

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE PULPA
Y MUCILAGO DE CAFÉ (*Coffea arabica*) MEDIANTE LA ELABORACIÓN DE
UNA BEBIDA FERMENTADA**

FABIAN ANDRES GUERRERO REALPE

JOSE FELIX MORENO CHAVEZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUTRIAL

PROGRAMA DE INGENIERA AGROINDUSTRIAL

SAN JUAN DE PASTO

2010

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE PULPA
Y MUCILAGO DE CAFÉ (*Coffea arabica*) MEDIANTE LA ELABORACIÓN DE
UNA BEBIDA FERMENTADA**

FABIAN ANDRES GUERRERO REALPE

JOSE FELIX MORENO CHAVEZ

**TRABAJO DE GRADO EN LA MODALIDAD DE
TRABAJO DE INVESTIGACION**

DIRECTORA

DOLLY REVELO MSc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUTRIAL

PROGRAMA DE INGENIERA AGROINDUSTRIAL

SAN JUAN DE PASTO

2010

“las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1º de acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño

NOTA DE ACEPTACION

Ingeniero Mauricio Bucheli

Doctor Oswaldo Osorio

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
1. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	19
2. JUSTIFICACION	20
3. OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GENERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. MARCO TEÓRICO	23
4.1 ESTADO DEL ARTE	23
4.1.1 Procesos agroindustriales	25
4.1.2 Café	25
4.1.3 Mucilago	26
4.1.4 Pulpa	27
4.2 APROVECHAMIENTO DE LA PULPA Y MUCÍLAGO EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA	29
4.3 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	29

4.3.1 Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica	31
5. DISEÑO METODOLÓGICO	33
5.1 DISEÑO DEL BIORREACTOR	33
5.1.1 Diseño experimental de la fermentación	34
5.1.2 Análisis del diseño del análisis	35
5.2 RECOLECCIÓN DE MATERIA PRIMA	31
5.3 ENSAYOS DE LABORATORIO	36
5.3.1 Obtención de la pulpa y el mucilago	36
5.3.2 Preparación del inóculo	37
5.3.3 Pesaje de las materias primas	37
5.3.4 Puesta en marcha de los biorreactores	37
5.3.5 Toma de muestras de CO ₂	38
5.3.6 Toma de muestras de grados Brix	39
5.3.7 Trasiego de los Biorreactores	39
5.3.8 Filtraciones	40

5.3.9 Medición del porcentaje de alcohol	40
5.3.10 Embotellado de las muestras	40
5.3.11 Almacenamiento de muestras para análisis de laboratorio	41
5.3.12 Análisis cromatográfico de las muestras	41
5.3.13 Características organolépticas	42
5.3.14 Comparación de las muestras con el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas (CEE) n°2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990	42
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
6.1 Diseño experimental de la fermentación	43
6.1.1 Análisis para las variables de respuesta	44
6.1.2 Análisis cromatográficos	63
6.1.3 Características organolépticas	67
6.1.4 Comparación de las muestras con el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas (CEE) n°2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990	88
7. CONCLUSIONES	91

8. RECOMENDACIONES	92
BIBLIOGRAFÍA	93
ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Contenido de Macro y Micronutrientes presentes en 1000 Kg de café	23
Tabla 2: Composición de la pulpa del café	28
Tabla 3. Descripción del diseño experimental	35
Tabla 4. Encuesta de calificación de la bebida fermentada a base de pulpa y mucilago de de café.	42
Tabla 5: Diseño experimental de la investigación	43
Tabla 6. Análisis de varianza para porcentaje de alcohol	44
Tabla 7. Respuesta óptima para porcentaje de alcohol producido	49
Tabla 8. Análisis de varianza para Brix finales	50
Tabla 9. Respuesta Óptima para grados Brix Finales	55
Tabla 10. Análisis de varianza para CO ₂ producido	56
Tabla 11. Respuesta Óptima para CO ₂ producido	61
Tabla 12. Valores óptimos para la producción de la bebida fermentada	62
Tabla 13: Composición relativa de la bebida fermentada para alcoholes	62
Tabla 14. Descripción aromática del vino	66
Tabla 15: Análisis de varianza para aroma	67
Tabla 16. Prueba de múltiples rangos para aroma	68
Tabla 17. Prueba de Kruskal-Wallis para aroma	70
Tabla 18. Muestras con el puntaje más alto para aroma	71

Tabla 19. Análisis de varianza para color	72
Tabla 20. Pruebas de múltiple rango para color	72
Tabla 21. Prueba de Kruskal-Wallis para color	74
Tabla 22. Muestras con el puntaje más alto para color	76
Tabla 23. Análisis de varianza para brillo	76
Tabla 24. Pruebas de múltiples rango para brillo	77
Tabla 25. Prueba de Kruskal-Wallis	78
Tabla 26. Muestra con el puntaje más alto para brillo	80
Tabla 27. Análisis de varianza para sabor	80
Tabla 28. Prueba de múltiples rangos sabor	80
Tabla 29. Prueba de Kruskal-Wallis para sabor	81
Tabla 30. Muestras con el puntaje más alto para sabor	82
Tabla 31. Análisis de varianza para palatabilidad	84
Tabla 32. Prueba de múltiples rangos para palatabilidad	84
Tabla 33. Prueba de Kruskal-Wallis para palatabilidad	84
Tabla 34. Muestras con el puntaje más alto para palatabilidad	87
Tabla 35. Muestras escogidas para los análisis complementarios	88
Tabla 36. Resultados de los análisis complementarios	89
Tabla 37. Valores habituales de vino en la comunidad europea	89

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Biorreactores contruidos	33
Figura 2: Granos de café	36
Figura 3: Inoculo preparado	37
Figura 4: Biorreactores en funcionamiento	38
Figura 5: Sistema listo para la medición del CO ₂	39
Figura 6: Mediciones de °Brix	39
Figura 7: Equipo de filtración	40
Figura 8: Filtrado y embotellado de las muestras	41
Figura 9. Diagrama de Pareto para el estudio de los factores de porcentaje de alcohol obtenido en las muestras	46
Figura 10. Diagrama de efectos principales para el pocentaje de alcohol producido	47
Figura 11. Superficie de respuesta para el porcentaje de alcohol obtenido	48
Figura12. Contorno de la superficie de respuesta estimada sobre el porcentaje de alcohol producido	48
Figura 13. Diagrama de Pareto para el estudio de los Brix finales obtenidos	52
Figura 14. Diagrama de efectos principales para °Brix finales	53
Figura 15. Superficie de respuesta para °Brix final es	54
Figura 16. Contorno de la superficie de respuesta estimada sobre °Brix finales	54

Figura 17. Diagrama de Pareto para el estudio de los factores de porcentaje de alcohol obtenido en las muestras	58
Figura 18. Diagrama de efectos principales para CO ₂ producido	59
Figura 19. Superficie de respuesta para CO ₂ producido	50
Figura 20. Contorno de la superficie de respuesta estimada sobre el volumen de CO ₂ producido	50
Figura 21. Valor del promedio de las muestras para aroma	58
Figura 22. Diagrama de cajas y bigotes para aroma	71
Figura 23. . Valor del promedio de las muestras para color	74
Figura 24. Diagrama de cajas y bigotes para color	75
Figura 25. Valor del promedio de las muestras para sabor	78
Figura 26. Diagrama de cajas y bigotes para sabor	79
Figura 27. Valor del promedio de las muestras para palatabilidad	82
Figura 28. Diagrama de cajas y bigotes para palatabilidad	83
Figura 29. Valor del promedio de las muestras para brillo	85
Figura 30. Diagrama de cajas y bigotes para brillo	86

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Determinación de la densidad de las muestras	101
ANEXO B. Medición de pH de las muestras	102
ANEXO C. Medición del grado de alcohol de las muestras	103
ANEXO D. Determinación de cenizas	104
ANEXO E. Informe de los análisis realizados a las diferentes muestras	105
ANEXO F. Cromatogramas para alcoholes	107
ANEXO G. Cromatogramas para volátiles	112
ANEXO H. Cromatogramas para parafinas	122

GLOSARIO

CEPA: Población de microorganismos que desciende de un único microorganismo o de cultivo puro.

CROMATOGRAFÍA: método de separación para la caracterización de mezclas complejas. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

DISEÑO EXPERIMENTAL: metodología que utiliza principios estadísticos para diseñar pruebas o ensayos que generen la mayor cantidad de información sobre el sistema bajo estudio con la mayor confiabilidad en el menor tiempo posible y al menor costo.

ESTERIL: ausencia de todos los microorganismos vivos y los virus.

FACTORES: variables que influyen y se controlan sobre una cantidad experimental. Son las variables experimentales que inciden sobre la respuesta.

FERMENTACION: catabolismo anaeróbico en el que un compuesto orgánico sirve al mismo tiempo como donador y aceptor de electrones.

GRADOS BRIX: (°Bx) grados que miden el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido.

MATERIA SECA: fracción orgánica e inorgánica de un alimento.

TRATAMIENTO: es un experimento factorial es una combinación los niveles de los factores.

VARIABLE EXPERIMENTAL: en un diseño experimental es una variable que el experimentador manipula.

VARIABLE DE RESPUESTA: es una variable que el experimentador mide después de llevar a cabo los tratamientos, para ver cómo es afectada por la variable experimental

RESUMEN

Para el departamento de Nariño, el cultivo de café se constituye en uno de los principales renglones económicos, reconociéndose al cultivo como la industria de mayor importancia del departamento [Monografías de Antioquia, 2006].

La cantidad de materia prima disponible para esta investigación es alta, pues el departamento de Nariño produce aproximadamente 21'993.113,75 Kg de café pergamino seco por año [Informe pronósticos de cosecha por municipios, 2005], si tenemos en cuenta que la pulpa y mucilago producidos representan aproximadamente un 43% y 11% respectivamente del grano cosechado [Restrepo, 2000].

Las variaciones continuas y marcadas de los precios del café en los últimos años en Colombia han afectado a las familias caficultoras que se benefician de manera directa e indirecta, al no tener otros ingresos por parte del cultivo, más que la cosecha y venta del grano de café [Federación Nacional de Cafeteros, 2005]. Por otro lado los productores de café hasta el momento no han encontrado alternativas eficientes de manejo y aprovechamiento de la pulpa y el mucilago, dos de los residuos de mayor impacto negativo sobre el ambiente; actualmente estos residuos se desechan directamente sobre las vertientes de agua, o sobre los cultivos de café cercanos a la zona de despulpado, esto supera a capacidad de carga orgánica, originando además problemas de moscas y malos olores [Blandón, 1999].

En este sentido se pensó en elaborar un producto novedoso, pues no existe en el mercado, una bebida fermentada elaborada con el fruto de café [Presente estudio, 2008]. Para su producción se utilizó: pulpa y mucilago de café, azúcar como fuente de carbono y levaduras *S. cerevisiae*. Las variables de respuesta analizadas fueron: Porcentaje de alcohol obtenido, CO₂ producido, grados °Brix Finales.

Los valores óptimos para la producción de la bebida fermentada se alcanzaron empleando: pulpa y mucilago de café en una cantidad de 200g/L, azúcar en una cantidad de 350g/L y levadura en una cantidad de 0,3g/L.

Mediante pruebas de cromatografía se demostró que la bebida fermentada es apta para el consumo humano y adicionalmente, las pruebas sensoriales indicaron que el producto obtenido tiene gran aceptación

ABSTRACT

For the department of Nariño, coffee cultivation constitutes one of the leading economic sectors, recognizing the growing industry as major department [Monographers of Antioquia, 2006].

The amount of raw material available for this research is high, as the department of Nariño produces about 21'993 113.75 kg dry parchment coffee per year [Report crop forecasts by municipality, 2005], if we consider that the pulp and mucilage produced represent approximately 43% and 11% respectively of the grain harvested [Restrepo, 2000]

The continuous and marked variations in coffee prices in recent years in Colombia have affected families benefiting growers directly and indirectly, having no other income in the growth, but the harvest and sale of grain coffee [National Federation of Coffee Growers, 2005]. On the other hand coffee producers so far have found no alternative efficient management and utilization of pulp and mucilage, two of the biggest negative impact of waste on the environment and now this waste is disposed directly on the slopes of water, or cultivation of coffee near the pulping area, this exceeds organic loading capacity, resulting in problems of flies and bad smells [Blandón, 1999].

In this sense we thought of making a new product because the market there, a fermented drink made from the fruit of coffee [Present study, 2008]. Its production was performed using coffee pulp and mucilage, sugar as a carbon source and yeast *S. cerevisiae*. Response variables analyzed were percentage of alcohol obtained, CO₂, °Brix degrees Finals.

The optimal values for the production of fermented were achieved due employee: coffee pulp and mucilage in an amount of 200g/L, sugar in an amount of 350g/L and yeast in an amount of 0,3g/L.

By chromatography tests showed that fermented due is fit for human consumption and additionally, the sensory tests indicated that the product obtained is widely accepted

INTRODUCCION

Colombia es uno de los mayores productores de café del mundo aportando un 12% de la producción mundial, solamente Brasil excede la producción colombiana, la variedad que se cultiva se conoce como *Arábica*, que se considera el grano de más alta calidad. Cada año, Colombia produce aproximadamente 12 mil millones de sacos de café y dentro de la exportación total, el café es uno de los productos más representativos, sumado a lo anterior la agricultura colombiana es dominada por el cultivo de café, que representa un 8% del sector agrícola [RICE University, 2006]. Para el departamento de Nariño se constituye en uno de los principales renglones económicos, reconociéndose al cultivo como la industria de mayor importancia del departamento [Monografías de Antioquia., 2006]. Beneficia en buena medida tanto a los productores como a los comercializadores de café en grano, es decir café pergamino, aportando de esta manera directa y significativa en la economía de estos sectores.

El café cultivado en el departamento de Nariño y en Colombia, tiene como ventaja frente a otras regiones del mundo, la imagen que se ha ido construyendo a su alrededor, imagen que se fue formando cerca de los años ochenta cuando en Colombia se empieza a hablar de su calidad superior, adjudicadas sus ventajas por los diferentes catadores como uno de los mejores del país; mereciendo reconocimiento en mercados internacionales principalmente por sus características físicas y sensoriales, las cuales pueden ser heredadas por un producto derivado de este café [Federación Nacional de Cafeteros de Colombia., 2002].

La cantidad de materia prima disponible para esta investigación es alta, en el departamento de Nariño se producen aproximadamente 21'993.113,75 Kg de café pergamino seco por año [Informe pronósticos de cosecha por municipios., 2005], si tenemos en cuenta que la pulpa y mucílago producidos representan aproximadamente un 43% y 11% respectivamente del grano cosechado [Jairo Restrepo R., 2000], se demuestra de manera real la cantidad de materia prima disponible para el desarrollo de alternativas que generen más ingresos para las familias productoras de café.

La mayoría de los productores de café no le dan un manejo adecuado a las mieles y a la pulpa producidas en el despulpado y lavado con agua, arrojándolas sobre los efluentes, provocando así un desbalance ecológico por su contenido de azúcares y nutrientes que generan un medio propicio para el desarrollo de microorganismos foráneos al ecosistema [Gladis Blandón, 1999]. Por estas razones en esta investigación se utilizaron estos subproductos (pulpa y mucílago) para la elaboración de una bebida fermentada a base de pulpa y mucílago de café. De esta manera se está aprovechando en buena medida los residuos de la

producción de café, fomentando la agroindustria como un mecanismo para la maximización de los recursos que se tienen a la mano y no se les ha dado un buen uso aún.

A través del tiempo se han propuesto realizar una gran variedad de procesos para utilizar la pulpa y el mucilago de café, los cuales se consideran potencialmente buenos para ser usados como materia prima en la producción de combustible, azúcar, alimento para animales, biomasa microbiana, etc. [Álvarez M, 1998], aun así no se ha llegado realmente a darle un buen uso, que además beneficie económicamente a los productores.

En Nariño aun no se distingue de manera clara la labor y la capacidad agroindustrial; así como tampoco se observa un desarrollo promisorio de empresas agroindustriales que generen un movimiento económico ascendente, es así como esta investigación, contempló el primer paso para generar ese empuje en el desarrollo de una nueva empresa.

1 IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

Las familias caficultoras del país, se han visto afectadas por una crisis, el precio del café ha bajado considerablemente durante los últimos años y tras una breve recuperación el panorama no es alentador. Esto se debe en gran parte a que en el año 1989 se rompió el pacto de cuotas donde se acordaba por parte de los productores y consumidores las cantidades a comercializar, y la respectiva cuota que debía aportar cada país, además del mínimo y el máximo de los precios internacionales. El rompimiento de este acuerdo trajo como consecuencia la caída del precio internacional del grano [Federación nacional de cafeteros., 2005].

Del proceso de despulpado del café se desprende una gran cantidad de subproductos que bien pueden obtenerse subproductos que beneficien tanto a la economía del productor, así como también minimicen el impacto ambiental negativo que se genera tras un mal uso que se le ha dado a través del tiempo.

La sociedad actual ha identificado que una de las necesidades urgentes es el cuidado del medio ambiente, por tal razón, la cadena del café debe ir enfocada a contribuir en buena medida realizando sus labores sin causar daño a la naturaleza; hasta ahora los productores de café no han encontrado alternativas eficientes de manejo y aprovechamiento de la pulpa y el mucilago, dos de los residuos de mayor impacto negativo sobre el ambiente; actualmente estos residuos se desechan directamente sobre las vertientes de agua, o sobre los cultivos de café cercanos a la zona de despulpado, se supera la capacidad de carga orgánica y se originan problemas de moscas, malos olores y daño a los arboles de café puestos en contacto con este, entre otros [Blandón, 1999].

De lo anterior se concluye que es necesario proporcionarle valor agregado al subproducto que ha sido tomado como desecho, razón suficiente para que el agricultor establezca un patrón que le brinde mayor calidad de vida y enfoque sus esfuerzos en conservarla y mejorarla.

2 JUSTIFICACIÓN

Las condiciones climáticas en el departamento de Nariño son especialmente beneficiosas para el cultivo de café, las cuales hacen que se genere un producto especial. Empresas líderes en el mercado mundial como: Starbucks Co, en compañía de Empresas de Nariño, han brindado apoyo económico [OIM., 2006], para promover el trabajo de los caficultores del departamento de Nariño y no desistan del cultivo a pesar de la problemática económica por la que han atravesado.

Los productores de café en el país atraviesan por un momento donde los precios del café no son muy favorables para su economía y muchos de ellos se quejan de no recibir los beneficios económicos requeridos o deseados y en algunos casos se ven avocados a renunciar a su trabajo ancestral como cultivadores de café cambiándolo por otros cultivos [OFIAGRO., 2005].

El fruto de café posee ciertas características, las cuales se enmarcan dentro de las condiciones adecuadas para el cultivo de microorganismos tales como, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada para la elaboración de vino [Jairo Restrepo R., 2000]. El café tiene todos los elementos necesarios para que estos microorganismos puedan cumplir con sus funciones y generar un resultado adecuado, en cuanto al producto de la fermentación consumible y de buenas características se refiere [Blandón., 1999].

En este sentido se ha pensado en elaborar un producto novedoso que no existe en el mercado, una bebida fermentada elaborada con el fruto de café [fuente presente estudio., 2008]; para la producción se utilizó el mucílago y la pulpa del café, materia prima considerada como desecho por los productores de café, contribuyendo con la solución a un problema en primer lugar económico, pues se busca generar un excedente a la producción de café, y además minimizar en cierta medida el problema ecológico mediante la utilización de estos dos subproductos.

La pulpa y el mucílago constituyen los subproductos más abundantes del proceso de beneficio húmedo del café y representa alrededor del 60% del peso del fruto fresco [Jairo Restrepo R., 2000]. Cuando estos no son utilizados adecuadamente generan la mayor fuente de contaminación ambiental en la zona cafetera. Se ha calculado que para la obtención de una arroba de café pergamino seco, la pulpa y el mucílago generan una contaminación equivalente a la generada por los excrementos y orina de 100 personas en un día [Blandón., 1999].

La presente investigación, se perfila para promover la agroindustria en el departamento; pretende que la comunidad reconozca la labor del ingeniero

agroindustrial como promotor de desarrollo en el campo agrícola y pecuario. Además se promoverá el desarrollo agroindustrial como una fuente de ingresos masivos debido a la generación de empleos y al aprovechamiento de subproductos que genera el sector agropecuario, los cuales bien aprovechados en cualquier proceso generan bienestar al agricultor.

De esta manera esta investigación es el paso inicial para generar una oportunidad para que los pequeños y medianos productores de café se fortalezcan social y económicamente.

3 OBJETIVOS

3.1.OBJETIVO GENERAL

Determinar la viabilidad técnica para la elaboración de una bebida fermentada a partir de pulpa y mucílago de café.

3.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Establecer las condiciones de fermentación más adecuadas, mediante la optimización del proceso a escala de laboratorio, para la elaboración de una bebida fermentada a partir de pulpa y mucilago de café.
- ✓ Proponer un método para la utilización de los subproductos del beneficio de café mediante la elaboración una bebida fermentada a partir de pulpa y mucilago de café.

4. MARCO TEORICO

4.1 ESTADO DEL ARTE

Con el proyecto planteado se busca brindar una alternativa de uso para el subproducto del beneficio del café, queriendo de esta manera mejorar los ingresos de los caficultores de la región puesto que solo encuentran valor agregado en el grano de café seco, dejando a un lado los subproductos que bien aprovechados podrían representar un incremento en la ganancia total producida por cultivar el café.

Se ha mostrado que es posible dar valor agregado a la pulpa y mucílago de café, porque poseen componentes que pueden ser empleados para la generación de productos novedosos. Se ha analizado la composición elemental de las diferentes partes constitutivas de los frutos de café de la variedad Colombia, para determinar la extracción de los nutrientes por la cosecha en la zona cafetera colombiana. Se han evaluado 424 muestras de café almendra provenientes de 14 departamentos, 62 muestras de pergamino, 5 de pulpa y 23 de mucílago. Adicionalmente, se cuantificó el contenido de los elementos nutritivos en muestras de café cereza, de dos localidades. La composición de los nutrientes mostró variaciones de acuerdo a la parte del fruto. La extracción total de elementos estimada para una cosecha equivalente a 1.000 kg de café almendra, con 11 % de humedad, fue de 78 kg, distribuidos así: almendra 35 kg, pulpa 37 kg, pergamino 2 kg y mucílago 4 kg. La cantidad de macronutrientes (kg) y micronutrientes (g) contenidos en los 1.000 kg de café almendra fueron:

Tabla 1. Contenido de Macro y Micronutrientes presentes en 1000 Kg de café

Macronutrientes en Kg	
Nitrógeno	30,9
Fosforo	2,3
Potasio	36,9
Calcio	4,3
Magnesio	2,3
Azúfre	1,2
Micronutrientes en g	
Hierro	107
Manganeso	61
Boro	50
*Cobre	33
Zinc	18

*Fuente: Sadeghian et al., 2006

Al emplear el fruto entero para determinar la extracción se registraron algunas diferencias frente a la valoración por partes del fruto, que se atribuyeron a las condiciones predominantes de los dos sitios de muestreo. La composición elemental en la almendra exhibió algunas variaciones entre las diferentes regiones del país [Sadeghian et al., 2006].

En Nicaragua se evaluó la posibilidad de realizar una fermentación en estado sólido (SSF) empleando tres cepas de *Streptomyces* analizando las condiciones de residuos de café (pulpa y mucilago) a través de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, los cambios evidenciados en la pulpa de café tratada por *Streptomyces* mediante la aplicación de pirolisis analítica revela el interés biotecnológico de estas bacterias para emplear estos residuos con fines de alimentación [Orozco et al., 2008].

Se ha demostrado que es posible la fermentación del café. Se ha investigado la posibilidad de utilizar las diferentes contribuciones de los componentes de cafés disponibles comercialmente conocidos como arábica y robusta para la elaboración de cerveza. Las muestras para las bebidas se han elaborado con los dos tipos de café y los métodos se han preparado siguiendo los procedimientos estándar, generando el resultado requerido y demostrando la factibilidad de la elaboración de cerveza a partir de café [Ferrari et al., 2006].

Otro compuesto obtenido a partir de la fermentación del mucilago es el biodiesel. Una evaluación preliminar de la viabilidad de producir biodiesel utilizando mucilago extraído de los granos de café, se llevó a cabo como un medio alternativo de la utilización de este subproducto. El mucilago de café demostró ser una potencial materia prima para la producción del biodiesel, tanto de los granos sanos y defectuosos, ya que los aceites correspondientes fueron convertidos con éxito a ácidos grasos y ésteres de etilo [Oliveira et al., 2007].

Además se ha logrado producir biogás, la pulpa de café representa el 50% del peso total de la baya. Al emplear este subproducto para una mayor utilización de azúcar se obtiene un rico jugo de efluentes que se ha considerado como materia prima para la producción de biogás. Se llegó a la conclusión, a partir de los resultados de los experimentos, que una estrategia de sistema en dos fases de digestión anaerobia es mejor para el tratamiento de jugo de pulpa de café [Calzada et al., 2003].

Desde la antigüedad se ha elaborado vino principalmente de uvas, así como también de otras frutas con resultados muy satisfactorios para el consumidor, pues la mayoría de las frutas poseen características tales como las vitaminas, los minerales, los azúcares entre otros, que hacen que se produzca una bebida de similares características [Conde et al., 2007].

Para la producción de vino hay que tener en cuenta que contiene más de mil compuestos, la mayoría de los cuales, como las vitaminas y los minerales, provienen de la uva, mientras que otros, como el etanol y glicerol, son productos de la vinificación. A pesar de que los azúcares están parcial o completamente transformados, el azúcar y la maduración de las bayas son un importante parámetro de calidad del vino. El azúcar está directamente relacionado con el contenido final de alcohol en el vino, y regula varios genes en la levadura responsables del desarrollo de compuestos aromáticos y sus propiedades organolépticas [Conde et al., 2007].

Se han encontrado indicios de que se ha elaborado una bebida fermentada a la que le han denominado *vino de café*, se ha realizado de forma artesanal en el departamento de Nariño específicamente en San José de Alban. A nivel industrial en Colombia solo se producen debidas a base de café tal como aperitivo vínico saborizado de café elaborado en Armenia, Quindío [fuente: esta investigación., 2008].

4.1.1. Procesos Agroindustriales: La agroindustria se entiende como un proceso mediante el cual, la agricultura se articula para generar bienes de consumo alimentarios y no alimentarios mediante el uso combinando de tecnologías agrícolas e industriales [Machado., 1989]. El concepto de agroindustria se utiliza para describir todas aquellas actividades relacionadas con el procesamiento y transformación de los productos agropecuarios, y también para agrupar a través de la misma, otras actividades como: conservación, almacenamiento, clasificación, transporte y comercialización de los productos agrícolas.

La importancia de los procesos agroindustriales consiste en permitir la adecuación de las materias primas agropecuarias para el consumo humano, animal o industrial. Mediante el establecimiento de relaciones técnicas y sociales entre la industria y el comercio, la agroindustria se constituye en una actividad compleja y de gran peso en el sistema económico colombiano. Su importancia en el proceso de desarrollo resulta evidente y radica, principalmente, en el papel clave que juega en los procesos de modernización de agricultura y en la generación de bienes alimentarios básicos en el consumo de la población [Machado., 1989].

De esta manera, se ha encontrado en Nariño, una posibilidad de aprovechamiento de la pulpa y mucilago de café dándoles una transformación mediante la cual se obtenga una alternativa de provecho que pueda entrar al mercado proporcionado un producto novedoso como es una bebida fermentada obtenida a partir de la pulpa y el mucilago de café, producto innovador pues no es posible encontrarlo como tal, en el mercado regional y nacional.

4.1.2. Café: La materia prima principal empleada fue la pulpa y el mucilago de café (*Coffea arábica*) cultivado en Colombia. Se le conoce como cafeto o planta

productora de café a un arbusto que se da en la región tropical, que pertenece a la familia de la rubiáceas, considerada como numerosa ya que abarca 500 géneros y 8000 especies; uno de esos géneros es el *Coffea*, que lo constituyen árboles, arbustos y bejucos, y comprende unas 10 especies civilizadas, es decir, cultivadas por el hombre y 50 especies silvestres [Federación Nacional de cafeteros, 1992].

Los granos de café o semillas están contenidos en el fruto del arbusto, los cuales en estado de madurez toman un color rojizo y se les denomina “cereza”, cada una de ellas consiste en una piel exterior que envuelve una pulpa dulce, debajo están los granos recubiertos por una fina membrana dorada que envuelve las dos semillas de café [Federación Nacional de Cafeteros., 1992].

El fruto del cafeto cuyas semillas tostadas y molidas se utilizan para el consumo humano está compuesto por [Federación Nacional de cafeteros., 1998]:

- Una cubierta exterior llamada pulpa: 43,2%.
- Una sustancia gelatinosa azucarada (mucilago): 11,8%.
- Una cubierta que se denomina pergamino o cascara: 6%.
- Una cubierta más delgada y fina llamada película: 0,1%.
- Y finalmente el grano o almendra que es la parte del fruto que una vez tostada y molida se utiliza para la producción del café bebida: 38,9%.

