

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



TESIS

**“OBTENCIÓN DE CAFÉ ESPECIAL BAJO EN
CAFEÍNA MEDIANTE FERMENTACIÓN ENZIMÁTICA
DE CAFÉ ARÁBICA”**

**PARA OBTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUÍMICO**

ROJAS DÍAZ, ROSA NELVA

Callao, Septiembre, 2017

PERÚ

PRÓLOGO DEL JURADO

La presente tesis fue expuesta por la Bachiller **ROJAS DÍAZ ROSA NELVA**, ante el **JURADO DE SUSTENTACION DE TESIS** conformado por los siguientes Profesores Ordinarios:

Dr. Ing. CALDERÓN CRUZ JULIO CESAR	: PRESIDENTE
Mg. Ing. LAZO CAMPOSANO ROBERTO	: SECRETARIO
Mg. Ing. GUTIERREZ CUBA CESAR	: VOCAL
Dra. Ing. HERRERA SÁNCHEZ SONIA ELIZABETH	: ASESORA

Tal como está asentado en el Libro N° 2 Folio N° 95 y Acta N° 278 de Sustentación por la Modalidad de Tesis sin Ciclo de Tesis, de fecha **15 DE SEPTIEMBRE 2017**, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la modalidad de Tesis sin Ciclo de Tesis, de conformidad establecido por el Reglamento de Grados y Títulos aprobado por Resolución N° 082-2011-CU de fecha 29 de abril de 2011.

DEDICATORIA

A mi madre Felícita, mis abuelitos Mavila & Aurelio y tíos; por su apoyo incondicional, por brindarme todo el amor del mundo y por ser partícipes de cada uno de mis logros.

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a Dios por permitirme haber logrado este proyecto, a la Universidad Nacional del Callao por la acogida durante mi vida universitaria, a la Facultad de Ingeniería Química por ser el pilar de mi formación como ingeniera, a la Ing. Sonia Herrera S. por asesorarme en el proyecto, al Q.F Walter Tapia Chacaltana por su apoyo en la parte experimental del proyecto, a mi jurado evaluador por su revisión exhaustiva del proyecto y a cada uno de los profesores que contribuyeron día a día, con sus conocimientos y experiencia en mi desarrollo profesional.

También agradezco de manera muy especial al Sr. Aurelio Díaz Chávez, mi abuelo, por proveerme la materia prima (café) y sus técnicas de cosecha; a la Sra. Mavila Altamirano Estela, mi abuela, por su aporte en conocimientos de fermentación con suero de leche; a la Cámara de Café y Cacao, por brindarme el servicio de tostación y otros aportes; a la Junta Nacional del Café, por capacitarme en Catación de café.

INDICE

INDICE	5
TABLAS DE CONTENIDO.....	10
RESUMEN.....	15
ABSTRACT	16
I. PLANEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
1.1 Identificación del problema	17
1.2 Formulación del problema.....	17
1.2.1 Problema general	17
1.2.2 Problemas específicos	17
1.3 Objetivos de la investigación.....	17
1.3.1 Objetivo general	17
1.3.2 Objetivos específicos.....	18
1.4 Justificación	18
1.4.1 Justificación tecnológica	18
1.4.2 Justificación económica	18
1.5 Importancia	19
II. MARCO TEORICO.....	20
2.1 Antecedentes de estudio.....	20
2.2 Marco Conceptual.....	21

2.2.1	Origen del café.....	21
2.2.2	Características sensoriales del café.....	24
2.2.3	Catación.....	24
2.3	Producción mundial del café.....	25
2.4	Producción de café en el Perú.....	27
2.5	Variedades de café en el Perú.....	29
2.6	Cafés especiales.....	29
2.7	Café especial en la industria.....	32
2.8	Términos básicos.....	33
2.9	Reactivos para extracción.....	41
2.10	Espectroscopia UV.....	44
2.10.1	Ecuación de Lambert-Beer: coeficiente de extinción molar.....	46
2.10.2	Curva de Calibración.....	49
2.10.3	Espectro de absorción UV-Vis.....	50
2.10.4	Instrumentación para espectroscopía UV Espectrofotómetros....	51
III.	VARIABLES E HIPÓTESIS.....	54
3.1	Variables de investigación.....	54
3.2	Operacionalización de variables.....	54
3.3	Hipótesis.....	55
3.3.1	Hipótesis general.....	55

3.3.2	Hipótesis específicas	55
IV.	METODOLOGÍA	56
4.1	Tipo de investigación.....	56
4.1.1	Por su finalidad.....	56
4.1.2	Por su diseño interpretativo.....	56
4.1.3	Por el énfasis en la naturaleza de los datos manejados	56
4.2	Diseño de la investigación	56
4.2.1	Etapas de la investigación	57
4.3	Población y muestra.....	57
4.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	59
4.4.1	Plan de recolección y procesamiento de la información	59
4.4.2	Equipos, Materiales, Reactivos y Métodos	60
4.5	Procedimientos de recolección de datos	62
4.5.1	Primera etapa de la investigación	62
4.5.2	Segunda etapa de la investigación	63
4.5.3	Tercera etapa de la investigación	66
4.6	Procesamiento estadístico y análisis de datos.....	71
4.6.1	Tratamiento Estadístico	71
4.6.2	Análisis Estadístico	71
4.7	Área de estudio	72

V.	RESULTADOS	73
5.1	Caracterización de la solución enzimática.....	73
5.1.1	Determinación del pH	73
5.2	Determinación del número de muestras de café para fermentar.....	73
5.3	Medición de la concentración de cafeína.....	76
5.4	Análisis ANOVA.....	78
5.4.1	ANOVA unidireccional: A-8, A-10, A-12	78
5.4.2	ANOVA unidireccional: B-8, B-10 y B-12.....	82
5.4.3	ANOVA unidireccional: C-8, C-10 y C-12.....	85
5.4.4	Concentraciones promedio “A, B, C “a diferentes tiempos	87
5.5	Determinación del tiempo óptimo de fermentación.	90
5.6	Cálculos para la determinación del tanto por ciento de cafeína	92
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	96
6.1	Contrastación de hipótesis con resultados	96
6.2	Contrastación de resultados con otros estudios similares.....	96
VII.	CONCLUSIONES.....	97
VIII.	RECOMENDACIONES	99
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
9.1	Referencia - textos	100
9.2	Referencia – Revistas.....	101

X. ANEXOS	102
10.1 Distribución del café maduro en volumen de solución enzimática ..	102
10.2 Contenido de cafeína en diferentes productos	103
10.3 Resultados de medición de pH en las muestras catadas.	104
10.4 Matriz de Consistencia.....	105
10.5 Procesos unitarios y parte experimental	106

TABLAS DE CONTENIDO

FIGURAS

2.1 Estructura molecular de la cafeína.....	23
2.2 Países en el mundo que producen cafés especiales.....	26
2.3 Departamentos productores de café en el Perú.....	28
2.4 Síntesis del pepsinógeno.....	34
2.5 Digestión de las proteínas por acción de la pepsina.....	35
2.6 Diagrama de los niveles de energía y posibles transiciones moleculares.....	45
2.7 Molécula X-Y que absorbe radiación electromagnética (ΔE) y pasa del estado electrónico fundamental (E_0) al excitado (E_1).....	46
2.8 Sistema óptico de un espectrofotómetro mono-haz.....	52
4.1 Representación del procedimiento experimental.....	57

TABLAS

2.1 Principales países productores de café.....	25
2.2 Producción regional del café peruano.....	27
3.1 Variables de investigación.....	53
4.1 Distribución de los tiempos de fermentación a diferentes concentraciones de enzimas.....	63
4.2 Determinación de la curva patrón.....	68
4.3 Determinación de la concentración de cafeína.....	69
5.1 Determinación del pH.....	72
5.2 Tabla de diseño.....	73
5.3 Análisis factorial.....	74
5.4 Concentración de cafeína en las muestras: A-8, A-10 y A-12.....	75
5.5 Concentración de cafeína en las muestras: B-8, B-10 y B-12.....	75
5.6 Concentración de cafeína en las muestras: C-8, C-10 y C-12.....	76
5.7 Concentración de cafeína en las muestras.....	76
5.8 Análisis de varianza.....	77
5.9 Agrupación de TUKEY.....	78
5.10 Agrupación de FISHER.....	79

5.11 Análisis de varianza.....	81
5.12 Agrupación de TUKEY.....	82
5.13 Análisis de varianza.....	84
5.14 Agrupación de TUKEY.....	85
5.15 Concentraciones de cafeína en las muestras experimentales.....	86
5.16 Determinación de la absorbancia y concentración de cafeína en las muestras.....	89
5.17 Determinación del % cafeína en las muestras.....	92
5.18 Determinación de mg cafeína en 10g de café tostado.....	93
5.19 Análisis Sensorial.....	93
7.1 Procedimiento para la obtención de café bajo en cafeína.....	96
7.2 Características físicas y químicas de la solución enzimática.....	97
7.3 Condiciones óptimas de fermentación enzimática.....	97
10.1 Relación de concentración enzimática/tiempo de fermentación.....	101
10.2 Contenido de cafeína en diferentes productos.....	102
10.3 pH de las muestras catadas.....	103

GRAFICOS

2.1 Producción de café en los principales países cafetaleros.....	26
2.2 Participación porcentual por regiones.....	28
2.3 Mercado de cafés en Estados Unidos.....	32
2.4 Comportamiento de la reacción enzimática.....	36
2.5 Curva de calibración-espectro de absorción UV-VIS.....	49
2.6 Espectro de absorción de diferentes sustancias.....	68
4.1 Curva patrón.....	68
4.2 Concentración vs tiempo de fermentación.....	70
5.1 ICs simultáneos de 95% de TUKEY.....	78
5.2 ICs individuales de 95% de FISHER.....	79
5.3 Gráfica de intervalos de Conc.Cafeína vs. Tiemp.Ferm.....	80
5.4 Gráfica de valores individuales de Conc.Cafeína vs. Tiemp.Ferm.....	81
5.5 ICs simultáneos de 95% de TUKEY.....	82
5.6 Gráfica de intervalos de Conc.Cafeína vs. Tiemp.Ferm.....	83
5.7 Gráficas de residuos para Conc.Cafeína.....	83
5.8 ICs simultáneos de 95% de TUKEY.....	85
5.9 Gráfica de intervalos de Conc.Cafeína vs. Tiemp.Ferm.....	86

5.10 Conc.ezimatica vs conc. de cafeína.....	86
5.11 Conc.ezimatica vs conc. de cafeína.....	87
5.12 Conc.ezimatica vs conc. de cafeína.....	87
5.13 Concentración de cafeína en todas las muestras experimentales y patrón...	90

RESUMEN

En esta investigación se ha elaborado un café especial bajo en cafeína, mediante fermentación enzimática de café arábica.

El procedimiento se inició con la fermentación de estómagos de cuy en suero de leche para activar al pepsinógeno en pepsina; luego se recolectó el café maduro, seleccionó, dividió en 9 muestras y se fermentó cada una en solución enzimática. Luego se despulpó, lavó y secó hasta una humedad de 12 % en peso, seguidamente se separó el pergamino de la pepa y tostó a una temperatura de 190°C durante 9min por cada 120g de muestra.

Luego se molió y tamizó; finalmente se llevó al laboratorio de investigación de la Facultad de Ingeniería Química de la UNAC para extraer y determinar la cafeína en las muestras, finalmente hacer la comparación respectiva con la muestra sin fermentar (MSF) y la muestra de referencia de café misha (MR).

La extracción de la cafeína se realizó por extracción sólido-líquido, luego se separó mediante la extracción líquido-líquido. Una vez extraída la cafeína se realizó el análisis cuantitativo utilizando el espectrofotómetro UV-VIS y se determinó la cantidad de cafeína en cada una de las muestras. Paralelamente las muestras de café molidas se sometieron a prueba de Catación utilizando los parámetros de calidad para cafés especiales de la SCAA; de esta manera se determinó los parámetros adecuados como son el tiempo de fermentación de 12h, concentración enzimática de 1.9444g/L, T° de fermentación de 20°C, pH de 3.68 y la concentración de cafeína de 35.53mg.

ABSTRACT

This research is about special caffeine low coffee has been made by enzymatic fermentation of arabica coffee.

The procedure was initiated with the fermentation of stomachs guinea pig with whey to activate the pepsinogen in pepsin. The ripe coffee was then harvested and selected, then was divided into 9 samples and each fermented into the enzymatic solution. After that, it had to be dispulp, washed and dried until to obtain a moisture of 12% by weight. To continue with that, we have to separated the seed from the pergamino and it had to be toast by the temperature of 190 ° C for 9 minutes per 120g of sample.

Then it was milled and sieved. Finally it was taken to the research laboratory of the Faculty of Chemical Engineering of the UNAC to extract and determine the caffeine in the samples to make the respective comparison with the sincere sample (MSF) and the reference sample of coffee Misha (MR).

With regard to the extraction of caffeine, this was done by solid-liquid extraction and then separated by liquid-liquid extraction. After the caffeine was extracted, the quantitative analysis was performed using the UV-VIS spectrophotometer and determined the amount of coffee in each of the samples. In parallel, the coffee samples are in the tasting test using the quality parameters for special coffees of the SCAA. In this way we determined the appropriate parameters such as the fermentation time of 12h, enzymatic concentration of 1.9444g / L, fermentation T ° of 20 ° C, pH of 3.68 and the concentration of caffeine of 35.53mg.

I. PLANEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Identificación del problema

En la producción y consumo de productos ecológicos, orgánicos, conservacionistas, entre otros, han ocurrido cambios importantes a nivel mundial en los últimos años, esta tendencia se debe a una fuerte preocupación por la salud, a las nuevas exigencias en los gustos de los consumidores y a una mayor conciencia por la protección del ambiente; por ello, estos sistemas de producción que se caracterizan por la conservación de los recursos naturales, han tenido gran auge, especialmente en Europa, América del Norte y Japón.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cómo debe ser el procedimiento óptimo de fermentación para la obtención de café especial bajo en cafeína?

1.2.2 Problemas específicos

- a.- ¿Cuáles son las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación de café?
- b.- ¿Cuáles son las condiciones óptimas de fermentación, para la obtención de café especial bajo en cafeína?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar el procedimiento óptimo de fermentación para obtener café especial bajo en cafeína.

1.3.2 Objetivos específicos

- a.- Determinar las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación del café.

- b.- Determinar las condiciones óptimas de la fermentación enzimática para la obtención de café especial bajo en cafeína.

1.4 Justificación

Considerando el consumo masivo de café a nivel mundial, con 151.2 millones de sacos en el año 2015; requiere de constante investigación dirigida hacia la implementación de tecnologías nuevas y adecuadas a las necesidades que se plantean en cada momento, tanto de carácter económico, social y medioambiental.

1.4.1 Justificación tecnológica

El estudio de la fermentación enzimática del café arabica, es un gran aporte a nivel de tecnología limpia; ya que aporta propiedades importantes como aromas, sabor, disminución de cafeína de forma natural en el café. Logrando así satisfacer los paladares más exquisitos de los consumidores de café de alta calidad como son los cafés especiales, siendo uno de ellos el café bajo en cafeína.

1.4.2 Justificación económica

El método de fermentación es un método muy eficiente y de bajo costo; ya que para el proceso se utiliza productos poco comerciales que tienen bajo costo adquisitivo y se requiere poca energía para el proceso.

1.5 Importancia

Esta investigación muestra una alternativa de solución a la producción de cafés exóticos muy apreciados hoy en día por sus aromas y sabores especiales; además de la búsqueda de cafés bajos en cafeína. La ventaja de utilizar este proceso radica en no utilizar animales que podrían estar en peligro de extinción y las condiciones en que se los mantienen para producir los cafés especiales que hoy se ofertan en el mercado nacional e internacional, donde son altamente cotizados.

II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de estudio

PUERTA QUINTERO, Gloria Inés (2012), en su investigación “*Factores, Procesos y Controles en la Fermentación del Café*” para el Programa de Investigación Científica del Fondo Nacional de Café de Colombia, donde señala que mediante la práctica de procesos de fermentación, lavado y secado controlados, se obtienen bebidas de café con aromas y sabores de buena calidad y especiales.

CÁRDENAS DÍAZ, Juan Pablo y PARDO PINZÓN, Juan David (2014), en su tesis “*Caracterización de las etapas de Fermentación y Secado del café la primavera*” para el Programa de Ingeniería Industrial de Bogotá D.C. Donde realizó la caracterización de los procesos de fermentación y secado para el café, con el objetivo de contribuir al conocimiento de algunos factores que afectan la calidad de taza del café.

X-Villegas-Ruíz, H. Ruíz-Espinosa y M. E. Bárcenas-Pozos (2010) en “*Tecnologías de Enmascaramiento de Sabor Amargo en Alimentos*” del Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental de la Universidad de las Américas de Puebla-México, donde menciona que el sabor amargo en el café es debido a la cafeína y ácidos clorgénicos presentes.

2.2 Marco Conceptual

2.2.1 Origen del café.

El café es originario de Etiopía, sin embargo fue cultivado por primera vez en los jardines del monasterio de Yemen, Arabia; luego a través de los peregrinos religiosos, las semillas fueron trasladadas a otros países del medio oriente, de donde fue llevado a través de los comerciantes hasta Italia y otros países.

Su llegada al Perú, según datos históricos data entre 1740 a 1760, procedente de la ciudad de Guayaquil que entonces formaba parte del virreinato del Perú, iniciándose a cultivar en el distrito de Chinchao-Huánuco.

➤ El café

El café(Coffea) es una semilla procedente del cafeto, un arbusto que pertenece a la familia de las rubiáceas (Rubiaceae), grupo que engloba unos 500 géneros y más de 6.000 especies, la mayoría árboles y arbustos tropicales. Dentro del género Coffea hay más de 100 especies, todas ellas autóctonas de África tropical y de algunas islas de Océano Índico. El café es un arbusto que puede alcanzar entre dos a seis metros de altura, es de hoja perenne y comienza a producir flores a partir del primer año.

➤ Raíz

La raíz central es pivotante, su longitud en una planta adulta es de 50 a 60 cm aproximadamente, las raíces secundarias) se originan a partir de la

pivotante; de las secundarias, generalmente se desarrollan los pelos absorbentes, Los cuales son muy importantes porque le permiten a la planta la absorción de agua y nutrientes del suelo.

➤ **Tallo**

Es leñoso, erecto y de longitud diversa de acuerdo a la variedad. Presenta la particularidad de producir tres tipos de yemas que originan diferentes partes de la planta: el tallo, las ramas y las hojas.

➤ **Hojas**

La lámina de la hoja mide de 12 a 24 cm de largo por 5 a 12 cm de ancho, variando su forma de elíptica a lanceolada.

➤ **Flores**

La floración del café es marcadamente estacional, generalmente coincide con la presencia de las primeras lluvias. En las axilas de las hojas se presentan las yemas florales, el número promedio de flores por nudo es de 40 flores, 20 en cada axila. Cuando se abre la flor, las anteras ya han liberado gran cantidad de polen; por esta razón, la autofecundación se da en un alto porcentaje. Una vez que el polen alcanza los óvulos, la fertilización se completa durante cuatro o seis días.

➤ **Frutos y semillas**

El fruto es una baya drupácea con dos almendras con sus respectivos embriones, que constituyen la semilla.

