coffee industry* J Cleaner Prod 15 (2007) 1716-1729.

Agate AD, Bhat JV *Role of Pectinolytic Yeasts in the Degradation of Mucilage Layer of Coffea robusta Cherries* Appl Microbiol 14 (1966) 256-260.

Akiyama M, Murakami K, Hirano Y, Ikeda M, Iwatsuki K A, Wada K, Tokuno M, Onishi H, Iwabuchi *Characterization of Headspace Aroma Compounds of Freshly Brewed Arabica Coffees and Studies on a Characteristic Aroma Compound of Ethiopian Coffee* J Food Sci 73 (2008) C335-C346.

- Avallone, S., Guiraud JP, Guyot B, Olguin E, Brillouet JM *Polysaccharide constituents of coffee bean mucilage* J Food Sci 65 (2000) 1308-1311.
- Avallone S, Guyot B, Brillouet JM, Olguin E, Guiraud JP *Microbiological and Biochemical Study of Coffee Fermentation* Curr Microbiol 43 (2001a) 252-256.
- Avallone S, Guiraud JP, Guyot B, Olguin E, Brillouet JM *Fate of mucilage cell wall polysaccharides during coffee fermentation* J. Agr. Fod. Chem. 49: (2001b) 5556-5559.
- Avallone S, Brillouet J, Guyot B, Olguin E, Guiraud JP *Involvement of pectolytic microorganisms in coffee fermentation* Internat J Fd Sci Technol 37 (2002) 191-198.
- Bello-Mendoza R, Castillo-Rivera MF *Start-up of an Anaerobic Hybrid (UASB/Filter) Reactor Treating Wastewater from a Coffee Processing Plant* Anaerobe 4 (1998) 219-225.
- Blanco P, Sieiro C, Villa TG *Production of pectic enzymes in yeasts* FEMS Microbiol Lett 175 (1999) 1-9.
- Bruno M, de Oliveira RA *Tratamento anaerobio de aguas residuarias do beneficiamento de cafe por via umida em reatores UASB em dos estagios* Eng Agríc Jaboticabal 28 (2008): 364-377.
- Buffo RA, Cardelli-Freire C *Coffee flavour: an overview* Flavour Fragr J 19 (2004) 99-104.
- Calzada JF, de León OR, de Arriola MC, de Micheo F, Rolz C, de León R, Menchú JF *Biogas from coffee pulp* Biotechnol Lett 3 (1981) 713-716.
- Calzada JF, de Porres E, Yurrita A, de Arriola MC, de Micheo F, Rolz C, Menchú JF *Biogas production from coffee pulp juice: one- and two phase systems* Agr Wastes 9 (1984a) 217-230.
- Calzada JF, de Arriola MC, Castañeda HO, Godoy JE, Rolz C JF *Methane from coffee pulp juice: experiments using polyurethane foam reactors* Biotechnol Lett 6 (1984b) 385-388.
- Ciotola RJ, Lansing S, Martin JF *Emergy analysis of biogas production and electricity generation from small-scale agricultural digesters* Ecol Eng 37 (2011) 1681– 1691.
- Correa, EC, Jiménez-Ariza T, Díaz-Barcos V, Barreiro P, Diezma B, & R. Oteros R, Echeverri C, Arranz FJ, Ruiz-Altisent M *Advanced Characterisation of a Coffee Fermenting Tank by Multi-distributed Wireless Sensors: Spatial Interpolation and Phase Space Graphs* Fd Bioproc Technol 7 (2014) 3176-3174.
- Czyrnek-Delêtre MM, P Ahern EP, Murphy JD *Is small-scale upgrading of landfill gas to biomethane for use as a cellulosic transport biofuel economically viable?* Biofuels Bioprod Bioref 10 (2016) 139–149.
- De Bruyne K, Schillinger U, Caroline L, Boehringer B, Cleenwerck I, Vancanneyt M, De Vuyst L, Franz CMAP, Vandamme P *Leuconostoc holzapfelii sp. nov., isolated from*

Ethiopian coffee fermentation and assessment of sequence analysis of housekeeping genes for delineation of Leuconostoc species Internat J Syst Evolut Microbiol 57 (2007) 2952-2959.

Devi R, Singh V, Kumar A *COD and BOD reduction from coffee processing wastewater using Avocado peel carbon* Bioresour Technol 99 (2008) 1853-1860.

Esquivel P, Jiménez VM *Functional properties of coffee and coffee by-products* F Res Internat 46 (2012) 488-495.

Fia FRL, Matos AT, Borges AC, Fia R, Cecon PR *Treatment of wastewater from coffee bean processing in anaerobic fixed bed reactors with different support materials: performance and kinetic modeling* J Environ Manag 108 (2012) 14-21.

Gonzalez-Rios O, Suarez-Quiroz ML, Boulanger R, Barel M, Guyot B, Guiraud JP, Schorr-Galindo S *Impact of "ecological" post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: II. Roasted coffee* J Food Compos Anal 20 (2007) 297-307.