El departamento de Nariño produce aproximadamente 21'993.113,75 Kg de café pergamino seco por año [Informe pronósticos de cosecha por municipios., 2005], si se tiene en cuenta que la pulpa y mucílago producidos significa aproximadamente un 43% y 11% respectivamente del grano cosechado [Jairo Restrepo R., 2000], lo cual muestra de manera real la cantidad de materia prima disponible para el desarrollo de alternativas que generen más ingresos para las familias productoras de café.

4.1.3. Mucilago: En este estudio el subproducto de interés es el mucilago, el cual está localizado entre la pulpa y la cascara del grano de café. Este material representa alrededor del 5% del peso seco de éste. El mucilago es una capa de aproximadamente 0,5 a 0,2 mm de espesor y está fuertemente adherida a la cáscara del grano de café. Desde el punto de vista físico, el mucílago es un sistema coloidal líquido, liofílico, siendo por lo tanto, un hidrogel. Químicamente, el mucílago contiene agua, pectinas, azúcares y ácidos orgánicos [Carbonell y Vilanova., 1992].

Durante la maduración del grano de café el pectato de calcio, localizado en la laminilla media y la protopectina de la pared celular, es convertido en pectinas. Esta transformación o hidrólisis de las protopectinas resulta en la desintegración

de la pared celular, dejando un plasma celular libre. En este plasma, además de pectinas, se encuentran azúcares y ácidos orgánicos derivados del metabolismo y la conversión del almidón [Carbonell y Vilanova., 1992].

Por su alto contenido en diferentes tipos de azúcares, este subproducto es un excelente medio para la elaboración de biofertilizantes enriquecidos con minerales, y así llegar a ser utilizado en los cultivos del propio café y del plátano. En la preparación del abono orgánico, se recomienda usar el mucílago o aguas mieles directamente, sustituyendo al máximo volumen de agua que se desee. El mucílago es un excelente sustrato para el crecimiento de hongos, bacterias y otros microorganismos benéficos y deseables para la recuperación de la vida en los suelos que se encuentran agotados por el maltrato provocado por algunas de las prácticas utilizadas en la agricultura convencional [Restrepo., 1995].

El mucílago es una sustancia altamente rica en azúcares, potasio, magnesio, calcio y fósforo. Cuando se realiza la concentración necesaria, aumenta hasta seis veces más sus propiedades fermentativas. Sin embargo durante mucho tiempo el beneficio de café ha implicado que la pulpa y el mucílago se deseche y se vierta a las cuencas de los ríos [Ramírez y Jaramillo., 2000].

En la universidad de Caldas, más exactamente la facultad de ingeniería, se realizó un estudio de alimentos para determinar la viabilidad de montar en la zona centro sur del Departamento de Caldas y especialmente en el municipio de Chinchina una planta procesadora de pectina y miel, cuya materia prima es pulpa y mucílago procedentes del beneficio ecológico de café, en su investigación identificaron que del mucílago se puede obtener [Ramírez y Pescador, 2004]:

- **Pectina sin refinar:** Esas pectinas pueden estar en forma de gel soluble termorreversible o en forma de eslabón en cruz no reversible, que tienen un sabor de boca distinto.
- **Pectina natural del fruto del café:** Procedentes principalmente del agua de despulpe reciclada: son en su mayor parte monosacáridos, glucosa, galactosa y arabinosa, con un sabor distinto que recuerda al de las ciruelas, y podrán comercializarse como una novedad para el consumidor más refinado.
- **Compuestos antioxidantes y flavonoides:** Son principalmente los compuestos de antocianina de color del fruto, pero también contiene todos los demás polifenólicos, tales como los ácidos clorogénicos y, por supuesto, cafeína. Esas sustancias pueden combinarse de varias maneras para hacer una serie de aditivos de los alimentos que pueden tener interés para la industria del “alimento saludable”.

4.1.4. Pulpa: La pulpa del café está compuesta por el epicarpio y parte del mesocarpio del fruto. Cuando es llevada a los depósitos, posee cerca de un 85%

de humedad. La pulpa de café contiene entre otras cosas cantidades importantes de cafeína, la que representa cerca de 0,8% de su peso seco [Dietrich, 2000].

Un análisis de su composición química revela lo siguiente:

TABLA 2. Composición de la pulpa del café*

Nutrientes en porcentaje %	
Materia seca	87,51
Fibra cruda	20,23
Proteína cruda	11,2
Cenizas	5,43
Compuestos en porcentaje %	
Taninos	1,80 - 8,56
Sustancias pécticas totales	6,5
Azúcares reductores	12,4
Azúcares no reductores	2
Cafeína	1,3
Acido clorogénico	2,6
Acido caféico total	1,6

*Fuente: Elías., 1978

La pulpa de café es un material de desecho que procede de la industria del café. Se puede llegar a la conclusión de que la pulpa de café puede reemplazar hasta un 20% de los concentrados comerciales en la alimentación del ganado lechero, sin efectos perjudiciales y con un ahorro del consumo de fibra [Rajkumar y Graziosi., 2005].

De acuerdo con informaciones dadas por la Federación de Cafeteros de Colombia, su centro de investigaciones, 2003, encontró que la pulpa del grano de café tiene suficiente azúcar como para convertirse en materia prima para la producción de biocombustibles. Al parecer los niveles de azúcar son equiparables al que contiene el maíz, pero con la ventaja añadida que la pulpa del café es un desecho que hasta ahora se utiliza como abono orgánico.

4.2. APROVECHAMIENTO DE LA PULPA Y MUCÍLAGO DE CAFÉ EN LA ELABORACION DE UNA BEBIDA FERMENTADA

Para el aprovechamiento de la pulpa y el mucilago de café (*Coffea arábica*) se propone elaborar una bebida fermentada a partir de los componentes del fruto del café. Se han encontrado indicios de que se ha elaborado *vino de café* de forma artesanal en el departamento de Nariño específicamente en San José de Alban. A nivel industrial en Colombia solo se producen debidas a base de café tal como aperitivo vínico saborizado de café elaborado en Armenia, Quindío [Fuente: Esta investigación., 2008].

De otro modo se ha encontrado que se está elaborando, con fines de exportación un vino llamado de café, pero solamente es saborizado de café, elaborado con uvas blancas y café gourmet de Colombia [Muñoz., 2005].

Básicamente la producción de vinos consiste en el cultivo y cosecha de la vid (vendimia), la molienda de las uvas y la separación de los tallos para su maceración (fermentación primaria o alcohólica), el prensado del material sólido separado o vino prensa, la fermentación malolactica del mosto fermentado. Su clarificado, estabilizado y filtrado (en algunos casos) y, por último, el embotellado y su crianza en botellas (vino joven) [Diccionario del vino., 2008].

Generalmente se fabrica vino a partir de uvas, pero en el mercado se puede encontrar una amplia variedad de frutas de las cuales se puede fabricar vino, especialmente de los cítricos, algunos vinos que se pueden encontrar son: Vino de: mora, tamarindo, ciruela, lulo, aguacate, manzana, pera, naranja, mandarina, melocotón, kiwi, feijoa [Builes., 2003].

4.3. FERMENTACION ALCOHOLICA

La fermentación alcohólica es el proceso por el que los azúcares se convierten en alcohol etílico o etanol y para llevar a cabo este proceso es necesaria la presencia de microorganismos. Tanto levaduras como bacterias han sido utilizadas para la producción de etanol [Crueger y Crueger., 1993].

El vino es un referente para este trabajo de investigación, con el cual se puede comparar la bebida fermentada obtenida a partir de pulpa y mucilago de café, debido a que se trata de un fruto y de la fermentación alcohólica llevada a cabo por la levadura *S. cerevisiae*.

En el caso de los vinos, estos microorganismos se encuentran de forma natural en los hollejos (en la capa de polvillo blanco que recubre las uvas y que se llama "pruina"). El oxígeno es el desencadenante inicial de la fermentación, ya que las levaduras lo van a necesitar en su fase de crecimiento. Sin embargo, al final de la fermentación conviene que la presencia de oxígeno sea pequeña para evitar la pérdida de etanol y la aparición en su lugar de ácido acético [Diccionario del vino,

2008]. En condiciones anaerobias, el crecimiento de la levadura es lento y el piruvato producido durante el catabolismo es procesado por la piruvato decarboxilasa a acetaldehído y CO₂; se produce entonces etanol a partir de acetaldehído mediante la reducción por la alcohol deshidrogenasa [Crueger y Crueger., 1993].

El proceso, simplificado, de la fermentación es el siguiente [Peña., 2005]:

Azúcares + levaduras ==> Alcohol etílico + CO₂+ Calor + Otras sustancias.

La fermentación alcohólica es un proceso exotérmico, es decir, se desprende energía en forma de calor. Es necesario controlar este aumento de temperatura ya que si ésta ascendiese demasiado (25°C – 30°C) las levaduras comenzarían a morir deteniéndose el proceso fermentativo [Peña., 2005].

Otro producto resultante de la fermentación es el anhídrido carbónico (CO₂) en fase gaseosa, lo que provoca el burbujeo y el aroma característico de una cuba de mosto en fermentación. Este burbujeo hace que las partes sólidas (hollejos) suban a la superficie del mosto formándose una capa en la parte superior del depósito llamado "sombbrero", este "sombbrero" capa, que dará origen al orujo, protege al mosto de ataques bacterianos y de posibles oxidaciones y, fundamentalmente, cede al mosto gran cantidad de sustancias contenidas en los hollejos, sobre todo, taninos, sustancia colorante gracias a la cual el vino adquiere su color rojizo característico, y aromas y extractos que se encuentran en la piel de la uva [Pizarro., 2008].

A lo largo de todo el proceso de fermentación natural, para la obtención de vino y en función de las condiciones (cantidad de azúcar disponible, temperatura, oxígeno, etc.), cambia el tipo de levadura que predomina pudiéndose distinguir varias fases en la fermentación [Diccionario del vino., 2008]:

1ª fase (primeras 24 horas), predominan levaduras no esporógenas, que resisten un grado alcohólico 4-5. Son sensibles al anhídrido sulfuroso.

2ª fase, (2º-4º día), predomina la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que resiste hasta un grado de alcohol entre 8 y 16. En esta fase es cuando se da la máxima capacidad fermentativa

3ª fase, sigue actuando *S. cerevisiae* junto a *S. oviformes*. También pueden existir otros microorganismos procedentes principalmente de las bodegas y de los utensilios, suelen ser hongos entre los que destacan *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oidium*, que afectan negativamente la fermentación alcohólica por ser contaminantes.

Otras sustancias generadas en la fermentación son [Diccionario del vino., 2008]:

- Ácido acético.
- Ácido láctico.
- Ácido pirúvico y acetaldehído.
- Ácido succínico.
- Acetoina, Diacetilo y 2-3 Butanodiol (butilenglicol).
- Alcoholes Superiores, Ésteres y Acetatos.
- Vinil-Fenoles y Etil-Fenoles.

El proceso fermentativo termina cuando ya se han desdoblado prácticamente todos los azúcares y cesa el burbujeo.

4.3.1. Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica:

- ✓ **Temperatura:** Las levaduras son microorganismos mesófilos, esto hace que la fermentación pueda tener lugar en una rango de temperaturas desde los 13 – 14°C hasta los 33 – 35°C. Dentro de ese intervalo, cuanto mayor sea la temperatura mayor será la velocidad del proceso fermentativo siendo también mayor la proporción de productos secundarios. Sin embargo, a menor temperatura es más fácil conseguir un mayor grado alcohólico, ya que parece que las altas temperaturas que hacen fermentar más rápido a las levaduras llegan a agotarlas antes [Collado, 2001].

Con relación a las temperaturas de fermentación es el vino que ha fermentado más próximo a los 20°C el que parece salir más favorecido, tanto en duración de la fermentación, como en requerimiento en alcohol y formación de componentes volátiles favorables [Fernández et al., 2001]

- ✓ **Aireación:** durante mucho tiempo se pensó que las levaduras eran microorganismos anaerobios estrictos. Esto es un hecho erróneo ya que requieren cierta aireación. Una aireación excesiva es totalmente absurda ya que, entre otras consecuencias en el vino, no se obtendría alcohol sino agua y anhídrico carbónico debido a que las levaduras, cuando viven en condiciones aeróbicas, no utilizan los azúcares por vía fermentativa sino oxidativa, para obtener mucha más energía [Collado., 2001].
- ✓ **pH:** El pH del vino (3,1 – 4) no es el más adecuado para la vida de las levaduras. Cuanto menor es el pH será más difícil que las levaduras fermenten, aunque esto favorece el vino, pues se encuentra más protegido contra posibles ataques bacterianos. [Collado., 2001].

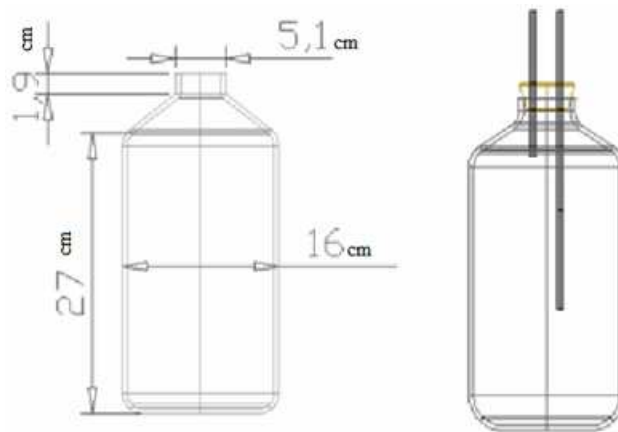
- ✓ **Nutrientes y activadores:** Las levaduras necesitan los azúcares para su catabolismo, es decir para obtener la energía necesaria para sus procesos vitales, pero además necesitan otros sustratos para su anabolismo como son: nitrógeno, fósforo, carbono azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas, especialmente tiamina (vitamina B1). Por ello es de vital importancia que el medio disponga de una base nutricional adecuada para poder llevar a cabo la fermentación alcohólica [Collado., 2001].
- ✓ **Concentración inicial de azúcares:** No se puede pensar en fermentar un mosto con una concentración muy elevada de azúcares. En estas condiciones osmófilas las levaduras simplemente estallarían por la salida brusca del agua de su interior para equilibrar, las concentraciones en el exterior de la célula, es decir, lo que conoce como una plasmólisis [Collado., 2001].

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. DISEÑO DEL BIORREACTOR

Para llevar a cabo las diferentes pruebas se diseñó un biorreactor cuyo esquema se muestra en la Figura 1.

Figura 1. Biorreactor construido para obtener la bebida fermentada de mucílago y pulpa de café*



*Fuente: Esta Investigación

El biorreactor se construyó con las siguientes características:

- Capacidad 5 litros.

- Una altura de 27cm.
- Ancho del biorreactor de 16cm
- Elaborado en vidrio pírrex, resistente a la esterilización.
- Posee un tapón de plástico.
- Dos varillas huecas incrustadas en el tapón.
- Dos mangueras de 80cm y 30cm de longitud, las cuales van dentro de las varillas huecas, con el fin de tomar muestras y permitir la salida de gases producidos mediante la fermentación.
- Jeringas de 5 cm³ para la toma de muestras.
- Una bomba como dispositivo para la medición de CO₂.

5.1.1 Diseño experimental de la fermentación: Para el análisis estadístico, se creó un diseño factorial de experimentos, mediante la utilización del programa estadístico STATGRAPHICS Plus 5.1 (Estadistical Graphics Corp 1194-2004). Se empleó la metodología de superficie de respuesta utilizando un diseño Box-Behnken, en el que se consideraran los diferentes factores o efectos que influyen sobre las variables de respuesta, las cuales son las que se van a optimizar, para lo cual elabora un modelamiento matemático que representa la región experimental del tipo:

$$Y = b_0 + b_1 * 1 + b_2 * 2 + b_3 * 3 + b_{12} * 1 * 2 + b_{13} * 1 * 3 + b_{23} * 2 * 3 + b_{11} * 1^2 + b_{22} * 2^2 + b_{33} * 3^2$$

Los factores o variables independientes a analizar son: cantidad en peso de pulpa de café (X₁), cantidad en peso de azúcar (X₂) y cantidad en peso de levadura (X₃). Como variables de respuesta se optimizaron: el volumen de CO₂ (Y₁), el volumen de alcohol (Y₂) y Brix (Y₃). Los factores y sus niveles fueron establecidos por ensayos previos llevados a cabo en el laboratorio de Microbiología 1 de la Universidad de Nariño por los autores de esta investigación.

El diseño experimental propuesto, estuvo formado por 16 experimentos que se realizaron por duplicado para aumentar la confiabilidad de la variable de respuesta.

Este diseño permite encontrar tanto el error experimental, la falta de ajuste, las interacciones entre los factores, la curvatura de la superficie de respuesta, los coeficientes del modelo que describan el comportamiento del sistema dentro del intervalo experimental estudiado y los valores físicos que pueden optimizar las variables de respuesta [Pulido y Zalazar., 2003]

En la Tabla 3 se muestra de manera resumida el diseño experimental descrito con anterioridad

Tabla 3. Descripción del diseño experimental*

Clase de diseño: Superficie de Respuesta
Nombre del Diseño: Diseño de Box-Behnken

Diseño Base

Número de factores experimentales: 3
Número de bloques: 2
Número de respuestas: 3
Número de corridas: 30, incluyendo 3 puntos centrales por bloque
Grados de libertad para el error: 19
Aleatorizar: Sí

FACTORES	BAJO	ALTO	UNIDAD	CONTINU
			ES	O
<i>Pulpa de café</i>	400,0	800,0	g/4L	Sí
<i>Azúcar</i>	800,0	1400,0	g/4L	Sí
		0		
<i>Levadura</i>	0,3	1,5	g/4L	Sí
<i>RESPUESTAS</i>	<i>UNIDADES</i>			
<i>Volumen CO₂ producido</i>	<i>m³</i>			
<i>Brix finales</i>	<i>°Bx</i>			
<i>% alcohol</i>	<i>Porcentaje en volumen a volumen</i>			

*Fuente: Esta investigación.

5.1.2 Análisis del diseño experimental. Para el análisis del diseño experimental propuesto, se hizo una selección de Tablas y Figuras para mostrar de una manera clara y de interpretación sencilla, el efecto de las variables evaluadas.

Las tablas y Figuras con información estadística seleccionadas fueron:

- ✓ Tabla ANOVA
- ✓ Diagrama de Pareto

- ✓ Diagrama de efectos principales
- ✓ Superficie de respuesta
- ✓ Diagrama de contorno de la superficie de respuesta
- ✓ Modelo matemático
- ✓ Respuesta optima

5.2 RECOLECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

El café fue recolectado de la finca denominada El Salado, ubicada en San Bernardo (Nariño), este fue recolectado de los arboles, de manera aleatoria, obteniéndose 100 kg de café maduro (Figura 2), el cual fue colocado en bolsas plásticas con capacidad individual de un Kg y colocadas en cajas de icopor, con el fin de no estropear los frutos y mantenerlos aislados del calor producido por el medio de transporte y evitar que se dé inicio a la fermentación de los azúcares del café con ayuda de los microorganismos fermentativos propios de éste, inmediatamente fue trasladado a la Planta Piloto de la facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño para seguir el proceso.

Figura 2. Granos de café.*



*[Fuente: Esta Investigación]

5.3 ENSAYOS EN EL LABORATORIO

5.3.1 Obtención de la pulpa y el mucílago: En planta piloto, se procedió a realizar una desinfección de los granos con una solución de hipoclorito a 100 ppm, realizando un lavado exhaustivo con agua ozonizada después de la inmersión en la solución clorada, con el fin de evitar que queden trazas remanentes de cloro, el cual puede entorpecer el desarrollo de las levaduras.

La pulpa y el mucílago, fueron extraídos de manera manual, de tal manera que quedaron separados de los granos y fueron colocados en recipientes metálicos para ser pesados y posteriormente añadidos a los biorreactores.

5.3.2 Preparación del inóculo: Como actividad preliminar a la fermentación en los biorreactores, se realizó la preparación de los inóculos de levadura para cada experimento, una vez esterilizados los materiales y utensilios, se procedió a preparar el medio de cultivo consistente de caldo nutritivo (OXOID) en erlenmeyers de 250 cc, usando 3 g/L de este en 100 cc de agua destilada (Figura 3). El erlenmeyer fue llenado con el agua, se agregó el caldo nutritivo en polvo y fue colocado en una estufa eléctrica hasta que de inicio la ebullición del caldo, seguido, se esterilizó en autoclave a 15 Psi y 121 °C durante un tiempo de 15 minutos. Una vez la temperatura del caldo disminuyó a 38 °C, se procedió a inocular el caldo con la levadura, cada muestra de inóculo fue colocada en la incubadora a 30 °C durante 12 horas tiempo en que se lleva a cabo la activación completa.

Figura 3. Medio de cultivo para la preparación del inóculo.*



*Fuente: Esta Investigación

5.3.3 Pesaje de la materia prima: La materia prima fue pesada según el diseño experimental, esto se hizo para facilitar el armado de los biorreactores disminuyendo el tiempo entre montajes.

5.3.4 Puesta en marcha de los biorreactores: Para dar inicio a la fermentación, se procedió de la siguiente manera: se colocó agua dentro del biorreactor, hasta un volumen de 2 litros, se agregó el azúcar lentamente con agitados para facilitar su disolución, en seguida se añadió la pulpa y mucilago, posteriormente se procedió a llenar con agua hasta obtener un volumen de 4 litros y finalmente se inoculó con la levadura activada en las cantidades especificadas en el diseño experimental.

Cada biorreactor fue cerrado herméticamente empleado tapas metálicas, para asegurar que no existieran fugas de CO₂ se selló con silicona líquida las diferentes uniones que existían: la unión de la tapa, las uniones de los corchos de caucho, y las uniones de las mangueras. Adicionalmente se aplicaron varias capas de cinta de teflón, y por último se hizo un recubrimiento con neumático esterilizado (Figura 4).

Figura 4. Biorreactores en funcionamiento*



Fuente: Esta Investigación

Los diferentes ensayos a elaborar según el diseño experimental se montaron el mismo día, se hizo esto para evitar cambios en las condiciones a las que se expuso los biofermentadores, con lo que se buscó darle confiabilidad a los resultados. La fermentación se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad de Nariño bajo condiciones ambientales de temperatura, en lugar oscuro. El tiempo de fermentación total de todos los biorreactores se estipuló mediante pruebas piloto anteriores realizadas en la Universidad de Nariño en los laboratorios de microbiología, por lo tanto se determinó que la duración de esta etapa sería aproximadamente de 25 días con +/- 2 días.

5.3.5 Medición de CO₂: El sistema para la medición del CO₂ consistió en una bomba sujeta a una manguera que se conectaba al biorreactor. El volumen de CO₂ fue medido usando un metro de costura elástico con el que se midió el perímetro de la bomba, luego la bomba fue retirada para desalojar el CO₂ producido y nuevamente colocada para su posterior medición. Por sucesivas veces se realizó el mismo procedimiento hasta finalizar la fermentación (Figura 5).

El tiempo de medición del CO₂ dependió de la actividad del biorreactor, por lo tanto, al inicio de la fermentación el tiempo de medición del CO₂ se hizo en intervalos de tiempo más corto, conforme fue decreciendo la actividad de cada biorreactor, se extendió el tiempo de medición de CO₂.

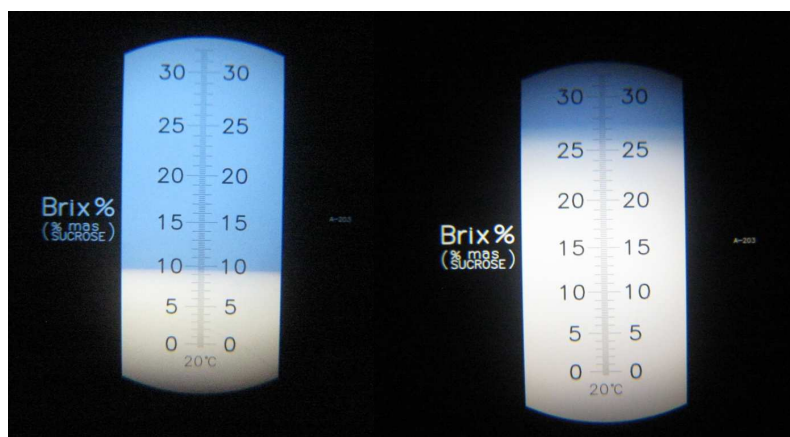
Figura 5. Sistema para la medición del CO₂*



*Fuente: Esta Investigación

5.3.6 Toma de muestras de Grados Brix: El muestreo para la medición de este parámetro se hizo mediante una manguera auxiliar conectada al biorreactor, acoplada a una jeringa estéril para sacar la cantidad de muestra necesaria para realizar la medición de este parámetro (Figura 6).

Figura 6. Medición de grados Brix *.



*Fuente: Esta Investigación

5.3.7 Trasiegos de los biorreactores: Esta operación se realizó al terminar la etapa de fermentación con el fin de eliminar los restos sólidos presentes en los

biorreactores. Esta operación deja preparada la muestra para la posterior filtración y clarificación.

5.3.8 Filtraciones: Esta operación se realizó con el fin de retirar impurezas de menor tamaño presentes en las diferentes muestras de la bebida fermentada.

Para llegar a un óptimo filtrado se procedió de la siguiente manera:

- ✓ **Filtración por medio de un telar:** Se pasó cada muestra a través de una tela de nylon con un diámetro de poro de 20-50µm, esta tela retuvo gran cantidad de residuos sólidos presente en las muestras.
- ✓ **Filtración al vacío:** Posteriormente cada muestra se filtro a vacío, empleando un kitasato en vidrio con capacidad de 500ml y una bomba de vacío marca DOSIVAC modelo OVR de 1/3 HP.

Figura 7. Equipo de filtración*



*Fuente: Esta Investigación

5.3.9 Medición del porcentaje de alcohol: Terminado el proceso de filtración se procedió a medir el grado alcohol presente en la muestra. Este parámetro fue medido empleando un vinometro de vidrio marca Al-Ambik®, que media de manera directa los grados Oechsle (°Oe) contenidos en la bebida fermentada. Para calcular el porcentaje de alcohol presente se empleó la siguiente fórmula, contenida en las instrucciones de uso del vinometro:

$$\text{Porcentaje de Alcohol} = \frac{^{\circ}\text{Oe} - 15}{6}$$

5.3.10 Embotellado de la muestras: Como etapa final de la obtención de la bebida fermentada se procedió a embotellar las diferentes licores obtenidos en botellas de vidrio esterilizadas con capacidad de 750 ml, durante esta etapa

también se sacaron las muestras correspondientes que fueron llevadas a los laboratorio de Universidad de Nariño para ser analizadas. Las botellas con la bebida fermentada de café obtenidas, fueron pasteurizadas de acuerdo a las condiciones empleadas en la Planta Piloto de la Facultad (110°C por 5 minutos en Exhausting). Posteriormente se mantuvieron en refrigeración en el cuarto frio de la Planta Piloto de la Universidad de Nariño.

5.3.11 Almacenamiento de muestras para análisis de laboratorio: Para el almacenamiento de las muestras que se llevaron a los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, para su análisis cromatográfico, se emplearon frascos de vidrio oscuros con tapa plástica con capacidad de 250 ml que se refrigeraron a temperaturas entre 0 y 4 °C en el cuarto frio de la Planta Piloto de la Universidad de Nariño.

Figura 8. Filtrado y embotellado de las muestras*



*Fuente: Esta Investigación

5.3.12 Analisis cromatograficos de las muestras: La identifiacion cualitativa de las muestras se realizó mediante el metodo de cromatografia gases – masas, en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño, para determinar los compuestos organicos e inorganicos presentes en las muestras de la bebida fermentada. Para una identifiacion satisfactoria se les realizo a 10 muestras el análisis cromatográfico correspondiente.

Los perfiles cromatograficos realizados a las muestras de la bebida fermentada fueron:

- ✓ Análisis de compuestos volátiles
- ✓ Análisis de Alcoholes
- ✓ Análisis de ácidos grasos

5.3.13 Características organolépticas: Características como aroma, color, sabor, palatabilidad brillo fueron determinadas mediante una valoración cualitativa y sensorial de la bebida fermentada utilizando la siguiente tabla de atributos propuesta por los autores:

Tabla 4. Encuesta de calificación de la bebida fermentada a base de pulpa y mucilago de de café.*

ATRIBUTO	VALORACIÓN				
	Malo (1)	Regular (2)	Bueno (3)	Muy bueno (4)	Excelente (5)
Aroma					
Color					
Sabor					
Palatabilidad					
Brillo					

*Fuente: esta investigación

La valoración de las diferentes muestras de la bebida fermentada la realizaron los estudiantes y personas en general de la Universidad de Nariño, con un rango de edad entre los 20 y 30 años.