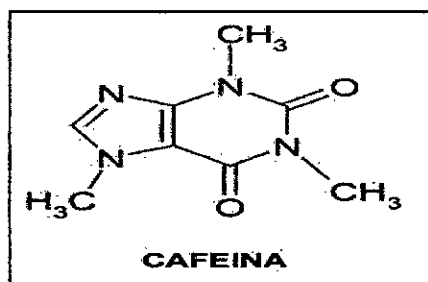
➤ **La cafeína (C₈H₁₀ N₄O₂)**

La cafeína (1, 3,7-metilxantina) es un alcaloide de estructura purínica que se encuentra naturalmente en los granos del café. El 75% del consumo de cafeína mundial es aportado por el café.

Su estructura molecular pertenece a un grupo de xantinas trimetiladas. La cafeína tiene un efecto estimulante, aunque éste depende de la cantidad consumida. No se acumula en el cuerpo pero permanece varias horas antes de ser eliminada y cesar sus efectos. Destacan entre estos, el aumento de la capacidad de atención y la disminución de la sensación de sueño, un efecto que muchos buscan pero que para otros es motivo suficiente para rechazar una taza. Masa molar: 194,19 g/mol, densidad: 1,23 g/cm³ y punto de fusión: 238 °C

FIGURA N° 2.1

ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA CAFEINA



Fuente: *Calle A. Silvia-Determinación Analítica de la cafeína-2011*

2.2.2 Características sensoriales del café

Fragancia. Es la intensidad que producen los compuestos aromáticos del café cuando son percibidos por el sentido del olfato, sin la adición de agua (en seco)

Aroma. Intensidad de los compuestos aromáticos percibida en la infusión, en la bebida recién preparada.

Acidez. Originada por las sustancias ácidas del café que pasan a la bebida y son percibidas en las partes laterales de la lengua.

Amargo. Sensación producida por las sustancias amargas propias del café, como la cafeína responsable del 10% del amargo.

Cuerpo. Hace referencia al tacto en el paladar según sea su espesor, densidad, viscosidad o cremosidad; es el carácter de la fuerza de la bebida (Un café con bajo cuerpo da la sensación de muy diluido).

Astringencia. Sensación provocada por sustancias que producen constricción en los tejidos gustativos. Sensación de resequedad en la boca.

2.2.3 Catación

Descripción y/o medición de características físicas y organolépticas del café. Puesto que nos permite evaluar atributos, cualidades y defectos, se convierte en una herramienta de control de calidad al final del proceso de transformación del producto.

2.3 Producción mundial del café

De acuerdo con la Organización internacional del café OIC, los principales productores de café en el mundo son: Brasil, Vietnam, Colombia, y otros países.

TABLA N° 2.1

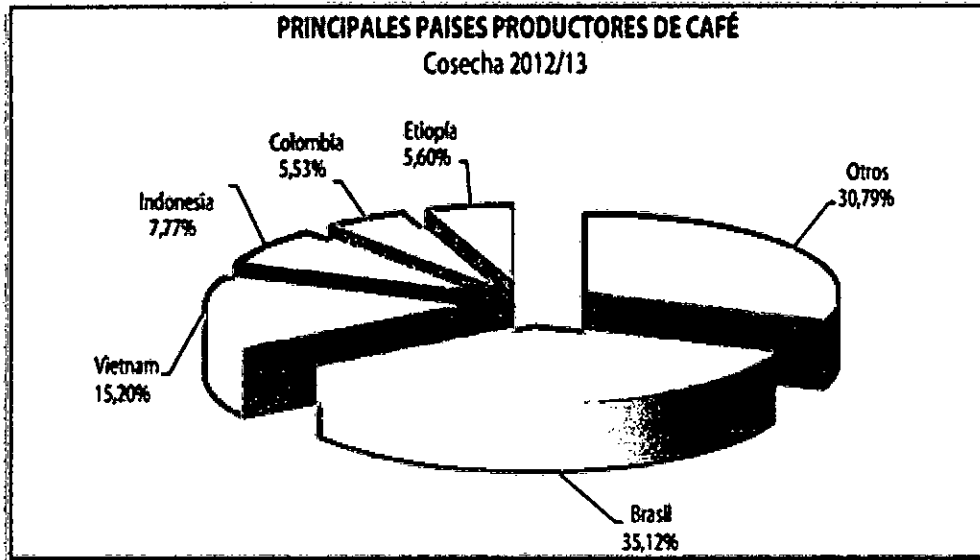
PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES DE CAFE

Principales productores de café del mundo en el año 2015			
Puesto	País	Producción (en miles de Kg)	% de producción mundial
1	Brasil	2.594.100	30,16%
2	Vietnam	1.650.000	19,18%
3	Colombia	810.000	9,42%
4	Indonesia	660.000	7,67%
5	Etiopía	384.000	4,46%
6	India	350.000	4,07%
7	Honduras	345.000	4,01%
8	Uganda	285.000	3,32%
9	México	234.000	2,72%
10	Guatemala	204.000	2,37%
11	Perú	192.000	2,23%
12	Nicaragua	130.000	1,52%
13	Costa de Marfil	108.000	1,26%
14	Costa Rica	89.520	1,04%
15	Kenia	50.000	0,58%
16	Tanzania	48.000	0,56%
17	Papúa Nueva Guinea	48.000	0,56%
18	El Salvador	45.701	0,53%
19	Ecuador	42.000	0,49%
20	Camerún	34.200	0,40%

Fuente: *Organización Internacional de Café (OIC)-2015*

GRAFICA N° 2.1

PRODUCCION DE CAFÉ EN LOS PRINCIPALES PAISES CAFETALEROS



Fuente: *Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos (OEEE) –MINAGRI-2013*

FIGURA N° 2.2

PAÍSES EN EL MUNDO QUE PRODUCEN CAFÉS ESPECIALES.



Fuente: *Farfán V. Fernando – Sistemas de Producción de Café-2004*

2.4 Producción de café en el Perú

La producción nacional de café muestra un comportamiento oscilante y alcanzó una producción récord en el año 2011 con 332 mil toneladas, incentivado por los buenos precios internacionales. A fines de 2012 la enfermedad de la “roya amarilla” ataca las hojas del cafeto, y sumado a la falta de renovación de los antiguos cafetales, trae como consecuencia el declive de la producción nacional por tres años consecutivos, tocando piso en diciembre de 2014, con un volumen producido de 209 mil toneladas.

TABLA N° 2.2

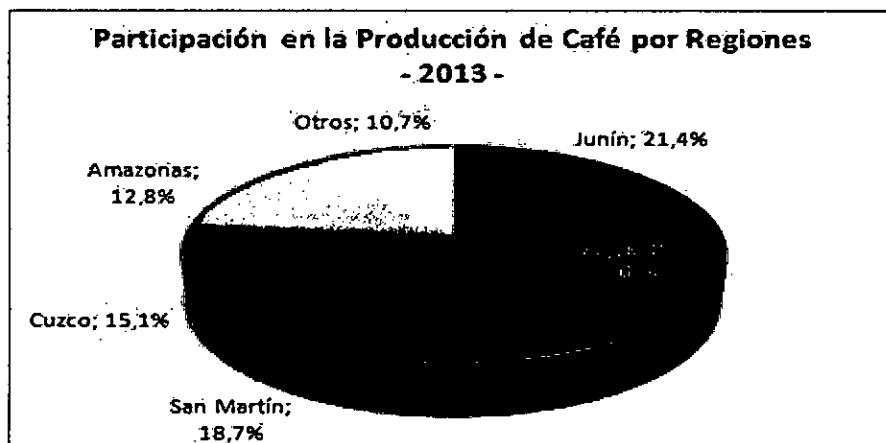
PRODUCCION REGIONAL DEL CAFÉ PERUANO

Región / Departamento	2013	2014	Var. %	Part. % (Ene-Dic. 2014)
Nacional	255,857	209,182	-18.2	100.0
Selva Norte/Oriente	137,480	136,107	-1.0	65.1
Piura	2,280	2,334	2.4	1.1
Cajamarca	54,472	44,889	-17.6	21.5
Amazonas	32,857	34,202	4.1	16.4
San Martín	47,872	54,682	14.2	26.1
Selva central	67,474	42,698	-36.7	29.4
Huánuco	2,854	3,503	22.7	1.7
Pasco	7,197	5,434	-24.5	2.6
Junín	54,837	31,510	-42.5	15.1
Ucayali	2,587	2,252	-12.9	1.1
Selva Sur	49,816	29,609	-40.6	14.2
Ayacucho	4,434	2,273	-48.7	1.1
Cusco	38,545	22,588	-41.4	10.8
Puno	6,832	4,750	-30.5	2.3
Otros	1,092	768	-29.7	0.4

Fuente: *Síntesis Agroeconómica del Café* – MINAGRI-2015

GRAFICA N° 2.2

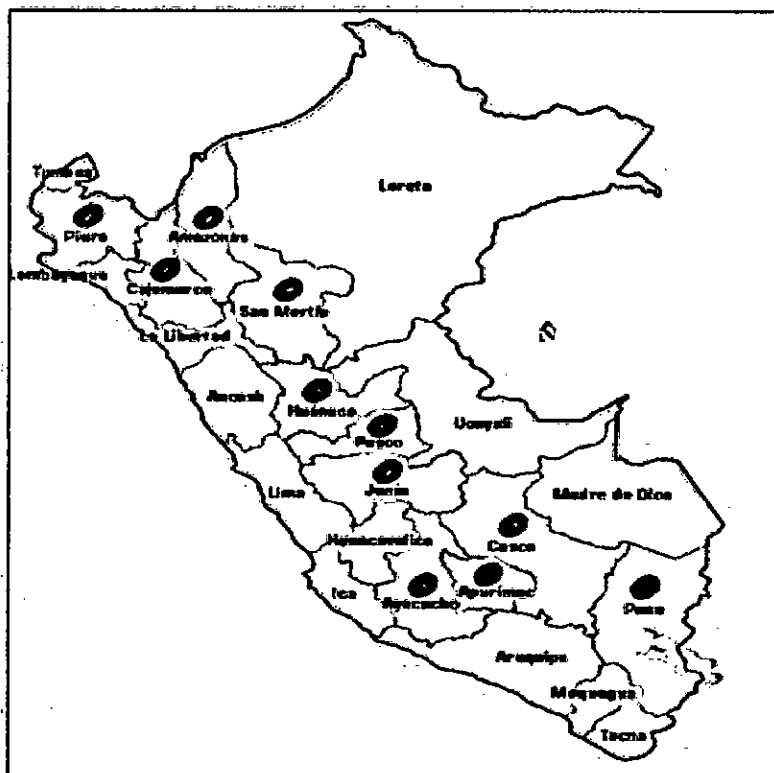
PARTICIPACION PORCENTUAL POR REGIONES



Fuente: MINAG- *Series Históricas de Producción Agrícola-2013*

FIGURA N° 2.3

DEPARTAMENTOS PRODUCTORES DE CAFÉ EN EL PERU



Fuente: *Cámara Peruana del Café-2013*

2.5 Variedades de café en el Perú

Entre las principales variedades se encuentran:

Variedad Arábica (*Coffea Arábica*)

Variedad Robusta (*Coffea canephora*)

Variedades importantes Típicas: Caturra, Catimor y Borbón.

Otras: Existen otras especies menos importantes y difundidas, como son: *Coffea liberica*, *Coffea dewevrei*, *Coffea stenophylla*, *Coffea congensis*, *Coffea abeokutae*, *Coffea klainii*, *Coffea zanguebariae* y *Coffea racemosa*.

➤ Café Arábica

La especie arábica tiene un contenido en cafeína menor que en la variedad robusta. Se cultiva principalmente en Perú, Colombia, Centroamérica y Brasil.

Representa las tres cuartas partes de la producción mundial de café. La variedad Arábica crece en altitudes superiores a los 900 metros, cuanto mayor es la altitud, mejor serán las cualidades organolépticas del grano de café.

2.6 Cafés especiales

Es muy complejo poder definir exactamente lo que son Cafés Especiales, ya que cada uno puede tener su propia percepción.

El término “café especial”, es atribuido a la noruega Erna Knutsen, experta tostadora de café, quien usó por primera vez este término en la conferencia

internacional de café, celebrada en Montruil (Francia) en 1978 (Ponte 2003, 2004).

Este concepto hace alusión a la geografía y a los microclimas, que permiten la producción de granos de café con sabor único y de características particulares que preservan su identidad.

En 1982, se creó la Asociación Americana de Cafés Especiales (SCAA), y ésta definió el término “café especial” como “un café de buena preparación, de un origen único y sabor distintivo.

➤ **Categorías de cafés especiales**

Según la Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA, 2004), los Cafés Especiales se agrupan en cinco categorías:

a. Cafés de origen.

Son cafés que provienen de un país, región o finca, con un sinnúmero de cualidades únicas, debido a que crecen en sitios especiales, y que son vendidos al consumidor final sin ser mezclados con cafés de otras calidades o con cafés de otros orígenes. Con estos cafés se ofrece al consumidor final la posibilidad de paladear sabores naturales provenientes de regiones del mundo reconocidas por sus cualidades. Entre los cafés de origen más famosos se encuentran: Granos de Moca de Yemen Java, Sumatra y Celebese de Indonesia; Blue Mountain de Jamaica; Cona de Hawaii; Antigua de Guatemala; Terrazú y Tres Ríos de Costa Rica; AA de Kenia y Supremos de Colombia.

b. Cafés orgánicos.

Son cafés cultivados sin el empleo de Agroquímicos como fertilizantes, fungicidas e insecticidas. Para la venta de estos cafés el caficultor debe tener una certificación emitida por una entidad certificadora orgánica con reconocimiento mundial; por tal motivo, las plantaciones que se destinen para tal fin deben someterse a un proceso de desintoxicación o transición, el cual oscila entre 2 y 3 años antes de ser certificados vendidos como cafés orgánicamente cultivados. Los cafés orgánicos constituyen una pequeña porción de los cafés especiales (0,5%), y responden a una tendencia mundial de los productos libres de agroquímicos.

c. Cafés saborizados.

Son cafés que durante o después de su proceso de tostación, se les incorpora una resina con sabor a vainilla, chocolate, fresa, nuez y amaretto, entre otros. Son considerados el producto estrella de los cafés especiales con una participación en el mercado del 40%. Con estos cafés se induce a las nuevas generaciones al consumo del café.

d. Cafés de alta tostión.

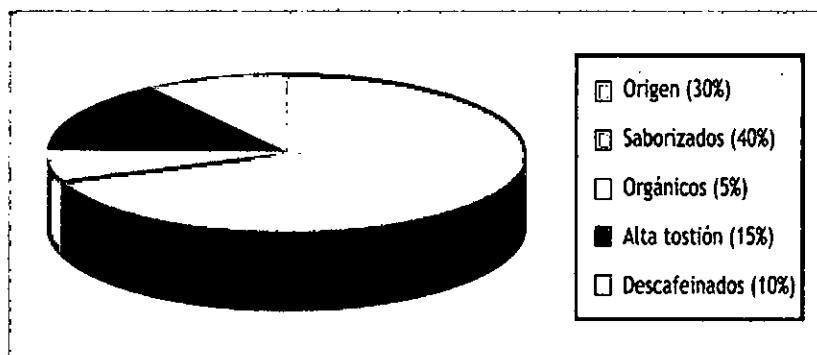
Se consideran aquellos cafés cuyo grado de tostión es superior al tradicional, y están destinados a la preparación de cafés expresos y capuchinos. No necesariamente utilizan cafés de un solo origen sino que pueden ser mezclas. Constituyen el 15% del mercado de los Cafés Especiales.

e. Cafés descafeinados.

Son aquellos que se someten a un proceso para extraer la cafeína que contiene el grano verde. Se comercializan dentro del nicho de los Cafés Especiales y participan en el 10% del total de la categoría.

GRAFICA N° 2.3

MERCADO DE CAFES EN ESTADOS UNIDOS



Fuente: *Farfán V. Fernando – Sistemas de Producción de Café-2004*

2.7 Café especial en la industria

La industria de los cafés especiales es el segmento de mayor crecimiento en el mercado mundial de café. Según PROMPERU, el Perú es el principal productor y exportador de café orgánico a nivel mundial, además de ser el principal abastecedor de EEUU, de café especial, bajo el sello de Fair Trade (Comercio justo). Abarcando así el 25% del nicho de mercado.

2.8 Términos básicos

➤ Fermentación

Proceso bioquímico por el que una sustancia orgánica se transforma en otra, generalmente más simple, por la acción de un fermento.

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno y el producto final es un compuesto orgánico; las bacterias o microorganismos, así como también las levaduras, se alimentan de algún tipo de componente natural y se multiplican, cambiando la composición del producto inicial.

Hace uso de la acción controlada de microorganismos seleccionados para modificar la textura de los alimentos, conservarlos o producir ácidos o alcohol y desarrollar en ellos aromas y sabores que aumenten su calidad y valor nutritivo.

➤ Enzimas

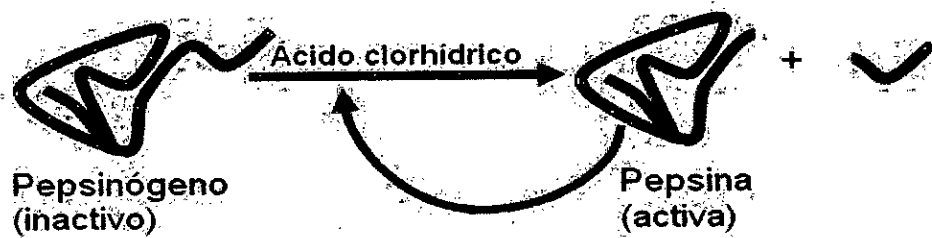
Las enzimas son proteínas que catalizan la mayoría de las reacciones químicas que tienen lugar en los organismos vivos. Algunas enzimas, como ocurre en las enzimas proteolíticas del tracto digestivo, son secretadas y actúan fuera de la célula. Sin embargo, la mayoría de enzimas catalizan distintos pasos del metabolismo celular, que abarca numerosas reacciones químicas relacionadas entre sí, constituyendo secuencias diferentes de reacciones consecutivas con intermedios comunes, de forma que el producto de una reacción actúa como sustrato de la siguiente.

➤ Activación de enzimas

Otro componente del jugo gástrico en la etapa de actividad es el pepsinógeno, un zimógeno secretado por las células principales. Los zimógenos son moléculas enzimáticas inactivas, hasta que pierden una parte de su cadena; entonces adquieren su actividad catalítica. La forma activa del pepsinógeno es la pepsina. La conversión del pepsinógeno a pepsina ocurre en el lumen gástrico, en contacto con el ácido clorhídrico. Las moléculas de pepsina son auto catalíticas, pues una vez formadas contribuyen a la activación de otras moléculas de pepsinógeno.

FIGURA N° 2.4

SÍNTESIS DEL PEPSINÓGENO



Fuente: *Genomasur-2003*

➤ Pepsina

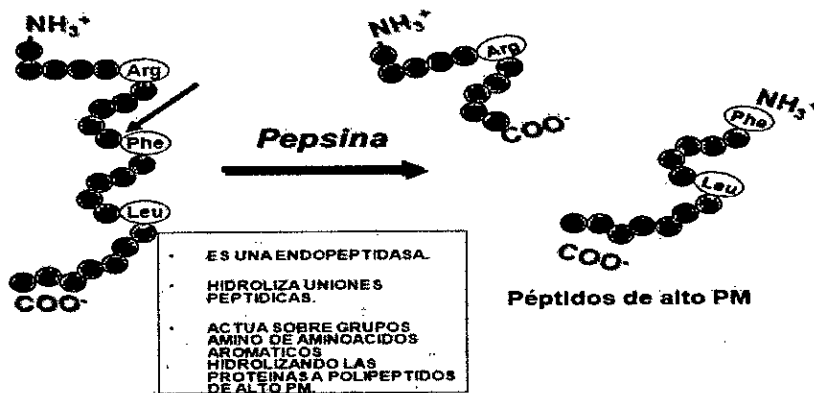
La pepsina se forma a partir del pepsinógeno mediante la proteólisis de 44 residuos del extremo N-terminal. El zimógeno es estable a pH neutro, pero por debajo de pH=5 se activa rápida y espontáneamente. El proceso se lleva a cabo por dos rutas separadas, un proceso catalizado por la pepsina y otro catalizado intramolecularmente.