Gouvea BM, Torres C, Franca AS, Oliveira LS, Oliveira, ES *Feasibility of ethanol production from coffee husks* Biotechnol Lett 31 (2009) 1315-1319.

Houbron E, Larrinaga A, Rustrian E *Liquefaction and methanization of solid and liquid coffee wastes by two phase anaerobic digestion process* Water Sci Technol 48 (2003) 255-262.

Jackels SC, Jackels CF *Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicators: a field study in Nicaragua* J Food Science 70 (2005) C321-C325.

Kumazawa K, Masuda H *Investigation of the Change in the Flavor of a Coffee Drink during Heat Processing* J Agric Food Chem 51 (2003) 2674-2678.

López-Galilea I, Fournier N, Cid C, Guichard E *Changes in Headspace Volatile Concentrations of Coffee Brews Caused by the Roasting Process and the Brewing Procedure* J Agric Food Chem 54 (2006) 8560-8566.

Masoud W, Cesar LB, Jespersen L, Jakobsen M *Yeast involved in fermentation of Coffea arabica in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis* Yeast 21 (2004) 549-556.

Masoud W, Jespersen L *Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of Coffea arabica in East Africa* Int J Fd Microbiol 110 (2006) 291-296.

Massawe GA, Lifa SJ *Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures* Internat J Postharv Technol Innovat 2 (2010): 41-82.

Munóz R, Meier L, Diaz I, Jeison D *A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading* Rev Environ Sci Biotechnol 14 (2015) 727-759.

- Murthy PS, Naidu MM *Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review* Resour Conservat Recycl 66 (2012) 45-58.
- Navia DP, Velasco RJ, Hoyos JL *Production and evaluation of ethanol from coffee processing by-products Vitae*, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica (Universidad de Antioquia, Medellin) 18 (3) (2011) 287-294.
- Pellegrini L., De Guido G., Consonni S., Bortoluzzi G., Gatti M. *From biogas to biomethane: how the biogas source influences the purification costs* Chem Eng Trans 43 (2015) 409-414.
- Pereira GVM, Soccol VT, Pandey A, Medeiros ABP, Lara JMRA, Gollo AL, Soccol CR *Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process* Int J Fd Microbiol 188 (2014) 60-66.
- Ribeiro JS, Teófilo RF, Salva TJG, Augusto F, Ferreira MMC *Exploratory and discriminative studies of commercial processed Brazilian coffees with different degrees of roasting and decaffeinated*. Brazilian J Fd Technol 16 (2013)198-206
- Richard P, Hilditch S *D-Galacturonic acid catabolism in microorganisms and its biotechnological relevance* Appl Microbiol Biotechnol 82 (2009) 597-604.
- Rolz, C., Menchú JF, de Arriola MC, de Micheo F *Pressing of coffee pulp* Agr Wastes 2 (1980) 207-214.
- Rolz, C. Menchú JF, Calzada F, de León R, García R (1982) *Biotechnology in washed coffee processing* Process Biochem 17 (1982) 8-10.
- Sanz C, Czerny M, Cid C, Schieberle P *Comparison of potent odorants in a filtered coffee brew and in an instant coffee beverage by aroma extract dilution analysis (AEDA)* Eur Food Res Technol 214 (2002) 299-302.
- Sakayima CCH, Paula EM, Pereira PC, Borges AC, Silva DG *Characterization of pectin lyase produced by an endophytic strain isolated from coffee cherries* Lett Appl Microbiol 33 (2001) 117-121.
- Schenker S, Heinemann C, Huber M, Pompizzi R, Perren R, Escher R *Impact of Roasting Conditions on the Formation of Aroma Compounds in Coffee Beans* J Food Sci 67 (2002) 60-66.
- Selvamurugan M, Doraisamy P, Maheswari M *An integrated treatment system for coffee processing wastewater using anaerobic and aerobic process* Ecol Eng 36 (2010) 1686-1690.
- Semmelroch P, Laskawy G, Blank I, Groscht W *Determination of Potent Odourants in Roasted Coffee by Stable Isotope Dilution Assays* Flavour Fragr J 10 (1995) 1-7.
- Semmelroch P, Grosch W *Studies on Character Impact Odorants of Coffee Brews* J Agric Food Chem 44 (1996) 537-543-

Serrat M, Bermudez RC, Gonzales-Villa T *Production, Purification, and Characterization of a Polygalacturonase from a New Strain of Kluyveromyces marxianus Isolated from Coffee Wet-Processing Wastewater* Appl Biochem Biotechnol 97 (2002) 193-208.

Shenoy D, Pai A, Vikas RK, Neeraja HS, Deeksha JS, Nayak C, Rao CV *A study on bioethanol production from cashew apple pulp and coffee pulp waste* Biomass Bioenerg 35 (2011) 4107-4111.

Silva, CF, Schwan RF, Diaz ES, Wheals AE *Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of Coffea arabica in Brazil* Internat J Fd Microbiol 60 (2000) 251-260.

Silva CF, Batista LR, Abreu LM, Diaz ES, Schwan RF *Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (Coffea arabica) fermentation* Fd Microbiol 25 (2008) 951-957.