5.3.14 Comparación de las muestras con el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas (CEE) n° 2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990: Obtenidos los resultados anteriores se procedió a analizar características físico-químicas de las muestras óptimas (muestras con las mejores calificaciones en la prueba anterior), los análisis complementarios escogidos fueron densidad, cenizas, pH, y porcentaje de alcohol final. Los valores de estas pruebas se compararon con el reglamento mencionado.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA FERMENTACIÓN: Para analizar los diferentes experimentos para la elaboración de una bebida fermentada a base de pulpa y mucilago de café, se utilizó el programa estadístico Statgraphics 5.1 (Tabla 5)

Tabla 5. Diseño experimental para la elaboración de la bebida fermentada*.

N° EXP.	BLOQUE	Pulpa y Mucilago de Café (g)	Azúcar (g)	Levadura (g)	Vol. CO ₂ (m ³)	Brix Finales	Alcohol %
1	1	600	800	1,5	1,11	26	6
2	1	600	1400	1,5	2,35	15	12
3	1	600	800	0,3	1,83	18	10
4	1	600	1100	0,9	1,55	16	13
5	1	800	1100	1,5	1,78	10	14
6	1	400	1100	0,3	1,23	26	6
7	1	600	1100	0,9	1,03	24	5
8	1	600	1400	0,3	2,67	10	16
9	1	400	800	0,9	1,22	26	4
10	1	600	1100	0,9	1,63	11	9
11	1	400	1400	0,9	2,01	18	11
12	1	800	1400	0,9	2,12	26	10
13	1	400	1100	1,5	1,95	11	12
14	1	800	800	0,9	1,75	6	11
15	1	800	1100	0,3	1,85	11	10
16	2	600	800	1,5	1,03	24	7
17	2	600	1400	1,5	2,33	14	13
18	2	600	800	0,3	2,3	15	14
19	2	600	1100	0,9	1,65	12	13
20	2	800	1100	1,5	1,58	16	12
21	2	400	1100	0,3	1,07	24	9
22	2	600	1100	0,9	1,93	19	8
23	2	600	1400	0,3	2,33	14	12
24	2	400	800	0,9	1,95	20	6
25	2	600	1100	0,9	1,65	11	10
26	2	400	1400	0,9	2,06	18	12
27	2	800	1400	0,9	2,01	20	11

28	2	400	1100	1,5	1,55	11	12
29	2	800	800	0,9	1,76	10	8
30	2	800	1100	0,3	1,92	11	10

* Fuente esta investigación

6.1.1 Análisis para las variables de respuesta: porcentaje de alcohol, grados Brix y volumen de gas producido.

Análisis para porcentaje de alcohol obtenido.

El análisis de varianza para el porcentaje de alcohol obtenido en los fermentadores, se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Análisis de varianza para porcentaje de alcohol*.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>A:pulpa de café</i>	12,25	1	12,25	1,81	0,1947
<i>B:azucar</i>	60,0625	1	60,0625	8,86	0,0078
<i>C:levadura</i>	0,0625	1	0,0625	0,01	0,9245
<i>AA</i>	2,51282	1	2,51282	0,37	0,5499
<i>AB</i>	15,125	1	15,125	2,23	0,1517
<i>AC</i>	1,125	1	1,125	0,17	0,6883
<i>BB</i>	0,0128205	1	0,0128205	0,00	0,9658
<i>BC</i>	8,0	1	8,0	1,18	0,2910
<i>CC</i>	17,5513	1	17,5513	2,59	0,1241
<i>bloques</i>	2,13333	1	2,13333	0,31	0,5814
<i>Error total</i>	128,825	19	6,78026		
<i>Total (corr.)</i>	248,8	29			

R-cuadrada = 95,2215 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 89,9211 por ciento

Error estándar del est. = 2,60389

Error absoluto medio = 1,63944

Estadístico Durbin-Watson = 1,71822 (P=0,1929)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,106857

*Fuente: esta investigación

Al analizar la tabla ANOVA (Tabla 6) se observa que los efectos de pulpa de café, levadura y las interacciones entre las materias primas y sus cuadrados no son significativos sobre el porcentaje de alcohol producido ya que su Valor-P es superior a 0,05. Estos efectos se ven con más claridad en el diagrama de Pareto, el cual se muestra más adelante (Figura 9).

El efecto del azúcar es el único significativo sobre la producción de alcohol, tal como se muestra en la tabla ANOVA (Tabla 6) donde el valor de P es inferior a 0,05; esto se debe a que la cantidad de alcohol producido está relacionada principalmente con la fuente de carbono y energía (azúcar), al tratarse de una fermentación alcohólica [Brock., 1998], donde la ecuación general es: $C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2$ [Peña., 2005], por lo tanto, se evidencia que a partir de una mol de glucosa se obtienen dos moles de etanol y dos moles de $2CO_2$, estando representados en estos compuestos los átomos de carbono procedentes del azúcar. Este proceso ocurre bajo condiciones apropiadas de fermentación.

Se destaca también que el Valor-P de los bloques de 0,5814 (Tabla 6) es superior a 0,05 lo que indica que la variación entre las repeticiones de cada experimento, no tuvo un efecto significativo en el porcentaje de alcohol de las muestras, dando confiabilidad a los experimentos.

Por su parte el coeficiente R-cuadrado evidencia un buen ajuste indicando que el modelo diseñado explica el 95,22% de la variabilidad en el porcentaje de alcohol de las muestras, con lo que se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste permitiendo hacer análisis confiables sobre las variables implicadas en la obtención de las diferentes bebidas fermentadas de café.

El test estadístico de Durbin-Watson señala un valor de 1,71822 cercano a 2, lo que garantiza que no se presentan problemas de autocorrelación, es decir “no se hizo omisión de ninguna variable importante y los errores estándar obtenidos no presentan sesgo alguno” [Moreu, 1999], garantizando una buena aleatorización de los experimentos.

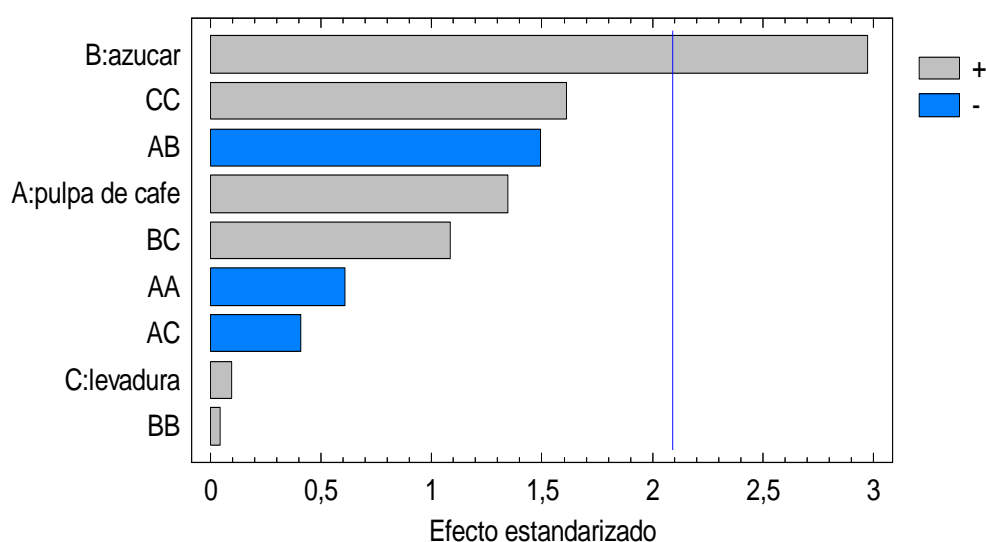
Análisis del diagrama de Pareto. El diagrama de Pareto (Figura 9), muestra de manera clara, el efecto significativo del azúcar sobre la producción de alcohol, esto evidencia que el azúcar es consumido por las levaduras como un sustrato ideal para la producción de alcohol.

El efecto de la pulpa y el mucílago de café no es significativo (Figura 9), ya que a pesar de tener un porcentaje de azúcares considerable (16 °Brix), en el caso de la pulpa y mucílago usados para esta investigación, no es representativo, comparado con el sustrato azúcar. Esto se evidencia ya que las levaduras aprovechan inicialmente la sacarosa aportada por el azúcar, por ser un sustrato asimilable con

mayor facilidad. El efecto de la pulpa y mucilago de café sobre la producción de alcohol es a través de la levadura, aportándole sus nutrientes.

El efecto de la levadura resultó no ser significativo sobre los experimentos. La levadura tuvo un comportamiento similar en todos los experimentos y en todos los niveles.

Figura 9. Diagrama de Pareto para el estudio de los factores de porcentaje de alcohol obtenido en las muestras.*



*Fuente: Esta Investigación

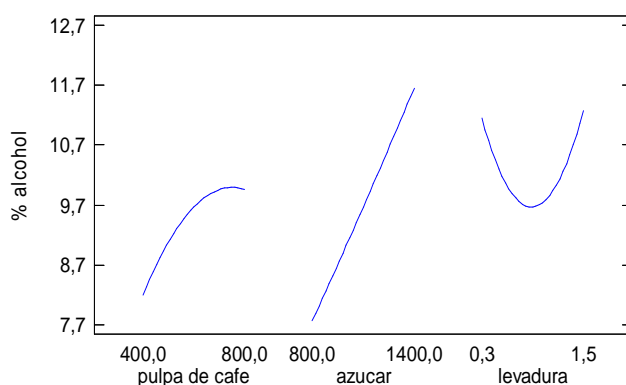
Análisis del diagrama de efectos principales. El diagrama de efectos principales (Figura 10), muestra un marcado efecto de la variable cantidad de azúcar presente al inicio de la fermentación. Se observa claramente el efecto positivo del incremento de la cantidad de azúcar sobre la variable de respuesta notándose que leves incrementos en ella causan un aumento importante en el porcentaje de alcohol.

Por su parte el efecto de la levadura, aunque no es significativo, muestra un comportamiento particular sobre la variable de respuesta (Figura 10), así leves cambios en la relación, causa una variabilidad substancial tanto en el efecto positivo como negativo sobre el porcentaje de alcohol obtenido pues en estos niveles es donde se concentra más la producción del alcohol, siendo evidente que a nivel superior e inferior su efecto positivo será más marcado. De acuerdo al comportamiento de los experimentos, se pudo observar que la cantidad de levadura inoculada no presentó diferencias significativas, esto puede estar relacionado con la variabilidad de los otros dos factores azúcar y, pulpa y mucílago de café. La levadura, por sí sola no puede actuar para esta variable de respuesta,

sino que depende de los factores pulpa y mucílago y azúcares iniciales ya que estos le proveen de unos nutrientes para que actúe sobre un sustrato y genere el producto propio.

Finalmente se nota que el efecto de pulpa de café empleada sobre la variable de respuesta (Figura 10) presenta un efecto positivo, reconfirmando que el efecto de esta variable, tiene ingerencia positiva, aunque leve sobre la variable de respuesta, porcentaje final de alcohol. Lo que confirma ser un sustrato apropiado para ser usado en una fermentación.

Figura 10. Diagrama de efectos principales para porcentaje de alcohol producido.*



*Fuente: Esta investigación

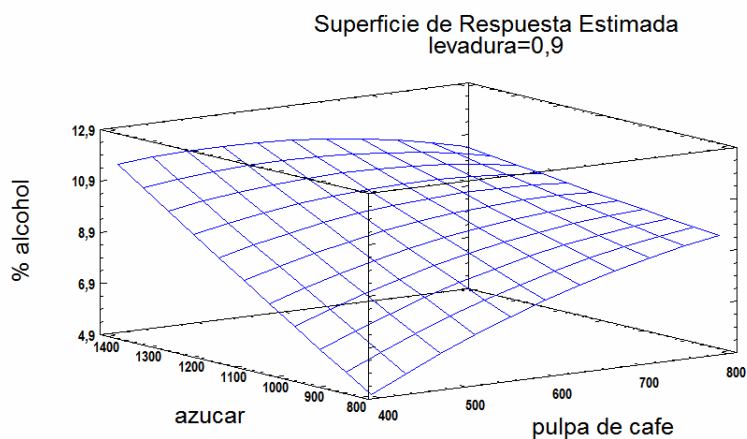
Análisis de la superficie de respuesta para porcentaje de alcohol obtenido.

La superficie de respuesta que se presenta a continuación (Figura 11) muestra que la combinación óptima de las variables independientes para maximizar el rendimiento, se encuentra dentro de la región delimitada por los niveles mínimos y máximos de los factores.

De este modo, se observa que la mayor producción de alcohol se obtiene al trabajar con mayor cantidad de azúcar que para la investigación significó un valor de 1400g por cada 4 l, que equivale 350g/l. Este resultado concuerda con los informes encontrados en la literatura, en los cuales se considera un rango para fermentación entre 300 y 365 g/l [Ribereau-Gayon et al., 2000]

El efecto de la pulpa y mucílago de café, según la Figura 11, muestra una tendencia a influir mejor sobre el porcentaje de alcohol en los niveles inferiores, sin embargo, no existieron diferencias significativas. Es pertinente reconocer el aporte de nutrientes que hace la pulpa y el mucílago de café a la levadura, lo cual pudo influir en el aprovechamiento del azúcar.

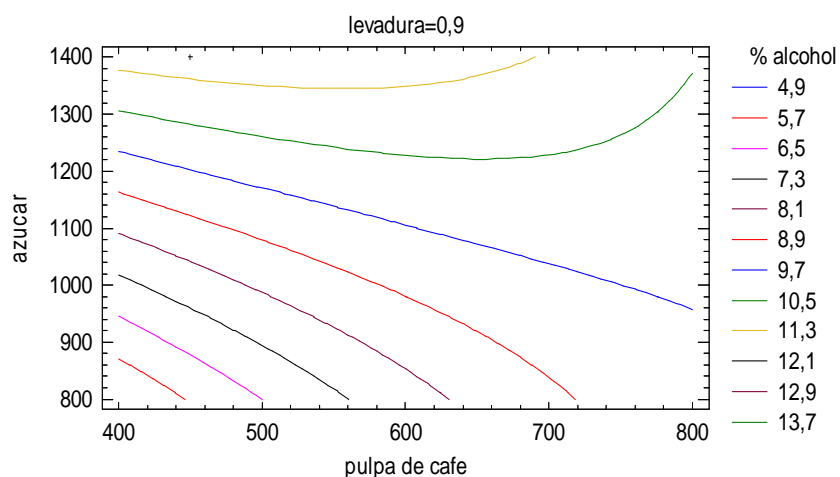
Figura 11. Superficie de respuesta para el porcentaje de alcohol obtenido*



*Fuente: Esta Investigacion

Análisis del contorno de la superficie de respuesta. La Figura del contorno de la superficie de respuesta (Figura 12) muestra que al desplazarse de derecha a izquierda (nivel máximo hacia el mínimo) sobre el efecto de la pulpa de café y de abajo hacia arriba en el efecto de la cantidad de azúcar, considerando una cantidad de levadura en un punto intermedio, se obtiene un mejor comportamiento de la variable de respuesta (existe mayor producción de alcohol), donde se alcanza su punto óptimo.

Figura 12. Contorno de la superficie de respuesta estimada sobre el porcentaje de alcohol producido.*



*Fuente: Esta Investigación

De acuerdo a las anteriores gráficas y consideraciones la respuesta óptima para el porcentaje de alcohol producido (Tabla 7), muestra de manera clara los valores optimos para cada variable de respuesta, en el caso que se requiera un valor máximo para porcentaje de alcohol.

Tabla 7. Respuesta optima para porcentaje de alcohol producido.*

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar % alcohol

Valor óptimo = 14,5778

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
pulpa de café	400,0	800,0	449,846
azúcar	800,0	1400,0	1399,98
levadura	0,3	1,5	1,5

*Fuente: Esta investigacion

Ecuación matemática para el porcentaje de alcohol final. El modelo matematico que describe la formacion de alcohol se muestra en la ecuación 1. Esta ecuación, es el resultado de los experimentos y es la gráfica que modela el comportamiento de la variable de respuesta porcentaje de alcohol.

$$(1) \% \text{ alcohol} = -12,6898 + 0,0498958 * \text{pulpa de café} + 0,0141898 * \text{azúcar} - 11,8403 * \text{levadura} - 0,0000145833 * \text{pulpa de café}^2 - 0,0000229167 * \text{pulpa de café} * \text{azúcar} - 0,003125 * \text{pulpa de café} * \text{levadura} + 4,62963E-7 * \text{azúcar}^2 + 0,00555556 * \text{azúcar} * \text{levadura} + 4,28241 * \text{levadura}^2$$

Este modelo matemático está bien ajustado como lo demuestra el análisis de varianza.

Análisis para °Brix obtenidos.

El análisis de varianza para °Brix obtenidos en los fermentadores, se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Análisis de varianza para °Brix finales*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>A:pulpa de café</i>	121,0	1	121,0	4,78	0,0408
<i>B:azucar</i>	6,25	1	6,25	0,25	0,6246
<i>C:levadura</i>	0,25	1	0,25	0,01	0,9218
<i>AA</i>	0,461538	1	0,461538	0,02	0,8939
<i>AB</i>	200,0	1	200,0	7,91	0,0108
<i>AC</i>	128,0	1	128,0	5,06	0,0359
<i>BB</i>	37,3846	1	37,3846	1,48	0,2383
<i>BC</i>	18,0	1	18,0	0,71	0,4089
<i>CC</i>	4,15385	1	4,15385	0,16	0,6896
<i>Error total</i>	506,0	20	25,3		
<i>Total (corr.)</i>	1023,37	29			

R-cuadrada = 90,5554 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 78,3053 por ciento

Error estándar del est. = 5,02991

Error absoluto medio = 3,36667

Estadístico Durbin-Watson = 1,9497 (P=0,4945)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,0300766

*Fuente: Esta investigación

Análisis de la tabla ANOVA para grados °Brix. Al analizar la tabla ANOVA (Tabla 8) se observa que los efectos del azúcar, la levadura, sus interacciones (BC) y los cuadrados de las materias primas no son significativos sobre los °Brix finales pues su Valor-P es superior a 0,05. Los °Brix miden la cantidad de sólidos solubles presentes en un jugo o pulpa expresados en porcentaje de sacarosa. Los sólidos solubles están compuestos por los azúcares, ácidos, sales y demás compuestos solubles en agua presentes en los jugos de las células de una fruta [Camacho., 2000]. Estos efectos se ven con más claridad en el diagrama de Pareto el cual se muestra más adelante (Figura 13).

El efecto significativo de la pulpa y mucílago de café (Tabla 8), muestra la importancia de estos para la fermentación, demostrando que los nutrientes que poseen, ejercen un efecto sobre la levadura, ya que hacen que el sustrato se enriquezca y ésta pueda actuar mejor y más rápidamente formando alcohol a partir de los azúcares presentes, y dejando azúcar remanente detectado por el refractómetro, que es el causante del aumentando en los grados Brix a medida que la pulpa y mucílago de café disminuyen.

Las interacciones pulpa y mucílago de café - azúcar (AB) y pulpa y mucílago de café – levadura (AC) (Tabla 8) tienen un efecto significativo, según el valor de p . En estas interacciones, el efecto puede estar debido al efecto del factor pulpa y mucílago de café. El consumo de azúcar que ejerce la levadura estaría afectado por el aporte de nutrientes desde la pulpa y mucílago de café, es así como se observó en general que a mayores Brix finales hubo un menor porcentaje de alcohol (Tabla 5), debido al menor aprovechamiento de los azúcares fermentables.

Por su parte el coeficiente R-cuadrado (Tabla 8), evidencia un buen ajuste indicando que el modelo diseñado explica el 90,5554% de la variabilidad en el porcentaje de alcohol de las muestras, con lo que se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste permitiendo hacer análisis confiables sobre las variables implicadas en la obtención de las diferentes bebidas fermentadas de café.

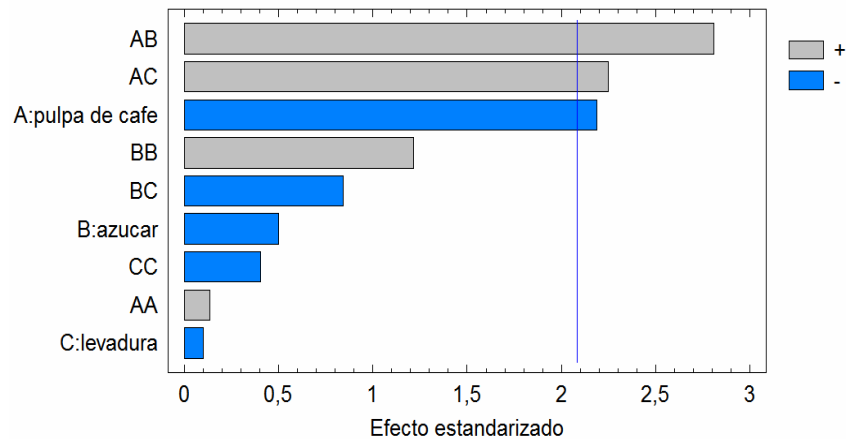
El test estadístico de Durbin-Watson (Tabla 8) señala un valor de 1,9497 cercano a 2, lo que garantiza que no se presentan problemas de autocorrelación, es decir, “no se hizo omisión de ninguna variable importante y los errores estándar obtenidos no presentan sesgo alguno” [Moreu, 1999], garantizando una buena aleatorización de los experimentos.

Análisis del diagrama de Pareto para grados Brix . A continuación se presenta el diagrama de Pareto (Figura 13), en el que se muestran claramente los efectos significativos como no significativos de los efectos de las variables como de sus interacciones sobre la variable de respuesta.

En el diagrama de Pareto (Figura 13) se destaca el efecto negativo y significativo de la pulpa y el mucílago de café, demostrando la importancia de estos elementos sobre la fermentación, indicando que a mayor pulpa y mucílago de café menores Brix por el aprovechamiento de los azúcares fermentables.

El efecto positivo y significativo de las interacciones AB y AC (Figura 13), significan que a mayor cantidad de pulpa y mucílago de café – azúcar y – levadura se obtuvieron mayores Brix finales, indicando que los azúcares posiblemente no se alcanzaron a degradar a alcoholes, en el tiempo establecido para todas las fermentaciones.

Figura 13. Diagrama de Pareto para el estudio de los °Brix finales obtenidos



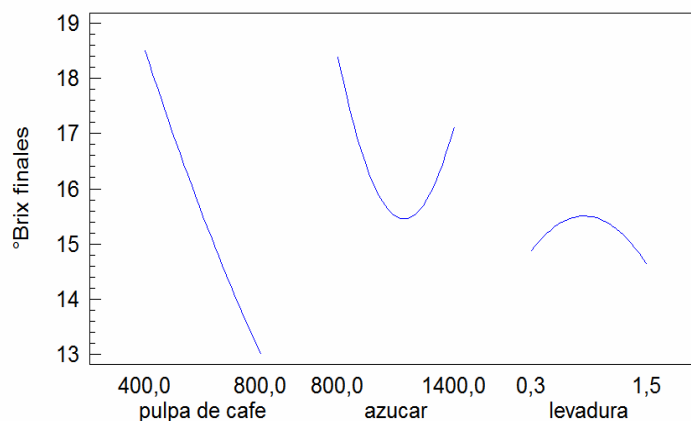
*Fuente: Esta Investigación

Análisis del diagrama de efectos principales para °Brix. El diagrama de efectos principales que se muestra a continuación (Figura 14), indica un marcado efecto de la variable de la cantidad de pulpa de café presente al inicio de la fermentación. Se observa claramente el efecto positivo de la disminución de la cantidad de pulpa de café sobre la variable de respuesta, notándose que la disminución en ella causa un aumento importante en los grados °Brix finales, ya que la levadura aprovecha mejor el azúcar debido a los nutrientes propios de la pulpa y el mucílago.

Por su parte el efecto del azúcar (Figura 14), aunque no es significativo, muestra un comportamiento particular sobre la variable de respuesta, así leves cambios en la relación causan una variabilidad en el efecto positivo sobre la cantidad de °Brix finales, siendo evidente que a nivel superior e inferior su efecto positivo será más marcado.

Finalmente se nota que el efecto de la levadura empleada sobre la variable de respuesta confirma que el efecto de esta variable no es significativo en el comportamiento de la variable de respuesta.

Figura 14. Diagrama de efectos principales para °Brix finales.*



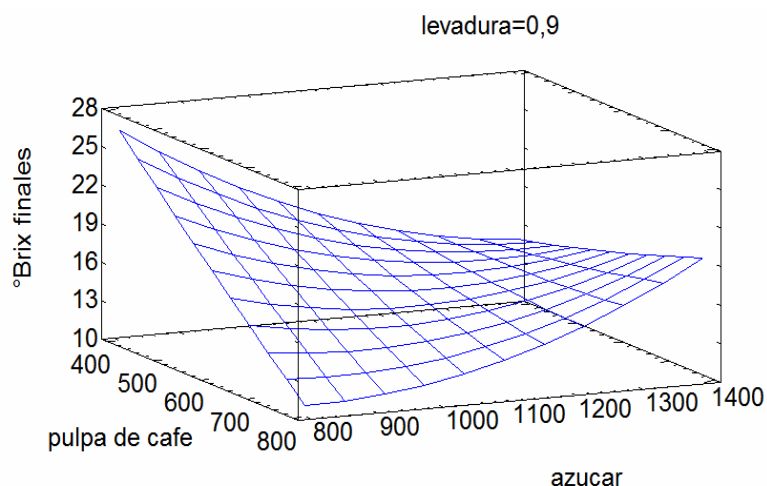
*Fuente: Esta Investigación

Análisis de la superficie de respuesta para °Brix. La superficie de respuesta que se presenta a continuación (Figura 15) muestra que la combinación óptima de las variables independientes para maximizar el rendimiento, se encuentra dentro de la región delimitada por los niveles mínimos y máximos de los factores.

La gráfica de superficie de respuesta (Figura 15), se puede analizar desde diferentes puntos de vista. Para el caso de esta investigación, el mejor efecto es donde el porcentaje de azúcares remanentes es inferior, es decir, los grados brix son bajos, ya que esto significa el aprovechamiento de los azúcares por la levadura y su transformación hasta alcohol; encontrándose que cuanto más se acerca al nivel superior de pulpa de café y mucilago, la concentración de azúcar disminuye, a la vez que la concentración de alcohol aumenta (Figura 15). La razón, por la cual se presenta este efecto, se debe a que la pulpa y el mucilago, contiene nutrientes benéficos para el proceso de fermentación llevado a cabo por la levadura en esta investigación, aumentando el porcentaje de alcohol y disminuyendo la concentración de azúcares fermentables.

La relación del efecto de los niveles de azúcar, sobre la concentración de °Brix finales, es directamente proporcional. Mientras que la relación del efecto de los niveles de pulpa y mucilago de café sobre los °Brix finales es inversamente proporcional, debido al aprovechamiento de los nutrientes de este factor por parte de la levadura para que fermente los azúcares.

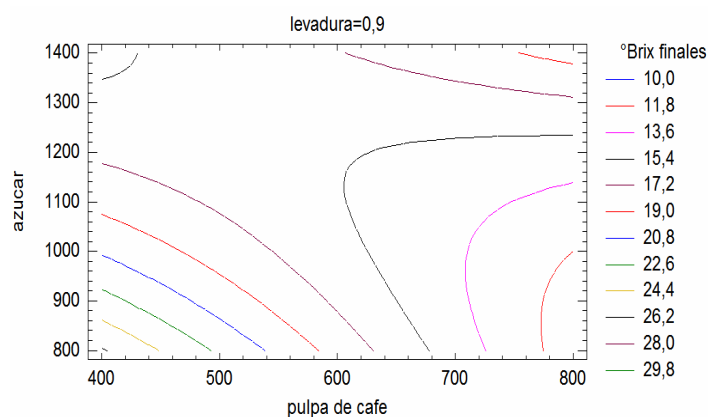
Figura 15. Superficie de respuesta para °Brix final es.



*Fuente: Esta Investigacion

Analisis del contorno de superficie de respuesta para °Brix. El contorno de la superficie de respuesta (Figura 16), muestra que al desplazarse de derecha a izquierda sobre el efecto de la pulpa de café y de arriba hacia abajo sobre el efecto de la cantidad de azucar, considerando una cantidad de levadura intermedia, los °Brix finales van a ser mayores. Es decir, la degradación del azucar a medida que aumenta la cantidad de pulpa y mucílago de café, es mayor, corroborando las consideraciones anteriores que indican la importancia de la pulpa y mucilago de café sobre la fermentación y la producción de alcohol.

Figura 16. Contorno de la superficie de respuesta estimada sobre °Brix finales.*



*Fuente: esta Investigación

Para un vino se debe mencionar que la cantidad de °Brix determina si la bebida puede ser catalogada como una bebida dulce o seca. Para la bebida fermentada obtenida en esta investigación, y dependiendo de la necesidad del mercado, se muestran los valores óptimos para minimizar la concentración de °Brix finales (bebida fermentada seca) y posteriormente se muestran los valores que maximizan la concentración de grados Brix finales (bebida fermentada dulce).