➤ Digestión de proteínas

La pepsina es una endopeptidasa, enzima que actúa sobre proteínas y polipéptidos, hidrolizando los enlaces peptídicos adyacentes a un tipo específico de aminoácidos, en el interior de la cadena. De esta forma, las cadenas proteicas y polipeptídicas quedan reducidas a moléculas más cortas, de diversos tamaños.

FIGURA N° 2.5

DIGESTIÓN DE LAS PROTEINAS POR ACCION DE LA PEPSINA



Fuente: *Blanco A-Química Biológica-2014*

➤ Etapas de la reacción enzimática

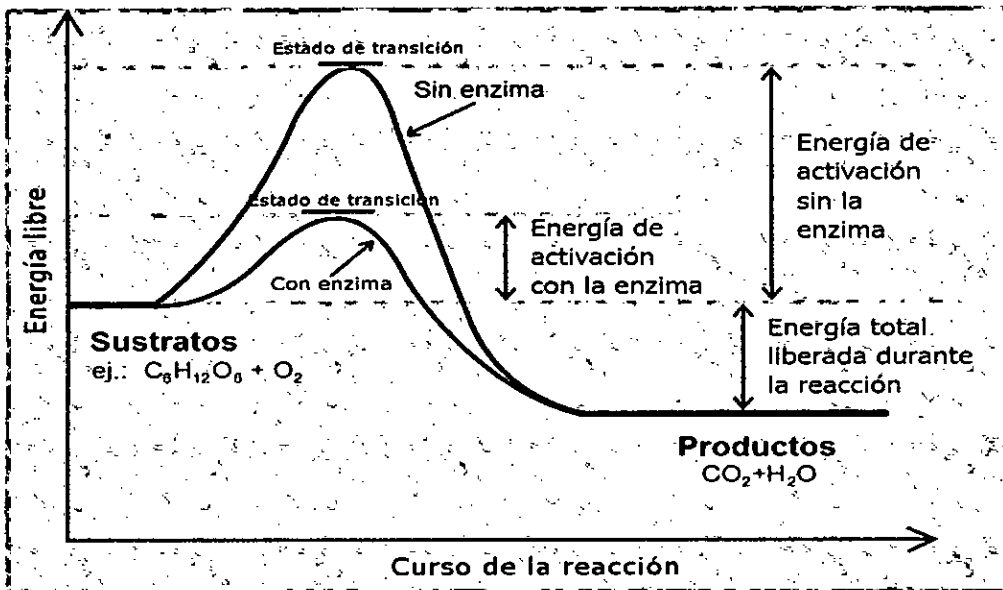
a.- Fase de Transición

b.- Estadio Estacionario

c.- Equilibrio

GRAFICA N° 2.4

COMPORTAMIENTO DE LA REACCIÓN ENZIMÁTICO

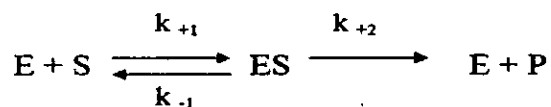


Fuente: Porto A. Alejandro-Biología-2010

Cinética de reacción enzimática

Considerando una reacción enzimática que sigue el mecanismo de Michaelis-

Menten:



Las ecuaciones que describen el comportamiento cinético son:

$$\frac{d[E]}{dt} = -K_{+1}[E][S] + (K_{-1} + K_{+2})[ES]$$

$$\frac{d[S]}{dt} = -K_{+1}[E][S] + K_{-1}[ES]$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = K_{+1}[E][S] - (K_{-1} + K_{+2})[ES]$$

$$\frac{d[P]}{dt} = K_{+2}[E][S]$$

$$[E]_0 = [E] + [ES]$$

$$[S]_0 = [S] + [ES] + [P]$$

Este sistema de ecuaciones diferenciales es no lineal, por lo tanto no tiene solución analítica.

En condiciones iniciales, de concentración inicial de sustrato $[S]_0$, mucho mayor que la inicial de la energía libre $[E]_0$, la ecuación de acumulación de producto para el ejemplo, suponiendo $[P]_0 = 0$, es.

$$[P] = \beta + at + \gamma \exp(\lambda t)$$

Donde:

$$\alpha = \frac{k_{+1}k_{+2}[S]_0[E]_0}{k_{+1}[S]_0 + k_{-1} + k_{+2}}$$

$$\beta = -\frac{\alpha}{k_{+1}[S]_0 + k_{-1} + k_{+2}}$$

$$\gamma = -\beta$$

$$\lambda = -(k_{+1}[S]_0 + k_{-1} + k_{+2})$$

En estado de equilibrio, es decir cuando $t \rightarrow \infty$ la ecuación de la concentración del producto será: $[P] = \beta + at$

Donde indica que el producto se acumula linealmente con el tiempo en dicho estado.

➤ Extracción

La extracción es un proceso mediante el cual una sustancia que se encuentra en una mezcla sólida o disuelta en un determinado disolvente es transferida a otro disolvente. Las razones más frecuentes por las que se usa una extracción en Química Analítica son aislar, concentrar o separar un analito de una especie que interfería en su análisis. La sustancia a separar puede tratarse tanto de un sólido como de un líquido, y en función de tener una muestra sólida o líquida, el método de trabajo será diferente. Por lo tanto, la extracción puede clasificarse dependiendo del estado físico de los materiales: sólido-líquido o líquido-líquido.

a.- Extracción sólido-líquido. Es una operación básica cuya finalidad es la separación de uno o más componentes contenidos en una fase sólida, mediante la utilización de una fase líquida o disolvente. El componente que se transfiere a la fase líquida recibe el nombre de soluto, mientras que el sólido insoluble se denomina inerte. La cafeína es perfectamente soluble en agua caliente, por lo que se puede extraer eficazmente; la cafeína pasa a la disolución acuosa, pero acompañada de otros compuestos orgánicos que también son solubles en agua caliente, especialmente taninos (compuestos de origen vegetal que tienen naturaleza de poli fenoles).

b.- Extracción líquido-líquido. El caso más frecuente es la extracción de una disolución acuosa con un disolvente orgánico. Los disolventes orgánicos utilizados en extracción deben tener baja solubilidad en agua, alta capacidad de solvatación hacia la sustancia que se va a extraer y bajo punto de ebullición para

facilitar su eliminación posterior. Cuando las dos fases se separan en dos capas, se dará un equilibrio tal que, a una temperatura dada, la razón de la concentración del soluto en cada capa viene dada por una constante llamada coeficiente de distribución o de partición, K, que es entonces definido por:

$$K = C_A / C_B$$

Donde C_A es la concentración en gramos por litro del compuesto en el disolvente A y C_B es la concentración del mismo en el disolvente B.

A nivel de laboratorio el proceso se desarrolla en un embudo de decantación. La extracción nunca es total, pero se obtiene más eficacia cuando la cantidad del segundo disolvente se divide en varias fracciones y se hacen sucesivas extracciones que cuando se añade todo de una vez y se hace una única extracción.

➤ **Disolvente para la extracción**

La cafeína es bastante más soluble en un disolvente orgánico que en agua; así que agitando el filtrado en contacto con un cierto volumen de disolvente en el embudo de decantación, la cafeína pasa mayoritariamente a la fase orgánica. La elección del disolvente se realiza en cada caso teniendo en cuenta la solubilidad en el mismo de la sustancia a extraer y la facilidad con que puede separarse ésta del disolvente. Se utilizó cloroformo por la gran solubilidad en el mismo de la mayor parte de los compuestos orgánicos y por su bajo punto de ebullición (62°C). Sin embargo, su gran volatilidad y su fácil inflamabilidad exigen manejarlo con la máxima precaución.

Dado que el disolvente orgánico es más denso que el agua, formará la capa inferior, que se podrá recoger separada simplemente abriendo la llave del embudo. La glucosa se separa de la cafeína extrayendo ésta en el disolvente orgánico, en el que la glucosa no es soluble.

La extracción líquido-líquido con ayuda del embudo no puede ser demasiado vigorosa, para evitar la formación de emulsiones que retardan drásticamente la definición de las dos fases. Una emulsión es una dispersión de gotas muy finas de un líquido en otro inmiscible, y en los procesos de extracción puede causar tropiezos.

➤ **Filtración.**

Es la operación unitaria en la que el componente sólido insoluble de una suspensión sólido-líquido se separa del componente líquido haciéndolo pasar a través de una membrana porosa que retiene a las partículas sólidas en su superficie. Se le denomina prefiltrado a la suspensión sólido-líquido alimentado, filtrado al componente líquido que pasa a través de la membrana, a la membrana se le conoce como el medio filtrante y a los sólidos separados se les llama torta del filtro. Las filtraciones que se realizan en la separación de la cafeína se hacen con la solución caliente para evitar la formación de cristales y obtener un rendimiento óptimo.

➤ **Evaporación.**

El objetivo de esta operación es concentrar una solución que consta de un soluto no volátil y un disolvente volátil. Se lleva a cabo vaporizando una parte

del disolvente con el fin de obtener una solución concentrada. Existen operaciones de extracción en las que se le añaden grandes cantidades de disolventes orgánicos, que es necesario eliminar para obtener los extractos o los productos naturales en forma pura, mediante calentamiento y eliminando los disolventes utilizados en la purificación y aislamiento de compuestos orgánicos.

➤ **Desecantes.**

Cuando se lleva a cabo una extracción la fase orgánica arrastra cierta cantidad de agua por lo que, antes de realizar una posterior purificación de los productos, hay que secarla. Para ello se usan sustancias químicas que reaccionan de alguna forma con el agua o absorben ésta, eliminándola, y que se denominan agentes desecantes. En este caso es importante el sulfato sódico (Na_2SO_4) ya que es inerte e insoluble en los líquidos orgánicos por lo que se puede utilizar para secar cualquier tipo de compuestos.

2.9 Reactivos para extracción

➤ **Cloroformo QP**

El cloroformo es un líquido incoloro con olor dulce característico, muy volátil. Generalmente contiene pequeños porcentajes (1-5 %) de etanol como estabilizador. Es ligeramente soluble en agua y con densidad mayor que ésta. Se obtiene por medio de una cloración cuidadosamente controlada de metano.

Fórmula: CHCl_3

Peso Molecular: 119.39 g /mol.

Composición: C: 10.05 %; H: 0.84 % y Cl: 89.10 %.

Punto de ebullición: 61.26 °C (760 mm de Hg)

Densidad: 1.498 g/mL (a 15 °C); 1.484 (a 20 °C)

Solubilidad de agua en cloroformo (g/kg de cloroformo): 0.806 (a 22 oC).

➤ **Carbonato de Sodio**

Se usa generalmente para la fabricación de vidrio, detergente, fabricación de sustancias químicas de sodio y sustancias químicas de carbonato, pasta y papel, tratamiento de salmuera, eliminación de dureza del agua, ajuste de pH en agua o en agua residual, desculturización de gases de conductos de humo, tratamiento de carbón, regeneración de resinas por intercambio de iones.

Formula: (Na₂CO₃)

Peso Molecular: 105.99 g/mol

➤ **Sulfato de Sodio**

Se usa generalmente en industrias de detergentes, papel, textiles, químicos inorgánicos como Sulfuro de Sodio e Hiposulfuro de Sodio.

Fórmula: Na₂SO₄

Peso Molecular: 142.04g /mol.

Apariencia: Sal inorgánica cristalina, blanca e inodora.

Pureza: 99.0%

% mín. Humedad: 0.2 % máx.

Solubilidad en agua: (20 °C): 161 g/L

Solubilidad en disolventes orgánicos: Insoluble en etanol, cloroformo, glicol.

➤ **Ácido Clorhídrico QP**

Es una disolución acuosa de cloruro de hidrógeno. Es un líquido de color amarillo (por presencia de trazas de hierro, cloro o materia orgánica) o incoloro con un olor penetrante.

Formula Molecular: HCl

Peso Molecular: 36.46 g/mol

Composición: Cl: 97.23 % y H: 2.76 %.

Densidad del gas (a 0 °C): 1.639 g/L

pH de disoluciones acuosas: 0.1 (1.0 N); 1.1 (0.1 N) y 2.02 (0.01N)

➤ **Cafeína anhidra (1, 3,7-Trimetilxantina)**

Polvo cristalino o cristales sedosos, blancos o casi blancos. Soluble en soluciones concentradas benzoatos/salicilatos alcalinos, bastante soluble en agua, fácilmente soluble en agua a ebullición, poco soluble en etanol al 96%.

Punto de fusión: 238°C.

Formula Molecular: C₈H₁₀N₄O₂

Peso Molecular: 194,19 g/mol

2.10 Espectroscopia UV.

Cuando la radiación electromagnética incide sobre la solución de moléculas puede dar lugar a tres tipos de sucesos: absorción, dispersión y emisión de la radiación. La teoría de orbitales moleculares (OM) considera que en la formación de un enlace entre dos átomos, dos orbitales atómicos se fusionan para dar los orbitales moleculares enlazante y antienlazante. Cada orbital molecular puede acomodar un par de electrones con espines apareados (de signo opuesto) que se denomina estado singlete. En una transición electrónica, uno de los electrones pasará a un orbital molecular distinto conservando su número de espín y en este caso, la molécula en el estado excitado sigue en el estado singlete. Pero, dado que ahora los electrones se encuentran en orbitales moleculares distintos pueden tener los espines paralelos (mismo signo) y si esto ocurre, a dicho estado se le denomina triplete: En general, los orbitales moleculares se clasifican en:

Orbitales σ enlazante y σ^* antienlazante: que se forman por la combinación de los orbitales atómicos tipo (s) y/o (p) y constituyen los enlaces simples de las moléculas.

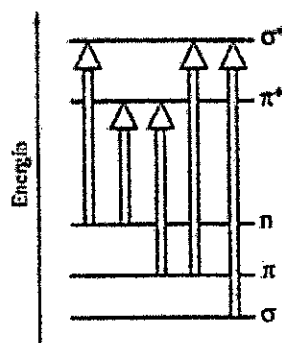
Orbitales π enlazante y π^* antienlazante originados por la combinación de los orbitales atómicos (p) que participan en los enlaces múltiples.

Orbitales n que representan las moléculas con un heteroátomo tipo N y O con pares de electrones desapareados que no participan directamente en el enlace molecular.

En condiciones normales, los electrones de una molécula ocupan preferentemente los orbitales moleculares enlazante de menor energía con sus espines apareados.

FIGURA N°2.6

DIAGRAMA DE LOS NIVELES DE ENERGÍA Y POSIBLES TRANSICIONES MOLECULARES.

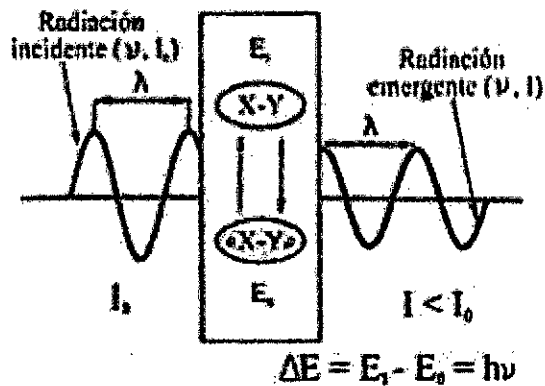


Fuente: *Silvia Calle A.-Vol. I Memoria-2011*

Una molécula absorberá radiación electromagnética de energía $h\nu$ y realizará una transición electrónica, si la longitud de onda cumple con la condición $\Delta E=h\nu$, siendo ΔE la diferencia de energía entre el nivel electrónico fundamental y uno más energético. Este concepto constituye el fundamento de la espectroscopia de absorción. La espectroscopia de absorción UV-Vis analiza las transiciones electrónicas $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$ inducidas por la radiación luminosa ultravioleta visible. Las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ requieren energía UV lejano.

FIGURA N° 2.7

MOLÉCULA X-Y QUE ABSORBE RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA (ΔE) Y PASA DEL ESTADO ELECTRÓNICO FUNDAMENTAL (E_0) AL EXCITADO (E_1).



Fuente: *Silvia Calle A.-Vol. I Memoria-2011*

En esta figura se puede observar que la longitud de onda de la radiación incidente y emergente es la misma, pero no su intensidad. Los grupos funcionales de una molécula que son excitados por la absorción de radiación luminosa UV-Visible se denominan cromóforos.

2.10.1 Ecuación de Lambert-Beer: coeficiente de extinción molar

La relación entre la absorción de la luz por una solución diluida o por un gas y la concentración de la fase absorbente viene dada por la Ley de Beer. La relación entre la absorción de la luz y el camino recorrido por viene dada por la Ley de Lambert. Es conveniente considerar ambas leyes conjuntamente.

Para deducir la ecuación que se busca, se postula en primer lugar, que cada cuanto de luz que penetra en la solución tiene igual oportunidad de ser absorbido.

Esto implica que la luz es monocromática. En segundo lugar se postula que cada molécula de sustancia que absorbe tiene igual oportunidad de interceptar y absorber un cuanto de luz, cualquiera que sea su situación dentro de la cubeta. Esto implica que la solución es suficientemente diluida para que ninguna molécula quede oculta en la sombra de otra.

Considérese un haz de luz de intensidad I_0 que penetra en una cubeta llena de solución de concentración c . después de haber atravesado una distancia x dentro de la cubeta, la luz tendrá una intensidad I . Cuando haya atravesado una distancia adicional infinitamente pequeña, dx , la intensidad será $I+dI$. (Evidentemente el incremento de dI es negativo; la luz se debilita al atravesar la célula) y se tiene lo siguiente:

$$\frac{dI}{I} = -k \cdot c \cdot dx$$

La cantidad $\frac{dI}{I} = d \ln I$ donde $\ln I$ es el logaritmo neperiano de I . Esta relación deriva directamente de la definición de logaritmos y funciones exponenciales, recuérdese que por definición $\frac{de^x}{dx} = e^x$; si $y = e^x$ entonces $x = \ln y$

Por lo tanto

$$\frac{d \ln I}{dx} = -k \cdot c$$

Donde $\ln I = -k \cdot c \cdot x - cte = -k \cdot c \cdot x + \ln I_0$, pues $I = I_0$ cuando $x=0$

Recuérdese también que para convertir los logaritmos neperianos en logaritmos decimales, aquellos se dividen por 2,303, que es el logaritmo neperiano de 10. Reordenando se obtiene.

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{k \cdot c \cdot x}{2,303} = \varepsilon \cdot c \cdot x$$

Donde ε es una constante llamada absorptividad molar. Al utilizar valores publicados de ε se sobreentiende que la concentración c está expresada en moles por litro y el espesor de la cubeta x en centímetros.

La cantidad $\log I_0/I$ se denomina absorbancia.