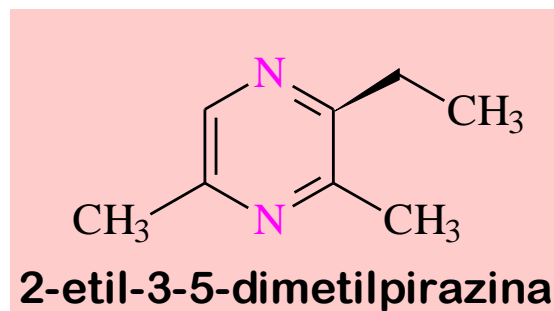
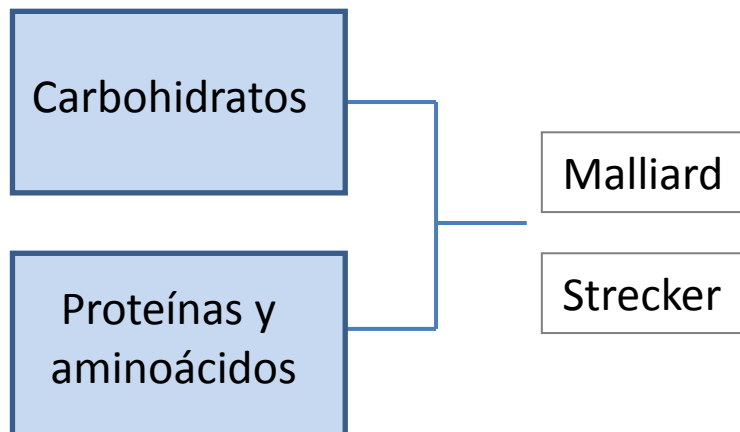
Vilela DM, Pereira GVM, Silva CF, Batista LR, Schwan RF *Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (Coffea arabica L.)* Fd Microbiol 27 (2010) 1128-1135.

Yeretzian C, Jordan A, Badoud R, Lindinger W *From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles* Eur Food Res Technol 214 (2003) 92-104.

IV.4 ANEXOS

ANEXO 1. Generación de las pirazinas.

Debido a la alta temperatura durante la tostación del grano, carbohidratos reaccionan con proteínas y aminoácidos libres a través de un mecanismo de Maillard y Strecker formando estructuras químicas derivadas de la pirazina.



V.1. INFORME FINANCIERO

				AD-R-0013			
		FICHA DE EJECUCION PRESUPUESTARIA					
		LINEA: FODECYT					
		Nombre del Proyecto: "Re-ingeniería del proceso húmedo del café para aumentar su productividad"					
		Numero del Proyecto: 029-2013					
		Investigador Principal y/o ING. CARLOS EDMUNDO ROLZ ASTURIAS					
		Monto Autorizado: Q253,250.00 Orden de Inicio (y/o Fecha primer pago): 01/09/2014					
		Plazo en meses 12 meses					
		Fecha de Inicio y Finaliza 01/09/2014 al 31/08/2015 Ira. Prorroga 01/09/2015-30/11/2015					
Grupo	Renglon	Nombre del Gasto	Asignacion Presupuestaria	TRANSFERENCIA		Ejecutado	Pendiente de Ejecutar
				Menos (-)	Mas (+)		
1		SERVICIOS NO PERSONALES					
	181	Estudios, investi	Q 115,250.00			Q 83,000.00	Q 32,250.00
	181	Estudios, investi	Q 8,000.00				Q 8,000.00
2		MATERIALES Y SUMINISTROS					
	261	Elementos y compuestos químicos	Q 10,000.00		Q 2,300.00	Q 12,269.43	Q 30.57
	295	Útiles menores, médico-quirúrgicos y de laboratorio	Q 10,000.00				Q 10,000.00
	297	Útiles, accesorios y materiales eléctricos	Q 10,000.00	Q 2,300.00			Q 7,700.00
	298	Accesorios y repuestos en general	Q 25,000.00	Q 10,000.00		Q 9,900.00	Q 5,100.00
	299	Otros materiales y suministros	Q 25,000.00	Q 25,000.00			Q -
3		Propiedad, Planta, Equipo e Intangibles					
	321	Maquinaria y equipo de producción	Q 30,000.00				Q 30,000.00
	323	Equipo médico-sanitario y de laboratorio	Q 10,000.00		Q 35,000.00	Q 27,370.50	Q 17,629.50
	329	Otras maquinarias y equipos	Q 10,000.00			Q 5,670.00	Q 4,330.00
		GASTOS DE ADMON. (10%)					
			Q 253,250.00	Q 37,300.00	Q 37,300.00	Q 138,209.93	Q 115,040.07
		MONTO AUTO <u>Q 253,250.00</u>		<u>Disponibilidad</u> Q 115,040.07			
		(-) EJECUTADO <u>Q 138,209.93</u>					
		SUBTOTAL <u>Q 115,040.07</u>					
		(-) ANTICIPO PAR <u>Q -</u>					
		TOTAL POR EJECUTAR <u>Q 115,040.07</u>					