Dependiendo de la concentración final de azúcares, se obtienen valores máximos y mínimos para cada variable, pues los valores óptimos, son relativos al tipo de bebida que se quiera obtener, aunque se debe resaltar que para esta investigación se buscaba un valor de Brix finales bajo que representa un mayor porcentaje de alcohol.

Tabla 9. Respuestas Óptimas para Brix.*

Optimizar Respuesta

Meta: minimizar Brix finales

Valor óptimo = 4,75148

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
pulpa de café	400,0	800,0	799,975
azúcar	800,0	1400,0	800,011
levadura	0,3	1,5	0,3

Meta: maximizar Brix finales

Valor óptimo = 28,0791

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
pulpa de café	400,0	800,0	400,0
azúcar	800,0	1400,0	805,976
levadura	0,3	1,5	0,3

*Fuente: esta Investigación

Ecuación matemática para Brix. El modelo matemático que describe los grados Brix finales se muestra en la ecuación 2. Esta ecuación es la que modela de forma adecuada los °Brix finales producidos según los resultados obtenidos tras cada experimento, esta ecuación modela una gráfica que muestra el comportamiento de la disminución del azúcar en la fermentación.

Esta ecuación, es el resultado final de la experimentación y es un referente adecuado para optimizar la concentración de azúcares en caso que se requiera, es decir, servirá para estandarizar la concentración de azúcares finales para una

fermentación bajo las mismas condiciones y dentro de los rangos de experimentación.

$$(2) \text{Brix finales} = 121,792 - 0,142917 * \text{pulpa de café} - 0,0995833 * \text{azúcar} - 7,29167 * \text{levadura} + 0,00000625 * \text{pulpa de café}^2 + 0,0000833333 * \text{pulpa de café} * \text{azúcar} + 0,03333333 * \text{pulpa de café} * \text{levadura} + 0,000025 * \text{azúcar}^2 - 0,00833333 * \text{azúcar} * \text{levadura} - 2,08333 * \text{levadura}^2$$

Análisis para gas carbónico obtenido.

El análisis de varianza para el gas carbónico obtenido en la fermentación, se muestra en la Tabla 10

Tabla 10. Análisis de varianza para CO₂ producido.*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>A:pulpa de café</i>	0,187056	1	0,187056	1,93	0,1807
<i>B:azúcar</i>	1,51906	1	1,51906	15,68	0,0008
<i>C:levadura</i>	0,1444	1	0,1444	1,49	0,2370
<i>AA</i>	0,0152321	1	0,0152321	0,16	0,6961
<i>AB</i>	0,0098	1	0,0098	0,10	0,7539
<i>AC</i>	0,324013	1	0,324013	3,34	0,0832
<i>BB</i>	0,814371	1	0,814371	8,41	0,0092
<i>BC</i>	0,348612	1	0,348612	3,60	0,0731
<i>CC</i>	0,0576205	1	0,0576205	0,59	0,4500
<i>bloques</i>	0,0360533	1	0,0360533	0,37	0,5490
<i>Error total</i>	1,84052	19	0,0968693		
<i>Total (corr.)</i>	5,29567	29			

R-cuadrada = 95,2448 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 89,605 por ciento

Error estándar del est. = 0,311238

Error absoluto medio = 0,193933

Estadístico Durbin-Watson = 2,25337 (P=0,6975)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,146945

*Fuente: Esta Investigación

Al analizar la tabla ANOVA (Tabla 10) se observa que los efectos de pulpa y mucilago de café, levadura, sus interacciones entre sí y con el azúcar, y sus cuadrados no son significativos sobre el CO₂ producido pues su Valor-P es

superior a 0,05. Estos efectos se ven con más claridad en el diagrama de Pareto (Figura 17), mostrada más adelante.

Ejerce un efecto significativo la cantidad de azúcar empleada (B y BB), puesto que es la fuente de carbono que emplea la levadura, su consumo deriva en producción de Alcohol etílico, CO₂, y calor [Peña, 2005], por lo tanto, más azúcar provocara que se desprenda más CO₂.

Se destaca también que el Valor-P de los bloques es muy elevado (0,5490) superior a 0,05 lo que indica que el utilizar o no utilizar bloques no influye de manera significativa en los resultados que pueden obtenerse, es decir la variación entre las repeticiones de cada experimento, no tuvo un efecto significativo en el volumen de CO₂ de las muestras.

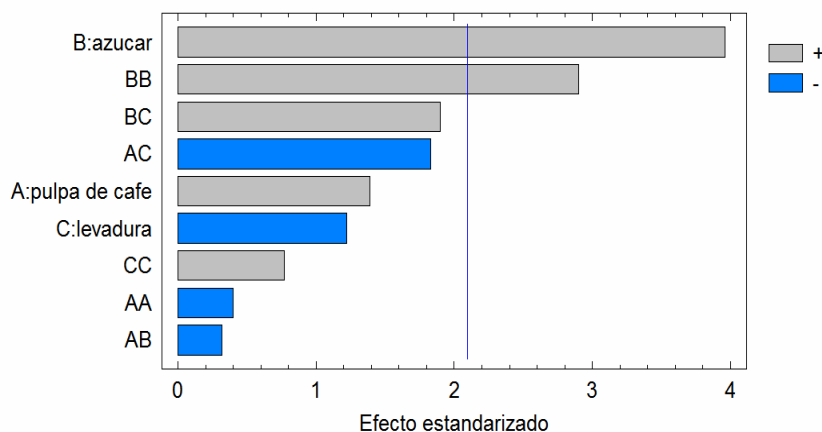
Por su parte el coeficiente R-cuadrado evidencia por su parte un buen ajuste indicando que el modelo diseñado explica el 95,2448% de la variabilidad en el CO₂ producido por las muestras, con lo que se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste permitiendo hacer análisis confiables sobre las variables implicadas en la obtención de las diferentes bebidas fermentadas de café.

El test estadístico de Durbin-Watson señala un valor de 2,25337 cercano a 2, lo que garantiza que no se presentan problemas de autocorrelación, es decir “no se hizo omisión de ninguna variable importante y los errores estándar obtenidos no presentan sesgo alguno” [Moreu, 1999], garantizando una buena aleatorización de los experimentos.

Análisis del diagrama de Pareto para gas carbónico. A continuación se presenta el diagrama de Pareto (Figura 17) en el que se muestran claramente los efectos significativos como no significativos de los efectos de las variables como de sus interacciones sobre la variable de respuesta.

El factor que tiene más efecto sobre la variable de respuesta es el azúcar (Figura 17), pues este es el sustrato con mayor injerencia sobre las levaduras para que se genere el alcohol [Brock., 1998]. De la misma manera la interacción azúcar-azúcar tiene un efecto positivo y significativo.

Figura 17. Diagrama de Pareto para el estudio de los factores de porcentaje de CO₂ obtenido en las muestras*



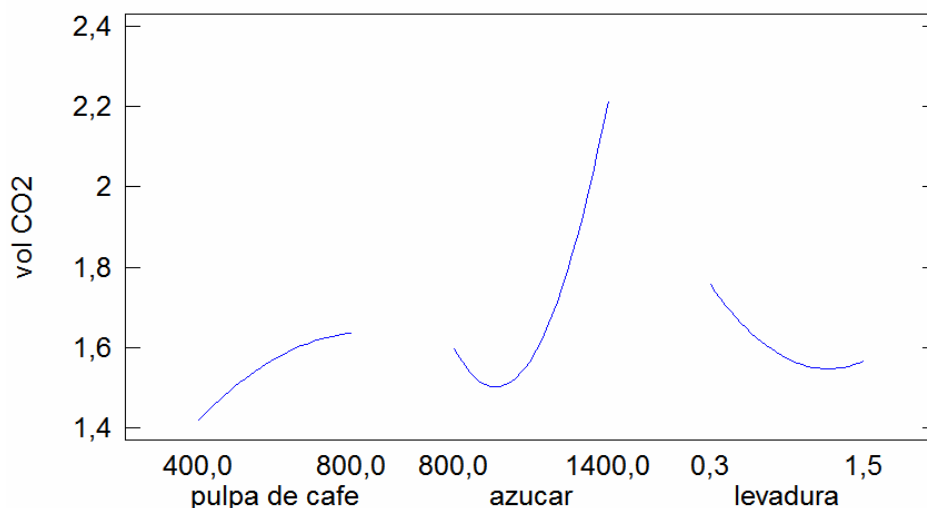
*Fuente: Esta Investigación

Análisis del diagrama de efectos principales para gas carbónico. El diagrama de efectos principales que se muestra a continuación (Figura 18), muestra un marcado efecto de la cantidad de azúcar presente al inicio de la fermentación. Se observa claramente el efecto positivo del incremento de la cantidad de azúcar sobre la variable de respuesta notándose que leves incrementos en ella causan un aumento importante en el CO₂ producido.

El efecto de la pulpa y mucílago de café aunque no es significativo, muestra un efecto positivo (Figura 18), sobre la producción de gas, confirmando que estos elementos tienen un aporte considerable sobre la fermentación.

La levadura muestra tener un mejor efecto en su nivel inferior (Figura 18), pero no tuvo efecto significativo sobre la producción de gas carbónico.

Figura 18. Diagrama de efectos principales para CO₂ producido.*



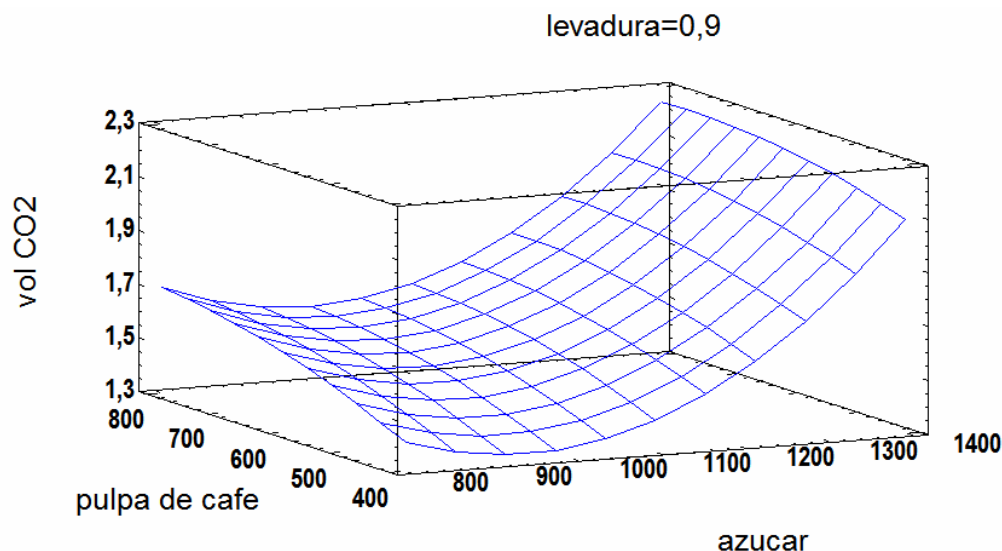
*Fuente: Esta Investigación

Análisis de la superficie de respuesta para gas carbónico. La superficie de respuesta que se presenta a continuación (Figura 19) muestra que la combinación óptima de las variables independientes para maximizar el rendimiento, se encuentra dentro de la región delimitada por los niveles mínimos y máximos de los factores.

Según la Figura 19, se puede ver claramente el efecto marcado de trabajar en el nivel superior de azúcar, esto se debe a que el azúcar es el principal sustrato para que las levaduras formen gas carbónico [Brock., 1998].

El efecto de la pulpa y mucílago de café (Figura 19), tiene un resultado marcado y claro, en este sentido desde el nivel inferior se observa un efecto positivo sobre la producción de alcohol, y mejora en cuanto aumenta la cantidad de estos elementos, debido a que la pulpa y el mucílago aportan elementos necesarios para una adecuada fermentación por parte de las levaduras que aprovechan los nutrientes y forman alcohol a partir de azúcares presentes y por consiguiente un desprendimiento apreciable de gas carbónico.

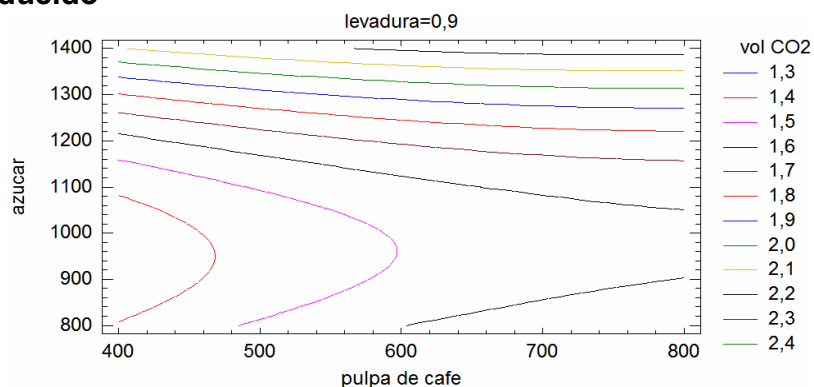
Figura 19. Superficie de respuesta para CO₂ producido*



*Fuente. [Esta investigación]

Análisis del contorno de la superficie de respuesta para gas carbónico. El contorno de la superficie de respuesta (Figura 20), muestra que al desplazarse de izquierda a derecha sobre el efecto de la pulpa de café y de abajo hacia arriba sobre la efecto de la cantidad de azúcar, considerando una cantidad de levadura intermedia, se obtiene un mejor comportamiento de la variable de respuesta, confirmando las consideraciones anteriores, que en el nivel superior de azúcar y pulpa y mucílago de café hay mayor desprendimiento de gas carbonico.

Figura 20. Contorno de la superficie de respuesta estimada sobre el volumen de CO₂ producido*-



*Fuente: Esta Investigación

Análisis respuesta óptima para gas carbonico. La respuesta óptima, es decir cuando se produce la mayor cantidad de gas carbonico, se da cuando tanto el azúcar como la pulpa y el mucilago de café trabajan en su nivel superior.

Tabla 11. Respuesta Óptima para CO₂ producido.*

Optimizar Respuesta

Meta: maximizar volumen CO₂

Valor óptimo = 2,48494

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
pulpa de café	400,0	800,0	800,0
azúcar	800,0	1400,0	1400,0
levadura	0,3	1,5	1,48358

*Fuente: Esta Investigación

El modelo matemático que describe el volumen final de CO₂ producido se muestra en la ecuación 3. Esta ecuación es la que modela de forma adecuada el volumen de CO₂ producido según los resultados obtenidos tras cada experimento, y es la que sirve para posteriores experimentos, en los cuales se requiera obtener valores de producción de gas carbónico en cantidades apropiadas la cual se indica a continuación:

$$(3) \text{ Vol. CO}_2 = 4,37384 + 0,00405417 * \text{pulpa de café} - 0,00778426 * \text{azúcar} - 0,869444 * \text{levadura} - 0,00000113542 * \text{pulpa de café}^2 - 5,83333E-7 * \text{pulpa de café} * \text{azúcar} - 0,00167708 * \text{pulpa de café} * \text{levadura} + 0,00000368981 * \text{azúcar}^2 + 0,00115972 * \text{azúcar} * \text{levadura} + 0,24537 * \text{levadura}^2$$

En general se puede observar que el valor P obtenido para los bloques experimentales (Tablas 6, 8 y 10) resultó ser no significativo para las variables estudiadas (Porcentaje de alcohol final, Brix finales y volumen de CO₂ producido), lo que lleva a concluir que no hubo variación entre las repeticiones de los experimentos, indicando por una parte que el proceso experimental mantuvo durante todas sus fases características homogéneas, atribuidas al estricto control que existió en la preparación de los experimentos, así como también al manejo adecuado de éstos durante todo el proceso de fermentación.

La pulpa y el mucílago de café, tuvieron una acción benéfica (Tabla 8), ya que actuaron, de manera sinérgica sobre los otros factores en los experimentos,

aportando nutrientes adecuados para la levadura, haciendo que ésta trabaje sobre la fuente de energía (azúcar) en la producción de alcohol y CO₂.

En los diagramas de efectos principales (Figuras 9 y 17) se puede observar que el factor azúcar incide directamente sobre el porcentaje de alcohol y el volumen de CO₂ producido. Se observó que al trabajar en el nivel inferior no se obtienen resultados satisfactorios, esto puede atribuirse a que cuando se trabaja con una relación en el nivel inferior, la cantidad de azúcar disponible es baja y así mismo son bajos los valores de alcohol y gas carbónico. Aunque estos valores mejoran cuando hay aporte de los carbohidratos y otros nutrientes presentes en pulpa y mucílago de café (Tabla 5).

En relación con los Brix finales (Figuras 13 y 15), la cantidad de pulpa y mucílago de café empleada afecta directamente en los experimentos. Estos componentes del fruto del café, actúan sobre la levadura para que esta aproveche los azúcares y se produzca etanol y CO₂. Aquí es importante analizar la interacción que tuvo la cantidad de pulpa y mucílago de café, puesto que a medida que aumenta en cantidad, se disminuyen los Brix finales, esto se puede deber a que a mayor concentración de pulpa y mucílago de café, las levaduras tendrían a su disposición mayor cantidad de nutrientes presentes en la pulpa (Tabla 2) y mucílago de café [Ramírez y Jaramillo., 2000], incidiendo en el metabolismo fermentativo de la levadura, para la mayor producción de alcohol y gas carbónico; mientras que cuando se empleó menor cantidad de pulpa y mucílago de café, las levaduras tuvieron disponible como fuente de carbono el azúcar y el aporte de la pulpa y mucílago de café como fuente de nutrientes fue menor.

Finalmente los valores óptimos obtenidos en esta investigación para obtener una bebida fermentada a partir de pulpa y mucílago de café se pueden resumir en la Tabla 12.

Tabla 12. Resumen de los valores óptimos para la producción de una bebida fermentada*

	PULPA DE CAFÉ Y MUCILAGO (g)	AZÚCAR (g)	LEVADURA (g)
% Alcohol Producido	449,846	1399,98	1,5
Grados Brix	799,975	800,011	0,3
CO2 producido	800	1400	1,4

*Fuente: Esta investigación

En la tabla 12 se puede observar los mejores valores de pulpa y mucílago de café, azúcar y de levadura para obtener los mejores resultados para porcentaje de alcohol, Brix y gas carbónico; es decir para obtener una mayor concentración de alcohol final, menores Brix y más gas carbónico producido. La cantidad de azúcar y levadura utilizados están acordes con experimentos realizados por [Perez.,

2003] donde dice que para obtener un porcentaje de alcohol de 11,7 y 14,9, se debe utilizar entre 200 y 350 gramos por litro de azúcar respectivamente.

6.1.2 Análisis cromatográficos

Análisis cromatográfico para Alcoholes: Los resultados de los análisis reportados por los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, para las diferentes muestras analizadas se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Composición relativa porcentaje de área de alcoholes en el destilado de la bebida fermentada*

	ETANOL (%)	METANOL (%)	OTROS COMPUESTOS (%)	CUANTIFICACIÓN DEL METANOL (mg/L)
MUESTRA 1	99,4	0,02	0,58	25
MUESTRA 2	99,3	0,02	0,72	42
MUESTRA 3	99,5	0,02	0,52	68,6
MUESTRA 4	99,4	0,02	0,62	34,3
MUESTRA 5	99,2	0,02	0,82	57,1
MUESTRA 6	99	0,04	1,04	86
MUESTRA 7	99,6	0,04	0,44	90,95
MUESTRA 10	99,6	0,04	0,44	88
MUESTRA 11	99,6	0,03	0,43	73,9
MUESTRA 13	99,6	0,03	0,43	65,93

*Fuente: Esta Investigación

El análisis cromatográfico de las muestras de esta bebida fermentada realizadas para etanol y metanol, es comparable con los porcentajes de alcoholes encontrados en vinos.

El contenido de metanol en vinos de todo el mundo indican concentraciones en un rango que va desde 40-120 mg/litro para los vinos blancos y en un rango de 120-250 mg/litro para los vinos tintos. A pesar de ser el metanol tóxico, las cantidades que poseen el vino no son malignas ya que las dosis letales de 340 ml/kg de peso, hace que una persona media de 70 kg tenga que tomar aproximadamente doscientos *litros* [Gnekow, 2003].

Analizando la composición relativa se observa que las muestras contienen de 0.025 a 90,95 mg/l de metanol (Tabla 12), por lo tanto, están dentro del rango de metanol presente en vinos y no representa peligro alguno para la salud del consumidor.

Análisis cromatográfico para ácidos grasos: Los ácidos grasos presentes en todas las muestras analizadas por los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño fueron los siguientes:

- ✓ Acido Dodecanoico o Acido Láurico
- ✓ Acido Hexadecanoico o Acido Palmítico
- ✓ Acido Oleico

Los ácidos grasos encontrados, son ácidos grasos comunes en todos los alimentos [Chapman, 1999]. Los ácidos grasos más comunes son los que poseen un número par de átomos de carbono, con cadenas entre los 14 y los 22 átomos de carbono. Entre los ácidos grasos saturados el más corriente es el ácido palmítico (C₁₆) y entre los ácidos grasos insaturados el ácido oleico (C₁₈) [Lehninger, 2001].

En la fermentación se pueden producir un conjunto de agentes saborizantes específicos. Entre las sustancias saborizantes más importantes de la fermentación están las metil-cetonas (2-heptanona, 2-nonanona, 2-pentanona), los ácidos grasos (ácido láurico, ácido oleico) y los alcoholes secundarios con 5 – 11 átomos de carbono [Crueger., 1993].

Comparativamente los ácidos grasos presentes en la bebida fermentada se coinciden con los ácidos grasos encontrados reportados para vinos [Zea et al., 2001] y el coñac [Ledauphin, 2005].

Análisis cromatográfico para volátiles: Los compuestos volátiles identificados en las muestras analizadas, por los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño fueron:

- ✓ 2-Metil-1-Butanol/ 3-Metil-1-Butanol
- ✓ 2-Hexenol
- ✓ β-Damascenona
- ✓ Guaiol
- ✓ Hexadecanona
- ✓ Octanoato de Etilo
- ✓ Etil-Hexadecanoato
- ✓ 5-Metilfurfural
- ✓ 5-Oxymetilfurfurolo
- ✓ Hexanoato de Etilo
- ✓ 4-Vinilfenol
- ✓ 1-Octadecanol
- ✓ Octadecanoato de Butilo
- ✓ Acetato de Isoamilo

✓ Alcohol isoamilico

Fuente: Esta Investigación

Hay que mencionar que algunos compuestos volátiles no fueron identificados porque se requiere hacer cromatografía de gases acoplado a detector selectivo de masas.

Los compuestos obtenidos para la bebida fermentada son compuestos comunes que se presentan en las bebidas fermentadas de frutas. En los compuestos encontrados se pueden identificar ésteres, alcoholes, terpenos y ácidos [Aznar et al, 2001].

Comparativamente algunos de los compuestos obtenidos en la bebida fermentada se encuentran en todos los vinos ya que se han identificado 12 odorantes con valores de aroma superiores a la unidad y por tanto, contribuyentes natos del aroma de todos los vinos: cuatro ésteres (butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y acetato de isoamilo), probablemente responsables de las notas frutales; cuatro ácidos (butírico, hexanoico, octanoico e isovalerianico), cuyos descriptores aromáticos son grasa y lácteo; dos alcoholes superiores (isoamílico y fenil etílico), responsables de las notas fusel, y, por último, el diacetilo, con descriptor a mantequilla y leche, y la B-damascenona, con descriptor floral [López, 1999].

Análisis de cromatografía para alcoholes: Si se analiza la Tabla 13, se puede concluir que se logró producir una bebida fermentada. Este producto obtenido es un producto confiable, de buena calidad, que puede ser consumido sin riesgos.

Las cantidades de metanol están en un rango muy aceptable por debajo del promedio del rango reportado por Gnekow (2003), que oscila entre 40 y 250mg/L.

El metanol no es resultado directo de la fermentación, sino de la hidrólisis de las pectinas mediante acción enzimática [Rivero-Pérez et al., 2002]. Para que disminuya la cantidad de metanol presente se recomienda pasteurizar la muestra [Sponholz, 2002]. Los análisis mostrados en la Tabla 12 se realizaron sobre las muestras al concluir el proceso de fermentación, sin un tratamiento previo, precisamente para conocer las verdaderas cantidades presentes en el producto.

Análisis para ácidos grasos: Los ácidos grasos obtenidos tienen propiedades entre las que se destaca el ácido oleico que es un ácido graso monoinsaturado de la serie omega 9 típico de los aceites vegetales como el aceite de oliva, del aguacate, etc. Ejerce una acción beneficiosa en los vasos sanguíneos reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y hepáticas [NIST Chemistry, 2005].

Caso contrario se presenta con el ácido palmítico que es un ácido graso saturado de cadena larga menos sano porque aumenta el nivel del colesterol en la sangre. Este ácido constituye el 60% de la dieta de las personas, pues está presente en las carnes y las grasas lácteas. [NIST Chemistry, 2005].

Análisis para volátiles: Los compuestos identificados para las diferentes muestras pueden ser comparados con la Tabla 14.

Tabla 14. Descripción aromática del vino*

COMPUESTOS	DESCRIPCION SENSORIAL
1-butanol	Alcohólico
1-octadecanol	Alcohólico, dulzón
2-hexenol	Manzana, verde, herbáceo
3-hexenol	Hoja verde, herbáceo
3metil - 1 butanol	Alcohólico, vinoso, dulzón, plátano
4-etilfenol	Fenolico, madera, medicinal
4-vinilfenol	Dulce
5-metilfurfural	Afrutado
5-oximetilfurfurolo	Afrutado, herbáceo
Acetato de amilo	Dulce, frutal, plátano
Acetato de butilo	Frutal, dulzón, fresa sintética
Acetato de etilo	disolvente, pegamento, dulzón, frutal
Acetato de feniletilo	Rosa, miel, dulzón
Acetato de hexilo	Manzana madura, frutal
Acetato de isobutilo	Frutal, plátano, fresa sintética
Acetato de propilo	Disolvente, frutal, químico
Decanoato de etilo	Frutal, caprónico, dulzón, disolvente
Etanol	Alcohólico, fuerte
Etil-hexadecanoato	caramelo de coco
Guaiol	Especiado, clavo, vainilla
Heptanol	Alcohólico, graso
Hexadecanona	-----
Hexanoato de etilo	Frutal, manzana, anisado
Hexanol	Alcohólico, dulzón, almendra verde, herbáceo
Isobutanol	Alcohólico
Isobutirato de etilo	Frutal, manzana, papaya
Lactato de etilo	Frutal jabonoso
Octadecanoato de butilo	Frutal, fresco, vainilla
Octanoato de etilo	Frutal, manzana, dulzón

Octanol	Alcohólico, graso
Pentanol	Alcohólico, yodofromo
Propanoato de etilo	Fruta, sintética manzana
Propanol	Alcohólico, dulzón
B-damascenona	Floral, rosa, polen

Fuente: Cedrón, 2004

Analizando los compuestos obtenidos por las muestras, con los presentados en la Tabla 36, se deduce que los componentes volátiles de la muestra son buenos, pues el aroma que se desprende de las muestras es gustoso y agradable, por lo tanto, esta característica hace del producto obtenido, un producto que sigue de excelente calidad.

La variación presente en la cantidad de los compuestos volátiles presentes en las muestras se debe a la cantidad de pulpa y mucilago de café, pues esta es la única variable que puede influir sobre los ácidos y compuestos volátiles presentes en las muestras, características propias del producto.

6.1.3 Características Organolépticas

Análisis organoléptico para aroma: El aroma en una bebida fermentada resulta por los compuestos fenólicos y esteres propios del fruto y su variedad [Vernon, 1987]. Tomando como referencia el vino, el aroma determina su calidad clasificándolo como vino fino u oloroso, e incide en la escogencia del vino [Barón et al, 1997; Freitas et al, 1999]. En este estudio las muestras de la bebida fermentada obtenida mostraron diferencias significativas en el aroma.

Para establecer si existen diferencias significativas entre las muestras se empleó el programa Statgraphics, aplicando la comparación de varias muestras, los resultados fueron los siguientes:

Tabla 15. Análisis de varianza para aroma*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	35,3333	14	2,52381	5,87	0,0000
Intra grupos	58,0	135	0,42963		
Total (Corr.)	93,3333	149			

*Fuente: Esta Investigación

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 5,87438, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 15 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

De acuerdo a la Tabla 16, se pudo observar que existió baja variabilidad en la percepción del aroma de las muestras. Se obtuvieron muestras que gustaron más, en las que se resaltó de manera positiva el aroma característico de la bebida fermentada de café. Por otro lado existieron algunas muestras que aromáticamente no expresaban un diferenciador, sino que la percepción general los catalogó como una bebida fermentada con un aroma tradicional.