La fracción de luz transmitida, que es I/I_0 , recibe el nombre de transmitancia

La transmitancia por ciento es simplemente $100I/I_0$

Habitualmente, el cociente I/I_0 se denomina transmitancia de la muestra y se suele expresar como porcentaje de luz transmitida: $(I/I_0) \cdot 100$. Por otra parte, se define la absorbancia de la muestra como: $A = \log (1/T)$. Tanto la absorbancia como la transmitancia son magnitudes que se obtienen directamente en el espectrofotómetro. Según estas definiciones, queda finalmente la siguiente expresión que se conoce con el nombre de la ley de Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot x$$

Donde ε es la absorptividad molar (una medida de la radiación absorbida), que es un valor constante para cada sustancia a cada longitud de onda λ y en

unas condiciones experimentales determinadas; también se denomina coeficiente de extinción molar si, como es frecuente, la concentración se expresa en moles por litro. Si se opera, a una longitud de onda dada y con una cubeta de un determinado espesor l , la absorbancia A , medible directamente, es proporcional a la concentración molar de la muestra, c , lo que constituye el fundamento del análisis espectrofotométrico cuantitativo. Existen, sin embargo, distintos factores que afectan al cumplimiento de la ley de Lambert-Beer, especialmente a concentraciones elevadas. Por ello antes de proceder al análisis de una muestra es preciso comprobar experimentalmente el rango de concentraciones en que dicha ley se cumple, obteniendo la curva de calibrado que relaciona las absorbancias con las concentraciones.

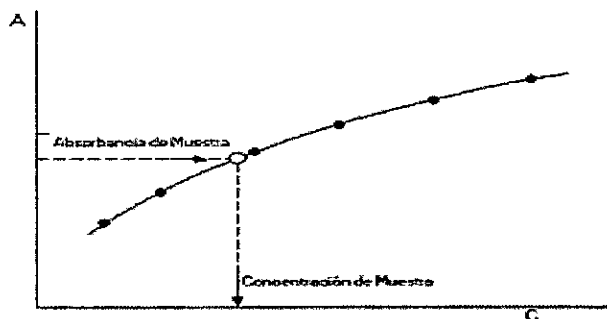
2.10.2 Curva de Calibración

Denominamos espectro de una sustancia a la representación de absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ), este gráfico presenta ondulaciones con máximos y mínimos. Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima. Para verificar el cumplimiento de la ley de Beer, se debe realizar la curva de calibración; absorbancia (A) en función de concentración (c), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida. Si es válida la ley de Beer, para esa sustancia a esas concentraciones, la relación debe ser una

recta, que pase por el origen de los ejes cartesianos; a menudo se observan desviaciones debidas a diversos factores.

GRAFICA N° 2.5

CURVA DE CALIBRACIÓN-ESPECTRO DE ABSORCIÓN UV-VIS



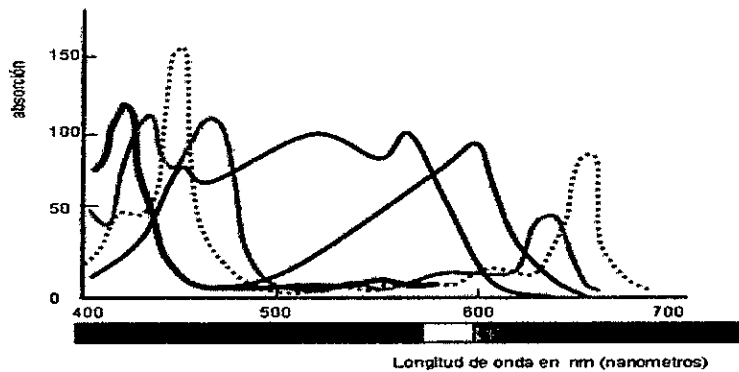
Fuente: *Silvia Calle A.-Vol. I Memoria-2011*

2.10.3 Espectro de absorción UV-Vis

El espectro de absorción de una molécula en solución es la representación gráfica de la probabilidad de absorción de radiación luminosa por sus cromóforos con respecto a la longitud de onda. Constituye una característica propia de la molécula que depende de sus propiedades estructurales y del disolvente.

GRAFICO N° 2.6

ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE DIFERENTES SUSTANCIAS



Fuente: *Silvia Calle A.-Vol. I Memoria-2011*

Cuando un cromóforo absorbe radiación luminosa realiza transiciones electrónicas discretas y su espectro debería estar formado por líneas de absorción cuya magnitud estaría relacionada con la probabilidad de la transición y la concentración molecular. Sin embargo, el espectro de absorción en disolución es continuo debido a la interacción soluto-disolvente y está formado por las bandas de absorbancia que corresponden a las diversas transiciones permitidas entre el estado fundamental y cualquiera de los niveles vibracionales de los estados electrónicos excitados. Cada banda se caracteriza por una longitud de onda de máxima absorción, $\lambda_{\text{máx}}$, que corresponde a la transición más probable.

2.10.4 Instrumentación para espectroscopía UV Espectrofotómetros

Un espectrofotómetro consta de las siguientes unidades básicas:

- a) La lámpara que emite la radiación electromagnética. Los espectrofotómetros de absorción UV-Visible suelen estar equipados con dos

tipos de lámparas: las halógenas que emiten luz visible en la zona del espectro visible (400-700 nm) y las de deuterio que emiten radiación ultravioleta y cubren el espectro UV-próximo (250-350 nm).

b) Las lentes ópticas que concentran el haz de luz luminoso y lo enfocan sobre el monocromador.

c) El monocromador, unidad que permite obtener luz monocromática o radiación formada por una sola longitud de onda.

d) El sistema de cubetas o células, donde situamos la solución de muestra a analizar y se caracteriza por su longitud de paso.

e) El detector: la luz no absorbida (transmitida) por la muestra continúa su camino hacia el fotomultiplicador y por mediación del sistema de fotodiodos esta señal óptica es transformada en eléctrica, para finalmente, ser ampliada y registrada o digitalizada.

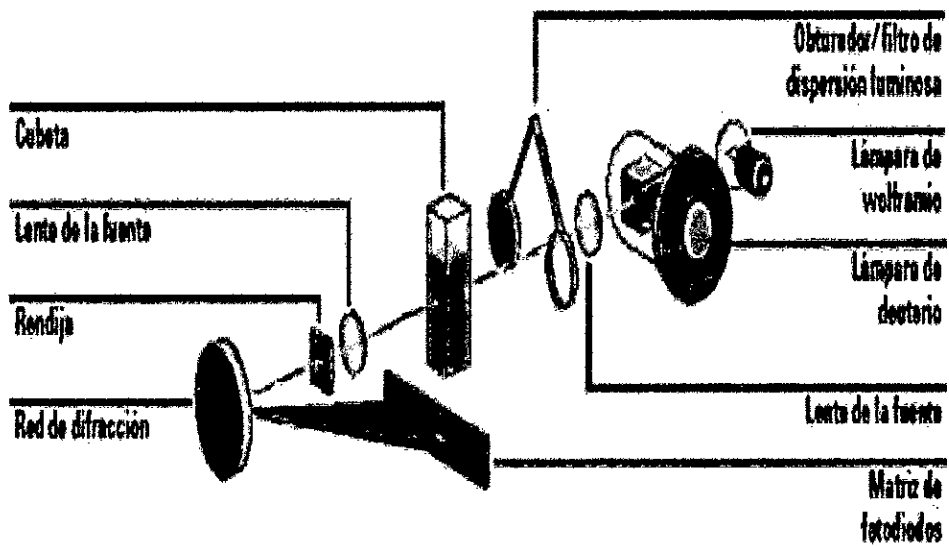
Para determinar la absorbancia, A , de una muestra en un espectrofotómetro de mono-haz, es necesario hacer dos lecturas independientes: primero la del disolvente (A_d) y a continuación la solución de muestra (A_m). Dado que las absorbancias son aditivas, la medida de absorbancia del soluto será:
 $A = A_d - A_m$.

Los espectrofotómetros de doble haz tiene las mismas unidades comentadas, pero además, disponen de un dispositivo que divide el haz óptico inicial en dos haces idénticos que recorrerán caminos paralelos e incidirán sobre dos cubetas de forma casi simultánea, una de referencia

donde se sitúa el disolvente y otra para la muestra. Así pues, en una sola operación se obtiene la medida de absorbancia del soluto.

FIGURA N° 2.8

SISTEMA ÓPTICO DE UN ESPECTROFOTÓMETRO MONO-HAZ



Fuente: Silvia Calle A.-Vol. I Memoria-2011

III. VARIABLES E HIPOTESIS

3.1 Variables de investigación

- Cantidad de material enzimático por volumen de solución.
- Tiempo de fermentación de café cerezo en la solución enzimática
- Concentración de cafeína

3.2 Operacionalización de variables

TABLA N° 3.1

VARIABLES DE INVESTIGACION

DEPENDIENTES	TIPO	INDICADOR	ESCALA
Concentración de cafeína	Cuantitativo	Espectrofotometría	10– 40mg cafeína /10g café tostado
INDEPENDIENTES	TIPO	INDICADOR	ESCALA
Cantidad de material enzimático por volumen de solución.	Cuantitativo	Concentración material enzimático/suero de leche	1.4-2.5g/L
Tiempo de fermentación de café cerezo en la solución enzimática	Cuantitativo	Cronometro	8-12 h.

Fuente: *Propia*

3.3 Hipótesis

3.3.1 Hipótesis general

La obtención de café especial bajo en cafeína dependerá de las características de la solución enzimática y de las condiciones óptimas de la fermentación. Donde la concentración de cafeína obtenida en 10g de café tostado, se encontrará entre 10-40 mg.

3.3.2 Hipótesis específicas

a.- Para la obtención de café especial bajo en cafeína, las características físicas y químicas que debe tener la solución enzimática son: pH, concentración de materia enzimática por volumen de solución, tiempo de fermentación del material enzimático.

b.- Las condiciones óptimas de fermentación enzimática. Para la obtención de café especial bajo en cafeína son: Tiempo de fermentación del café (12h), Temperatura (25°C), cantidad de café maduro (2Kg).

IV. METODOLOGIA

4.1 Tipo de investigación

4.1.1 Por su finalidad

Esta investigación es de tipo aplicada ya que nuestros resultados van a servir de modelo para ser replicada con otras variedades de café y a mayor escala.

4.1.2 Por su diseño interpretativo

Esta investigación es de tipo experimental ya que nuestro estudio se realizó mediante la observación, registro y análisis de las variables que intervienen.

4.1.3 Por el énfasis en la naturaleza de los datos manejados

Esta investigación es de tipo cuantitativo y cualitativo.

4.2 Diseño de la investigación

El presente estudio es una propuesta de investigación tipo experimental porque permite introducir y manipular el factor causal para determinar su efecto.

Consistió en un lote de 3 recipientes con concentraciones diferentes de enzimas, los cuales se subdividieron en 3 recipientes cada uno y luego se optimizó los parámetros como tiempo de fermentación del café.

Una vez optimizado los parámetros continuamos los siguientes procesos hasta obtener café tostado y finalmente se midió la concentración final de cafeína y se sometió a prueba de catación.

4.2.1 Etapas de la investigación

Primera etapa de la investigación: Esta etapa se identificó las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación del café, como el pH, concentración de materia enzimática por volumen de solución, tiempo de fermentación del material enzimático para activar las enzimas.

Segunda etapa de la investigación: Esta etapa consistió en determinar las condiciones óptimas de fermentación del café en la solución enzimática. Para la obtención de café especial bajo en cafeína, para la cual se determinó el tiempo de fermentación del café, temperatura, cantidad de café maduro a fermentar.

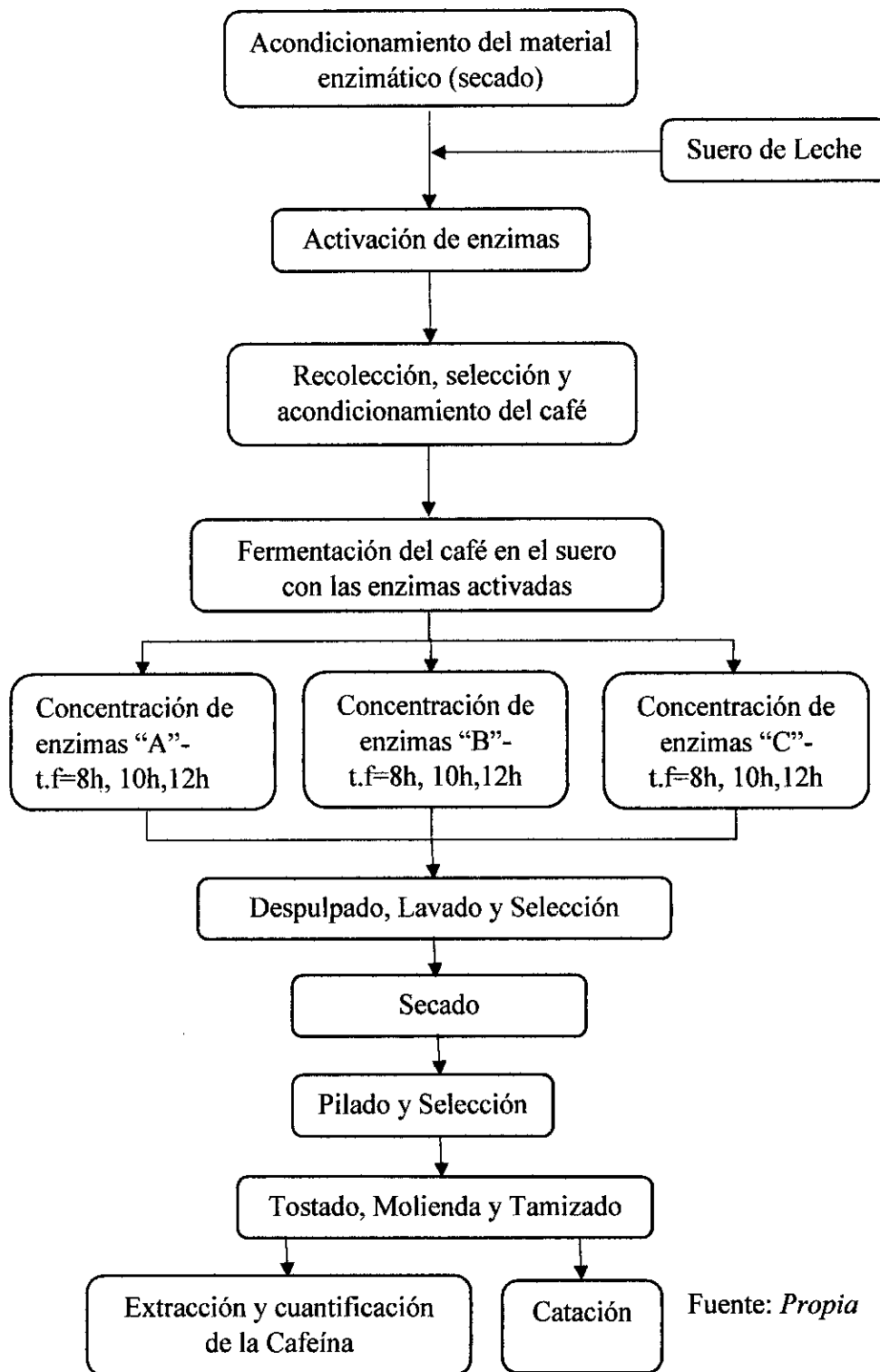
Tercera etapa de la investigación: Esta etapa consistió en determinar el procedimiento óptimo de fermentación para obtener café especial bajo en cafeína, teniendo en cuenta las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación del café y las condiciones óptimas de la fermentación enzimática luego se midió la concentración final de cafeína y se realizó análisis organolépticos (sabor, aroma y otros)

4.3 Población y muestra

La población consistió de 40 kg de café arábica maduro procedente del caserío La Iraca, distrito de Pión, provincia de Chota, departamento de Cajamarca.

FIGURA N° 4.1

REPRESENTACION DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL



Fuente: *Propia*

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Las técnicas de recolección de datos fueron la observación, el registro y su análisis. Se utilizaron los instrumentos directos, el cual permitió recolectar los datos desde la fuente, para ello se hizo uso de los experimentos y observación directa.

- Para pesar el café antes de la fermentación: Balanza Analógica, marca Suminco, modelo ASC6A
- Para el pH de la solución enzimática: pH metro portátil, marca TKR_ATC, modelo PXIII y de rango 0-14pH.
- Para medir la temperatura de fermentación: Termómetro calibrado ASTM 7C.
- Para medir el tiempo de fermentación: Cronómetro calibrado.
- Para tostar el café: tostadora marca: PROBAT, modelo: BRZ2
- Para pesar café tostado, muestra de cafeína: Balanza analítica, marca: OHAUS, modelo: Pa224c)
- Para medir la concentración de cafeína se utilizó Espectrofotómetro UV visible.

4.4.1 Plan de recolección y procesamiento de la información

- Tabla de recolección de datos para hallar la relación enzimática/Volumen de suero óptimo para la fermentación (véase la Tabla 4.1, en la página N°62)
- Tabla de recolección de datos para la determinación del tiempo de fermentación óptimo del café (véase la Tabla 4.1, en la página N° 62)

- Tabla de recolección de datos para determinar la concentración de cafeína en cada muestra (véase la Tabla 4.3, en la página N°68)
- Tabla de recolección de datos para en análisis organoléptico de aroma y sabor en las muestras (véase la Tabla 5.17, en la página N°91)

4.4.2 Equipos, Materiales, Reactivos y Métodos

Equipos

-Espectro fotómetro UV- VISIBLE (Marca: Varian Cary, Modelo: 50 CONC)

-Balanza analizadora de humedad (Marca: RADWAG, Modelo: MAC50/1/WH)

-Balanza analítica (Marca: OHAUS, Modelo: Pa224c)

- Estufa (Marca: Surface, Modelo: H-002A)

Materiales

-Jarra milimetrada

-Recipientes de polietileno de 7L

-Mortero de madera

-Termómetro de alcohol (0-200°C)

-Embudo de decantación

-Embudo de filtración

-Matraz Erlenmeyer

-Fioles (100mL y 25mL)

-Espátula

-Pipetas graduada (10mL, 2mL y 0.5mL)

-Probeta graduada (100mL)

-Vasos de precipitados (100mL)

-Papel de filtro para análisis cualitativo

Reactivos y Soluciones

-Suero de leche de vaca

-Estómagos de cuy

-Sal yodada

-Agua destilada QP

-Cafeína anhidra al 99.8% de pureza

-HCl 0.01M

-Carbonato de Sodio al 98% de pureza

-Sulfato de Sodio al 99% de pureza

-Cloroformo al 99% de pureza

4.5 Procedimientos de recolección de datos

4.5.1 Primera etapa de la investigación

➤ Acondicionamiento del material que contiene a las enzimas inactivas (estómago de cuy)

Se adquirió 20 estómagos de cuy, a los cuales se les aplicó 50 g de sal y luego fueron deshidratados a temperatura ambiente hasta una humedad aproximada del 18% en peso.

➤ Activación de las enzimas (pepsinógeno)

En tres recipientes A, B y C de 8L de capacidad c/u se colocó 6.3L del medio (suero de leche de vaca) y se procedió a colocar 9.20g, 12.25g y 15.36g de estómagos de cuy deshidratados en cada recipiente respectivamente; además se adicionó 40g de chancaca ,15g de sal a cada recipiente. Para fermentar el material que contiene las enzimas inactivas (pepsinógeno) y poder activar las enzimas (pepsina), fue necesario llevar a la solución a un pH ácido para lo cual se adicionó jugo de naranja.

A las soluciones preparadas se dejó fermentar durante 24 horas, luego se procedió a filtrar el material sólido, quedando solo con las soluciones que contienen las enzimas activas (pepsina). Una vez filtradas las soluciones se distribuyeron en 9 recipientes de 8 L de capacidad y se colocó 2.1L en c/u, a los cuales se les codificó de la siguiente manera (A-8, A-10, A-12, B-8, B-10, B-12, C-8, C-10 y C-12).

4.5.2 Segunda etapa de la investigación

➤ Recolección y selección

Se cosechó 40kg café arábica maduro y luego se seleccionó los mejores granos.

➤ Acondicionamiento

Para que haya mejor contacto entre el café y las enzimas (pepsina), se procedió a abrir con un cuchillo ligeramente la corteza del café maduro seleccionado.

➤ Dosificación

Se pesó el café acondicionado, distribuido en 9 porciones de 2kg cada una, luego se sumergieron en los 9 recipientes con las soluciones que contiene las enzimas.

➤ Fermentación

Se procedió a fermentar el café en cada uno de los 9 recipientes de la siguiente forma:

TABLA N° 4.1

DISTRIBUCION DE LOS TIEMPOS DE FEMENTACIÓN A
DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ENZIMAS

CONCENTRACIÓN ENZIMÁTICA	CANTIDAD DE CAFÉ(kg)	VOLUMEN DE SOLUCIÓN ENZ.(L)	TIEMPO DE FERMENTACIÓN (h)
A	2	2,1	8
	2	2,1	10
	2	2,1	12
B	2	2,1	8
	2	2,1	10
	2	2,1	12
C	2	2,1	8
	2	2,1	10
	2	2,1	12

Fuente: *Propia*

A: (9,2g de estómagos/ 6,3L de suero de leche)

B: (12,25g de estómagos/ 6,3L de suero de leche)

C: (15,36g de estómagos/ 6,3L de suero de leche)

Luego de haber fermentado durante el tiempo establecido para cada muestra, se procedió a retirar el café de las soluciones.

➤ **Despulpado**

Luego de terminar de fermentar el café, se procedió a separar la corteza de la pulpa del café, dejando solo la semilla de cada una de las 9 muestras.

➤ **Lavado y Selección**

Se lavó el café despulpado y se procedió a separar los granos por densidad, quedándose los granos con mayor densidad que se sumergieron y se retiró los granos que flotaron.

➤ **Secado**

Los granos seleccionados fueron secados bajo sombra hasta alcanzar una humedad de 10 a 12%.

➤ **Pilado y Selección**

Se retiró la película que envuelve el grano de café y se separó los granos que presentaron irregularidades en tamaño y colores diferentes al normal.

➤ **Tostado**

Los cafés seleccionados de cada muestra fueron pesadas en una balanza analítica en porciones de 120 g cada una y luego fueron tostadas a temperatura de 190°C durante un tiempo de 9 minutos. El tostado se llevó acabo en una tostadora marca: PROBAT, modelo: BRZ2 en la CAMARA PERUANA DEL CAFÉ Y CACAO.

➤ **Molienda y Tamizado:**

Luego de haber sido tostado el café, se procedió a moler cada una de las muestras en un molinillo de café marca: OSTER, modelo: BVSTBMH23. Las muestras fueron molidas a tamaño medio y luego fueron tamizadas en un

tamiz manual de malla 30 mesh. Seguidamente se separó el polvillo en una malla de 40 mesh.

4.5.3 Tercera etapa de la investigación

Análisis sensorial: Una vez molido, se procedió a colocar 8.5 g de cada una de las muestras de café en unas tazas y se adicionó 150 mL de agua caliente a temperatura 93-94°C para analizar su aroma y sabor.

Determinación de cafeína: para poder cuantificar la cantidad de cafeína en cada muestra, se utilizó el equipo ESPECTROFOTOMETRO UV VISIBLE. Para lo cual se realizó el siguiente procedimiento.

a.- Extracción de la cafeína del café

La preparación de las muestras de café se realizó suponiendo que en cada muestra la proporción de cafeína es del 1,2%.

a.1.- Primeramente se preparó una solución de café en agua destilada caliente ($T=100^{\circ}\text{C}$), pesando 300 mg de café tamizado y colocando en una cafetera de prensa Francesa, luego se agregó 200 mL de agua destilada caliente y se dejó reposar durante 15 minutos.

a.2.- Seguidamente, se filtró la solución en caliente en una pera de decantación y se añadieron 5 g de Na_2CO_3 y se agitó hasta disolver completamente.

a.3.- Se dejó enfriar y se agregaron 15 mL cloroformo, se agitó suavemente durante unos minutos para la extracción de la cafeína, luego se abre la llave

de la pera para separar la solución clorofórmica en un matraz; a la solución que queda dentro de la pera se vuelve añadir 15 mL cloroformo y se continúa el mismo procedimiento anterior.

a.4.- Después de la separación de las dos fases, se añaden pequeñas cantidades de Na_2SO_4 para absorber el agua.

a.5.- Seguidamente se filtró la fase clorofórmica haciéndola pasar por papel filtro hacia un matraz erlenmeyer o balón.

a.6.- Una vez filtrado la solución clorofórmica se colocó en baño maría ($T=90-100\text{ }^\circ\text{C}$) y se dejó evaporar hasta sequedad, donde se observó la formación de cristales de cafeína.

b.- Acondicionamiento de las muestras extraídas.

b.1.- Luego de eliminar el cloroformo, se añadió al mismo matraz o balón, 50 mL de agua destilada y se agitó bien hasta perfecta disolución.

b.2.- Posteriormente, mediante un embudo se enrasó a 100 mL en un matraz aforado.

b.3.- Finalmente, se tomaron 10 mL de esta última solución, se añadió 1 mL de la solución de ácido clorhídrico 0,01 M y se enrasó a 25 mL con agua destilada.

**c.- Cuantificación de la concentración en el ESPECTROFOTOMETRO
UV VISIBLE.**

c.1.- Preparación de la curva de calibración

Para determinar la curva de calibración, se preparó muestras patrón con cafeína anhidra al 99,8%

Primero se preparó una solución de cafeína disolviendo 40mg de cafeína anhidra en 100mL de agua destilada en un matraz, obteniendo así una solución a (400ppm)

Seguidamente se tomó 10mL de esta solución con una pipeta aforada y se trasvasa a otro matraz aforado de 100mL y se enrasa con agua destilada, obteniendo una solución a (40ppm)

A partir de la última solución de cafeína de 40 ppm, se preparan 5 soluciones más diluidas, de concentraciones 4, 8, 16, 24 y 32 (ppm).

a.- Solución (4ppm): Se tomó 5 mL de solución patrón de cafeína de 40 ppm, se agregó 2 mL de HCl 0,01 M y 50 mL de agua destilada.

b.- Solución (8ppm): Se tomó 5 mL de solución patrón de cafeína de 40 ppm, se agregó 1 mL de HCl 0,01 M y 25 mL de agua destilada.

c.- Solución (16ppm): Se tomó 10 mL de solución patrón de cafeína de 40 ppm, se agregó 1 mL de HCl 0,01 M y 25 mL de agua destilada.

d.- Solución (24ppm): Se tomó 15 mL de solución patrón de cafeína de 40 ppm, se agregó 1 mL de HCl 0,01 M y 25 mL de agua destilada.

e.- Solución (32ppm): Se tomó 20 mL de solución patrón de cafeina de 40 ppm, se agregó 1 mL de HCl 0,01 M y 25 mL de agua destilada.

Para elaborar la curva patrón se trabajó con tres concentraciones de 4ppm, 8ppm y 16ppm, debido a que en concentraciones superiores a 20ppm ya no se cumple la ley de Beer.

TABLA N° 4.2

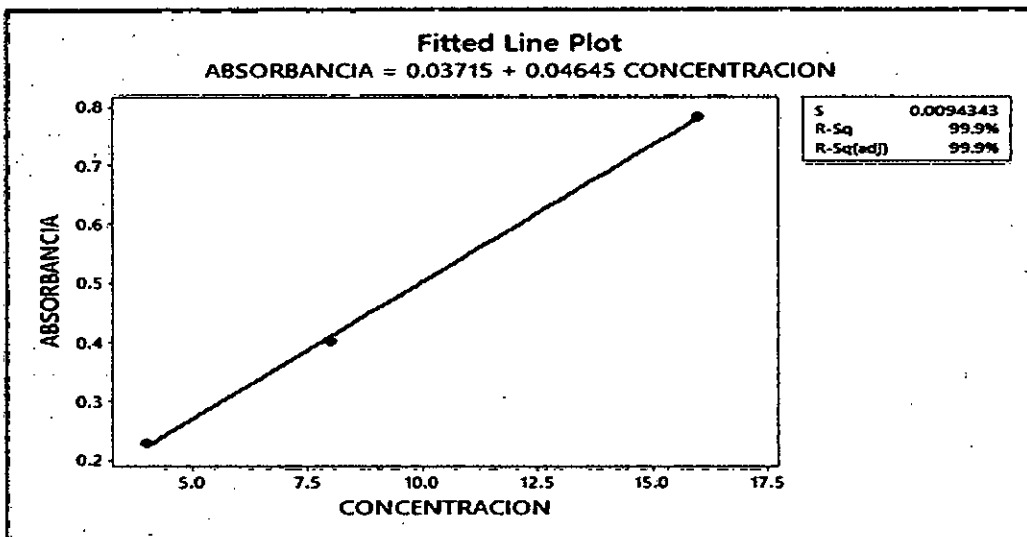
DETERMINACIÓN DE LA CURVA PATRON

CONCENTRACION(ppm)	ABSORBANCIA
4	0,2280
8	0,4012
16	0,7829

Fuente: *propia*

GRAFICA N° 4.1

CURVA PATRON



Fuente: *Propia*

$$Y = a \cdot x + b$$

$$a = 0,04645$$

$$b = 0,03715$$

c.2.- Lectura de cafeína de las muestras

Una vez establecida la curva patrón se procedió a leer cada una de las muestras en el ESPECTROFOTÓMETRO UV visible.

TABLA N° 4.3

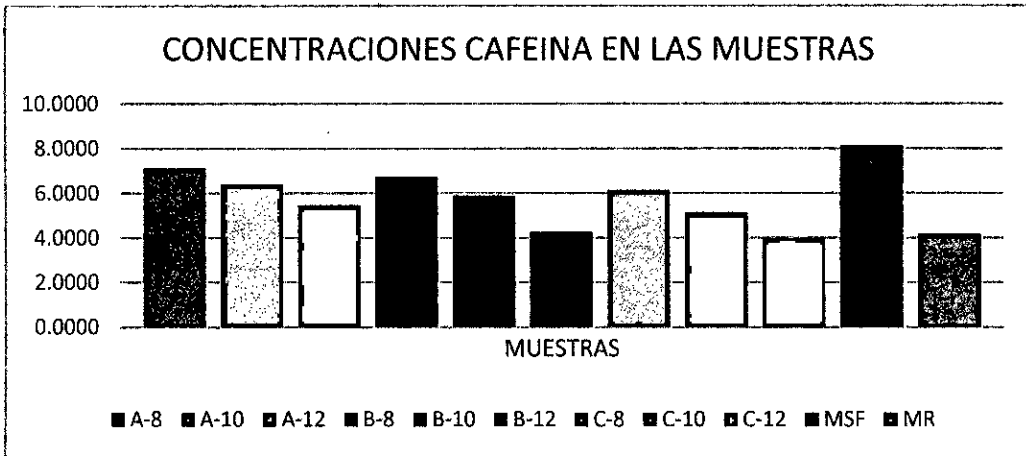
DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION DE CAFEINA

MUESTRAS	ABSORBANCIA	CONCENTRACION(ppm)
A-8	0,3724	7,2174
A-10	0,3553	6,8493
A-12	0,3338	6,3864
B-8	0,3523	6,7847
B-10	0,3418	6,5587
B-12	0,2375	4,3132
C-8	0,3361	6,4360
C-10	0,2826	5,2842
C-12	0,2401	4,3684
MSF	0,4144	8,1216
MR	0,2399	4,3649

Fuente: *Propia*

GRAFICA N°4.2

CONCENTRACION vs TIEMPO DE FERMENTACIÓN



Fuente: *Propia*

4.6 Procesamiento estadístico y análisis de datos

4.6.1 Tratamiento Estadístico

Se realizó una experimentación activa con un diseño experimental de factorial completo de múltiples niveles con tres factores, que permitió evaluar simultáneamente todas las variables consideradas y además evaluar la interacción entre las variables y reducir el número de experimentos que se llevó a cabo en base al modelo factorial multinivel empleando el software MINITAB 17

4.6.2 Análisis Estadístico

Se realizó en base al análisis de la varianza (ANOVA). Para lo cual se utilizó como software el MINITAB.17 y el Excel 2013.

El análisis de la varianza (Anova)

Es una herramienta estadística, de gran utilidad tanto en la industria, para el control de procesos, como en el laboratorio de análisis, para el control de métodos analíticos.

El objetivo del ANOVA es comparar los diversos valores medios para determinar si alguno de ellos difiere significativamente del resto.

Se calculan, por tanto, MS ensayo y MSR como una medida de las dispersiones y se comparan mediante una prueba de hipótesis F. Si no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas, la presencia de errores aleatorios será la causa predominante de la discrepancia entre los valores medios. Si, por el contrario, existe algún error sistemático, MS ensayo será mucho mayor que MSR, con lo cual el valor calculado de F será mayor que el valor tabulado F_{tab} para el nivel de significación ha escogido y los grados de libertad mencionados.

4.7 Área de estudio

El estudio se realizó a semillas de café procedentes del caserío de la Iraca, distrito de Pión, departamento de Cajamarca; ubicado a una altitud de 1800 msnm, formando parte del piso ecológico Yunga. En esta zona los pobladores se dedican principalmente al cultivo de café y a la ganadería.

V. RESULTADOS

5.1 Caracterización de la solución enzimática.

5.1.1 Determinación del pH de la solución enzimática fermentada a temperatura ambiente de 18,9 °C

A la solución enzimática se llevó hasta un pH similar al del estómago del Coatí y de la civeta (animales que realizan una fermentación enzimática de forma natural).

TABLA N° 5.1

DETERMINACION DEL pH

MUESTRAS	Vol. Suero (ml)	Tiempo de fermentación (h)	pH
A	300	24	3,73
B	300	24	3,68
C	300	24	3,65

Fuente: *Propia*

5.2 Determinación del número de muestras de café para fermentar

Utilizando el método factorial determinamos el número de experimentos a realizar, en programa minitab 17.

De acuerdo a la matriz factorial de experimentos, se realizaron 9 experiencias, cada 3 de ellas se fue comparando su concentración final de cafeína.

Diseño factorial de múltiples niveles

Factores: 2 Réplicas: 1

Corridas base: 9 Total de corridas: 9

Bloques base: 1 Total de bloques: 1

Número de niveles: 3, 3

TABLA N° 5.2

TABLA DE DISEÑO

Corrida	Bloque	A	B
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	1	3	1
8	1	3	2
9	1	3	3

Fuente: *Propia*

TABLA N° 5.3

ANALISIS FACTORIAL

Orden Est	Orden Corrida	PtType	Bloques	Conc enzimática (g/L)	Tiempo de fermentación (h)
1	1	1	1	A	8
2	2	1	1	A	10
3	3	1	1	A	12
4	4	1	1	B	8
5	5	1	1	B	10
6	6	1	1	B	12
7	7	1	1	C	8
8	8	1	1	C	10
9	9	1	1	C	12

Fuente: *Propia*

Con estos resultados se realizaron las 9 corridas, combinando las diferentes concentraciones A, B y C, con los tiempos de fermentación t1, t2 y t3.

A: (9,2g de estómagos/ 6,3L de suero de leche)

B: (12,25g de estómagos/ 6,3L de suero de leche)

C: (15,36g de estómagos/ 6,3L de suero de leche)

t1: 8 horas, t2:10horas, t3:12horas

5.3 Medición de la concentración de cafeína por triplicado, en cada una de las muestras fermentadas.

Para determinar las concentraciones promedio de las muestras, se realizó un análisis cuantitativo de cafeína por triplicado para cada muestra.

- Fermentación a concentración A y diferentes tiempos de fermentación

TABLA N° 5.4

CONCENTRACION DE CAFEÍNA EN LAS MUESTRAS: A-8, A-10 y A-12

N° Ensayos	A-8	A-10	A-12
1	6,3025	5,2605	4,1281
2	7,2174	6,8493	6,3864
3	7,8095	7,1313	5,8741
Promedio	7,1098	6,4137	5,4629

Fuente: *Propia*

- Fermentación a concentración B y diferentes tiempos de fermentación

TABLA N° 5.5

CONCENTRACION DE CAFEÍNA EN LAS MUESTRAS: B-8, B-10 y B-12

N° Ensayos	B-8	B-10	B-12
1	5,5705	5,4026	3,5404
2	6,7847	6,5587	4,3132
3	7,8353	5,6416	4,9376
Promedio	6,7302	5,8676	4,2637

Fuente: *Propia*

- Fermentación a concentración C y diferentes tiempos de fermentación

TABLA N° 5.6

CONCENTRACION DE CAFEÍNA EN LAS MUESTRAS: C-8, C-10 y C-12

N°Ensayos	C-8	C-10	C-12
1	6,3305	5,0969	3,9580
2	6,4360	5,2842	4,3684
3	6,3305	5,0366	3,5059
Promedio	6,3656	5,1392	3,9441

Fuente: *Propia*

- Concentraciones de cafeína de todas las muestras

Realizamos una comparación entre la concentración promedio de cafeína de cada una de las 9 muestras establecidas, para determinar en qué muestras disminuyó más la cafeína.

TABLA N° 5.7

CONCENTRACION DE CAFEÍNA EN LAS MUESTRAS

MUESTRAS	CONCENTRACION
A-8	7,1098
A-10	6,4137
A-12	5,4629
B-8	6,7302
B-10	5,8676
B-12	4,2637
C-8	6,1346
C-10	5,1392
C-12	3,9441
MSF	8,1216
MR	4,1633

Fuente: *Propia*

5.4 Análisis ANOVA

Se realizó el análisis ANOVA cada 3 experiencias, que corresponde a los resultados de la concentración de cafeína de las muestras fermentadas a diferentes tiempos de fermentación de café, además se compararon mediante la prueba de Tukey, el cual nos permite comparar múltiples ensayos en un solo paso.

5.4.1 ANOVA unidireccional: A-8, A-10, A-12

Factor Niveles Valores
Tiemp.Ferm 3 1, 2, 3

TABLA N° 5.8
ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiemp.Ferm	2	4.101	2.0505	2.05	0.209
Error	6	5.991	0.9985		
Total	8	10.092			

Fuente: *Propia*

Resumen del modelo

R-cuad. R-cuad.
S R-cuad. (ajustado) (pred)
0.999266 40.64% 20.85% 0.00%

Medias

Tiemp.Ferm	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	7.110	0.759	(5.698, 8.521)
2	3	6.414	1.009	(5.002, 7.825)
3	3	5.463	1.184	(4.051, 6.875)

Desv.Est. agrupada = 0.999266

➤ **Comparaciones en parejas de Tukey**

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

TABLA N° 5.9

AGRUPACION DE TUKEY

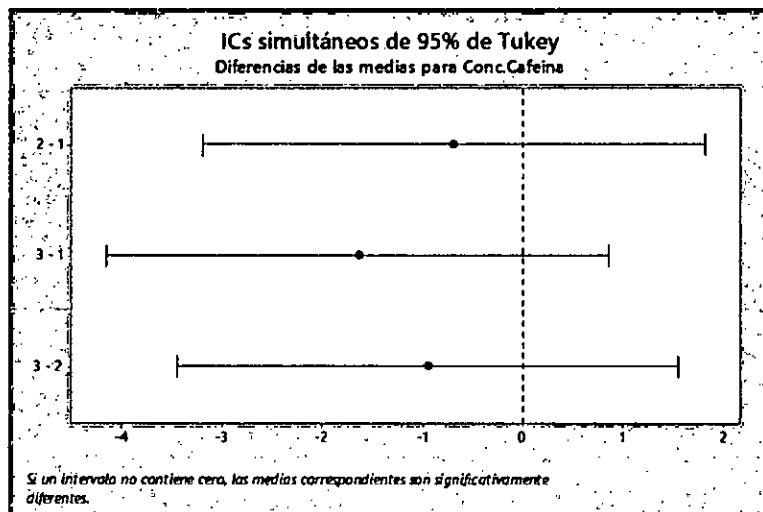
Tiemp.Ferm	N	Media	Agrupación
1	3	7,110	A
2	3	6,414	A
3	3	5,463	A

Fuente: *Propia*

Al agrupar observamos que las medias comparten la misma letra, por lo tanto no son significativamente diferentes.