Tabla 16: Pruebas de múltiples rangos para aroma*

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
M9	10	3,0	X
M14	10	3,3	XX
M10	10	3,5	XXX
M12	10	3,6	XX
M6	10	3,6	XX
M7	10	3,8	XX
M5	10	3,8	XX
M15	10	4,0	XX
M1	10	4,0	XX
M4	10	4,0	XX
M2	10	4,0	XX
M11	10	4,5	XX
M13	10	4,6	X
M3	10	4,6	X
M8	10	4,7	X

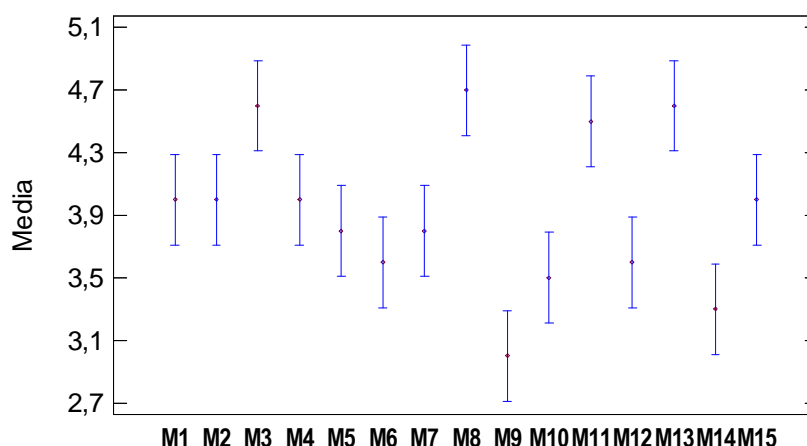
*Fuente: Esta Investigación

Además en la Tabla 16 se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, que nos garantiza un nivel de confianza de 95%.

Analizando la Tabla 16 se observa que la mayoría de las muestras tuvieron ciertas similitudes, es cierto que se destacan unas muestras más que otras, pero esto demuestra que existe un aroma propio, particular y característico para la bebida fermentada de café.

La Figura 21 permite identificar las muestras con la calificación de aroma más alto y su valor promedio, se destacan por su alta calificación las muestras 3, 8, 11 y 13. Sin embargo, no se identifican las similitudes que pueden existir entre las diferentes muestras, como lo resalta la prueba de múltiples rangos para aroma (Tabla 16).

Figura 21. Valor del promedio de las muestras para aroma.*



*Fuente: Esta Investigación

La prueba de Kruskal-Wallis (Tabla 17) evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 15 columnas es la misma. Primero se combinan los datos de todas las columnas y se ordenan de menor a mayor. Después, se calcula el rango promedio para los datos de cada columna. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 17: Prueba de Kruskal-Wallis para aroma*

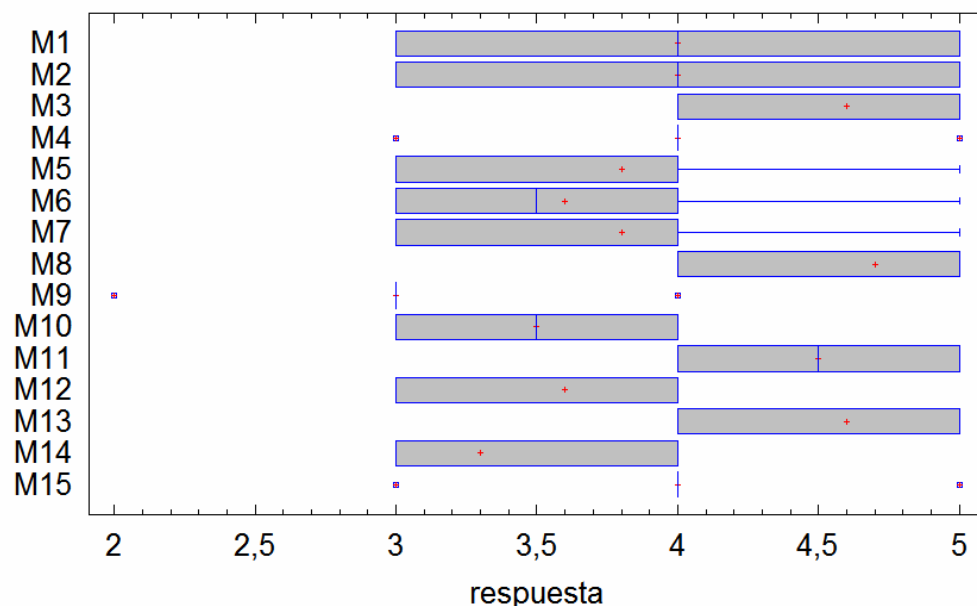
	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
M1	10	78,4
M2	10	78,4
M3	10	110,0
M4	10	79,2
M5	10	68,4
M6	10	58,0
M7	10	68,4
M8	10	115,0
M9	10	28,9
M10	10	53,0
M11	10	105,0
M12	10	58,4
M13	10	110,0
M14	10	42,2
M15	10	79,2

Estadístico = 55,991 Valor-P = 5,84563E-7

*Fuente: Esta Investigación

La Figura 22, de cajas y bigotes muestra la variabilidad de la mediana de cada uno de los experimentos y destaca los que mayor puntuación tienen, ubicándolos al lado derecho del gráfico.

Figura 22. Diagrama de cajas y bigotes para aroma



Fuente: Esta Investigación

La Figura 22 nos muestra de manera más clara las muestras con el mejor aroma, nos permite identificar el rango de la calificación otorgada de cada muestra. Las muestras (3, 8, 11 y 13) con las puntuaciones más altas se encontraron sus calificaciones dentro de la caja, lo que significa que la calificación es homogénea, por lo que se puede afirmar la calidad de las muestras favorecidas con respecto a la variable aroma.

A continuación se presentan los factores y los niveles de las muestras que obtuvieron mejor calificación de aroma (Tabla 18).

Tabla 18. Muestras con el puntaje más alto para aroma*

N° EXP.	Pulpa De Café (g)	Azúcar (g)	Levadura (g)
3	600	800	0,3
8	600	1400	0,3
11	400	1400	0,9
13	400	1100	1,5

*Fuente: Esta Investigación

Análisis organoléptico para color: El color de una bebida fermentada procede de la materia prima con que se elaboran, los pigmentos (antocianinos y taninos) se localizan en la piel del fruto (cascara) de forma exclusiva y ocasionalmente también en su pulpa [Escudero et al, 2007]. Tomando como referencia el vino, el color indica la madurez, un vino joven tendrá un color más pálido, mientras que un vino viejo tendrá un color más oscuro [Fariña et al, 2005]. En este estudio las muestras de la bebida fermentada obtenida mostraron diferencias significativas en el color.

Para establecer si existen diferencias significativas entre las muestras se empleó el programa Statgraphics, aplicando la comparación de varias muestras, los resultados fueron los siguientes:

Tabla 19. Análisis de la varianza para color*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	67,64	14	4,83143	12,81	0,0000
Intra grupos	50,9	135	0,377037		
Total (Corr.)	118,54	149			

*Fuente: Esta Investigación

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 12,8142, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 15 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Esto indica que se presentó alta variabilidad. Existieron muestras que gustaron más, en las que se resaltó el color de la bebida fermentada de café, el color que gustó más fue el que presento un color café con tonalidad rojiza. Por otra parte el color que menos gusto fue el color café con tonalidad clara, pues es un color pálido que no llama la atención.

En la Tabla 20 se han identificado 8 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, que nos garantiza un nivel de confianza de 95%.

Analizando la Tabla 20 se observa que la mayoría de las muestras comparten ciertas similitudes con respecto al color, es cierto que se destacan unas muestras más que otras, pero se demuestra que existe un color propio, particular y característico para la bebida fermentada de café.

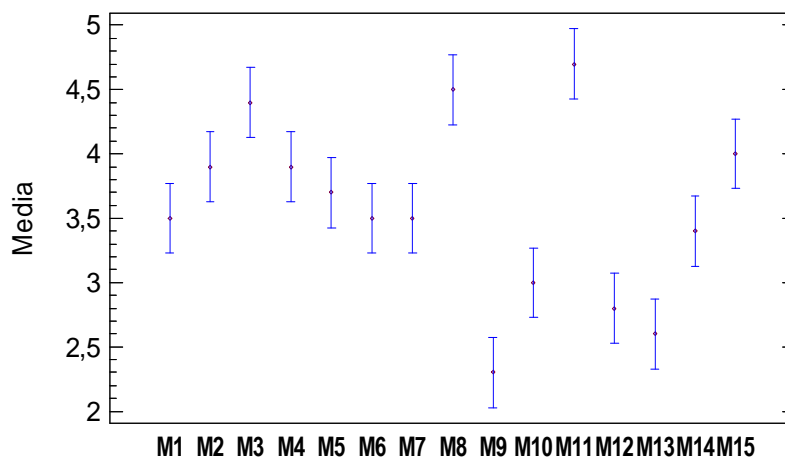
Tabla 20. Pruebas de Múltiple Rangos para color*

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
M9	10	2,3	X
M13	10	2,6	XX
M12	10	2,8	XX
M10	10	3,0	XX
M14	10	3,4	XX
M6	10	3,5	XXX
M1	10	3,5	XXX
M7	10	3,5	XXX
M5	10	3,7	XX
M2	10	3,9	XXX
M4	10	3,9	XXX
M15	10	4,0	XXX
M3	10	4,4	XXX
M8	10	4,5	XX
M11	10	4,7	X

*Fuente: Esta Investigación

La Figura 23 nos permite identificar las muestras con la más alta calificación de color y su valor promedio. Se destacan por su alta calificación las muestras 3, 8, 11 y levemente la 15. Sin embargo, no se identifican las similitudes que pueden existir entre las diferentes muestras, como lo resalta la prueba de múltiples rangos para aroma (Tabla 19).

Figura 23. Valor del promedio de las muestras para color*



*Fuente: Esta Investigación

La prueba de Kruskal-Wallis (Tabla 21) evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 15 columnas es la misma. Primero se combinan los datos de todas las columnas y se ordenan de menor a mayor. Después, se calcula el rango promedio para los datos de cada columna. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 21. Prueba de Kruskal-Wallis para color.*

	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
M1	10	71,0
M2	10	91,05
M3	10	114,8
M4	10	91,05
M5	10	81,9
M6	10	69,25
M7	10	71,0
M8	10	118,5
M9	10	18,9
M10	10	45,5
M11	10	125,9
M12	10	37,9
M13	10	31,95
M14	10	67,3

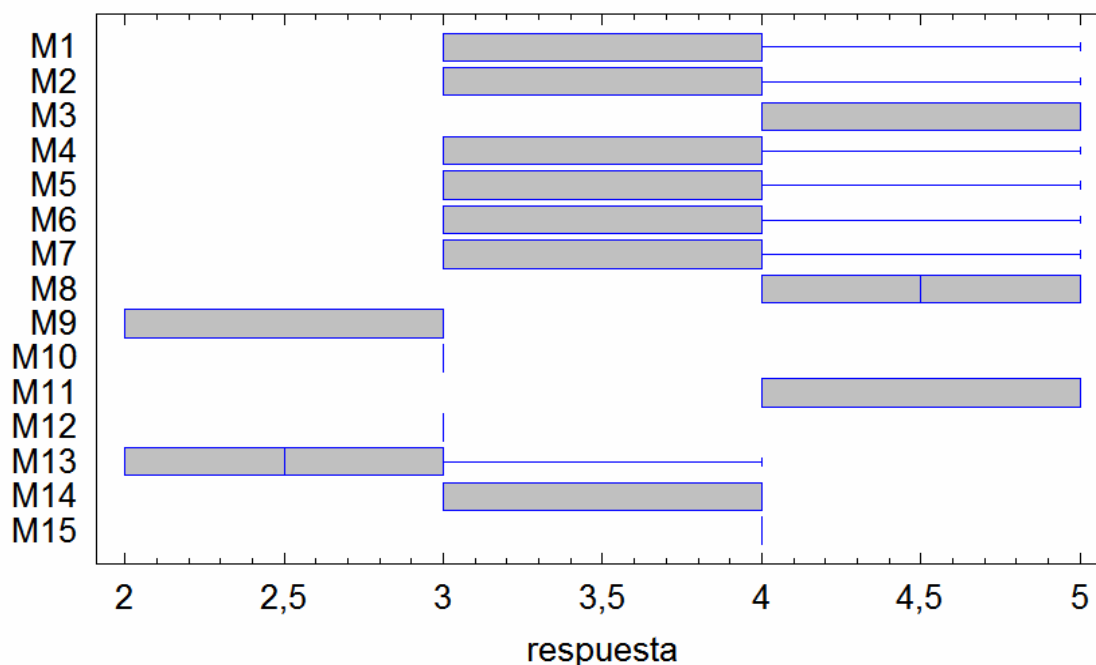
M15	10	96,5
-----	----	------

Estadístico = 85,8829 Valor-P = 2,26075E-12

*Fuente: Esta Investigación

La Figura 24 de cajas y bigotes muestra la variabilidad de la mediana de cada uno de los experimentos y destaca los que mayor puntuación tienen, ubicándolos al lado derecho del gráfico.

Figura 24. Diagrama de cajas y bigotes para color.



*Fuente: Esta Investigación

La Figura 24 nos muestra de manera más clara las muestras con el mejor color, nos permite identificar de mejor manera el rango de la calificación otorgada de cada muestra. Las muestras con las puntuaciones más altas encontraron sus calificaciones dentro de la caja, lo que significa que la calificación es homogénea, por lo que se puede afirmar la calidad de las muestras favorecidas con respecto a la variable aroma.

Respecto de la muestra 15 si se observa el valor del promedio de las muestras para color (Figura 23) esta pasaría como muy buena, pero observando con mayor cuidado el diagrama de cajas y bigotes nos damos cuenta realmente de que su rango de calificación la ubica dentro de una valoración media.

A continuación se presentan los factores y los niveles de las muestras con mayor aporte para color (Tabla 22).

Tabla 22. Muestras con el puntaje más alto para color*

N° EXP.	Pulpa De Café (g)	Azúcar (g)	Levadura (g)
3	600	800	0,3
8	600	1400	0,3
11	400	1400	0,9
13	400	1100	1,5

*Fuente: Esta Investigación

Análisis organoléptico para brillo El brillo es un factor que determina la turbidez o brillantez de una bebida fermentada [Barón et al, 1997]. Tomando como referencia el vino, el brillo determina su calidad clasificándolo como vino turbio, limpio o brillante [Freitas et al, 1999].

Tabla 23. Análisis de varianza para brillo.*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	69,3733	14	4,95524	11,28	0,0000
Intra grupos	59,3	135	0,439259		
Total (Corr.)	128,673	149			

*Fuente: Esta Investigación

La tabla ANOVA (Tabla 23) descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 11,2809, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 15 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Esto indica que existió alta variabilidad. Se obtuvieron muestras que gustaron más, aunque todas las muestras fueron catalogadas como limpias, algunas se destacaron por su tonalidad vivaz, que exaltaba de mejor manera el color que presentaba cada muestra.

En Tabla 24 se han identificado 9 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado

actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, que nos garantiza un nivel de confianza de 95%.

Analizando la Tabla 24 se puede concluir que respecto a este parámetro existió mayor variación, existieron muestras con un grado de brillo superior y otras que presentaban un brillo menor, pero eran catalogadas como limpias.

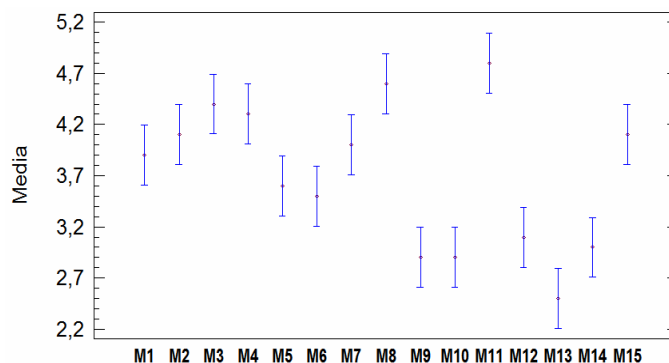
Tabla 24. Pruebas de múltiples rangos para brillo*

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
M13	10	2,5	X
M9	10	2,9	XX
M10	10	2,9	XX
M14	10	3,0	XXX
M12	10	3,1	XXX
M6	10	3,5	XXX
M5	10	3,6	XXX
M1	10	3,9	XXX
M7	10	4,0	XXX
M15	10	4,1	XXX
M2	10	4,1	XXX
M4	10	4,3	XXX
M3	10	4,4	XXX
M8	10	4,6	XX
M11	10	4,8	X

*Fuente: Esta Investigación

La Figura 25 nos permite identificar las muestras con la calificación de brillo más alto y su valor promedio, se destacan por su alta calificación las muestras 3, 8 y 11 destacablemente y levemente las muestras 2, 4 y 15. Sin embargo, no se identifican las similitudes que pueden existir entre las diferentes muestras, como lo resalta la prueba de múltiples rangos para aroma (Tabla 24).

Figura 25. Valor del promedio de las muestras para brillo.*



*Fuente: Este Investigación

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 15 columnas es la misma. Primero se combinan los datos de todas las columnas y se ordenan de menor a mayor. Después, se calcula el rango promedio para los datos de cada columna. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 25. Prueba de Kruskal-Wallis para brillo.*

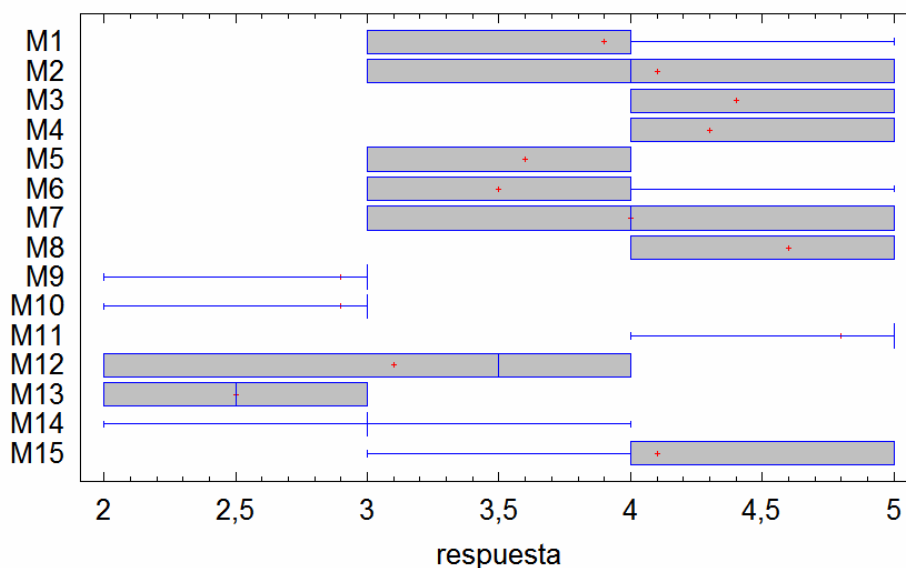
	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
M1	10	83,75
M2	10	92,15
M3	10	107,3
M4	10	103,1
M5	10	70,3
M6	10	63,55
M7	10	87,1
M8	10	115,7
M9	10	36,7
M10	10	36,7
M11	10	124,1
M12	10	52,05
M13	10	23,5
M14	10	43,5
M15	10	93,0

Estadístico = 81,6008 Valor-P = 1,42667E-11

*Fuente: Esta Investigación

A continuación se muestra el gráfico de cajas y bigotes (Figura 26) que muestra la variabilidad de la mediana de cada uno de los experimentos y destaca los que mayor puntuación tienen, ubicándolos al lado derecho del gráfico.

Figura 26. Diagrama de cajas y bigotes para brillo*



*Fuente Esta Investigación

La Figura 26 muestra de manera más clara las muestras con el mejor brillo, nos permite identificar de mejor manera el rango de la calificación otorgada de cada muestra. Las muestras con las puntuaciones más altas se encontraron en las muestras 3 y en la 4 sus resultados se encontraron dentro de la caja, lo que significa que la calificación es homogénea, para la muestra 11 la calificación es muy alta, su valor está ubicado prácticamente en cinco, por eso no se dibuja la caja, sino que aparece una línea más larga del lado derecho, que indicaría el comienzo y fin de la caja (por ser cinco el valor máximo otorgado), las otras muestras presentan una mayor variación con respecto a las calificaciones atribuidas, así pues se puede afirmar la calidad de las muestras favorecidas con respecto a la variable brillo.

A continuación se presenta los factores y los niveles de las muestras que obtuvieron mayor calificación para brillo (Tabla 26).

Tabla 26. Muestras con el puntaje más alto para brillo*

N° EXP.	Pulpa De Café (g)	Azúcar (g)	Levadura (g)
2	600	1400	1,5
3	600	800	0,3
4	600	1100	0,9
8	600	1400	0,3
11	400	1400	0,9
15	800	1100	0,3

*Fuente: Esta Investigación

Análisis organoléptico para sabor: El sabor en una bebida fermentada lo da el fruto empleado, el sabor está relacionado principalmente con la madurez del fruto. [Barón et al, 1997]. En este estudio las muestras de la bebida fermentada obtenida mostraron diferencias significativas en el sabor.

Tabla 27. Análisis de la variancia para sabor.*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	34,6933	14	2,4781	6,12	0,0000
Intra grupos	54,7	135	0,405185		
Total (Corr.)	89,3933	149			

*Fuente Esta Investigación

La tabla ANOVA (Tabla 27) descompone la variancia de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 6,11596, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 15 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

La Tabla 28 indica que existió baja variabilidad, se obtuvieron muestras que gustaron más, que el sabor es agradable a nivel general, pero hay muestras que se destacan por su sabor, que dejan al gusto una mayor y mejor sensación.

Tabla 28. Pruebas de Múltiple Rangos para sabor*

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M12	10	3,0	X
M10	10	3,3	XX
M7	10	3,4	XX
M13	10	3,4	XX
M9	10	3,4	XX
M6	10	3,5	XX
M14	10	3,7	XX
M5	10	3,7	XX
M1	10	3,8	XX
M4	10	3,8	XX
M15	10	4,2	XX
M8	10	4,4	X
M3	10	4,5	X
M11	10	4,5	X
M2	10	4,5	X

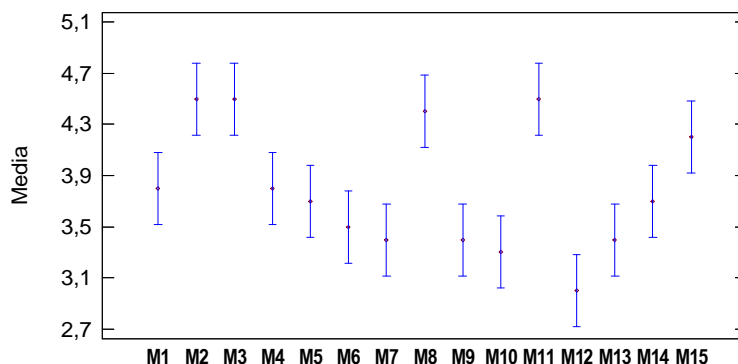
*Fuente: Esta Investigación

En la Tabla 28 se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, que nos garantiza un nivel de confianza de 95%.

Analizando la Tabla 28 se observa que las muestras comparten ciertas similitudes con respecto al sabor, es cierto que se destacan unas muestras más que otras, pero se demuestra que existe un sabor propio, particular y característico para la bebida fermentada de café.

La Figura 27 nos permite identificar las muestras con la calificación de sabor más alto y su valor promedio, se destacan por su alta calificación las muestras 2, 3, 8, 11 y levemente la 15. Sin embargo no se identifican las similitudes que pueden existir entre las diferentes muestras, como lo resalta la prueba de múltiples rangos para aroma (Tabla 28).

Figura 27. Valor del promedio de las muestras para sabor*



*Fuente: Esta Investigación

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 15 columnas es la misma. Primero se combinan los datos de todas las columnas y se ordenan de menor a mayor. Después, se calcula el rango promedio para los datos de cada columna. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 29. Prueba de Kruskal-Wallis para sabor.*

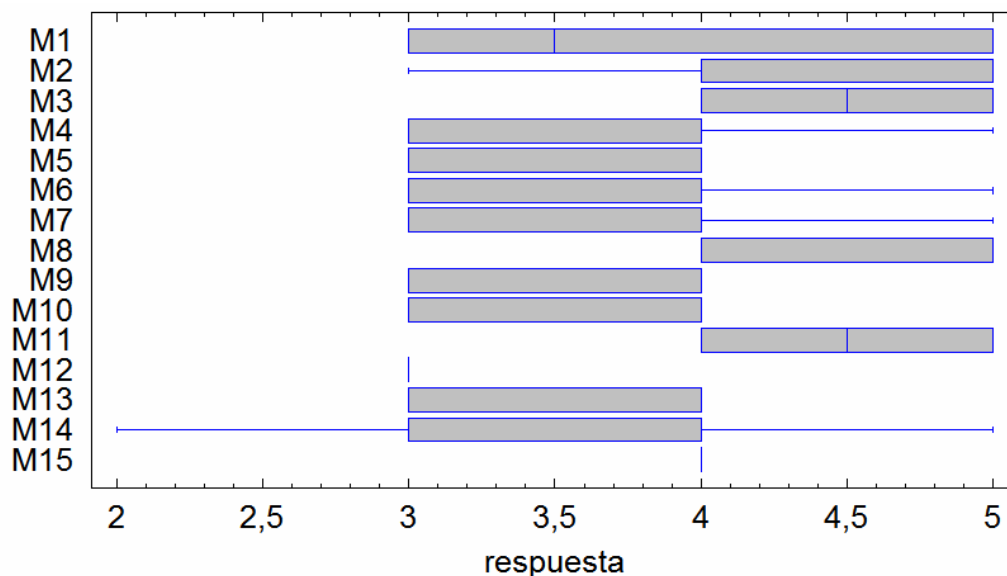
	<i>Tamaño de Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
M1	10	73,55
M2	10	110,75
M3	10	112,0
M4	10	74,8
M5	10	71,45
M6	10	57,25
M7	10	52,65
M8	10	107,4
M9	10	53,9
M10	10	48,05
M11	10	112,0
M12	10	33,45
M13	10	53,9
M14	10	73,15
M15	10	98,2

Estadístico = 59,4026 Valor-P = 1,49285E-7

*Fuente: Esta Investigación

La Figura 28 de cajas y bigotes muestra la variabilidad de la mediana de cada uno de los experimentos y destaca los que mayor puntuación tienen, ubicándolos al lado derecho del grafico.

Figura 28. Diagrama de cajas y bigotes para sabor.



*Fuente: Esta Investigación

La Figura 28 nos muestra de manera más clara las muestras con el mejor sabor, nos permite identificar de mejor manera el rango de la calificación otorgada de cada muestra. Las muestras con las puntuaciones más altas se encontraron dentro de la caja, lo que significa que la calificación es homogénea, por lo que se puede afirmar la calidad de las muestras favorecidas con respecto a la variable sabor.

La Tabla 30 presenta los factores y los niveles de las muestras que obtuvieron mayor calificación para sabor.

Tabla 30. Muestras con el puntaje más alto para sabor*

N° EXP.	Pulpa De Café (g)	Azúcar (g)	Levadura (g)
3	600	800	0,3
8	600	1400	0,3
11	400	1400	0,9
13	400	1100	1,5

*Fuente: Esta Investigación

Análisis organoléptico para palatabilidad: La palatabilidad la conforman un conjunto de características organolépticas de un alimento, independientemente de su valor nutritivo, que hacen que para un determinado individuo dicho alimento sea más o menos placentero [Barón et al, 1997].

Esta calificación es, en gran medida, una apreciación subjetiva dependiente de la experiencia previa del individuo.

La tabla ANOVA (Tabla 31) descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 10,9553, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 15 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 31. Análisis de la varianza para palatabilidad.*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	57,3733	14	4,0981	10,96	0,0000
Intra grupos	50,5	135	0,374074		
Total (Corr.)	107,873	149			

*Fuente: Este Estudio

La Tabla 32 indica que hubo alta variabilidad entre las muestras, esto dependió de la subjetividad del catador de la prueba, pues no a todos les gusta el sabor dulce o seco de la bebida fermentada y el contenido de alcohol que esta posee.

Tabla 32. Pruebas de Múltiple Rangos para palatabilidad.*

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
M12	10	2,7	X
M9	10	2,8	XX
M10	10	3,0	XXX
M6	10	3,3	XXX
M13	10	3,5	XX
M7	10	3,5	XX
M14	10	3,6	XX
M5	10	3,7	XXX
M1	10	3,8	XXXX
M2	10	4,1	XXXX

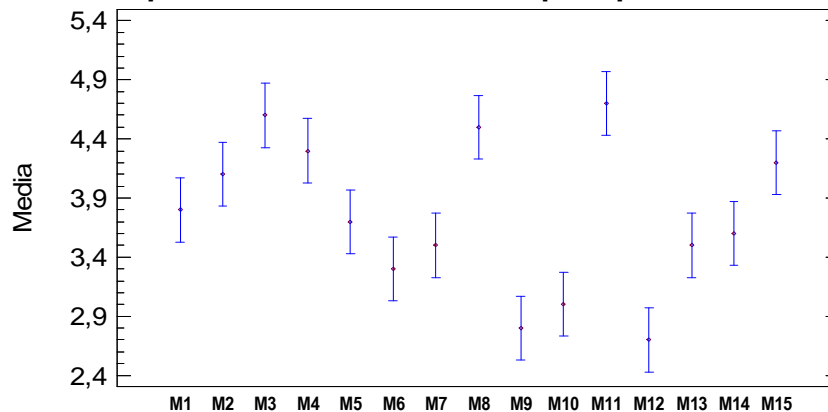
M15	10	4,2	XXXX
M4	10	4,3	XXX
M8	10	4,5	XX
M3	10	4,6	XX
M11	10	4,7	X

*Fuente: Esta Investigación

En la Tabla se han identificado 9 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, que nos garantiza un nivel de confianza de 95%.