GRAFICA N° 5.1

ICs SIMULTÁNEOS DE 95% DE TUKEY



Fuente: *Propia*

Observamos que todos los intervalos contienen cero, por lo tanto no son significativamente diferentes y existe distribución normal en el grupo.

➤ **Comparaciones en parejas de Fisher**

Agrupar información utilizando el método LSD de Fisher y una confianza de 95%

TABLA N° 5.10

AGRUPACION DE FISHER

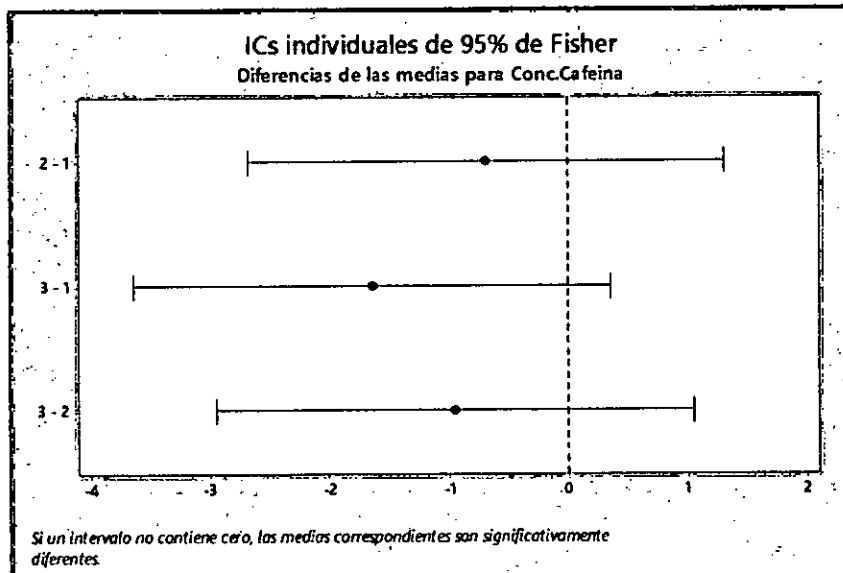
Tiemp.Ferm	N	Media	Agrupación
1	3	7,110	A
2	3	6,414	A
3	3	5,463	A

Fuente: *Propia*

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

GRAFICA N° 5.2

ICs INDIVIDUALES DE 95% DE FISHER

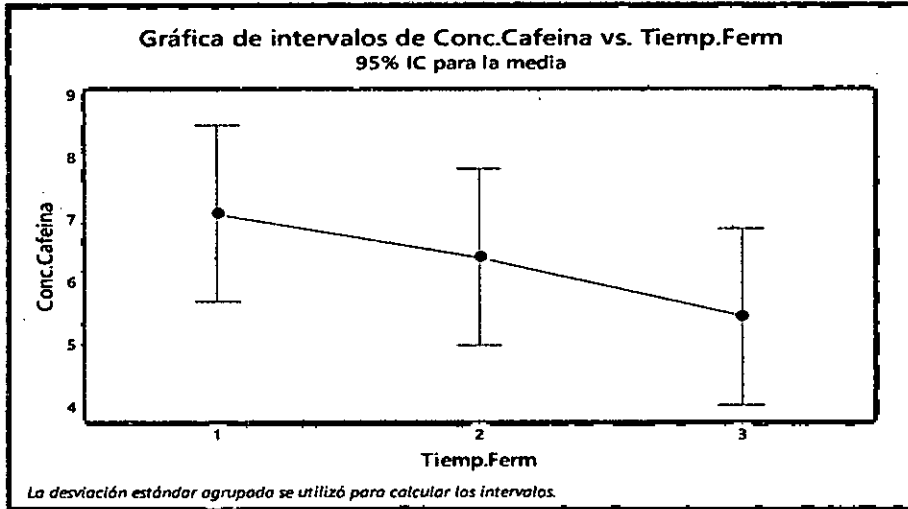


Fuente: *Propia*

Se observa que la concentración para este grupo (N°1) presentan valores muy cercanos pese a tener factores variantes (tiempo de fermentación).

GRAFICA N° 5.3

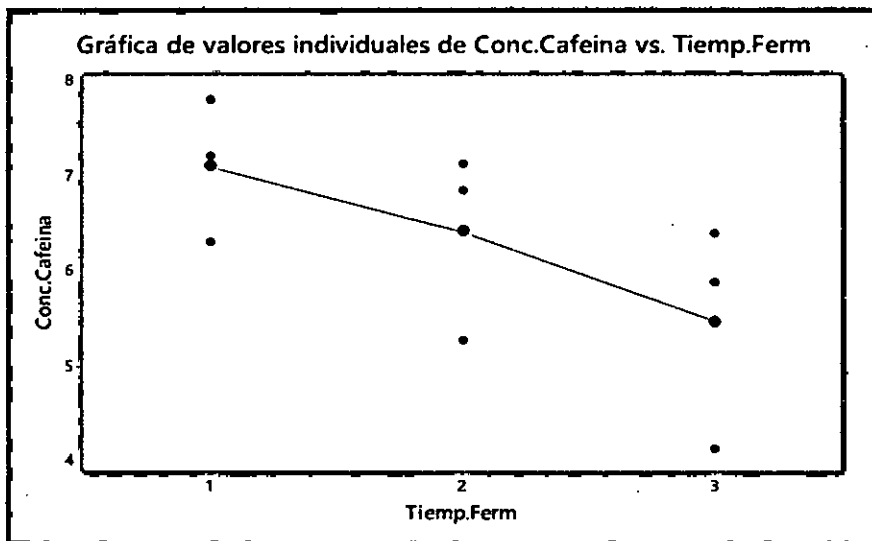
GRÁFICA DE INTERVALOS DE CONC.CAFEINA VS. TIEMP.FERM



Fuente: *Propia*

GRAFICA N° 5.4

GRÁFICA DE VALORES INDIVIDUALES DE CONC.CAFEINA VS. TIEMP.FERM



Fuente: *Propia*

Ambas gráficas confirman la distribución normal de cada grupo.

5.4.2 ANOVA unidireccional: B-8, B-10 y B-12

Factor	Niveles	Valores
Tiemp.Ferm	3	1, 2, 3

TABLA N° 5.11
ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiemp.Ferm	2	9.400	4.6999	6.57	0.031
Error	6	4.294	0.7156		
Total	8	13.694			

Fuente: *Propia*

Resumen del modelo

		R-cuad.	R-cuad.
S	R-cuad. (ajustado)	(ajustado)	(pred)
0.845951	68.64%	58.19%	29.45%

Medias

Tiemp.Ferm	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	6.730	1.133	(5.535, 7.925)
2	3	5.868	0.610	(4.673, 7.063)
3	3	4.264	0.700	(3.069, 5.459)

Desv.Est. agrupada = 0.845951

➤ **Comparaciones en parejas de Tukey**

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

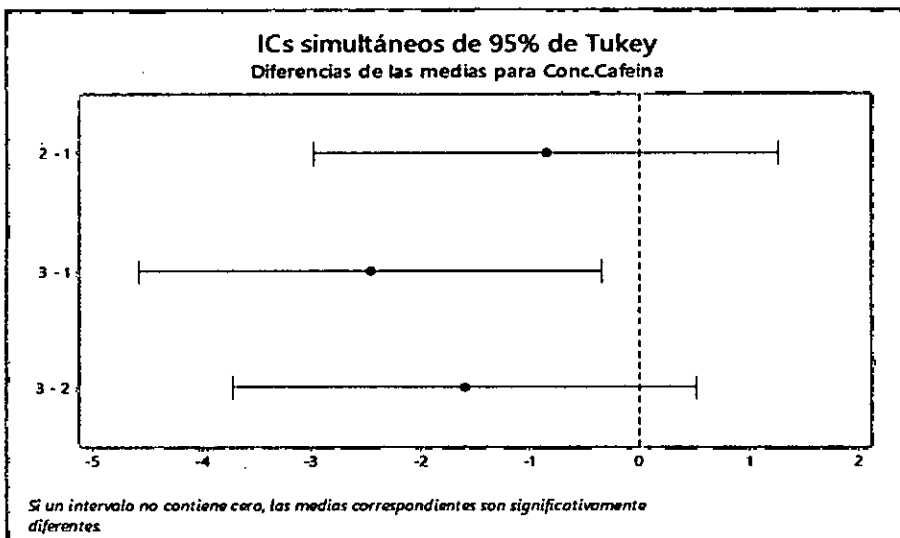
TABLA N° 5.12
AGRUPACION DE TUKEY

Tiemp.Ferm	N	Media	Agrupación
1	3	6,730	A
2	3	5,868	A B
3	3	4,264	B

Fuente: *Propia*

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

GRAFICA N° 5.5
ICs SIMULTÁNEOS DE 95% DE TUKEY

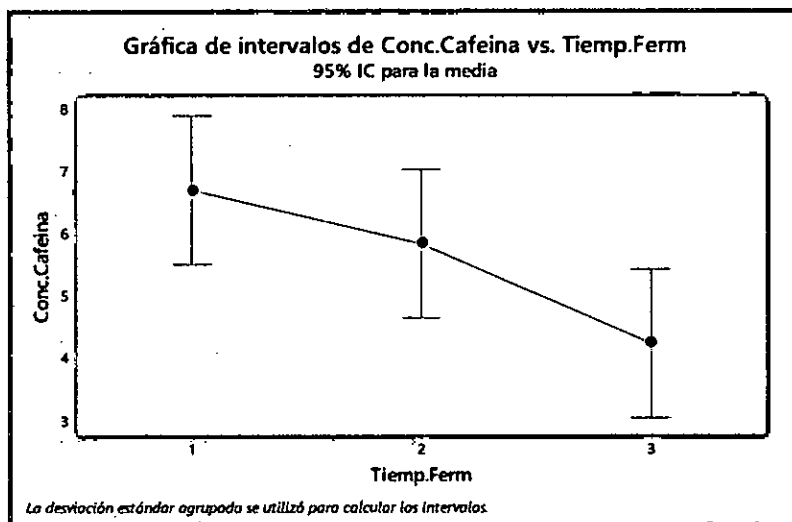


Fuente: *Propia*

Se observa que la concentración para este grupo (N°2) presentan valores de medias significativamente diferentes para el tiempo de fermentación #1(8h) y #2(12h), por lo tanto son independientes.

GRAFICA N° 5.6

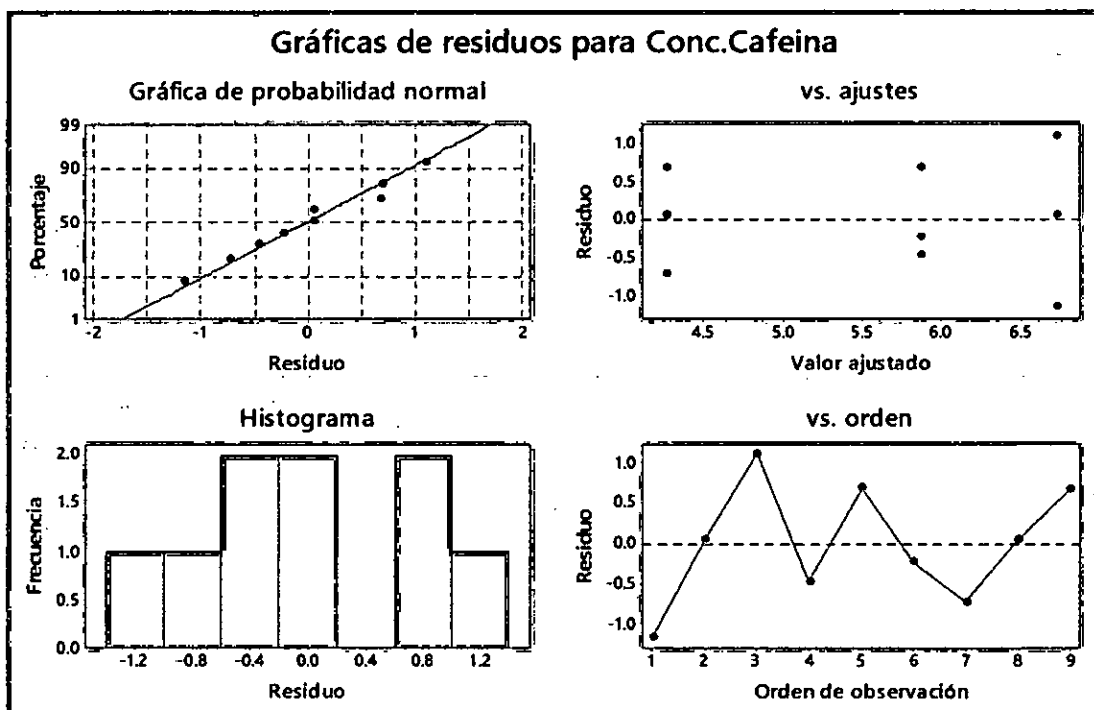
GRÁFICA DE INTERVALOS DE CONC.CAFEINA VS. TIEMP.FERM



Fuente: Propia

GRAFICA N° 5.7

GRÁFICAS DE RESIDUOS PARA CONC.CAFEINA



Fuente: Propia

5.4.3 ANOVA unidireccional: C-8, C-10 y C-12

Factor	Niveles	Valores
Tiemp.Ferm	3	1, 2, 3

TABLA N° 5.13

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiemp.Ferm	2	8.7962	4.39810	63.90	0.000
Error	6	0.4129	0.06882		
Total	8	9.2091			

Fuente: *Propia*

Resumen del modelo

	R-cuad.	R-cuad.
S	R-cuad. (ajustado)	(pred)
0.262342	95.52%	94.02% 89.91%

Medias

Tiemp.Ferm	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	6.3656	0.0609	(5.9950, 6.7362)
2	3	5.1392	0.1291	(4.7686, 5.5098)
3	3	3.944	0.431	(3.573, 4.315)

Desv.Est. agrupada = 0.262342

➤ **Comparaciones en parejas de Tukey**

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

TABLA N° 5.14

AGRUPACION DE TUKEY

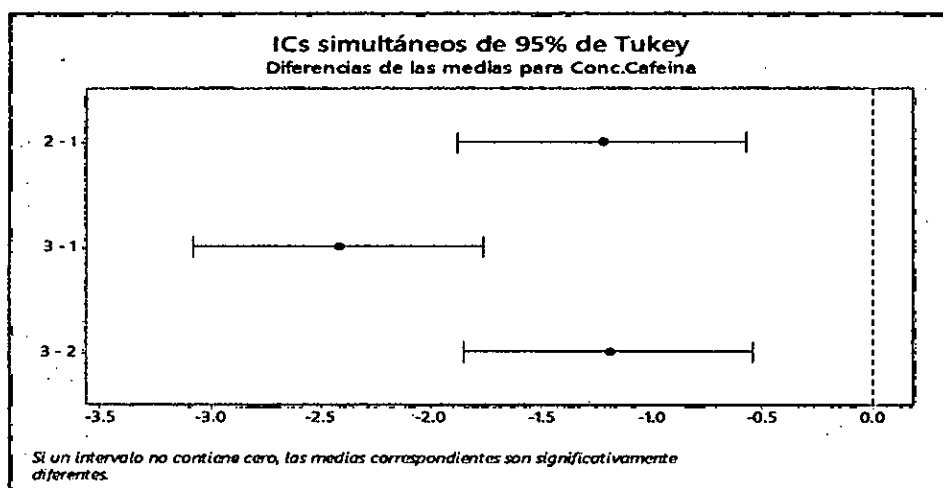
Tiemp.Ferm	N	Media	Agrupación
1	3	6,3656	A
2	3	5,1392	B
3	3	3,944	C

Fuente: *Propia*

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

GRAFICA N° 5.8

ICs SIMULTÁNEOS DE 95% DE TUKEY

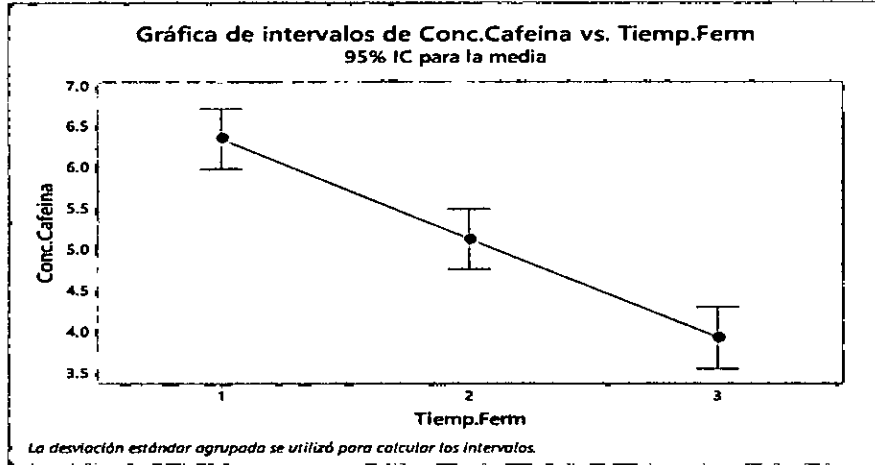


Fuente: *Propia*

Se observa que la concentración para este grupo (N°3) presentan valores de medias diferentes para los 3 tiempos de fermentación #1(8h), #2(10h) y #3 (12h), lo cual muestra su independencia de valores.

GRAFICA N° 5.9

GRÁFICA DE INTERVALOS DE CONC.CAFEINA VS. TIEMP.FERM



Fuente: Propia

5.4.4 Concentraciones promedio "A, B, C "a diferentes tiempos de fermentación

**TABLA N° 5.15
CONCENTRACIONES DE CAFEÍNA EN LAS MUESTRAS
EXPERIMENTALES**

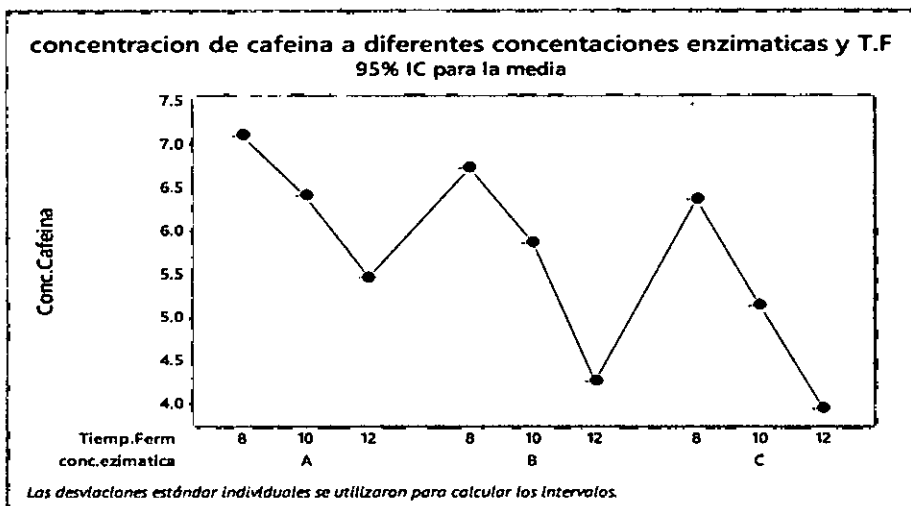
Conc.ezimatica	Tiemp.Ferm	Conc.Cafeina
A= 9,2	8	7,1098
A= 9,2	10	6,4137
A= 9,2	12	5,4629
B= 12,25	8	6,7302
B= 12,25	10	5,8676
B= 12,25	12	4,2637
C= 15,36	8	6,3656
C= 15,36	10	5,1392
C= 15,36	12	3,9441

Fuente: Propia

Para ver el comportamiento de las 9 muestras, es necesario hacer un análisis estadístico de los tres grupos.

GRAFICA Nº 5.10

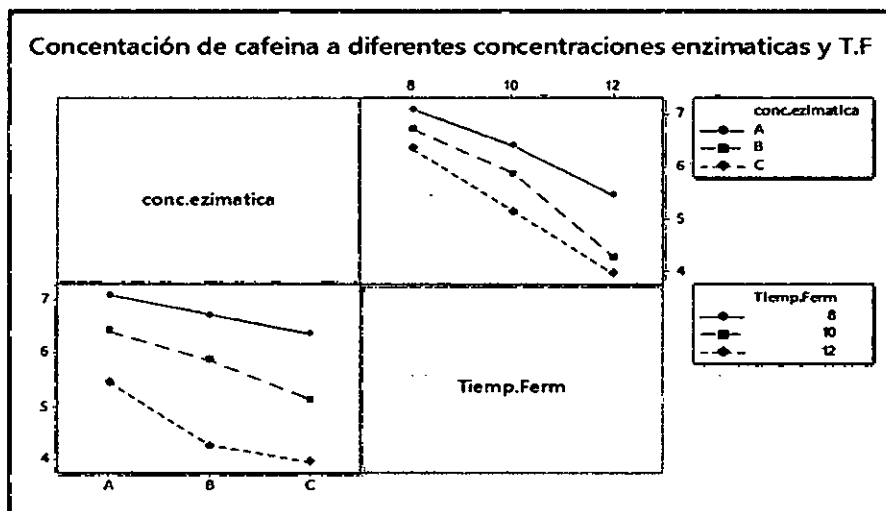
CONC.ENZIMÁTICA vs CONC. DE CAFEÍNA



Fuente: Propia

GRAFICA Nº 5.11

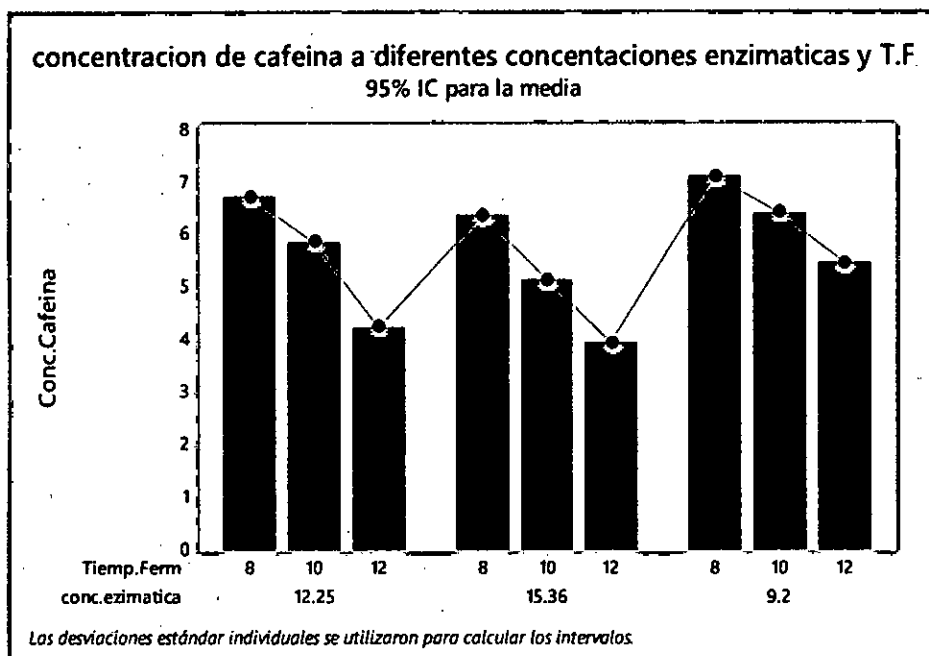
CONC.ENZIMÁTICA vs CONC. DE CAFEÍNA



Fuente: Propia

GRAFICA N° 5.12

CONC.ENZIMÁTICA VS CONC. DE CAFEÍNA



Fuente: *Propia*

Se observa que las concentraciones para los 3 grupos experimentales (A, B y C), fermentados cada uno en 3 tiempos (8h, 10h y 12h) tienen tendencia a disminuir a medida que se incrementa la concentración enzimática y al incrementar el tiempo de concentración.

5.5 Determinación del tiempo óptimo de fermentación y concentración de material enzimático por volumen de solución.

TABLA N° 5.16

DETERMINACIÓN DE LA ABSORBANCIA Y CONCENTRACION DE CAFEINA EN LAS MUESTRAS

MUESTRAS	ABSORBANCIA	CONCENTRACION(ppm)
A-8	0,3674	7,1098
A-10	0,3351	6,4137
A-12	0,2909	5,4629
B-8	0,3498	6,7302
B-10	0,3097	5,8676
B-12	0,2352	4,2637
C-8	0,3221	6,1346
C-10	0,2759	5,1392
C-12	0,2204	3,9441
MSF	0,4144	8,1216
MR	0,2305	4,1633

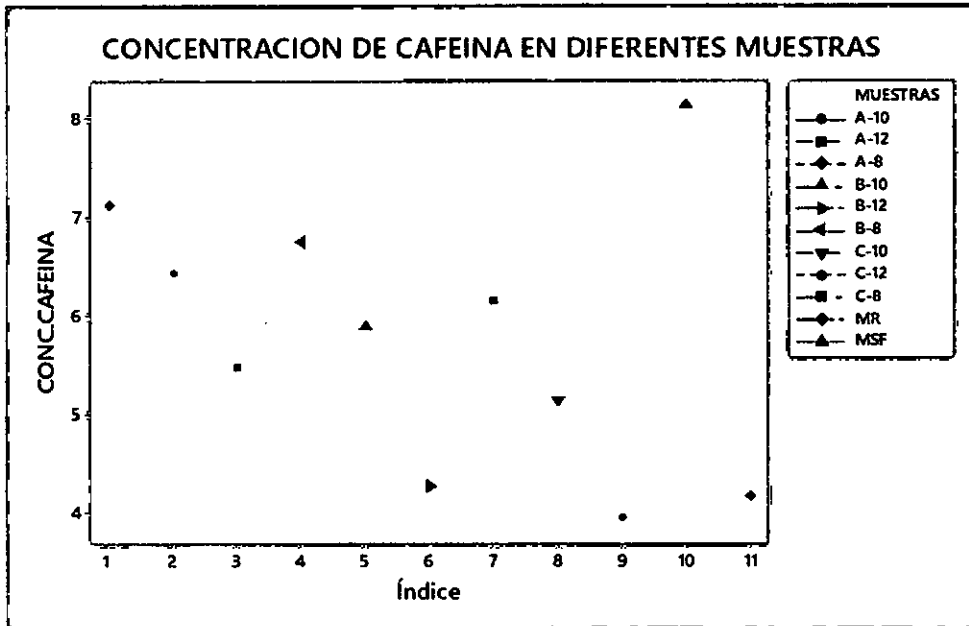
Fuente: *Propia*

MSF: Muestra sin fermentar

MP: Muestra de referencia

GRAFICA N° 5.13

CONCENTRACIÓN DE CAFEÍNA EN TODAS LAS MUESTRAS EXPERIMENTALES Y PATRÓN



Fuente: *Propia*

Se observa que en las concentraciones para los 3 grupos experimentales (A, B y C), fermentados cada uno en 3 tiempos (8h, 10h y 12h) comparado con la muestra MR (Muestra Referencia) hay similitud con los valores de la muestra B₁₂ y C₁₂ las cuales serán comparadas mediante un análisis sensorial para dar el resultado definitivo.

Además los resultados demuestran la gran diferencia entre una muestra fermentada con enzimas y la muestra MSF (Muestra sin fermentar o fermentada convencionalmente por 12h)

5.6 Cálculos para la determinación del tanto por ciento de cafeína en los diferentes cafés analizados.

Seguidamente, una vez determinadas las concentraciones de cafeína de cada una de las muestras, se determina la concentración de cafeína que poseen en tanto por cien (%). En los cálculos iniciales se supuso que los cafés contenían un 1,2 % de cafeína y se trabajó pesando 300 mg de café.

Se procedió a determinar la cantidad de cafeína hallada mediante la absorbancia de la espectrofotometría UV.

Datos:

Peso de café real = 300 mg

Solución A = mg cafeína extraída / 100 mL agua Milli-Q

Solución B = 10 mL solución A / 25 mL agua Milli-Q

En estos factores de conversión se pueden apreciar los cálculos de uno de los cafés anteriormente descritos.

Para la muestra C₁₂: 7,1098ppm

$$100\text{molsolA} \cdot \frac{25\text{mol solB}}{10\text{molsol A}} \times \frac{7,1098\text{mg cafeína}}{1000\text{mol solB}} = 1,7774 \times \frac{\text{mg cafeína}}{300\text{mg café}} \times 100 =$$

0,5924%

Por lo tanto, se estaría hablando de que el café de concentración enzimática "A" y de tiempo de fermentación 8h posee una concentración real de 0,97% de

cafeína. Luego procedemos a realizar los cálculos de las concentraciones de todas las muestras.

TABLA N° 5.17

DETERMINACIÓN DEL% CAFEINA EN LAS MUESTRAS

MUESTRAS	CONCENTRACION(ppm)	%CAFEINA EN EL CAFÉ
A-8	7,1098	0,5925
A-10	6,4137	0,5345
A-12	5,4629	0,4552
B-8	6,7302	0,5608
B-10	5,8676	0,4890
B-12	4,2637	0,3553
C-8	6,1346	0,5112
C-10	5,1392	0,4283
C-12	3,9441	0,3287
MSF	8,1216	0,6768
MR	4,1633	0,3469

Fuente: *Propia*

TABLA N° 5.18

DETERMINACIÓN DE mg CAFEÍNA EN 10g DE CAFÉ TOSTADO

MUESTRAS	%CAFEÍNA EN EL CAFÉ	mg CAFEÍNA EN 10g DE CAFÉ TOSTADO
A-8	0,5925	59,2483
A-10	0,5345	53,4476
A-12	0,4552	45,5239
B-8	0,5608	56,0848
B-10	0,4890	48,8967
B-12	0,3553	35,5310
C-8	0,5112	51,1213
C-10	0,4283	42,8268
C-12	0,3287	32,8675
MSF	0,6768	67,6803

Fuente: *Propia*

Aquí nos muestra la reducción de la cafeína de las muestras fermentadas, en comparación a las muestra sin fermentar (MSF)

5.7 Análisis Sensorial

TABLA N° 5.19
ANÁLISIS SENSORIAL (CATACIÓN)

CONCENTRACIÓN ENZIMÁTICA	TIEMPO DE FERMENTACIÓN	SABOR				Aroma (1-10)	Fragancia (1-10)	Total
		Amargor (1-10)	Acidez (1-10)	Cuerpo (1-10)	Sabor Residual			
A	8	7	5	7,5	7	8	7	34,5
	10	7	5	7,5	7	8	7	34,5
	12	7	6	7	7	8	7,5	35,5
B	8	7	5	7,5	7	8	7	34,5
	10	7	6	7	7	7,5	7,5	35
	12	6	8	7	8	7,5	9	39,5
C	8	6	6	7	8	7,5	7	35,5
	10	5	6	6,5	6	7	8	33,5
	12	4	5	6	6	7	5	29
MSF		9	3	7	6	6	7	29
MR		6	8	7	8	7	9	39

Fuente: *Propio*

VI. DISCUSION DE RESULTADOS

6.1 Contrastación de hipótesis con resultados

Para la obtención del café especial bajo en cafeína los factores más importantes fueron la concentración enzimática y el tiempo de la fermentación del café; debido a que son parámetros que influyen directamente en los granos de café, los cuales contienen a la cafeína, la cual es el objetivo y para tener como resultado la concentración de cafeína entre 10-40mg por cada en 10g de café tostado. Otros factores que fueron evaluados fueron el pH de la solución enzimática, por influir directamente en la activación de enzimas, el tiempo de fermentación para activar a las enzimas y la cantidad de café a fermentar.

6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares

Se ha demostrado que mediante la fermentación enzimática, se reduce el amargor, acidez y la concentración de la cafeína como se indica en la investigación mexicana “PROYECTO SUSTENTABLE PARA LA OBTENCION DE CAFÉ ORGANICO KOPI LUWAK UTILIZANDO AL PROCYON LOTOR (MAPACHE)”

Además se ha podido comprobar los estudios realizados acerca de la influencia de la fermentación enzimática sobre el sabor y aromas del café para elaborar el café de civeta en Indonesia: “LA CIENCIA DETRÁS DEL COFFEE” LUWAK” Un análisis del café más raro y más caro del mundo por Massimo F. Marcone, Ph.D, C.Chem., Chimiste (PQ), Departamento de Ciencia de los Alimentos Universidad de Guelph, Guelph, Ontario, Canadá.

VII. CONCLUSIONES

1.- El procedimiento óptimo de fermentación para la obtención de café especial bajo en cafeína es:

TABLA N° 7.1
PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE CAFÉ BAJO EN
CAFEÍNA

PROCESO	PARÁMETRO DE CONTROL	VALOR
Preparación de la solución para activar las enzimas	Concentración (cantidad de material enzimático/volumen de solución)	1,944g/L
	Tiempo de fermentación para activar las enzimas	12h
	pH de la solución enzimática	3,68
Fermentación del café en la solución enzimática	Tiempo de fermentación del café en la solución enzimática	12h
	Temperatura	20°C
Obtención de la cafeína	Cantidad de cafeína (mg)	35,53

Fuente: *Propia*

2.- Las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación del café es la correspondiente la muestra B-12, con puntaje en Catación de 39,5.

TABLA N° 7.2
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA SOLUCIÓN ENZIMÁTICA

CARACTERÍSTICAS	VALOR
Concentración (cantidad de material enzimático/volumen de solución):	1,94g/L
Tiempo de fermentación para activar las enzimas:	12h
pH de la solución enzimática:	3,68

Fuente: *Propia*

3.- Las condiciones óptimas de la fermentación enzimática para la obtención de café especial bajo en cafeína

TABLA N° 7.3
CONDICIONES ÓPTIMAS DE FERMENTACIÓN ENZIMÁTICA

CARACTERÍSTICAS	VALOR
Tiempo de fermentación del café en la solución enzimática:	12h
Temperatura de la solución:	20°C
Peso de Café:	2Kg

Fuente: *Propia*

VIII. RECOMENDACIONES

- 1.- Para la preparación de la solución donde se activó las enzimas del estómago de cuy, es importante la cantidad de material que contiene las enzimas; ya que influye directamente en el tiempo de fermentación del café.
- 2.- Para activar las enzimas inactivas, es importante que el pH de la solución sea ácido y debe mantenerse en el rango 3-4 para una adecuada fermentación del café.
- 3.- Para determinar la concentración de la cafeína, es necesario trabajar con concentraciones menores a 20ppm para elaborar la curva patrón.
- 4.- Se recomienda trabajar con otras variedades de café para mejorar su calidad en aroma, acidez, cuerpo y concentración de cafeína.
- 5.- Los residuos de cada una de las etapas del proceso que se generan servirán para elaborar abonos y de esa manera poder fertilizar las plantaciones de café, ya que contienen compuestos orgánicos.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 Referencia - textos

- 9.1.1 X-VILLEGAS-RUIZ, H. RUIZ-ESPINOSA Y M. E. BÁRCENAS-POZOS. **Tecnologías de Enmascaramiento de Sabor Amargo en Alimentos.** México. 2010.
- 9.1.2 PUERTA QUINTERO, GLORIA INÉS. **Factores, Procesos y Controles en la Fermentación del Café.** Programa de Investigación Científica del Fondo Nacional de Café de Colombia. 2012
- 9.1.3 CÁRDENAS DÍAZ JUAN PABLO Y PARDO PINZÓN JUAN DAVID. **Caracterización de las etapas de Fermentación y Secado del café la primavera.** Programa de Ingeniería Industrial de Bogotá D.C. 2014.
- 9.1.4 PEREZ LOPEZ, DÁMARIS. **Proyecto sustentable para la obtención de Café organico kopi luwak utilizando al Procyon Lotor (mapache).**Tesis para optar el Título de In. Químico Universidad Veracruzana de México.2007
- 9.1.5 PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA FONDO NACIONAL DEL CAFÉ (CENICAFE). **Composición Química de una taza de Café,** Colombia, 2011
- 9.1.6 FRANCO FERNANDEZ, Rafael; CAPEL, José Carlos; PEREZ LOZANO, Julia, **Café y estilo de vida saludable.** España. 2010
- 9.1.7 FUENTES ORTEGA, Matilde Esther. **Análisis cinético de las reacciones de activación de zimógenos: Aplicación a sistemas enzimáticos de interés fisiológico,** España- 2006

- 9.1.8 MERINO PEREZ, Jesús y NORIEGA BORGE, María José, **Fisiología General**. Departamento de Ciencia de los Alimentos Universidad de Cantabria. España.
- 9.1.9 MARCONE Massimo F, PHD, C.CHEM., CHIMISTE (PQ) **La ciencia detrás de Luwak Café, Un análisis de café más raro y Más caro del mundo**. Departamento de Ciencia de los Alimentos. Universidad de Guelph, Guelph, Ontario, Canadá.
- 9.1.10 CALLE AZNAR SILVIA. **Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales**. Tesis para optar el Título de Ing. Químico. España. Universidad Politécnica de Catalunya. 2011
- 9.1.11 FARFAN VALENCIA, Fernando. **Sistemas de Producción de Café en Colombia**. Colombia. 2006

9.2 Referencia – Revistas

- 9.2.1 CONSEJO CAFETALERO NACIONAL (COFENAC). **Influencia de métodos de beneficio sobre la calidad organoléptica del café arábigo**, Colombia, 2010
- 9.2.2. MINISTERIO DE ABRICULTURA Y RIEGO. **Síntesis agroeconómica del Café**, Lima 2015
- 9.2.3. DARLANIKA SOEDARJO, Alvin. **Civet 'cat' dung secret to Indonesia luxury**, 2011

X. ANEXOS

10.1 Distribución del café maduro en volumen de solución enzimática y tiempos de fermentación

TABLA N° 10.1

RELACION DE CONCENTRACION ENZIMÁTICA/TIEMPO DE FERMENTACION

CONCENTRACIÓN ENZIMÁTICA	CANTIDAD DE CAFÉ(kg)	VOLUMEN DE SOLUCIÓN ENZ.(L)	TIEMPO DE FERMENTACIÓN(h)
A	2	2,1	8
	2	2,1	10
	2	2,1	12
B	2	2,1	8
	2	2,1	10
	2	2,1	12
C	2	2,1	8
	2	2,1	10
	2	2,1	12