La Figura 29 nos permite identificar las muestras con la calificación de palatabilidad más alto y su valor promedio, se destacan por su alta calificación las muestras 3, 8, 11 y levemente la 15. Sin embargo, no se identifican las similitudes que pueden existir entre las diferentes muestras, como lo resalta la prueba de múltiples rangos para aroma (Tabla 32).

Figura 29. Valor del promedio de las muestras para palatabilidad.*



*Fuente: Esta Investigación

La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 15 columnas es la misma. Primero se combinan los datos de todas las columnas y se ordenan de menor a mayor. Después, se calcula el rango promedio para los datos de cada columna. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 33. Prueba de Kruskal-Wallis para palatabilidad.*

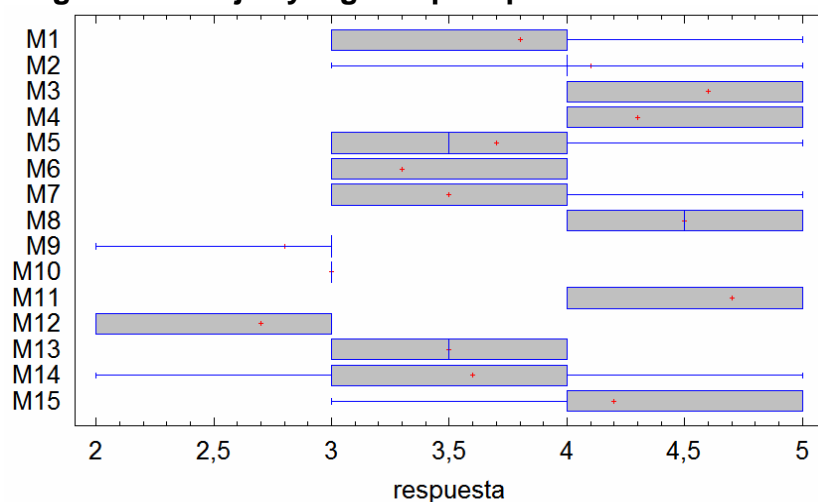
	Tamaño de Muestra	Rango Promedio
M1	10	77,5
M2	10	94,0
M3	10	116,5
M4	10	103,75
M5	10	72,0
M6	10	52,5
M7	10	61,0
M8	10	112,25
M9	10	29,5
M10	10	36,0
M11	10	120,75
M12	10	26,25
M13	10	63,5
M14	10	70,0
M15	10	97,0

Estadístico = 81,8005 Valor-P = 1,30967E-11

*Fuente: Esta Investigación

A continuación se muestra el gráfico de cajas y bigotes (Figura 30) que muestra la variabilidad de la mediana de cada uno de los experimentos y destaca los que mayor puntuación tienen, ubicándolos al lado derecho del gráfico.

Figura 30. Diagrama de cajas y bigotes para palatabilidad.*



*Fuente: Esta Investigación

La Figura 30 muestra de manera más clara las muestras con la mejor palatabilidad, permite identificar de mejor manera el rango de la calificación otorgada de cada muestra. Las muestras con las puntuaciones más altas encontraron sus calificaciones dentro de la caja, lo que significa que la calificación es homogénea, por lo que se puede afirmar la calidad de las muestras favorecidas con respecto a la variable palatabilidad.

La Tabla 34 presenta los factores y niveles de las muestras que obtuvieron el mejor puntaje para palatabilidad.

Tabla 34. Muestras con el puntaje más alto para palatabilidad*

Nº EXP.	Pulpa De Café (g)	Azúcar (g)	Levadura (g)
3	600	800	0,3
8	600	1400	0,3
11	400	1400	0,9
15	800	1100	0,3

*Fuente: Esta Investigación

En cuanto a los análisis organolépticos hay que destacar que la calificación general de las muestras fue buena, hubo aceptación por parte de los encuestados, a pesar de las diferencias que hay en gusto hacia las bebidas, existieron licores muy bien calificados.

El licor obtenido es una bebida diferente, sus características reflejan el café en toda su expresión, los buenos comentarios recibidos son agradables sobre todo resaltando el aroma y el sabor, porque el producto si sabe y huele a café. Estas características hacen que el producto se diste con vinos o cremas de café que existen en el mercado puesto que éstos son saborizados a café y no resultan del uso expreso del café, como si sucede en este trabajo de investigación.

El contenido de alcohol presentado por las muestras fue bien recibido, las personas encuestadas manifestaron que eran contenidos apropiados, es curioso pero hay que mencionar que algunas personas preguntaron si el contenido de alcohol era propio de la fermentación o si se agrego alcohol, pregunta que nos tomo por sorpresa puesto que el porcentaje de alcohol es propio de la fermentación y valida la aceptación de este parámetro.

En cuanto al dulzor del vino se encontró que las muestras variaron entre las siguientes percepciones: Dulce, Semi-seco, Seco. Esta variedad entre los

encuestados también fue bien recibida porque abre la posibilidad para que sea consumido por personas con gustos diferentes.

6.1.4 Análisis comparativos de las muestras óptimas con el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas (CEE) n° 26 76/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990.

Las muestras que se escogieron para realizar este análisis comparativo fueron aquellas que en las pruebas organolépticas se destacaron por tener valores superiores a 4 catalogados como muy buenos en la calificación de todas las características organolépticas.

Las muestras escogidas se muestran en la Tabla 35.

Tabla 35. Muestras escogidas para análisis complementarios.*

<i>Muestra</i>	<i>Valor promedio por atributo</i>				
	<i>Aroma</i>	<i>Color</i>	<i>Sabor</i>	<i>Palatabilidad</i>	<i>Brillo</i>
<i>Muestra 2**</i>	4	3,9	4,5	4,1	4,1
<i>Muestra 3</i>	4,6	4,4	4,5	4,6	4,4
<i>Muestra 8</i>	4,7	4,5	4,4	4,5	4,6
<i>Muestra 11</i>	4,5	4,7	4,5	4,7	4,8
<i>Muestra 15</i>	4	4	4,2	4,2	4,1

**Esta muestra fue escogida por los buenos resultados obtenidos en las demás pruebas sensoriales

*Fuente: Esta Investigación

Comparativamente las muestras seleccionadas con respecto a las demás gozan de un puntaje muy bueno (igual o superior a cuatro) en su análisis sensorial que es constituido por la estimación, la apreciación, la descripción y la constitución de la bebida fermentada catada.

En este proceso de selección de las mejores muestras (mejores características organolépticas), tiene mucho que ver el aspecto afectivo, es decir, la subjetividad del individuo hacia las sensaciones, emociones y recuerdos que puede despertar en él un determinado olor. La razón de ello es que en la percepción gustativa/olfativa coexisten dos etapas que tienen que ver con la química y la psicología. En primer lugar, se produce un conjunto de reacciones bioquímicas entre las moléculas del aroma/gusto y las papilas. Ello genera señales eléctricas que, enviadas por el sistema nervioso, son procesadas en el cerebro, que identifica el gusto/olor y les asigna una descripción, que resulta en la valoración de las muestras (Ferritas et al., 2000).

Comparativamente los valores obtenidos por las muestras para las características adicionales evaluadas son muy buenos, pues están en los rangos legales establecidos. La comparación de los valores obtenidos con los valores legales nos permite clasificar las muestras dentro del rango de vino de licor puesto que características como densidad, cenizas y pH se encuentran dentro de los rangos establecidos para este tipo de vino, el único valor que no coincide es el porcentaje de alcohol final, esto se puede dar por las características que posee la pulpa de café y como estos son parámetros para vinos de uvas, puede radicar aquí el porqué de las diferencias en este parámetro (Tablas 36 y 37).

Tabla 36. Resultados obtenidos de las muestras para los análisis complementarios de densidad, Cenizas, acidez, porcentaje volumen a volumen para alcohol final.*

<i>Muestra</i>	<i>Valores obtenidos</i>			
	<i>Densidad (g/ml)</i>	<i>Cenizas (g/L)</i>	<i>Acidez (pH)</i>	<i>% v/v Alcohol final</i>
<i>Muestra 2</i>	1,064	15	3,0	12
<i>Muestra 3</i>	1,060	20	3,2	10
<i>Muestra 8</i>	1,062	17	3,3	10
<i>Muestra 11</i>	1,070	20	3,5	11
<i>Muestra 15</i>	1,066	15	3,3	10

*Fuente: Esta Investigación

Tabla 37. Valores habituales en la Comunidad Europea para vinos.*

VALORES HABITUALES PARA DENSIDAD (g/mL)	
Vino blanco	0,9880 - 0,9930
Vino tinto	0,9910 - 0,9950
Vino espumoso	0,9890 - 1,0800
Vino de licor (moscatel)	1,0500 - 1,0700
LIMITES LEGALES PARA EXTRACTO SECO (g/L)	
Tipo de muestra	Extracto seco (g/L)
Vino base para espumoso	13 – 22
Vino espumoso	13 – 22
Vino Aromatizado	≥ 13
Sidra	≥ 13

LIMITES DEL PORCENTAJE ALCOHOL PARA CADA TIPO DE VINO	
Tipo de vino	% v/v Alcohol
Tranquilo	≥ 9 - < 15
Mosto de uva apagado con alcohol	12 - < 15
de licor	15 – 22
base para espumoso	9,5 - 11,5
Espumoso	10,8 - 18,8
Gasificado	≥ 9,5
Vinagre	≥ 0,5
refresco de vino (wine coolers)	3 – 7
Sangría	7 – 14
Aromatizado	15 – 23
Valor normal para pH en los vinos	
pH	2,8 - 3,4

*Fuente: Diario oficial de las Comunidades Europeas, reglamento n° 2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990

Al comparar los valores obtenidos por las diferentes muestras con el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas (CEE) n° 2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990, se puede afirmar que cumplen con los requisitos expuestos por la normatividad. Por lo tanto, se puede afirmar que el producto obtenido cumple con altos requisitos de calidad en cuanto a composición de los principales componentes.

Una de las principales discusiones sobre este trabajo es el hecho de que si se debe comparar o no con el vino de uvas o de otras frutas, finalmente se puede decir que de acuerdo a su composición físico-química tiene similitudes suficientes como para acertar al realizar una comparación de la bebida puesta en consideración en este estudio con un vino de uvas tradicional.

7. CONCLUSIONES

La presente investigación nos demuestra que es factible la producción técnica de una bebida fermentada a partir de pulpa y mucilago de café. Las condiciones o requerimientos para la fermentación no son especiales, solo se debe tener en cuenta la asepsia con la que se trabaja. Las etapas a nivel general para la obtención de la bebida fermentada de pulpa y mucilago de café son: Obtención de la pulpa y mucilago, pesaje de las materias primas a utilizar, una preparación del inóculo, etapa de fermentación, trasiegos para eliminar residuos sólidos, filtraciones, embotellado y pasteurización.

Los parámetros que permiten obtener una bebida fermentada óptima, para efectos de esta investigación se pueden determinar de la siguiente manera: pulpa de café empleado 200 g/L, azúcar empleada 350 g/L y levadura 0,3 g/L. Lo que significa que se debe emplear las variables de café y azúcar a nivel alto y la variable levadura a nivel bajo.

El diseño estadístico realizado se puede afirmar que fue un éxito ya que permitió evaluar los resultados de una manera clara y real, lo que se demuestra con el valor de R-cuadrado que es mayor a 95% para la optimización gas carbónico y porcentaje de alcohol obteniéndose los efectos esperados en todos los experimentos.

Los resultados de los análisis de laboratorio obtenidos, mostraron unas características aceptables para un consumo confiable por el organismo humano, además muestran que se obtuvieron sustancias que hacen a la bebida agradable al paladar.

Los resultados para las características organolépticas de la bebida fermentada, se puede considerar que son satisfactorios, ya que las personas que realizaron la prueba sensorial manifestaron la aprobación placentera de la bebida para la mayoría de los experimentos, para los factores como el sabor, olor color brillo dulzor y grados de alcohol presentes en las bebidas.

8. RECOMENDACIONES

Realizar un estudio de mercado, en el cual se pueda observar el impacto del producto para dar a conocer como un producto novedoso y la viabilidad económica para el montaje de una planta procesadora ubicada en una región cafetera.

Continuar con el proceso de investigación, ya que el producto final se le pueden realizar mejoras, las cuales pueden llevar a obtener unos resultados aun mejores, ya que este diseño experimental se encontraba diseñado especialmente para observar cuales son los efectos más significativos sobre los resultados finales y observar si el producto obtenido tenia características para ser consumido hombre.

Realizar un análisis de cromatografía de masas para observar de manera cuantitativa los compuestos de la bebida.

BIBLIOGRAFIA

ÁLVAREZ, Mario; RAMÍREZ, Víctor; CARRIZALES Esteban. Primer Informe Técnico sobre la Disponibilidad y Localización de Residuos Lignocelulósicos en Venezuela. Programa Regional de Biotecnología para América Latina y el Caribe. Comisión Nacional de Ingeniería Genética y Biotecnología. 5: 2. (1988)

AZNAR, M., LÓPEZ, R., CACHO, J. F., & FERREIRA, V. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from rioja. GC-Olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. *Journal of Agricultural Food Chemistry* .49: 2924-2929. (2001).

BARON, R.; MAYEN, M.; MERIDA, J. and MEDINA, M. (1997). "Changes in phenolic compounds and browning during biological aging of sherry wine". *J. Agric. Food Chem.*, 45 (2): 1682-1685.

BLANDÓN, Gladis; DÁVILA Arias, María; RODRÍGUEZ Valencia, Nelson. Caracterización microbiológica y físico-química de la pulpa de café sola y con mucílago en proceso de lombricompostaje. 3: 6. (2002)

BROCK, P .*Biología De Los Microorganismos*. Editorial .Prince Hall. Madrid1998.

BUILES, A; *Guía de elaboración de vinos no tradicionales*. Editorial Ciemat. España 2003 pág. 6

CADENA, Gabriel. Desarrollos científicos de Cenicafé en la última década (Historia de la Ciencia). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 1 marzo 2005 [citado 20 julio 2008]. Disponible en Internet: <www.accessmylibrary.com./coms2/summary_0286-31218755_ITM>.

CALDERÓN, Bernardo. Estudios de muestreo: Muestreo aleatorio estratificado. Fecha de actualización 2 de octubre de 2006. [En línea] Disponible en internet: <http://siona.udea.edu.co/~bcalderon/5_aleaestratificado.html>. [Consulta 12 de junio de 2008]

CALZADA, J.; PORRES, E.; YURRITA, A.; ARRIOLA, M.; MICHEO, F.; ROLZ, C.; MENCHÚ, J.; *Biogas production from coffee pulp juice: One- and two-phase systems*. *Agricultural Wastes*; 19: 217-230. (2003)

CAMACHO, G. [En línea]. Disponible en Internet >
<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obpulpfru/p7.htm>

CARBONELL; VILANOVA. Nuevo método para beneficiar café. El Salvador. Diciembre de 1974. [En línea]. Disponible en Internet: <

http://books.google.com.co/books?id=hd0OAQAIAAJ&pg=PA181&lpg=PA181&dq=Carbonell+y+Vilanova.,+1952&source=bl&ots=kBwzDXefsY&sig=nZaSdcpYRYcBGflwLYYHE9DK4Fc&hl=es&ei=cIN8S9yPBcaWtgf_iaYWbQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=9&ved=0CCkQ6AEwCA#v=onepage&q=Carbonell%20y%20Vilanova.%2C%201952&f=false>

CEE Reglamento N° 2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino DIARIO OFICIAL DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. (1990)

CEDRON, T. estudio analítico de compuestos volátiles de vino. Caracterización quimiométrica de distintas denominaciones de origen. Tesis Doctoral. Universidad de la Rioja, España. 2004

COLLADO, Quique. Levaduras y fermentación alcohólica. Actualizado junio 2008. [En línea]. <http://www.verema.com/articulos/500449-levaduras-y-la-fermentacion.ii>

CONDE, Fernando; BUITRAGO, Alonso; CASILLAS, Martín. Historia de los vinos. Actualizado febrero de 2007. [En línea]. Disponible en Internet: <<http://www.grandesvinosdeespana.com/2009/02/historia-de-los-vinos-2007.html>>

CHAPMAN, D. The structure of lipids by spectroscopy and x-ray techniques. Metuen, Londres 1999

CRUEGER, W. Y CRUEGER, A. (1993). Biotecnología. Manual de Microbiología Industrial. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España). 413 p.

Diccionario del vino. Disponible en internet <www.diccionario-del-vino.com>

DIETRICH, Frank. Kaffee Struktur und Zusammensetzung. [En línea] Disponible en Internet <http://www.springerlink.com/content/n17744475r074m72/>. Fecha de consulta 11 de abril de 2008

ELÍAS, L.. Composición química de la pulpa del café y otros subproductos. División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala, Guatemala. 1978

ESCUADERO, A.; CAMPO, E.; FARIÑA, L.; CACHO, J.; FERREIRA, V.: «Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines», J Agric Food Chem; 55: 4501-4510. (2007)

FARIÑA, L.; BOIDO, E.; CARRAU, F.; VERSINI, G.; DELLACASSA, E.: Terpene compounds as possible precursors of 1,8 cineole in red grapes and wines, J Agric Food Chem 2005; 53: 1633-1636.

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Estructura del café pergamino colombiano. 1992 [en línea]. Disponible en Internet <http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/el_cafe_de_colombia>. [Consulta 4 marzo de 2008]

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Café en América Latina y el Caribe Programa 100% café de Colombia. Fecha de actualización: 2005. [En línea]. Disponible en internet: <<http://www.cafedecolombia.com/comercializacion/programa100/Elementos1.html>>. (Consulta: 27 de abril de 2008)

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. El café de Colombia. Fecha de actualización 5 de junio de 2003. [En línea]. Disponible en internet:<<http://www.cafedecolombia.com/caficultura/climacultivo.html>>. [Consulta 9 de junio de 2008].

FERNANDEZ, C; DOMINGUEZ, D; MUNERA F. Condiciones para la elaboración de uvas. Corpoica 2001. pág. 11

FERRARI, M.; NAVARINI, L.; LIGGIERI, L.; RAVERA, F., Interfacial properties of coffee-based beverages. Chemical Engineering Research and Design; 8: 72-84 (2006)

FREITAS, V.; RAMALHO, P; AZEVEDO, Z. MACEDO, (1999). "A. Identification of some volatile descriptors of the Rock-Rose-Like aroma of fortified red wines for Douro Demarcated Region". J. Agric. Food. Chem., 47, 4327, 4331.

GALEON. caldo nutriente y su composición. Fecha de actualización marzo de 2008. [En línea]. Disponible en internet: <<http://www.galeon.com/lactobacilo/micro.htm>>. [Consulta 13 de junio de 2008]

GNEKOW, B.; Methanol in Wines and Musts: Source and Amounts. American Society for Enology and Viticulture 1. pp. 1-6. Nueva York 2003.

GUTIERREZ Pulido, Humberto. DE LA VARA Salazar, Román. Análisis y diseño de experimentos (2003)

Informe de pronósticos por municipios. Gobernación de Nariño. San Bernardo. Fecha de actualización febrero de 2005. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.gobernar.gov.co/gobernar/index.php?option=com_content&task=view&id=837&Itemid=204>. [Consulta 10 de junio de 2008].

IOM (International Organization for Mitigation Mission in Colombia). Programa de Desarrollo Sostenible para las familias productoras de café en Nariño. Fecha de actualización: 2006. [En línea]. Disponible en internet:

<<http://www.oim.org.co/modulos/contenido/default.asp?idmodulo=295&idioma=ing>>
> (consultado el 29 de abril de 2008)

IPITIMES. Noticias ACF/ Colombia, 2007. Fecha de actualización: 2007. [En línea]. Disponible en internet: <<http://www.ipitimes.com/>>. (Consultado el 29 de abril de 2008)

KYM internacional. Disponible en línea <www.kyminternational.com>

KIRK, Raymond E. Enciclopedia de tecnología química. Tomo 3. Página 57. Editorial hispano americano. México 1961.

LEDAUPHIN, J., SAINT-CLAIR, J. F., LABLANQUIE, O., GUICHARD, H., FOURNIER, N., GUICHARD. Identification of trace volatile compounds in freshly distilled calvados and cognac using preparative separations coupled with gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5124–5134. (2005).

LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L. y COX, M.M. Principios de Bioquímica. Editorial Omega 3ª Edición. Mexico (2001)

LÓPEZ, R. El aroma del vino tinto joven. Caracterización química y métodos de análisis de sus principales odorantes. Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza, 1999.

MACHADO, Absalón. Economía de la agricultura. [En línea]. Disponible en Internet: < <http://www.scielo.org.co/pdf/rei/v2n2/v2n2a9.pdf>> Fecha de consulta enero 9 de 2008

Monografías de Antioquia. Fecha de actualización 2006. [En línea]. Disponible en internet:<http://tesis.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/219/1/MonografiasAntioquia.pdf>. Fecha de consulta junio 30 de 2008

MOREU, P. estadística informatizada Madrid: Editorial Paraninfo. 1999. Pag.117 - 123

MUÑOZ. Alberto. Mercadotecnia KYM internacional. [En línea] Disponible en internet <www.kyminternational.com>

NIST, National Institute of Standards and Technology. 2005 [En línea]. Disponible en internet:< <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C2027476&Units=SI>> (Consultado el 15 de noviembre de 2009)

OFIAGRO – SNV. Proyecto para el mejoramiento de la competitividad en la cadena del café en la Comunidad Andina. Marzo de 2005. Vol: 2. Pag: 7-8.

OLIVEIRA, L.; FRANCA, A.; CAMARGOS, R.; FERRAZ, V., Coffee as a potential feedstock for biodiesel production. Science of The Total Environment; 406: 298-307.(2007)

OROZCO, A.; PÉREZ, M.; GUEVARA, O.; RODRÍGUEZ, J.; HERNÁNDEZ, M.; GONZÁLEZ-VILA, F.; POLVILLO, O.; ARIAS, M., Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with *Streptomyces*. Py-GC/MS analysis. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis; 81: 247-252 (2008)

PEÑA. Julián. Procesos de fermentación. Editorial Muriel. Uruguay 2005. Pag. 25

PEREZ, Cristobal. Analisis químico y control digital del vino. Revista ACE de Enologia; 10: 5 (2003)

PINEDA, Ricardo. Uso adecuado del cloro en la desinfección poscosecha de frutas y vegetales. Fecha de actualización mayo de 2003. [En línea]. Disponible en internet: <www.fintrac.com/docs/honduras/bt_01_poscosecha_cloro_05_03.pdf>. [Consulta 12 de junio de 2008].

PIZARRO. Vinos, guía completa sobre su elaboración. Editorial Aconcagua. Chile 2008. Pag 38

PULIDO; ZALAZAR. Estadística aplicada. Editorial McGraw Hill. 2004. Pag 101

RAMIREZ, V; JARAMILLO J. Componentes del café. Editorial Alameda. 2000. Bogotá, DC, CO. p. 169-197.

RAMIREZ, T; PESCADOR, D. Trabajo de investigación de las propiedades del café. Universidad de Caldas. Pag. 30.

RESTREPO, Jairo. Caracterización física y química de los frutos del café. Fecha [en línea] Disponible en internet: <<http://www.cedeco.or.cr/documentos/Caracterizacion%20del%20cafe.pdf>> Fecha de consulta 15 abril de 2008

RICE university. El café de Colombia. Fecha de actualización marzo de 2006. [en línea]. Disponible en internet: <<http://www.owl.net.rice.edu/~claudias/Documents/Informe%20de%20Sector.htm>>. [Consulta: 28 mar 2008]

RDS – HN. Café Noticias N° 19. Fecha de actualización: 2006. [En línea]. Disponible en internet: <http://portal.rds.org.hn/listas/agricola/msg00372.html>. (Consultado el 28 de abril de 2008).

RIVERO-PÉREZ, M.D.; S. Pérez-Magariño and M. L. González-San José . «Role of melanoidins in sweet wines). *Analytica Chemical*; 458:169-175. (2002)

RAJKUMAR; GRAZIOSI. Role de la “Souche de levure” dans la production des substances volatiles au cours de la fermentation du jus de raisin. *Con. Vigne Vin*, 3, 181–198. 2005.

RUBIO, José Luís. Vinos y licores: Olores del vino. Fecha de actualización mayo de 2008. [En línea]. Disponible en internet: <http://vinosylicosresliverpoolpolanco.blogspot.com/2008/04/olores-del-vino.html>. [Consulta 13 de junio de 2008].

RUÍZ Leza, H.A. RODRIGUEZ jasso, R.M. (2007). Diseño de biorreactores para la fermentación. Principios de diseño de un bioreactor. [en línea]. Disponible en internet: redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/620/62060105.pdf. [consulta 14 de junio de 2008].

SADEGHIAN K., S.; MEJIA M., B.; ARCILA P., J. Composición elemental de frutos de café y extracción de nutrientes por la cosecha en la zona cafetera de Colombia. *Cenicafé*; 57:251-261(2006).

SILVA, C.; FONTES, P.; PIRES, A.; SOUSA, R., Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. 1 junio 2007. [citado 20 julio 2008]. Disponible en Internet: <<https://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/6820>>.

SPONHOLZ, W. R. (2002). Alcohols derived from sugars and other sources and fullbodiedness of wines. *Wine Analysis*.

Todovinos. CL. Consumo de vino en Colombia aumento 128%. Fecha de actualización: 2008. [En línea]. Disponible en internet: <<http://www.todovinos.cl/index.php?option=content&task=view&id=1760&catid=24&Itemid=51>>. (Consultado el 28 de abril de 2008).

VERNON, L. «Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implication. 38: 69-77. Nueva York: American Society for Enology and Viticulture. 1987

ZAPATA Montoya, José Edgar. HOYOS Ramírez, Margarita (2005). Acción de un campo magnético sobre un cultivo de *saccharomyces cerevisiae*. La Sepa

utilizada. [en línea]. Disponible en Internet:
<www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-8442005000700005&lng=pt&nrm=iso - 39k>. [Consulta 14 de junio de 2008]

ZEA, L., MOYANO, L., MORENO, J., CORTES, B., & MEDINA, M. (2001). Discrimination of the aroma fraction of sherry wines obtained by oxidative and biological ageing. *Food Chemistry*, 75, 79–84.

ANEXOS

ANEXO A

DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DE LAS MUESTRAS

Materiales. Muestras de la bebida fermentada, probeta 250ml, termómetro, densímetro.

Para la determinación de la densidad de las muestras, se efectuó el siguiente procedimiento:

1. Si la muestra contiene cantidades de dióxido de carbono, se debe eliminar por agitación o ultrasonido.
2. Se colocan en una probeta limpia y seca 200 ml de la muestra a analizar convenientemente homogenizada.
3. Se introduce el termómetro, se agita con el mismo la muestra y se hace la lectura al cabo de 1 min.
4. Se retira el termómetro y se introduce el densímetro en la probeta (si flota por debajo del tallo introducir uno de mayor graduación y si se sumerge totalmente introducir uno de menor)
5. Cuando el densímetro se mantenga inmóvil, efectuar la lectura de la densidad aparente por la parte superior del menisco.

ANEXO B

MEDICIÓN DEL pH DE LAS MUESTRAS

Materiales: Muestras de la bebida fermentada, pHmetro, termómetro, Beaker de 100 ml, Solución tampón pH $7,00 \pm 0,02$, Solución tampón pH $4,00 \pm 0,02$

Para la determinación del pH de las muestras, se efectuó el siguiente procedimiento:

1. Se debe calibrar el pHmetro con las soluciones tampón de pH.
2. Una vez calibrado se puede realiza la medida del pH sumergiendo el electrodo en la muestra durante unos 15 segundos a una temperatura lo más cercana a 20°C porque el pH está muy influenciado por la temperatura.
3. La lectura de pH es directa y se expresa con dos decimales

ANEXO C

MEDICION DEL GRADO DE ALCOHOL DE LAS MUESTRAS

Materiales: Muestras de la bebida fermentada, probeta 250ml, termómetro, vinometro

La medición se realiza al final de la fermentación siguiendo los siguientes pasos:

1. Si la muestra contiene cantidades de dióxido de carbono, se debe eliminar por agitación o ultrasonido.
2. Para efectuar la medición se vuelca la muestra en una probeta de 250 c.c.
3. Se toma la temperatura de muestra y se anota dicha medición.
4. Se sumerge luego el vinometro en el líquido de la probeta, dándole un pequeño giro, y una vez en reposo, se efectúa la lectura en el borde superior del menisco y se anota.
5. Se hace una corrección por temperatura que viene indicada en las instrucciones del vinometro, obteniéndose el valor final del grado alcohólico.

La lectura del grado de alcohol es directa, pero está dada en grados Oechsle (°Oe), por lo tanto para encontrar el porcentaje de alcohol en relación volumen a volumen se debe aplicar la siguiente fórmula

$$\text{Porcentaje de Alcohol} = \frac{^{\circ}\text{Oe} - 15}{6}$$

ANEXO D

DETERMINACION DE CENIZAS

Materiales: Muestras de la bebida fermentada, Mufla, crisoles, guantes de asbesto, balanza analítica, pinzas.

Para la determinación de la cantidad de cenizas presentes de las muestras, se efectuó el siguiente procedimiento:

1. Se pesa el crisol vacío, en la balanza analítica y se anota dicha medición
2. Se agregan 10 ml de muestra y se lleva a la mufla a $110 \pm 2^\circ$ hasta que alcance peso constante aproximadamente 5 horas
3. Se deja enfriar el crisol en un desecador durante 15 a 20 minutos.
4. Se pesa el crisol, y se anota dicha medición

Para calcular el peso de las cenizas se hace la diferencia entre el crisol con la muestra seca y el crisol vacío. Para calcular el porcentaje de materia seca se usa la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de ceniza en base seca} = \frac{\text{Peso de Cenizas} \cdot 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

ANEXO E

INFORME DE LOS ANALISIS REALIZADOS A LAS DIFERENTES MUESTRAS



UNIVERSIDAD DE NARIÑO
SECCION DE LABORATORIOS ESPECIALIZADOS
AREA DE CROMATOGRAFIA

Fecha: Noviembre 17 de 2009

Solicitante: Universidad de Nariño- Fabián Andrés Guerrero

Tipo de Muestra: Muestra de Vino de Café

Análisis Solicitado: Identificación de los componentes Volátiles por HS-SPME, Alcoholes y Ácidos Grasos como derivados

Número de Muestras: 10

ANALISIS POR CROMATOGRAFIA DE GASES GC-FID

1. Preparación de la Muestra:

1.1 Análisis de Compuestos Volátiles: Se tomó 20 mL del Vino adicionando 5 g de NaCl grado R.A (Sigma-Aldrich). La muestra se sometió a calentamiento a 40°C con agitación durante 1 hora. La extracción se llevo a cabo usando una fibra SPME tipo PDMS/Carboxen (Supelco, Bellefonte, 70um). La desorción de las analitos se hizo a 250°C por 5 minutos.

1.2 Análisis de Alcoholes: Se tomaron 50 mL del Vino de Café, se realizó una microdestilación durante 1 hora a temperatura no mayor de los 80°C. El destilado se seco con sulfato de sodio anhidro (Carlo Erba R.A) para su análisis por Cromatografía de Gases.

1.3 Análisis de Ácidos Grasos: Extracción con Hexano grado HPLC Mallinckrodt 2x5 mL. Derivatización del extracto lípido con HCl/MeOH al 5% v/v a 70°C durante 2 horas. Extracción de los metil esterres de los ácidos grasos con 1x3 mL de Hexano grado HPLC.

2. Condiciones de Análisis:

Equipo: Cromatógrafo de Gases con detector de ionización en llama FID SHIMADZU GC-17 A.

Columna: Columna Capilar DB-5 J&W (30m x 0,25mm ID 0,25µm)

Gas Carrier: Helio UAP (99,995%) a flujo de 1.0 mL/min.

Presión de entrada de la columna: 80 kPa.

Inyector: Temperatura Inyector: 250°C Modo Inyección: Split, relación 30:1 (Para Alcoholes y Ácidos Grasos), Splitless para Volátiles

Detector: Detector FID Temperatura: 280°C

Programación de Temperatura Columna:

- Compuestos Volátiles: 40°C (5 min) hasta 260°C (5 min) a razón de 5°C/ min
- Alcoholes: : 40°C (5 min) hasta 250°C (5 min) a razón de 20°C/ min
- Ácidos Grasos: 150°C (4 min) hasta 250 °C a 5°C/min

Análisis de las Muestras:

- La identificación de los componentes mayoritarios de los compuestos Volátiles se efectuó con el calculo de los índices de Retención de calculados con una serie de n-alcanos de C6 a C28 (Estándar RESTEK, Bellefonte), en comparación índices de retención reportados por la literatura (Inst. Chemical Database, 2007, Flavornet.org).
- Para el análisis de Alcoholes se inyectó soluciones patrón de Metanol grado HPLC y Etanol en comparación de sus tiempos de retención analizados a las mismas condiciones. El Metanol se cuantificó usando patrón externo.
- Los Ácidos Grasos se analizaron comparando los tiempos de retención de una mezcla de Acidos Grasos (Como Esteres) analizados a las mismas condiciones de las Muestras.

Atentamente,

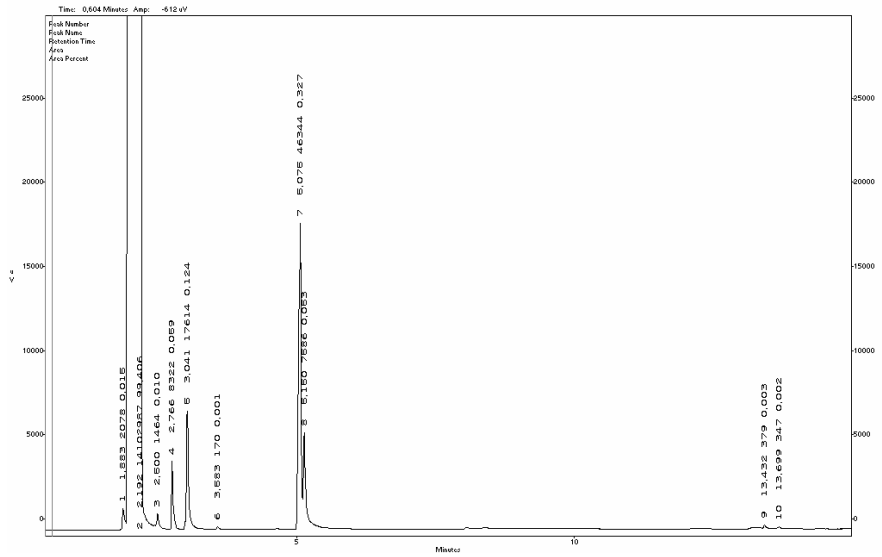
DAVID ARTURO
Químico, Laboratorios Especializados
Universidad de Nariño

Ciudad Universitaria Torobajo- Bloque Laboratorios Especializados - Teléfonos 7311449-7314477 Ext 220

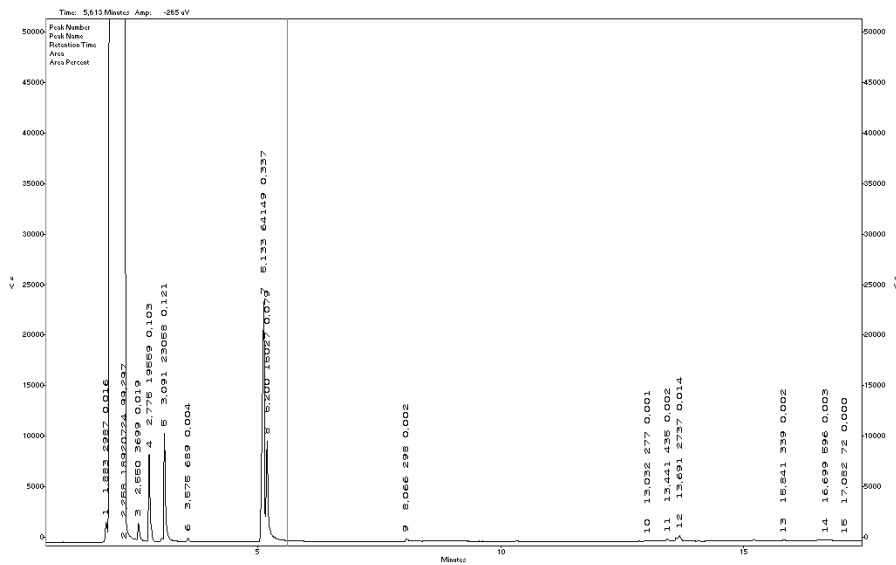
ANEXO F

CROMATOGRAMAS PARA ALCOHOLES

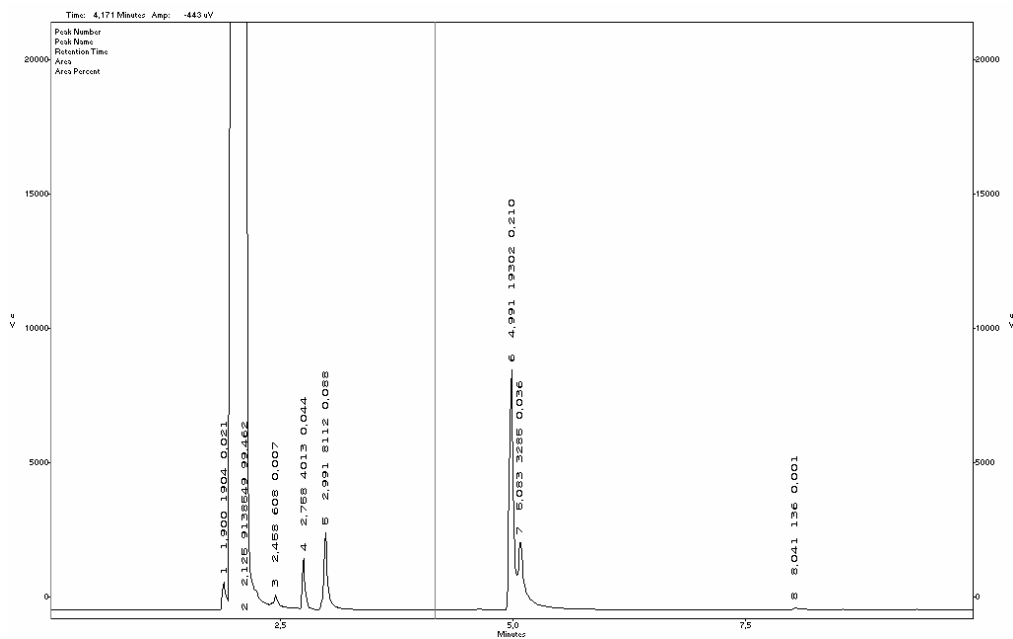
Muestra Alcohol Destilado 1----- 5 mL



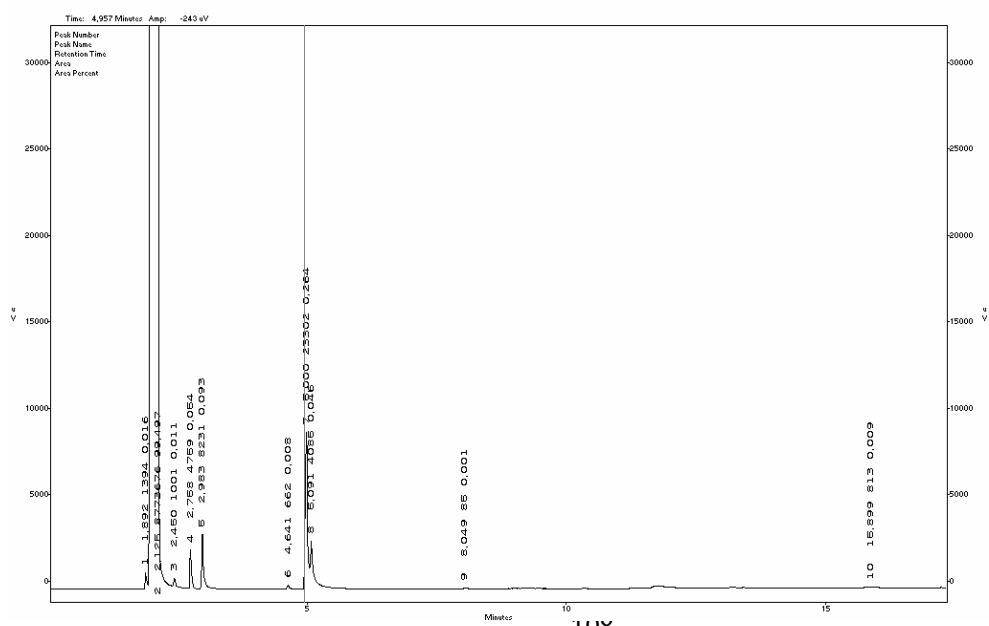
Muestra 2 Destilado 6 mL



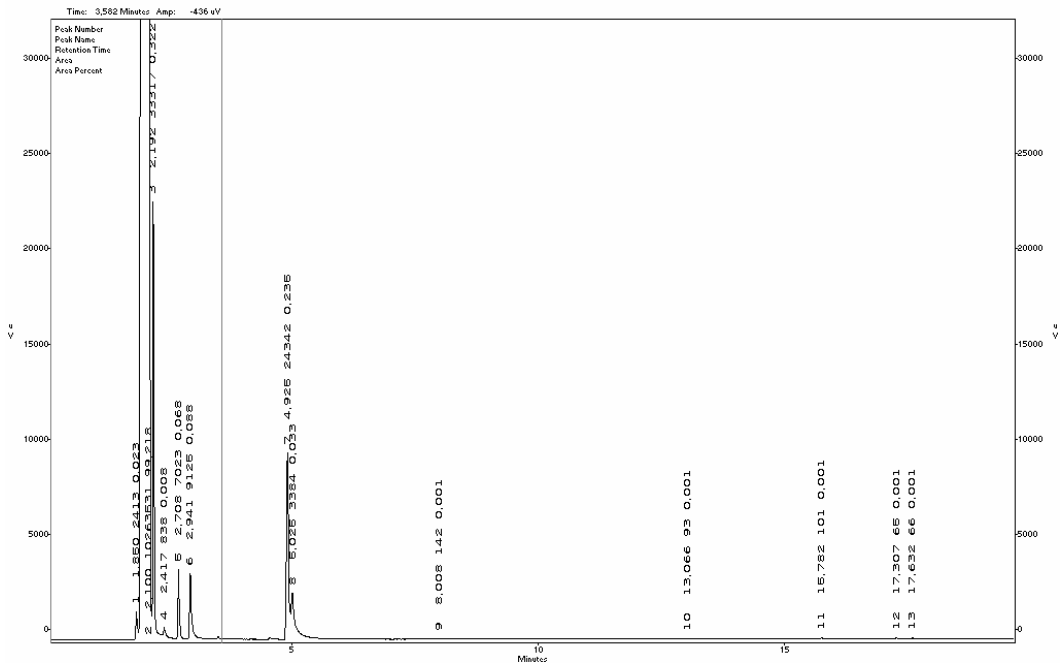
Muestra 3— 15 mL



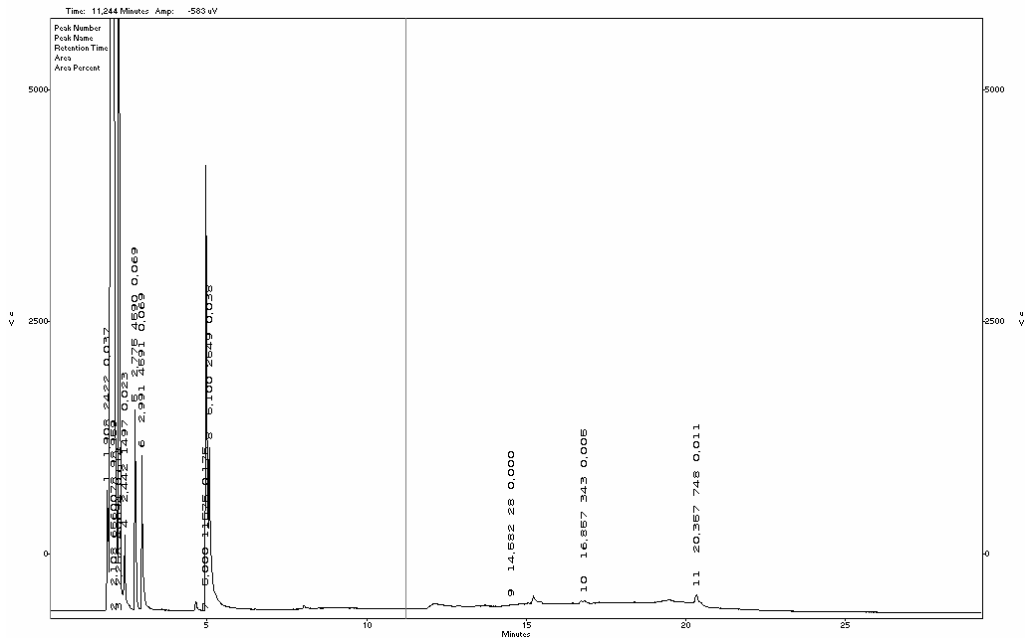
Muestra 4 --- 10,5 mL



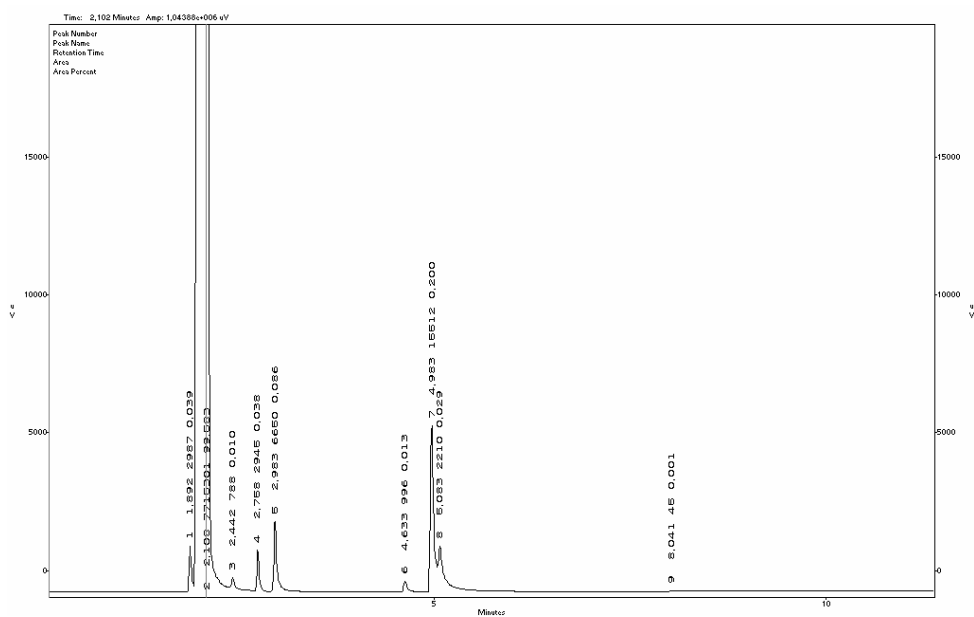
Muestra 5 ---10 mL



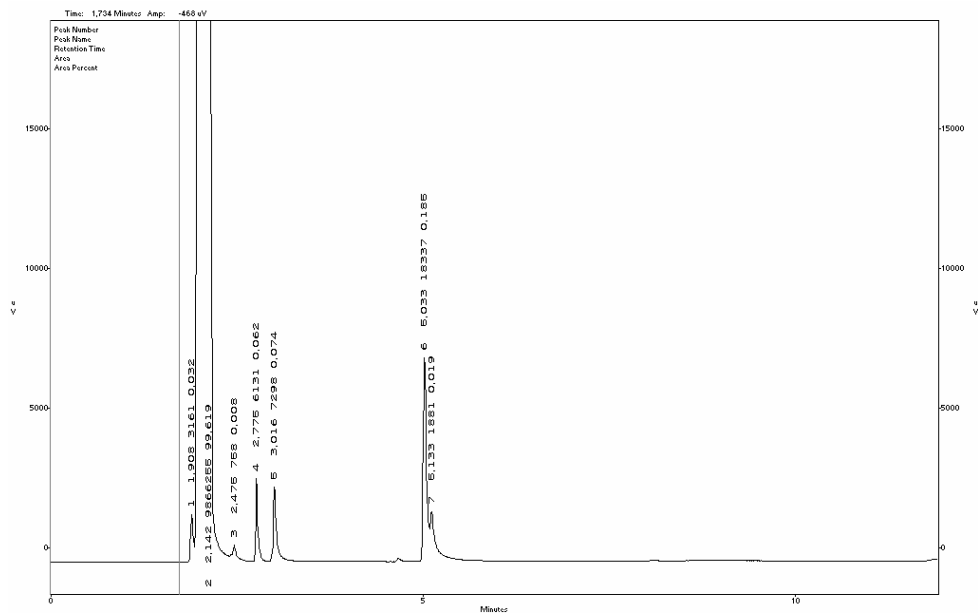
Muestra 6 ----- 15 mL



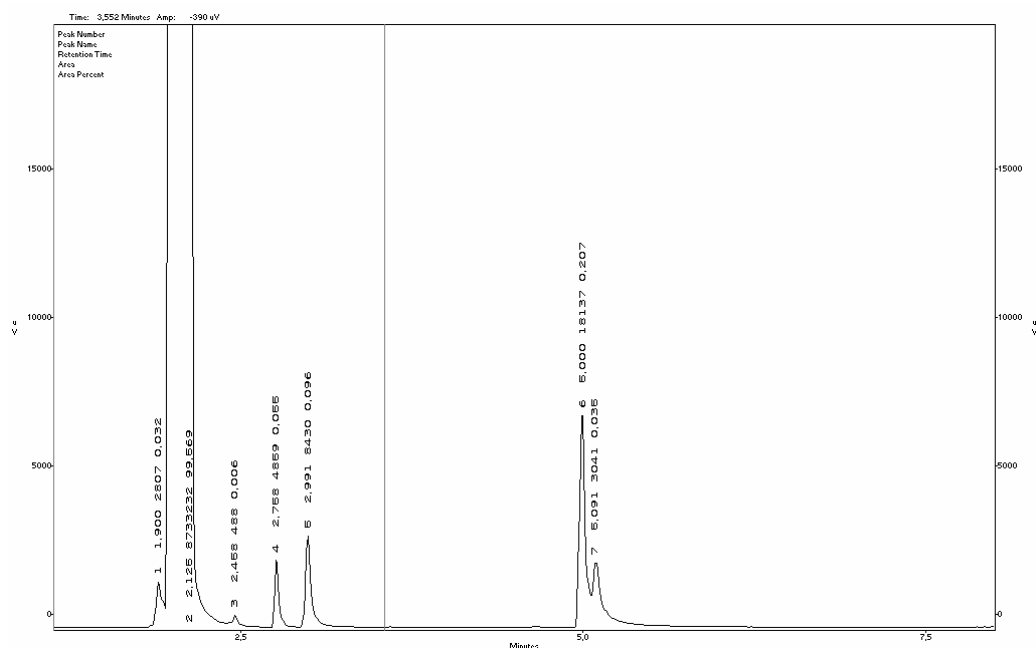
Muestra 7----13 mL



Muestra 11----- 10 mL



Muestra 13 ---- 10 mL



COMPOSICIÓN RELATIVA (% de Área de Alkohles en el Destilado del Vino)

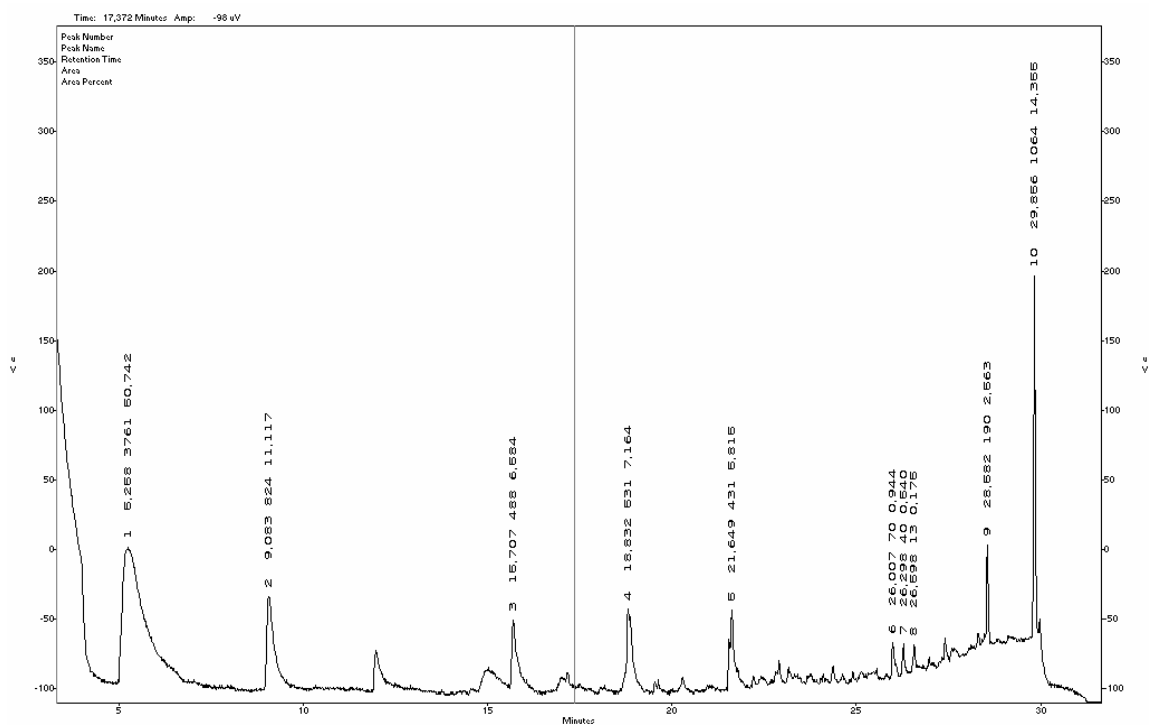
	M1	M2	M3	M4	M5
Metanol	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Etanol	99,4	99,3	99,5	99,4	99,2
**Otros Compuestos	0,58	0,72	0,52	0,62	0,82
Cuantificación del Metanol en mg/L	25	42	68,6	34,3	57,11

	M6	M7	M10	M11	M13
Metanol	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03
Etanol	99	99,6	99,6	99,6	99,6
**Otros Compuestos	1,04	0,44	0,44	0,43	0,43
Cuantificación del Metanol en mg/L	86	90,95	88	73,9	65,93