Fuente: *Propia*

10.2 Contenido de cafeína en diferentes productos

TABLA N° 10.2
CONTENIDO DE CAFEINA EN DIFERENTES PRODUCTOS

Tabla 1. Contenido de cafeína en diferentes productos

	Volumen/peso	Rango de cafeína (mg)	Promedio de cafeína (mg)
Café			
Tostado	100 ml	41-63	60
Instantáneo	100 ml	27-72	50
Tostado descafeinado	100 ml	0,4-7	2,4
Instantáneo descafeinado	100 ml	5-1	3
Té			
Negro	100 ml	10-46	25
Verde	100 ml	6-17	12
Blanco	100 ml	2-11	6
Rojo	100 ml	5-30	18
Té helado	100 ml	4-21	12
Productos de Chocolate			
Grano de cacao	100 g	0,1-0,5	0,2
Cacao en polvo	10 g	10-16	12
Chocolate negro	100 g	17-118	68
Chocolate blanco	100 g		~ 0
Chocolate amargo	100 g	16-34	24
Chocolate con leche	100 g	1-38	20
Chocolate a la taza	100 ml	1-49	34
Leche con chocolate	100 ml	1-7	3
Bebidas de cola			
Cola	330 ml	3-7	4
Cola descafeinadas	330 ml		~ 0
Cola light	330 ml	2-7	4
Cola light descafeinadas	330 ml		~ 0
Bebidas energéticas			
	330 ml	10	9-12
Guaraná			
Bebidas con guaraná	330 ml	0,1-12	8
Pasta de guaraná	100 g	2,5-5	4
Mate			
	100 ml	0,2 - 2	1,5
Postres congelados			
	100 ml	21-35	25
Medicamentos Sin Receta			
	1 dosis	36-200	102

Fuente: *Silvia Calle A.-Vol. II Memoria-2011*

10.3 Resultados de medición de pH en las muestras catadas.

TABLA N° 10.3
PH DE LAS MUESTRAS CATADAS

MUESTRAS	pH
A-8	4,79
A-10	4,84
A-12	4,86
B-8	4,91
B-10	4,96
B-12	4,99
C-8	4,99
C-10	5,01
C-12	5,01
MSF	4,73
MR	4,98

Fuente: Propia

El pH de la muestra B-12 es similar a la muestra de referencia MR (Muestra fermentada enzimáticamente en el estómago de COATI)

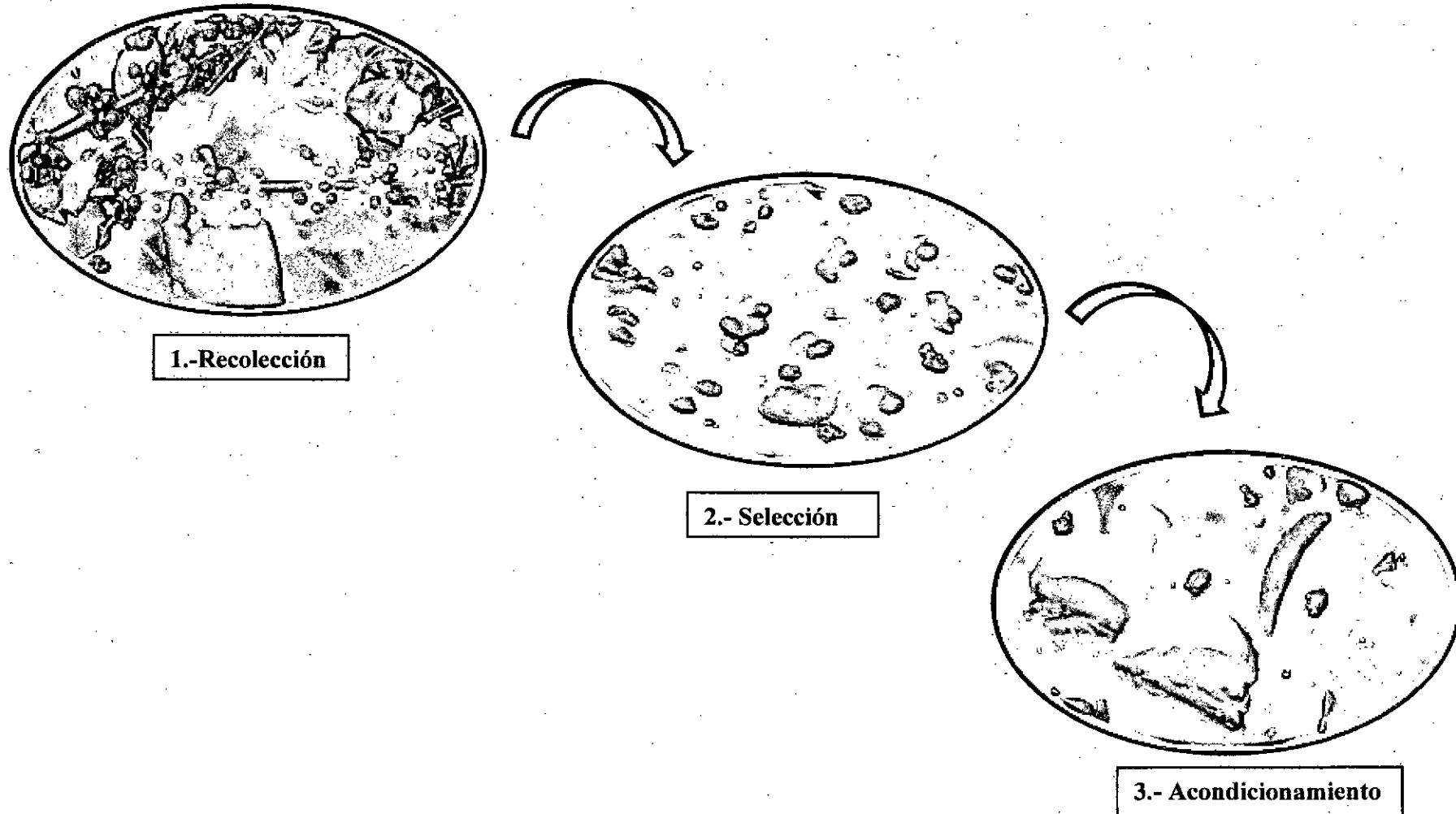
10.4 Matriz de Consistencia.

OBTENCION DE CAFÉ ESPECIAL BAJO EN CAFEÍNA MEDIANTE FERMENTACIÓN ENZIMÁTICA DE CAFÉ ARÁBICA

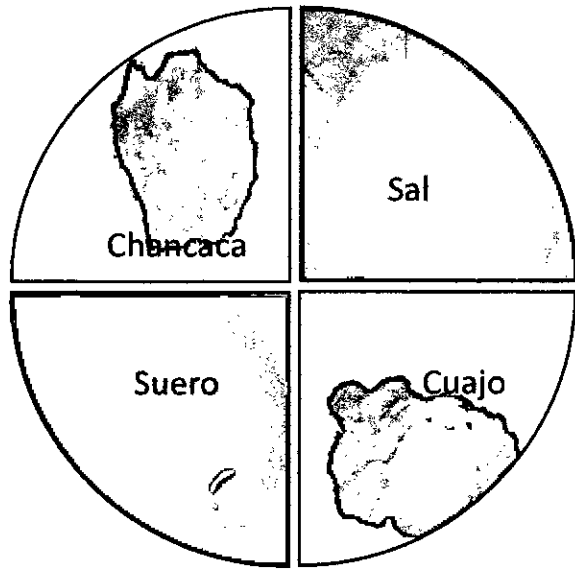
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODO
¿Cómo debe ser el procedimiento óptimo de fermentación para la obtención de café especial bajo en cafeína?	Determinar el procedimiento óptimo de fermentación para obtener café especial bajo en cafeína.	La obtención de café especial bajo en cafeína dependerá de las características de la solución enzimática y de las condiciones óptimas de la fermentación. Donde la concentración de cafeína obtenida en 10g de café tostado, se encontrará entre 10-40 mg.	X= concentración de cafeína	✓ concentración	<ul style="list-style-type: none"> ✓ ppm ✓ sabor ✓ aroma 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Espectrofotometría ✓ HPLC ✓ Evaluación Sensorial ✓ Evaluación Sensorial
SUB-PROBLEMA	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICAS	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODO
¿Cuáles son las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación de café?	A.- Determinar las características físicas y químicas de la solución enzimática para la fermentación del café.	Para la obtención de café especial bajo en cafeína, se debe considerar los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, concentración y tiempo de fermentación del material enzimático.	Y= características fisicoquímicas de la solución enzimática	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Índice de acidez. ✓ cantidad de material enzimático por Volumen de solución. ✓ Tiempo de fermentación de material enzimático. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ pH ✓ g/L ✓ Horas 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Potenciómetro ✓ Cronometro
¿Cuáles son las condiciones óptimas de fermentación, para la obtención de café especial bajo en cafeína?	B.- Determinar las condiciones óptimas de la fermentación enzimática para la obtención de café especial bajo en cafeína.	Las condiciones óptimas de fermentación enzimática. Para la obtención de café especial bajo en cafeína son: Tiempo de fermentación del café 12h, temperatura 25°C, cantidad de café maduro 2Kg.	Z=Condiciones óptimas de la fermentación enzimática.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tiempo de fermentación de café cerezo ✓ Temperatura de fermentación ✓ Peso de café 	<ul style="list-style-type: none"> *Horas **°C *kg 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cronometro ✓ Termómetro

10.5 Procesos unitarios y parte experimental

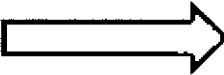
a.- Recolección y acondicionamiento del café en fruto.



b.- Preparación de la solución enzimática



Insumos



4.- Activación de enzimas

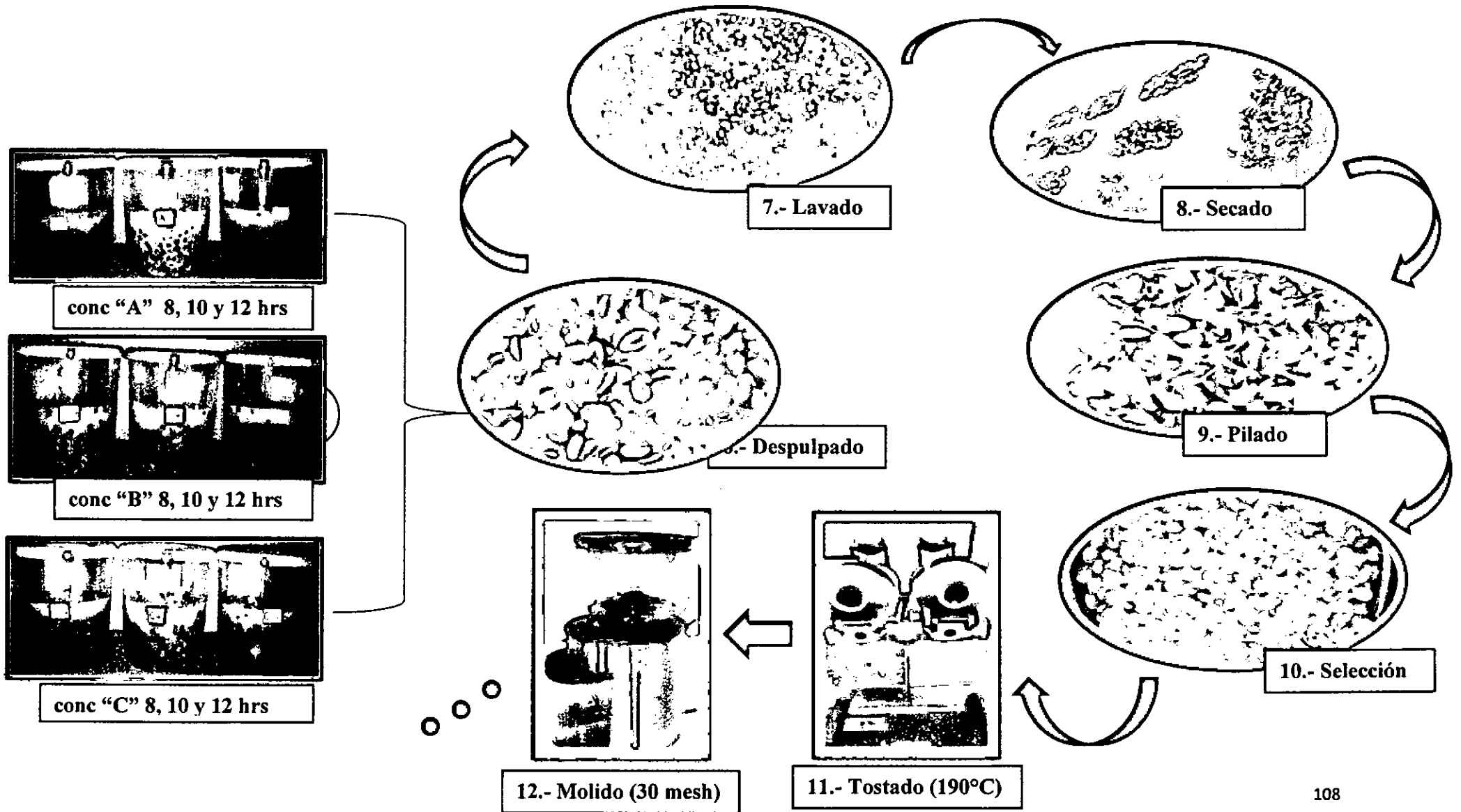


Preparación de las soluciones enzimáticas a concentraciones:

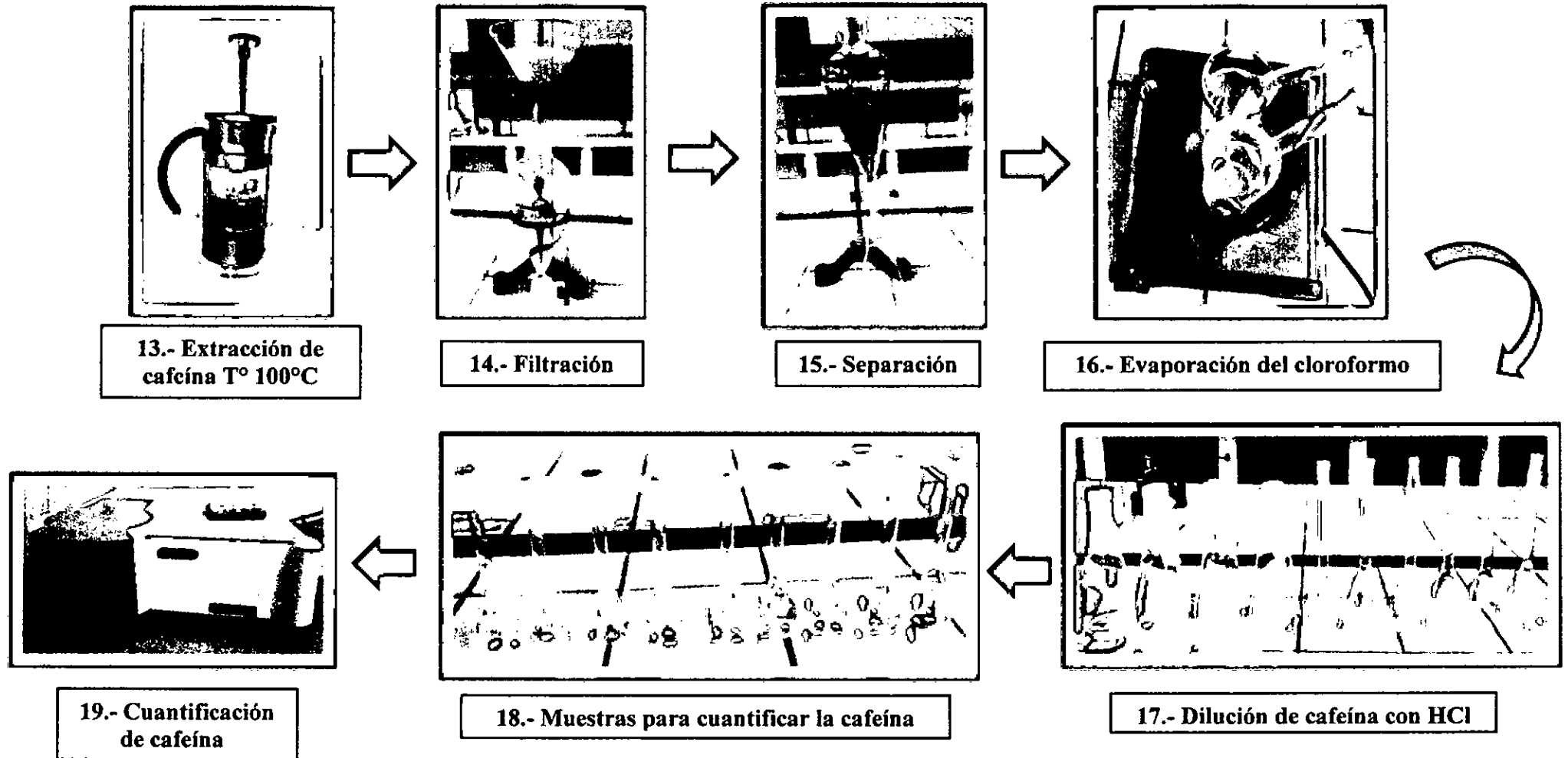
$$A = \frac{9.20g \text{ cuajo}}{3.3L \text{ suero}} = 1.4603 \text{ g/L}$$
$$B = \frac{12.25g \text{ cuajo}}{3.3L \text{ suero}} = 1.9444 \text{ g/L}$$
$$C = \frac{15.36g \text{ cuajo}}{3.3L \text{ suero}} = 2.4380 \text{ g/L}$$

Tiempo de Fermentación 24h

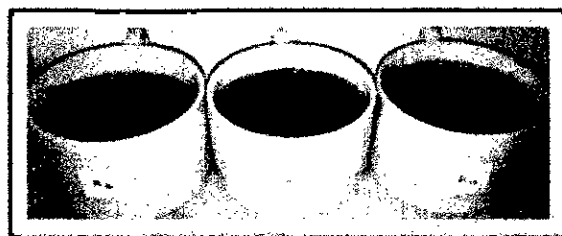
C.- Distribución de la solución, fermentación del café y obtención del café deshidratado a 10-12% de humedad.



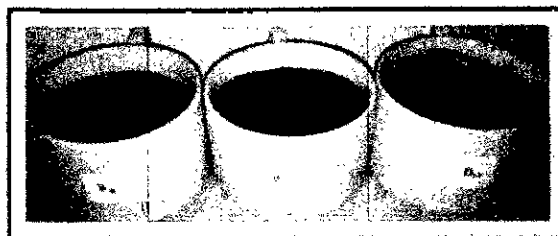
C.- Acondicionamiento del café deshidratado y extracción de cafeína.



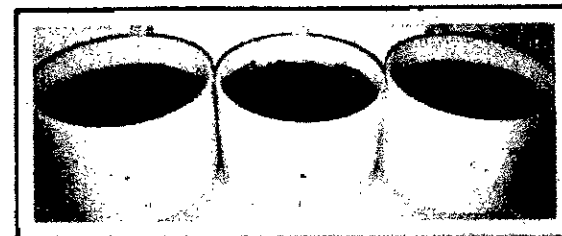
d.- Prueba de Catación de cada una de las muestras.



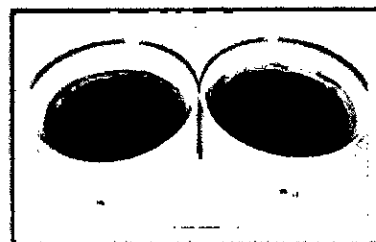
A-8, A-10 y A-12



B-8, B-10 y B-12



C-8, C-10 y C-12

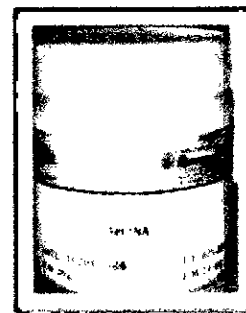


MR y MSF

e.- Reactivos utilizados.



- Cloroformo
- Carbonato de Sodio
- Sulfato de Sodio



Cafeína anhidra