ANEXO G

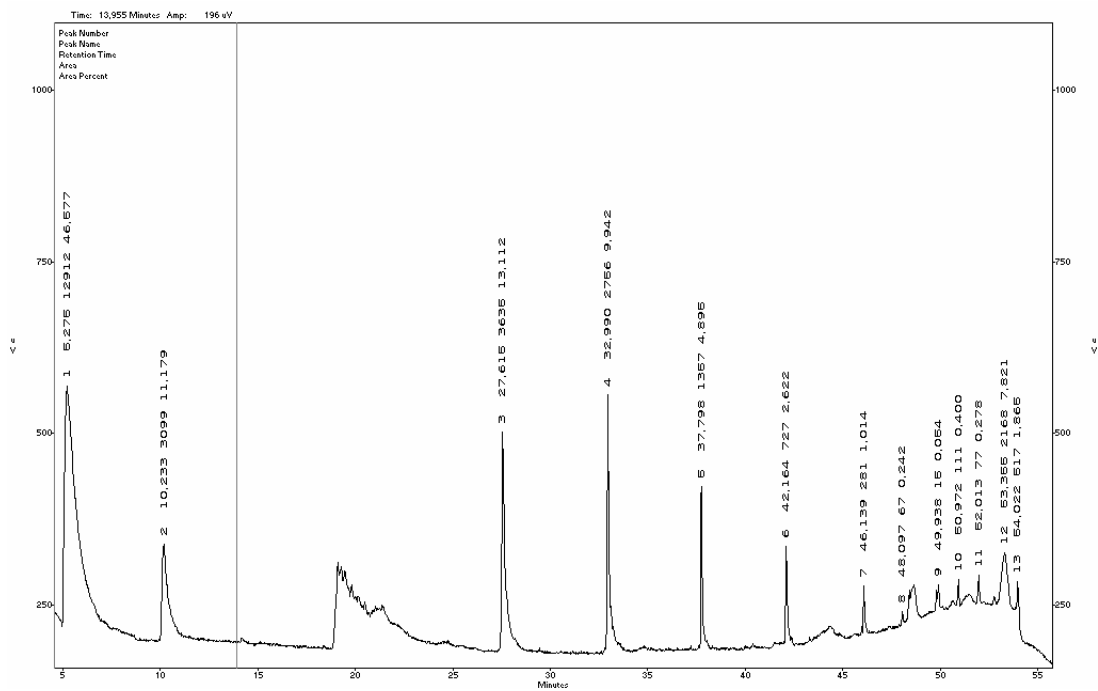
CROMATOGRAMAS PARA VOLATILES

MUESTRA1



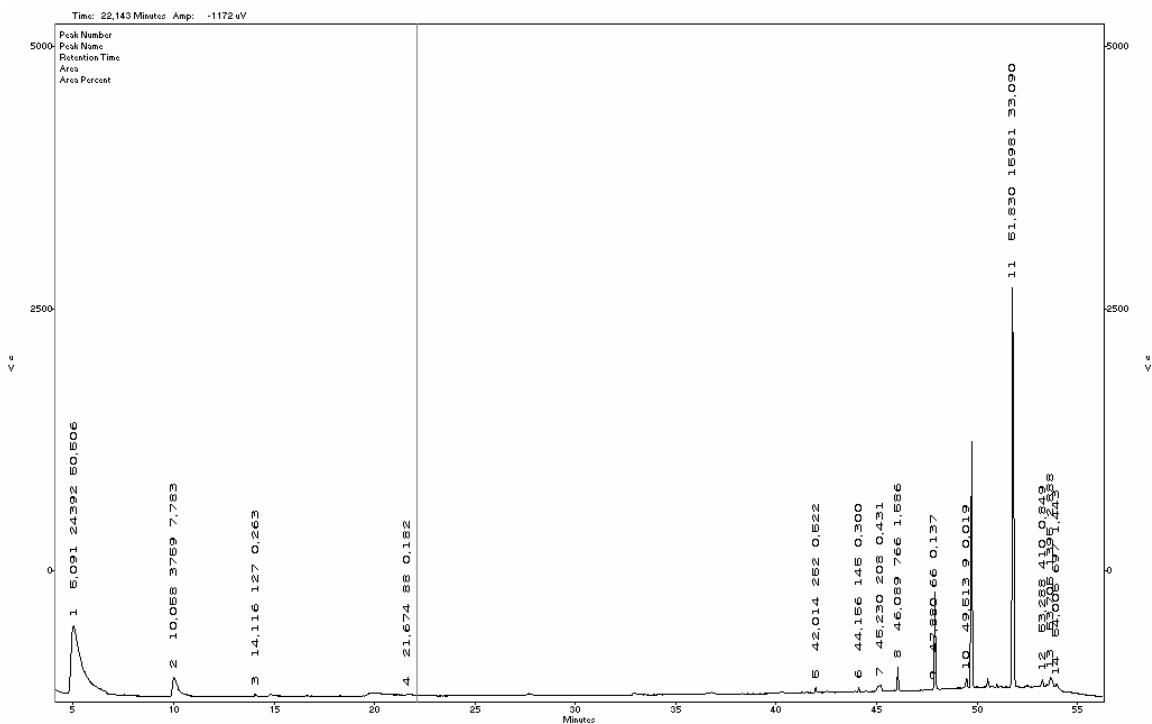
Muestra No 1				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,26	50,74		3-Metil-1-Butanol
2	9,08	11,12		2-Hexenol
3	15,71	6,58		<i>β</i> -Damascenona
4	18,83	7,16		<i>Guaiol</i>
5	21,65	5,81		Hexadecanona
6	28,58	2,56		Octadecanoato de Etilo
7	29,86	14,35		No Identificado

MUESTRA 2



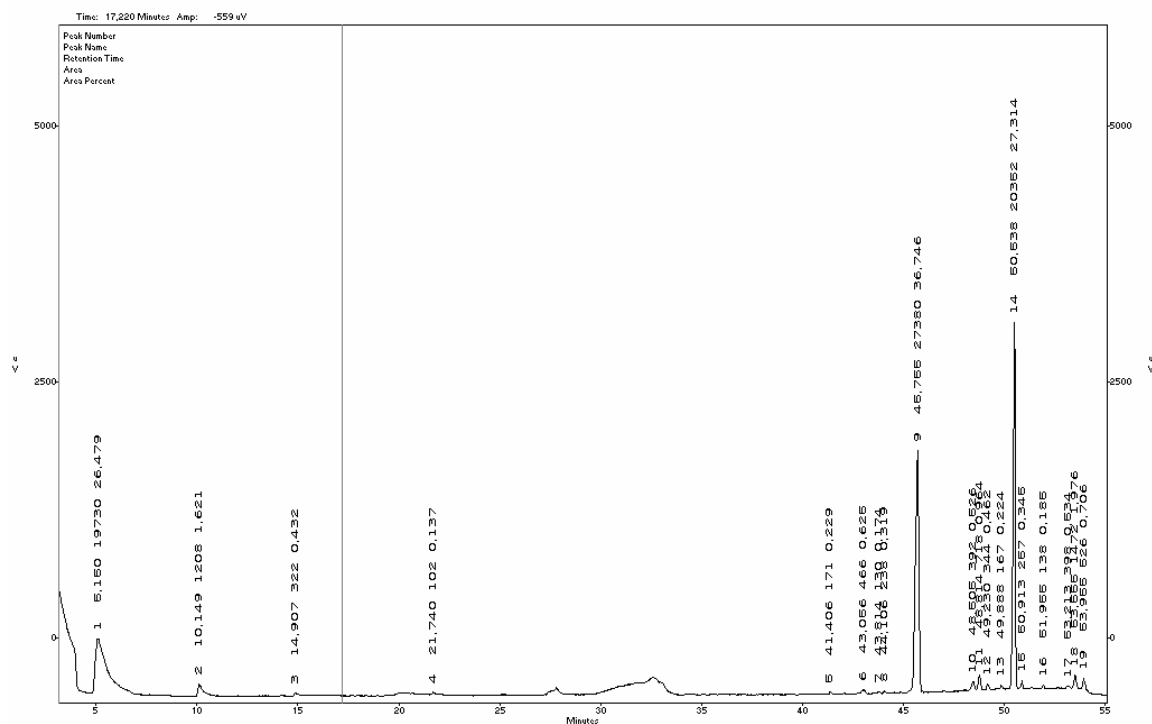
Muestra No 2				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible (s) Compuesto
1	5,27	46,58	743	3-Metil-1-Butanol
2	10,23	11,18	879	2-Hexenol
3	27,61	13,11	1387	β -Damascenona
4	32,99	9,94	1588	Guaiol
5	37,8	4,89	1789	Hexadecanona
6	42,16	2,62	1993	Etil-Hexadecanoato
7	46,14	1,01	2199	Octadecanoato de Etilo
8	50,97	0,4	2451	No Identificado
9	52,01	0,28	2505	No Identificado
10	53,35	7,82	2575	No Identificado
11	54,02	1,86	2610	No Identificado

MUESTRA 3



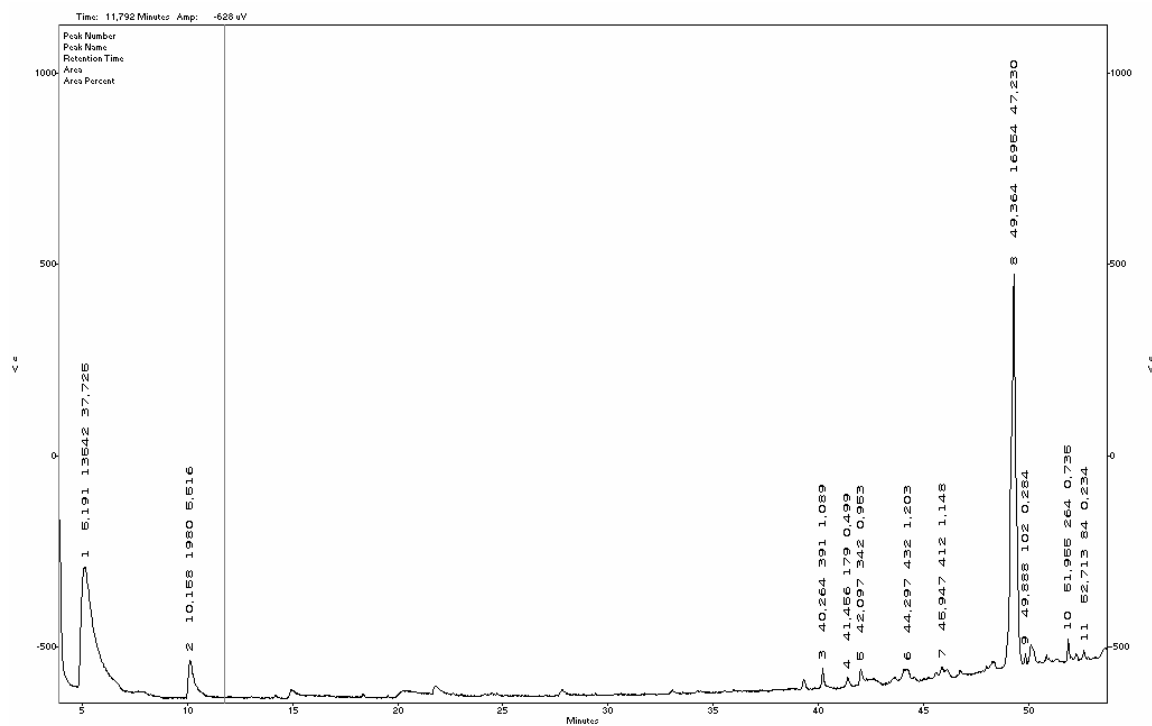
Muestra No 3				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,09	50,5	737	3-Metil-1-Butanol
2	10,06	7,78	875	2-Hexenol
3	14,12	0,63	977	5-Metilfurfural
4	42,01	0,52	1985	Etil-Hexadecanoato
5	44,15	0,3	2095	1-Octadecanol
6	45,23	0,43	2152	5-Oxymetilfurfurola
7	46,09	1,58	2196	Octadecanoato de Etilo
8	51,83	33,09	2495	No Identificado
9	53,29	0,25	2572	No Identificado
10	53,7	2,9	2593	No Identificado
11	54	1,44	2609	No Identificado

MUESTRA 4



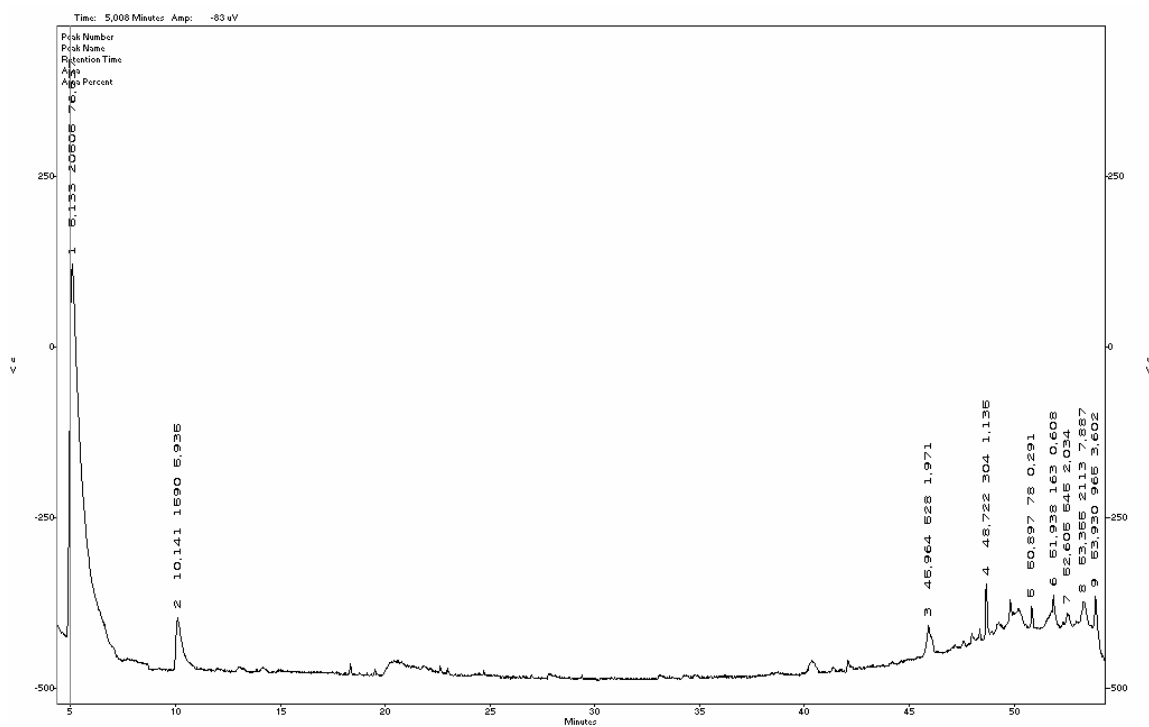
Muestra No 4				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,15	26,48	739	3-Metil-1-Butanol
2	10,15	1,16	877	2-Hexenol
3	14,91	0,43	997	Hexanoato de Etilo
4	41,41	0,23	1957	No Identificado
5	43,06	0,62	2039	No Identificado
6	43,81	0,17	2078	4-Vinilfenol
7	44,11	0,32	2093	1-Octadecanol
8	45,75	36,75	2179	Octadecanoato de Etilo
9	48,5	0,53	2322	No Identificado
10	48,82	0,96	2339	No Identificado
11	49,23	0,46	2360	No Identificado
12	49,9	0,22	2395	Octadecanoato de Butilo
13	50,54	27,31	2428	No Identificado
14	50,91	0,34	2447	No Identificado
15	53,21	0,53	2567	No Identificado
16	53,55	1,98	2585	No Identificado
17	53,95	0,71	2606	No Identificado

MUESTRA 5



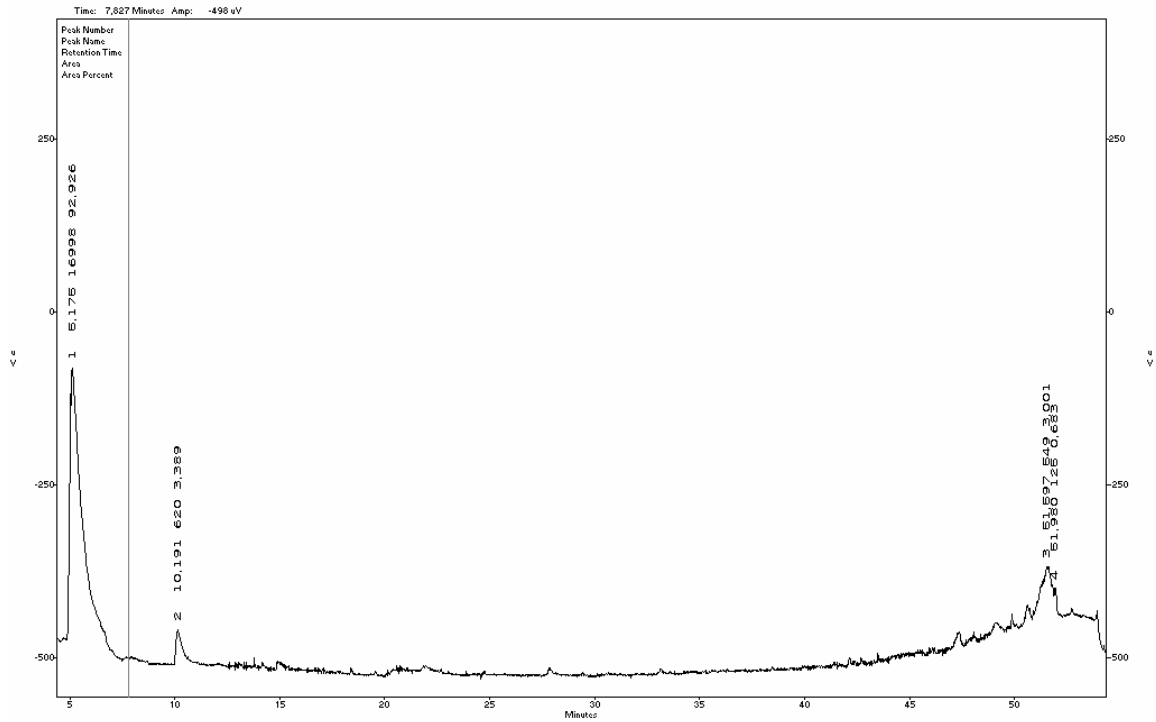
Muestra No 5				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,191	37,72	740	/ 3-Metil-1-Butanol
2	10,16	5,91	878	2-Hexenol
3	40,26	1,09	1904	Hexanoato de Etilo
4	41,45	0,5	1959	No Identificado
5	42,1	0,95	1990	Etil-Hexadecanoato
6	44,3	1,2	2103	1-Octadecanol
7	45,95	1,15	2189	Octadecanoato de Etilo
8	49,36	47,23	2367	No Identificado
9	51,95	0,73	2502	No Identificado
10	53,95	3,38	2606	No Identificado

MUESTRA 6



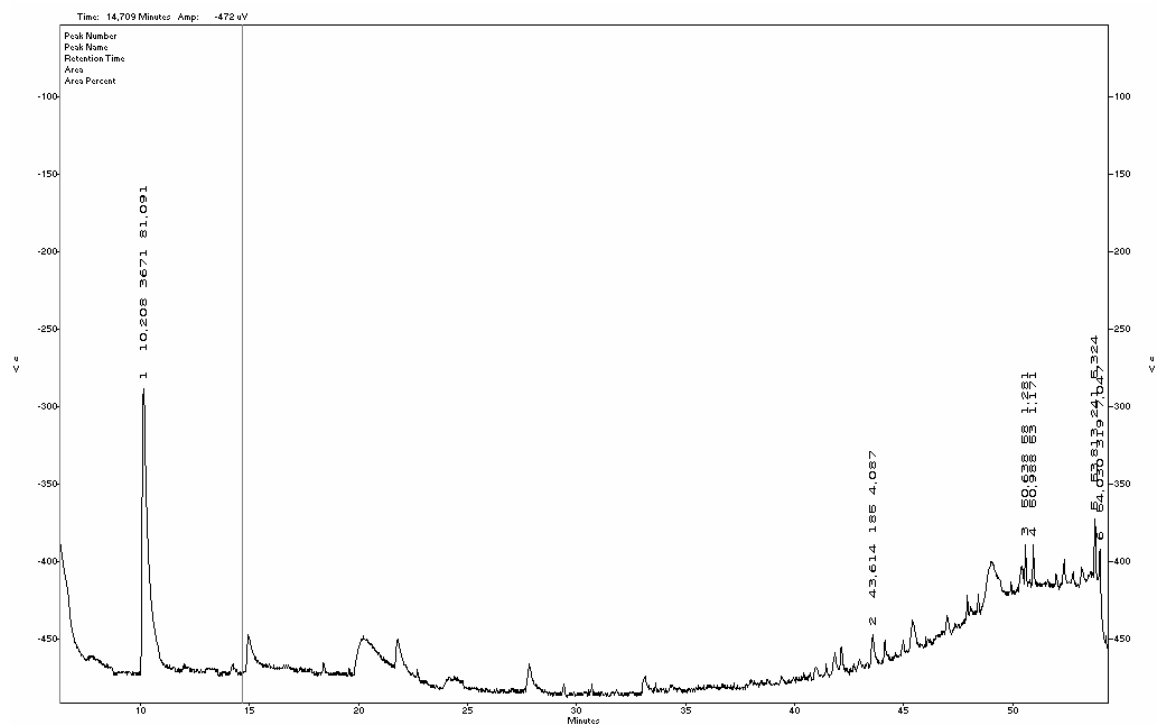
Muestra No 6				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,133	76,54	738	3-Metil-1-Butanol
2	10,14	5,93	877	2-Hexenol
3	45,96	1,97	2190	Octadecanoato de Etilo
4	48,72	1,13	2333	No Identificado
5	51,94	0,61	2501	No Identificado
6	52,6	2	2536	No Identificado
7	53,35	7,79	2575	No Identificado
8	53,93	3,6	2605	No Identificado

MUESTRA 7



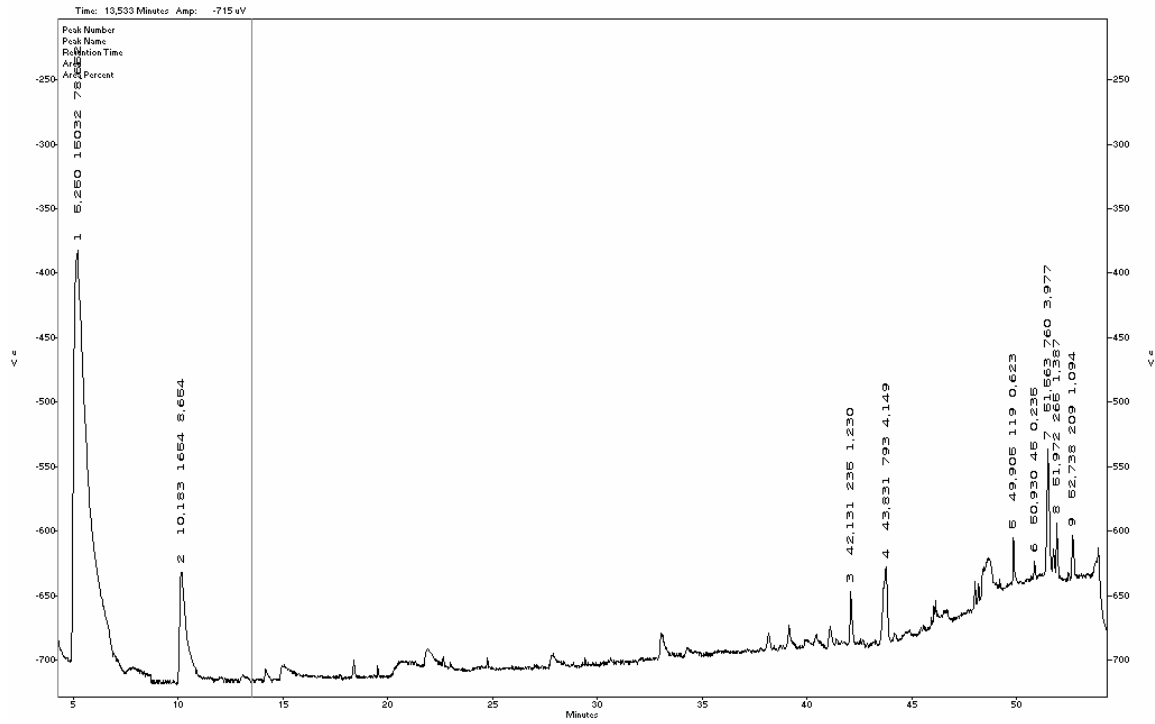
Muestra No 7				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,175	92,92	739	3-Metil-1-Butanol
2	10,19	3,34	878	2-Hexenol
3	51,6	3	2483	No Identificado

MUESTRA 8



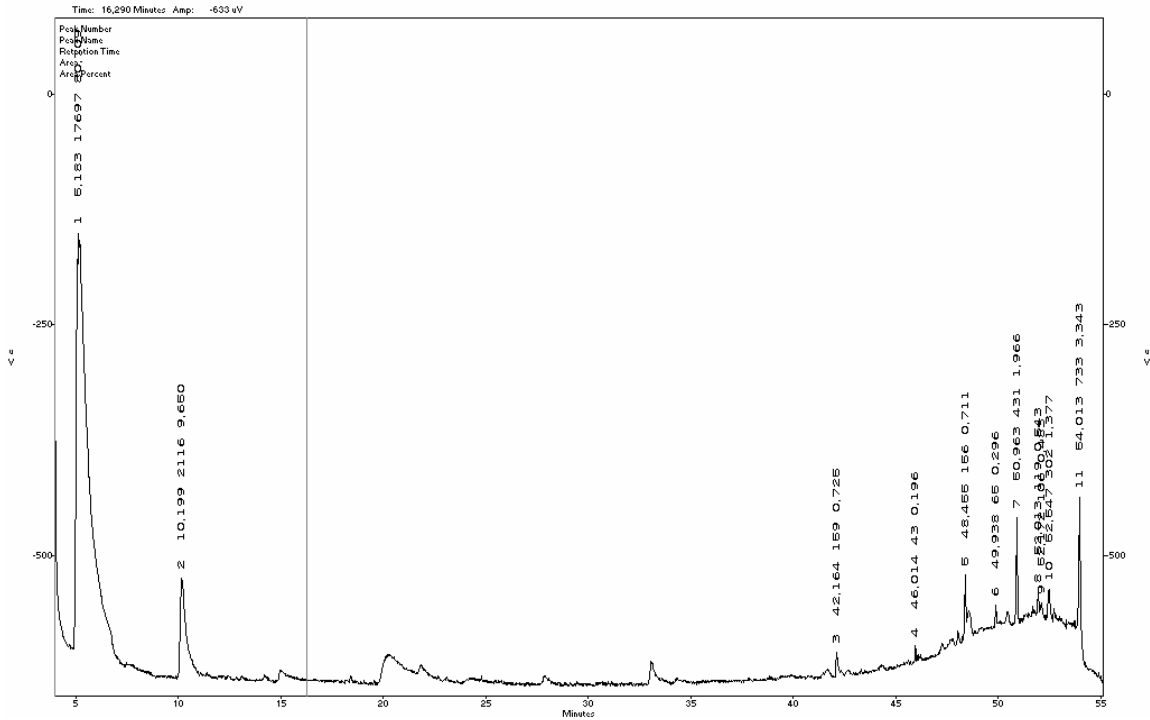
Muestra No 8				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	10,21	81,09	879	2-Hexenol
2	43,61	4,09	2067	4-Vinilfenol
3	53,81	5,32	2599	No Identificado
4	54,03	7,05	2610	No Identificado

MUESTRA 11



Muestra No 11				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
1	5,25	78,65	742	3-Metil-1-Butanol
2	10,18	8,65	878	2-Hexenol
3	42,13	1,23	1991	Etil-Hexadecanoato
4	43,83	4,15	2079	4-Vinilfenol

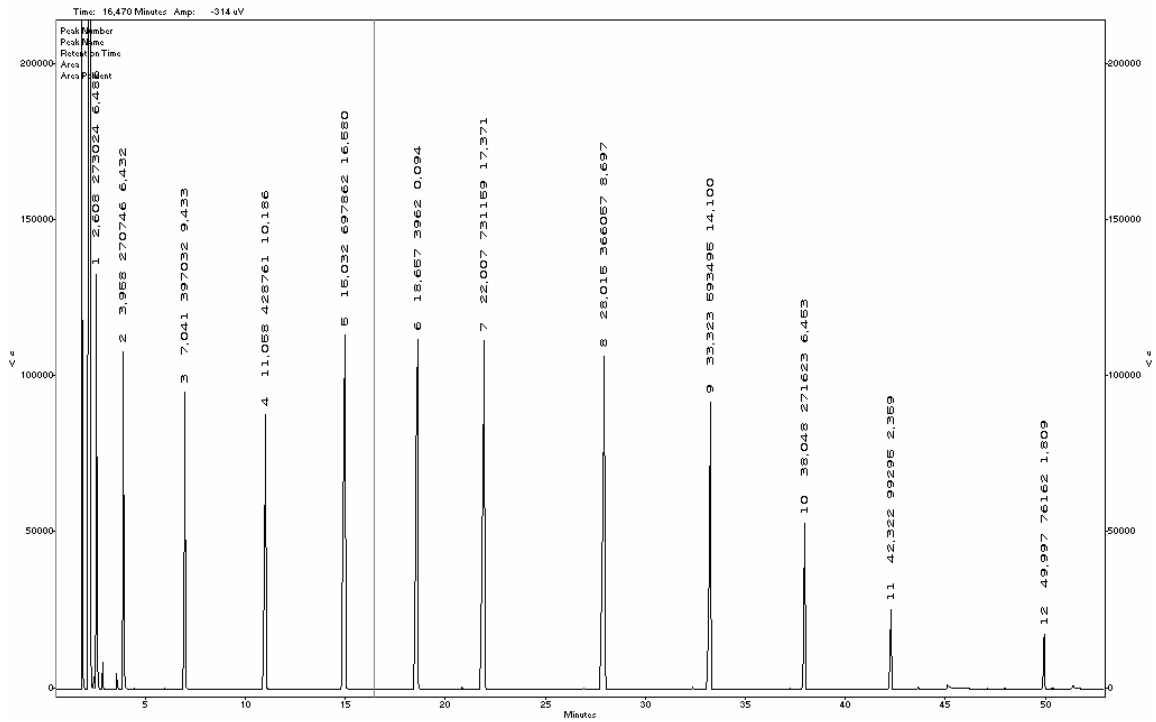
MUESTRA 13



Muestra No 13				
No	Tr	% de Área	Ik	Posible Compuesto
	5,183	80,71	740	3-Metil-1-Butanol
	10,2	9,65	879	2-Hexenol
	42,16	0,72	1993	Etil-Hexadecanoato
	48,45	0,7	2319	No Identificado
	50,96	1,97	2450	No Identificado
	52,01	0,54	2505	No Identificado
	52,54	1,38	2532	No Identificado
	54,01	3,34	2609	No Identificado

ANEXO H

CROMATOGRAMA PARA PARAFINAS



Los ácidos grasos que se pueden identificar son:

- Acido Dodecanoico
- Acido Hexadecanoico o Acido Palmitico
- Acido Oleico